

Određivanje učestalosti izlučivanja bakterija roda campylobacter u zdravih pasa i pasa s proljevom

Švob, Doris

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:178:341679>

Rights / Prava: [In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-04-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

VETERINARSKI FAKULTET

**ZAVOD ZA MIKROBIOLOGIJU I ZARAZNE BOLESTI S
KLINIKOM**

Doris Švob

**ODREĐIVANJE UČESTALOSTI IZLUČIVANJA
BAKTERIJA RODA CAMPYLOBACTER U
ZDRAVIH PASA I PASA S PROLJEVOM**

Diplomski rad

Zagreb, 2018.

Ovaj rad izrađen je na Zavodu za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Zrinke Štritof

Predstojnik: Prof. dr. sc. Zoran Milas

Mentorica: Izv. prof. dr. sc. Zrinka Štritof

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Doc. dr. sc. Suzana Hađina
2. Dr. sc. Matko Perharić
3. Izv. prof. dr. sc. Zrinka Štritof
4. dr. sc. Vesna Mojčec Perko, zamjena

Zahvale

Posebno se zahvaljujem mentorici, izv. prof. dr. sc. Zrinki Štritof na izboru teme i pomoći prilikom izrade diplomskog rada, veliku zahvalnost dugujem i Petri Pavičić koja je bila velika pomoć u radu u laboratoriju.

Također zahvaljujem se čitavom zavodu, te svim doktorima koji su me tijekom godina volontiranja na klinici puno toga naučili.

Zahvaljujem se i kolegama na nezaboravnim studentskim danima.

Hvala mojoj obitelji i prijateljima na razumijevanju, podršci i strpljenju za sve vrijeme studiranja.

Popis tablica i slika

- **Slika 1.** *Campylobacter* sp. snimljen elektronskim mikroskopom.
- **Slika 2.** Izgled kolonija bakterije *Campylobacter* sp. na CCDA hranjivoj podlozi .
- **Slika 3.** Izgled kolonija bakterije *Campylobacter* sp. na krvnom agaru
- **Slika 4.** Pozitivni i negativni katalaza test
- **Slika 5. i 6.** Grafički prikaz raspodjele uzorkovanih pasa po dobi u skupini pasa s proljevom i u skupini zdravih pasa.
- **Slika 7. i 8.** Grafički prikaz pozitivnih/negativnih unutar skupine zdravih pasa i pasa s proljevom.

SADRŽAJ RADA

1. UVOD.....	1
2. PREGLED LITERATURE.....	2
2.1. Kampilobakterioza u pasa.....	2
2.1.1. Etiologija i epizootiologija.....	2
2.1.2. Mehanizam patogenog djelovanja	5
2.1.3. Klinička slika	5
2.1.4. Dijagnosticiranje	6
2.1.5. Liječenje.....	7
2.1.6. Sprječavanje pojave i širenja bolesti.....	8
2.2. Kampilobakterioza u ljudi	8
3. MATERIJALI I METODE.....	11
3.1. Prikupljanje i pretraživanje uzoraka	11
3.2. Identifikacija bakterija	11
4. REZULTATI	13
5. RASPRAVA.....	15
6. ZAKLJUČCI	17
7. LITERATURA	18
8. SAŽETAK	23
9. SUMMARY.....	25
10. ŽIVOTOPIS.....	27

1. UVOD

Kampilobakterioza je zoonoza, bolest koja se na čovjeka prenosi sa životinja i proizvoda životinjskog podrijetla, a uzrokuje ju gram negativna bakterija iz roda *Campylobacter* sp. (grč. savijeni štapić), koja se uobičajeno nalazi u životinjskom izmetu. Poznato je nekoliko vrsta unutar roda, no infekcije najčešće uzrokuju *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli*. Bakterija prijanja uz stijenku crijeva, razara je i proizvodi toksin koji uzrokuje bolest. Ove bakterije su osjetljive na vrućinu i uobičajene dezinficijense, tako da ih uništavaju pasterizacija mlijeka, odgovarajuća termička obrada mesa i kloriranje vode, a smržavanje može smanjiti njihovu koncentraciju u određenoj namirnici. Bakterije roda *Campylobacter* najčešći su uzročnici bakterijskog gastroenteritisa u ljudi diljem svijeta. Iako se meso peradi i goveda smatra glavnim izvorom *Campylobacter* sp., izvor također može biti i izmet pasa. *Campylobacter* sp. jedan je od glavnih uzročnika bakterijskog enteritisa pasa, no mogu ga izlučivati i zdravi psi. Najvažnije vrste koje uzrokuju enteritis roda su *C. jejuni*, koja je prisutna u crijevnom sadržaju različitih domaćih i divljih sisavaca i ptica gdje u povoljnim uvjetima može uzrokovati bolest i *C. upsaliensis* koja je dokazana u pasa i mačaka s proljevom (CVETNIĆ, S., 2002.). Psi i mačke mogu se inficirati različitim vrstama iz ovog roda. Bakterije se mogu dokazati i u izmetu zdravih pasa, a mogu biti primarni uzročnici enteritisa ili ga uzrokovati u kombinaciji s drugim mikroorganizmima, bakterijama, virusima i parazitima. Činjenica da se *Campylobacter* sp. može naći i u izmetu zdravih životinja upućuje na to da postoje razlike u virulenciji između vrsta, a vjerojatno i sojeva unutar iste vrste, kao i na to da na razvoj bolesti utječu mnogi čimbenici. Izvor infekcije za druge životinje i ljude su bolesne životinje koje izmetom izlučuju bakteriju i do 4 mj. poslije infekcije.

Smatra se da su za infekciju primljiviji mlađi psi, a čimbenike rizika od infekcije predstavljaju držanje u većim skupinama životinja, nepovoljni uvjeti držanja i hranjenja, loši zoohigijenski uvjeti te općenito svi uzroci narušavanja ravnoteže crijevne mikroflore.

2. PREGLED LITERATURE

Prvi opis kampilobaktera u mikroskopskom preparatu djeteta s proljevom datira iz 1887. godine. Prvi je izolat 1909. godine klasificiran kao *Vibrio fetus*. Godine 1963. Sebald i Veron reklasificirali su *V. fetus* i *V. bubulus* u novi rod *Campylobacter* (SEBALD i VERON, 1963). Porodica *Campylobacteraceae* predložena je 1991. godine, a uključuje četiri roda; *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Dehalospirillum* i *Sulfurospirillum*. Rod *Campylobacter* trenutno sadrži 26 vrsta od kojih je 19 izdvojeno iz ljudi. Postoji također 10 podvrsta od kojih je devet izdvojeno iz ljudi. Iako su *C. jejuni* i *C. coli* i dalje glavni uzročnici bakterijskog gastroenteritisa u ljudi širom svijeta, napredak u molekularnoj biologiji i razvoj metodologija razlikovanja vrsta omogućili su detekciju niza slabo prepoznatih vrsta kampilobaktera, uključujući *C. concisus*, *C. upsaliensis* i *C. ureolyticus*. Ove nove vrste kampilobaktera povezane su s nizom gastrointestinalnih bolesti, osobito gastroenteritisa, iritabilnog crijevnog poremećaja i parodontitisa. U nekim slučajevima, infekcija gastrointestinalnog trakta uzrokovana tim bakterijama može napredovati do po život opasnih bolesti. Virulencija ovih bakterija još uvijek se istražuje (SANDBERG i sur.,2002).

2.1. Kampilobakterioza u pasa

2.1.1. Etiologija i epizootiologija

Izvore kampilobaktera za pse predstavljaju kontaminirana hrana, voda i okoliš, kontakt s izmetom inficiranih životinja. Zaraza se širi fekalno oralnim putem. Neki utvrđeni čimbenici rizika od infekcije su izloženost vodama stajaćicama te život u aglomeracijama poput azila i uzgajivačnica koji omogućuje lakše širenje infekcije. Učestalost pojave bolesti povezana je s dobi životinje, spolom, pasminom, zdravstvenim statusom, držanjem i godišnjim dobom jer je uzročnik češće izoliran u proljeće i jesen (TORRE, E. i TELIO, M., 1993.; SANDBERG i sur.,2002). Kao i za ljude izvor bolesti za pse također je nedovoljno termički obrađena hrana, najčešće piletina i sirovo mlijeko. Također je kontakt s bolesnom životinjom važan faktor u prijenosu bolesti, a okoliš kontaminiran izmetom predstavlja dugotrajan izvor bakterija.

Bakterije roda *Campylobacter* sp. su gram negativni, spiralni, mikroaerofilni štapići koji se kreću flagelama. (VANDAMMEET al., 1991). Dugačke su 0.5 – 5 µm, promjera 0.2 – 0.5 µm. Osim zakrivljenih štapića u bakterijskim kulturama mogu se ustanoviti i oblici nalik slovu S ili galebovim krilima i spiralama kada se dvije ili više stanica nalaze zajedno. Stanice su im pokretljive jer imaju po jedan bič na jednom ili oba stanična kraja. Prisutnost bičeva omogućava im brzo, uglavnom rotacijsko kretanje. Pripadnici ovog roda su mikroaerofilne i kemoorganotrofne bakterije koje nemaju sposobnost fermentirati niti oksidirati ugljikohidrate, zato energiju dobivaju prvenstveno iz aminokiselina. Tvore enzim oksidazu, a različito se odnose prema tvorbi enzima katalaze. Za rast trebaju smanjenu količinu kisika u odnosu na atmosferski zrak 3 do 5%, 2 do 10% ugljičnog dioksida i 84% dušika. Njihova optimalna temperatura rasta iznosi 37 - 42 ° C, te najbolje rastu pri pH od 7,0 do 7,4. Iako rastu i na običnim hranjivim podlogama, redovito se za njihov uzgoj koriste podloge obogaćene krvlju ili krvnim serumom na kojima ne tvore hemolizu i formiraju prozirne kolonije. Pri uzgoju na selektivnim hranjivim podlogama mCCDA – modificirani carol cefoperazone deoxycolate agar (engl. modified charcol cefoperazone deoxycolate agar) kolonije su male, plosnate, sivkaste boje, različenih rubova, sjajne i vlažne.

Ove bakterije su otporne na promjene temperature, dobro podnose niske temperature (-70 do +40 °C) te tako u smrznutom pilećem mesu mogu preživjeti i do 3 mjeseca. Vrlo su osjetljive na isušivanje i na dezinficijense, kiselinu, te koncentraciju soli veću od 0,5%. Formalin i Natrijev hipoklorit mogu ih uništiti za 15 minuta. Kampilobakteri preferiraju rast na sluznici cekuma i debelog crijeva blizu površine epitelnih stanica gdje postoji kisik potreban za njihov stanični metabolizam, u koncentraciji pogodnoj za mikroaerofile.



Slika 1. *Campylobacter* sp. snimljen elektronskim mikroskopom

Izvor: <https://en.wikipedia.org/wiki/Campylobacteriosis>

Najčešće izdvajane vrste iz pasa su: *C. upsaliensis*, *C. jejuni*, *C. helveticus*.

C. upsaliensis prvenstveno se izdvaja iz pasa i mačaka. Rezultati nekih istraživanja ukazuju da se podjednako učestalo može izdvojiti iz izmeta zdravih pasa i pasa s proljevom, što ukazuje na moguću komenzalizam. Jedna studija iz SAD-a pokazala je da je *C. upsaliensis* druga najčešća vrsta kampilobaktera pronađen kod osoba s proljevom, nakon *C. jejuni* (LABARCA et al., 2002; LASTOVICA and LE ROUX, 2003; VANDENBERG et al., 2006). Međutim prava svojstva ove bakterije nisu skroz jasna, dijelom zbog toga što *C. upsaliensis* teško raste u laboratoriju (HALD i MADSEN, 1997; LOPEZ i sur., 2002).

C. jejuni je najčešće izdvojeni *Campylobacter* sp. ukupno i to kod različitih životinja, uključujući goveda, ovce, piliće, divlje ptice, svinje, pse i mačke (BROWN i sur., 2004., WORKMAN i sur., 2005., WILSON i sur., 2008). Može se izdvojiti i iz zdravih životinja, ali rjeđe. Postoje dvije podvrste *C. jejuni*: *C. jejuni* subsp. *jejuni*, koja je uzročnik infekcija u ljudi i životinja i *C. jejuni* subsp. *doylei* koja je nepatogena. Po fiziološkim osobinama *C. jejuni* subsp. *jejuni* slična je vrsti *C. coli* i teško se od nje razlikuje. Često je prisutna u crijevnom sadržaju različitih domaćih životinja, sisavaca i ptica, u kojima u povoljnim uvjetima može uzrokovati bolest.

C. helveticus je izdvojen iz domaćih pasa i mačaka. Iako je *C. helveticus* usko povezan s nastankom humanog patogena *C. upsaliensis*, nije prijavljen slučaj bolesti u ljudi uzrokovanih *C. helveticus*. Najčešće se izolira iz mačaka i povremeno iz pasa (KOENE i sur., 2008., ROSSI i sur., 2008.).

C. coli se može ustanoviti u izmetima zdravih životinja, također je utvrđen i u pasa i mačaka s proljevom. Najviše bio izdvojen iz svinja i u manjoj mjeri od pilića (WORKMAN i sur., 2005., STOYANCHEV i sur., 2007.).

2.1.2. Mehanizam patogenog djelovanja

U organizam kampilobakter ulazi peroralno i kolonizira gastrointestinalni trakt te uzrokuje enteritis tankog i debelog crijeva. Osjetljiv je na želučanu kiselinu pa je veća mogućnost infekcije hranom koja djeluje kao pufer, poput mesa ili one koja kroz želudac vrlo brzo prolazi, poput mlijeka ili vode. Patogeno djelovanje se prvo očituje nadvladavanjem obrambenih mehanizama mukozne membrane koja prekriva intestinalni epitel.

Da bi došlo do kolonizacije gastrointestinalnog sustava potrebno je da ingestijom uđe veliki broj bakterija. Veliki dio tih bakterija bit će uništen niskim pH u želudcu, pa će samo one bakterije koje uspiju preživjeti prolazak kroz želudac dospjeti u različite dijelove crijeva te se tamo prilijepiti na crijevne resice. Bakterije se tu umnažaju te proizvode enzim mucinazu uz pomoć koje penetriraju u mukoza. Čimbenicima virulencije poput enterotoksina i citotoksina, zatim prijanjanjem na stanicu i prodiranjem u nju djeluju na enterocite smanjujući njihovu funkciju i dovodeći do njihove destrukcije. Dokaz te invazivnosti bakterija su pojava krvi i leukocita u fecesu, kongestija sluznice crijeva, edem i pojava ulcera. Enterotoksin preko cikličkog AMP-a inducira akumulaciju tekućine i posljedični proljev, a na sličan način djeluje i citotoksin, koji djeluje poput enzima DNA-ze te uništava DNA i ometa sintezu proteina nužnih za opstanak stanice.

2.1.3. Klinička slika

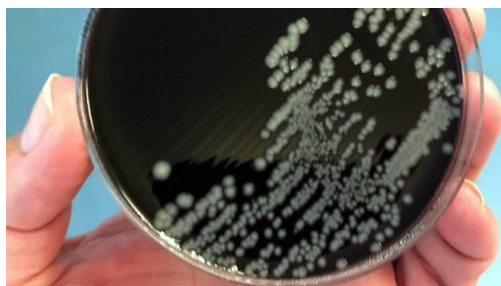
Tijek bolesti najčešće je akutan. Očituje se znakovima gastroenteritisa, a traje od 3 – 7 dana. Klinička slika kampilobakterioze u pasa je varijabilna. U blažem obliku se očituje mekanijom ili vodenastom stolicom, a u težem obliku hemoragičnim proljevom, letargijom, anoreksijom, bolnošću abdomena i vrućicom. Može se javiti anoreksija zbog gubitka apetita i povraćanja, dolazi do porasta temperature, također se mogu javiti nevoljkost, regurgitacija, limfadenitis i leukocitoza (MARKS, L.S., 2007.). Kod mladih životinja najčešće se očituje kao akutni vodenasti, sluzavi proljev s djelomičnom anoreksijom te ponekad povraćanjem. U mnogo slučajeva psi su subklinički nositelji *Campylobacter* sp.. Klinička slika je puno izraženija u štenaca mlađih od šest mjeseci ili kod mladih pasa u stresnom okruženju, kao što su azili, paralelne bolesti, transport, graviditet ili kirurški zahvat. U nekim slučajevima proljev

može trajati dva ili više tjedana, može čak biti prisutan i nekoliko mjeseci (GREENE, C. E. 2011). U pasa inficiranih ovom bakterijom može se javiti i pobačaj, ali vrlo rijetko. Drugi enteralni patogeni mikroorganizmi (*Parvovirus*, *Coronavirus*, *Salmonella*) ili paraziti (*Giardia*, *Toxocara*) mogu imati sinergističnu ulogu s *Campylobacter*.

2.1.4. Dijagnosticiranje

Bolest se objektivno dijagnosticira izdvajanjem *Campylobactersp.* iz izmeta. Značaj izdvajanja procijenjuje se na temelju prisutnosti drugih uzročnika gastroenteritisa i vrste izdvojenog kampilobaktera. Uspjeh izdvajanja ovisi o prikupljanju i skladištenju izmeta za pretragu. Bitno je da je uzorak svjež, uzorkovan istoga dana i pohranjen na temperature hladnjaka do dostave u laboratorij. Izmet je idealan materijal za pretragu, a ukoliko nam je nedostupan, pretražiti se može i obrisak rektuma, u kojem slučaju mora biti dobro natopljen sadržajem rektuma i transportiran u transportnom mediju sa dodatkom ugljena.

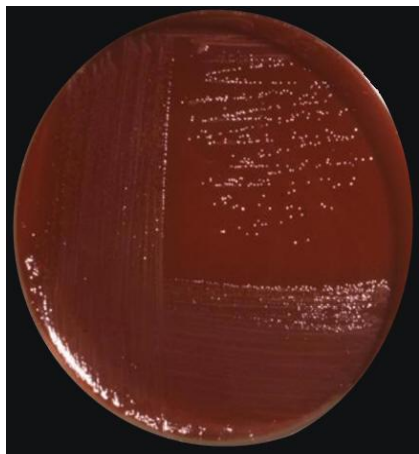
Izmet iz kojeg se izdvaja *Campylobacter sp.* je bogat drugim bakterijama, te se zato za izdvajanje iz takvih uzoraka koriste selektivne hranjive podloge s dodatkom antimikrobnih tvari (HABRUN, B., 2014). Za izdvajanje kampilobaktera koriste se dvije skupine selektivnih podloga: hranjive podloge koje sadržavaju krv ili hranjive podloge koje sadržavaju ugljen (mCCDA). Nakon naciepljivanja ploče se inkubiraju u mikroaerofilnim uvjetima na 42°C.



Slika 2. Izgled kolonija bakterije *Campylobacter sp.* na CCDA hranjivoj podlozi

Izvor: <https://www.stuff.co.nz/nelson-mail/news/105384960/raw-milk-warning-as-campylobacter-infections-rise>

Identifikacija *Campylobacter* sp. do razine roda izvodi se na temelju kulturelnih, morfoloških i biokemijskih svojstava. Kampilobakteri se bolje oboje karbol fuksinom nego bojanjem po Gramu, a mikroskopski u obojenom preparatu se mogu prepoznati zbog tipičnog izgleda poput galebovih krila. Vrsta bakterije određuje se molekularnim metodama. Za određivanje vrste kampilobaktera u primjeni je i visokosofisticirana analitička metoda za razdvajanje ioniziranih molekula na osnovu razlike u omjeru mase i naboja, matricom potpomognuta laser desorpcijska ionizacija (MALDI-TOF), metoda masene spektrofotometrije, koja u ispitivanjima točnosti daje 100%-tne rezultate prilikom potvrde vrste. (BESSEDE i sur., 2011). Klinički značaj izdvajanja kampilobaktera iz izmeta procjenjuje se s obzirom na anamnezu, kliničku sliku, vrstu bakterije i koinfekcije drugim mikroorganizmima i parazitima.



Slika 3. Izgled kolonija bakterije *Campylobacter* sp. na krvnom agaru

Izvor: <http://www.ppdictionary.com/bacteria/gnbac/jejuni.htm>

2.1.5. Liječenje

Proljev uzrokovan *Campylobacter* sp. obično je samoograničavajući i bez komplikacija. Liječenje je primarno potporno, dijetalna prehrana i rehidracija u lakšim slučajevima. Liječenje antibioticima je opravdano samo u slučajevima promijenjenog općeg stanja i/ili istodobne imunosupresije uzrokovane prisutnošću ili liječenjem drugih bolesti, povišene tjelesne temperature, i kronične kampilobakterioze koje ne prođe spontano (FOX, J.G., 2012.). Prilikom izdvajanja uzročnika trebamo imati u vidu da ne mora značiti da je on uzrok bolesti. U liječenju kampilobakterioze koriste se u prvom redu eritromicin i azitromicin

(makrolidi), zatim amoksisilin, streptomycin, neomicin, enrofloksacin i ciprofloksacin (fluorokinoloni). Fluorokinoloni se ne preporučuju koristiti u mladim životinja zbog njihovog štetnog učinka na hrskavicu u razvoju. Budući da se empirijsko liječenje proljeva antimikrobnim pripravcima općenito ne preporučuje, u slučaju sumnje na kampilobakteriozu uputno je napraviti pretragu i antibiogram na temelju kojeg, u slučaju potrebe, treba provesti liječenje.

2.1.6. Sprječavanje pojave i širenja bolesti:

Da bi spriječili pojavu i širenje bolesti u uzgojima pasa i azilima važno je provođenje općih profilaktičkih mjera kao što su higijena smještaja i hranidbe životinja, obavezno moramo izolirati životinje s proljevom i životinje koje se tek uvode u uzgoj. Hranu za životinje treba držati u nepropusnim kutijama zaštićenim od kontaminacije glodavcima i izmetima ptica. Osobe koje su u kontaktu s bolesnim životinjama i kliconošama trebaju paziti na osobnu higijenu, te obavezno prati ruke nakon kontakta sa životinjom. Imunoprofilaksa se ne provodi. Psi mogu izmetom izlučivati *Campylobacter* u okoliš i do 4 mjeseca nakon infekcije.

2.2. KAMPILOPAKTERIOZA U LJUDI

Bakterije roda *Campylobacter* najčešći su uzročnici gastroenteritisa u ljudi diljem svijeta (ADAK i sur., 2002., DEFRA, 2007.). U 2007. godini prijavljeno je 57 590 slučajeva u Ujedinjenom Kraljevstvu, što je povećanje od 10% u odnosu na prethodnu godinu (DEFRA, 2007.) i to uz pretpostavku da se mnogi slučajevi ne prijavljuju zbog samoograničavajuće prirode bolesti u većine ljudi (WHEELER i sur., 1999.) Najčešće izolirana vrsta u ljudi je *C. jejuni*. *Campylobacter* sp. je vodeći uzrok bakterijskog trovanja hranom u zemljama članicama Europske unije i u SAD-u, a salmoneloza je na drugom mjestu. U Hrvatskoj je salmoneloza učestalija od kampilobakterioze, koja je na drugom mjestu. Međutim, kampilobakterioza se javlja sve češće, najučestalije u ljetnim mjesecima. Najprimljiviju skupinu čine djeca mlađa od pet godina, zatim mladi u dobi od 15 do 29 godina, a češće obolijevaju muškarci nego žene (Hrvatska agencija za hranu - HAH). Učestalost pojave

humane kampilobakterioze u Hrvatskoj se počinje službeno pratiti 2007. godine i iz godine u godinu bilježi se porast broja oboljelih, prema podacima HZZJ-a. S ciljem sprječavanja bolesti ljudi u Hrvatskoj Uprava za veterinarstvo i sigurnost hrane provodi programe praćenja, otkrivanja i kontrole ovih bakterija, te njihovu otpornost na antimikrobne pripravke, u svim fazama proizvodnje, prerade i distribucije, također uključujući i hranu za životinje kako bi se smanjila njihova proširenost i rizik za javno zdravstvo. Najčešći uzročnici bolesti kod ljudi su *C.jejuni* (80%), *C.coli* (15%) i *C.upsaliensis* (5%) (BEGOVAC i sur., 2006.).

Kampilobakterioza pripada u skupinu alimentarnih infekcija. Izvori infekcije za ljude su termički neobrađene ili nedovoljno obrađene namirnice životinjskog porijekla i druge namirnice i površine kontaminirane njima, te kontaminirana voda. Poput *Salmonella* sp. i *Campylobacter* sp. se razmnožava u hrani, ali puno sporije i teže jer mu je za razvoj potrebna temperatura iznad 30°C. Hrana se može onečistiti primarno i sekundarno. Iz crijeva zaraženih životinja bakterija može doći u krv i tako dospjeti u sva tkiva, također tako se može proširiti i na mliječnu žlijezdu, pa ih životinja izlučuje mlijekom. Tako je zaraza moguća ako se konzumira nekuhano i nepasterizirano mlijeko. Jaja također mogu biti kontaminirana ako potječu od zaražene životinje. Sekundarno onečišćena hrana nastaje u klaonicama, mesnicama i kuhinjama ako meso zdrave životinje dođe u kontakt s crijevnim sadržajem ili mesom zaražene životinje. Do onečišćenja može doći i preko radnih površina, pribora, kada se ne pridržavaju stroga higijenska pravila u kontaktu s hranom. Zaraza je moguća i putem vode kao i kontaktom s čovjeka na čovjeka, naročito kod male djece (HAH). Mogući način širenja infekcije je i kontakt s različitim vrstama životinja, posebice kućnim ljubimcima s kojima ljudi žive u vrlo bliskom kontaktu, posebice mačke i psi (KAPPERUD i sur., 1992., ADAK i sur., 1995., TENKATE i STAFFORD, 2001.), također su utvrđene veze između kampilobakterioze u djece i uvođenja šteneta u kućanstvo (TENKATE i STAFFORD, 2001.). Djeca i imunokompromitirane osobe češće obole nakon kontakta sa štenecima ili mladim mačkama koji su rezervoari bakterija. Bakterije roda *Campylobacter* naseljavaju crijevni trakt peradi, a tijekom klaoničke obrade trupova može doći do njihove kontaminacije s fekalnim sadržajem. Jedan od osnovnih putova prijenosa infekcije u ljudi upravo je križna kontaminacija tijekom pripreme mesa peradi. Kontrola bakterija roda *Campylobacter* u mesu peradi dio je globalne strategije zaštite zdravlja ljudi (HAH, 2015/2016), farme goveda i ovaca također su mogući rezervoari infekcije. Ptice selice i vodene ptice također su izvor zaraze za ljude i domaće životinje zbog dugog subkliničkog izlučivanja uzročnika, one

također kontaminiraju vodu, igrališta i parkove (KAPPERUD i sur., 1983.), a izdvojeni su i iz mulja i pijeska na plažama (BOLTON i sur., 1999.)

Inkubacija kampilobakterioze u ljudi traje od 3 do 5 dana, nakon toga se javljaju povišena tjelesna temperatura, bolovi u trbuhu, grčevi, dehidracija, glavobolja, bol u mišićima i proljev. Proljev može činiti samo malo mekša stolica, ili može biti profuzan, vodenast, pastozan, a mogu biti prisutni i tragovi krvi, praćeni mučninom i povraćanjem. Nakon nekoliko dana može doći i do pojave kožnog osipa, te febrilnih konvulzija (BEGOVAC i sur., 2006.). Bolest obično traje 3 do 7 dana. Teža klinička slika može se javiti kod dojenčadi, male djece, starijih te odraslih osoba koje boluju od teških kroničnih bolesti zbog kojih im je oslabljen imunitet. iako rijetko moguće su i komplikacije poput bakterijemije, hepatitisa, reaktivnog artritisa, Guillian – Barreov sindrom (postinfekcijska kljenut mišića), spontani pobačaj (DENNEBERG i sur., 1982., FEODORROFF i sur., 2009.) osobe koje su jednom bile izložene infekciji postaju donekle imune, pa se u slučaju ponovljene zaraze simptomi očituju u puno lakšem obliku.

Budući da su kampilobakteri ubikvitarni mikroorganizmi s mnogo izvora i mnogo rezervoara u okolišu, nije moguće potpuno spriječiti kontakt s izvorima infekcije, ali može se smanjiti mogućnost infekcije na minimum. Najučinkovitije mjere protiv infekcije kampilobakterom su osobna higijena, higijena kuhinja, pravilna termička obrada sirovog mesa i pravilno skladištenje. Radi sprječavanja širenja svih fekooralnih infekcija sa životinja na ljude važna je higijena ruku nakon kontakta sa životinjama kao i uklanjanje izmeta s javnih površina i odgovorno ponašanje vlasnika, što se odnosi i na zdrave životinje, budući da i zdrave životinje mogu izlučivati patogen.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Prikupljanje i pretraživanje uzoraka

Uzorci izmeta prikupljeni su od zdravih životinja i životinja s proljevom različite dobi.

Pretrage izmeta pasa na *Campylobacter* sp. napravljene su u Laboratoriju za dijagnostiku bakterijskih bolesti konja Zavoda za mikrobiologiju i zarazne bolesti s klinikom, Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

Uzorci su naciepljeni unutar šest sati od uzorkovanja na modificirani deoksikolat agar (mCCDA). Naciepljene hranjive podloge inkubirane su u mikroaerofilnim uvjetima (2-10% ugljičnog dioksida i 84% dušika) pri 41°C tijekom 98 sati, s time da su prvi puta pregledavane nakon 48 sati inkubacije.

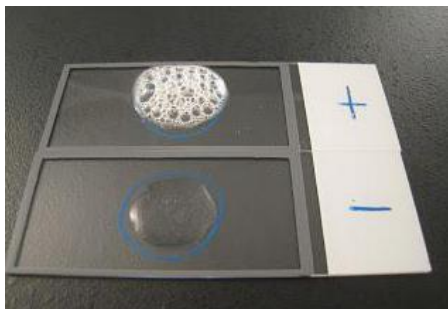
3.2. Identifikacija bakterija

Primarna identifikacija poraslih kolonija do razine roda provedena je na temelju izgleda kolonija, mikroskopskog izgleda bakterija i biokemijskih svojstava (prisutnost enzima oksidaze i katalaze te mogućnost hidrolize hipurata). Dvadeset izolata identificirano je do razine vrste MALDI-tof masenom spektrometrijom (eng. Matrix-Assisted Laser Deionisation (MALDI) Time of Flight (TOF)).

Identifikacija *Campylobacter* sp. na temelju mikroskopskih karakteristika odnosi se na morfologiju bakterijskih stanica, ta na njihovom tipičnom obliku zavojitih ili zakrivljenih štapića (MIKULIĆ i sur., 2017.), često oblika galebovih krila.

Oksidaza test je postupak za određivanje prisutnosti, odnosno odsutnosti aktivnosti enzima citokrom oksidaze u bakterijama. Komercijalno su dostupne oksidaza trakice na kojima se testovi izvode prema uputama proizvođača, na oksidaza trakicu se nanese kolonija bakterije i kroz nekoliko sekundi se očituje pozitivna reakcija pojavom ljubičasto plave boje, ili negativna reakcija odsustvom pojave boje.

Prilikom izvođenja katalaza testa ezom nanosimo koloniju bakterije na predmetno stakalce i zatim dodamo kap 3% hidrogen peroksida. Ako bakterije imaju enzim katalazu doći će do oslobađanja kisika, što se na predmetnom stakalcu vidi kao formiranje mjehurića.



Slika 4. Pozitivni i negativni katalaza test

Izvor: <https://hr.erch2014.com/obrazovanie/85654-ferment-katalaza-osnovnye-osobennosti.html>

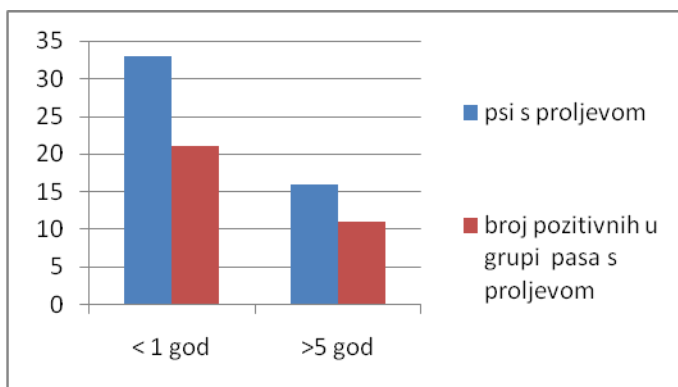
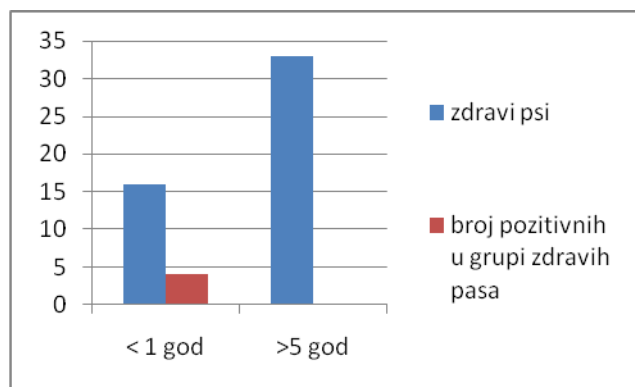
4. REZULTATI

Izmet je uzorkovan od 70 pasa s proljevom i 70 zdravih pasa. Unutar skupine pasa s proljevom, 31 (44,3%) pas je bio mlađi od godine dana, a 39 (55,7%) pasa starije od godine dana. Unutar skupine zdravih pasa, 16 (22,9%) pasa bilo je mlađe od godine dana, a 54 (77,1%) pasa starije od godine dana.



Slika 5. i 6. Grafički prikaz raspodjele uzorkovanih pasa po dobi u skupini pasa s proljevom i u skupini zdravih pasa

Campylobacter spp. je izdvojen iz 51/140 (36,4%) uzoraka izmeta svih pasa. U skupini pasa s proljevom *Campylobacter sp.* izdvojen je iz ukupno 47/70 (67,1%) pasa, od čega iz 21/31 (67,7%) u skupini pasa mlađih od godinu dana, a 26/39 (66,7%) u skupini pasa starijih od godinu dana. U skupini zdravih pasa *Campylobacter sp.* je izdvojen iz 4/70 (5,7%) mlađih od godinu dana, dok iz pasa starijih od jedne godine *kampilobakter* nije izdvojen. *Campylobacter sp.* značajno je češće izdvojen iz pasa sa proljevom nego iz zdravih pasa ($p<0,01$). U skupini zdravih pasa češće je izdvojen iz pasa mlađih od godine dana ($p<0,01$). U skupini pasa s proljevom nije utvrđena razlika u učestalosti izlučivanja između dobnih skupina.



Slika 7. i 8. Grafički prikaz pozitivnih/negativnih unutar skupina zdravih pasa i pasa s proljevom.

Dvadeset izolata iz pasa s proljevom je MALDI-tof masenom spektrometrijom identificirano kao *C. jejuni*.

5. RASPRAVA

U ovom istraživanju *Campylobacter* sp. izdvojen je iz 36,4% pretraženih pasa. Značajnije veća učestalost izdvajanja je zabilježena u pasa s proljevom (67,1%) u odnosu na zdrave pse (5,7%). U jednom istraživanju je uzročnik dokazan u 56% pretraživanih zdravih pasa (ENGVALL i sur.,2003.), dok je u drugom istraživanju izlučivanje navedene bakterije dokazano u 47% kod pasa s proljevom (SANDSTEDT i sur., 1983.). Nedavna istraživanja pokazala su da je *C. jejuni* bio najbrojnija vrsta kod pasa s proljevom te da je *C.upsaliensis* prevladavao u zdravih pasa (ACKE i sur., 2009).

U ovom istraživanju je *Campylobacter* sp. značajno češće izdvojen iz pasa sa proljevom nego iz zdravih pasa. U skupini zdravih pasa češće je izdvojen iz pasa mlađih od godine dana ($p<0,01$). U skupini pasa s proljevom nije utvrđena razlika u učestalosti izlučivanja između dobnih skupina.

Mladi psi često izlučuju *C. upsaliensis* izmetom i u odsutnosti proljeva, pa je moguće da je ta vrsta komenzal u probavnom sustavu štenadi i mladih pasa. Veća učestalost izlučivanja kampilobaktera u mladih pasa može biti i posljedica veće izloženosti mladih životinja feko oralnim infekcijama radi znatiželjnog ponašanja i ingestije tuđeg izmeta, te zbog nerazvijenosti imunostnog sustava. Premda se često pretpostavlja da je kliničko očitovanje infekcije u mladih životinja češće (MARKS i sur., 2011), činjenica da je *Campylobacter* sp. u ovom istraživanju bio jednako često izdvojen iz pasa s proljevom svih dobnih kategorija, dovodi u pitanje tu tvrdnju. Za pretpostaviti je da navedeno ovisi o tome o kojoj se vrsti kampilobaktera radi. U Danskoj u jednom istraživanju je *Campylobacter* sp. izoliran iz svih pasa u dobi do šest mjeseci, što ukazuje na mogućnost da je *Campylobacter* sp. dio fiziološke crijevne mikroflore mladih pasa, te da se rezervoarom bolesti ne trebaju smatrati samo psi s proljevom (HALD i sur.,2004.).

Budući da se klinički značaj izdvojenog kampilobaktera osim na temelju kliničke slike i komorbiditeta, može procijeniti ponajprije ovisno o njegovoj vrsti, prilikom izdvajanja vrlo je bitno odrediti vrstu bakterije.

Čimbenici rizika za izlučivanje kampilobaktera i razvoj bolesti su život u aglomeracijama poput azila i uzgajivačnica koji omogućuje lakše širenje infekcije stres, izloženost vodama stajaćicama mlađa dob, te istodobne infekcije drugim uzročnicima. Godine 1983. u Švedskoj iz uzoraka izmeta pasa s proljevom, te iz životinja bez kliničkih znakova bolesti izdvojena je tada nova vrsta koja je nazvana *C.upsaliensis* (SANDSTEDT i sur.,1983.). *C.upsaliensis* je vrsta koja se najčešće izdvaja iz pasa, osobito u Velikoj Britaniji i Europi (SANDBERG i sur., 2002., ENGVALL i sur., 2003., HALD i sur., 2004., WIELAND i sur., 2005., ROSSI i sur., 2008., ACKE i sur., 2009.). Neke su studije otkrile da je *C.jejuni* najviše izolirana vrsta u pasa izvan Europe (HALD i MADSEN, 1997., LOPEZ i sur.,2002., TSAI i sur., 2007.). Ostale vrste kao što su *C.coli* i *C.lari* također su izolirani od pasa ali u vrlo malim količinama (ENGVALI i sur., 2003., HALD 2004., TSAI i sur. 2007., KOENE i sur. 2008., ROSSI i sur. 2008.).

Svih 20 izolata poslanih na identifikaciju vrste je bilo identificirano kao *C.jejuni*, što se podudara s drugim autorima. *C.jejuni* je vodeći uzrok bolesti crijeva kod ljudi i životinja, druga najčešća vrsta u pasa *C.upsaliensis* kod nas nije izdvojena, moguće i zbog ranije u tekstu navedenog teškog uzgoja tog kampilobaktera u laboratoriju (HALD i MADSEN,1997; LOPEZ i sur.,2002). U jednom istraživanju povezanosti humane kampilobakterioze s kućnim ljubimcima, molekularnim dijagnostičkim tehnikama utvrđeno je izdvajanje istih sojeva *C.jejuni* kod kućnih ljubimaca i njihovih vlasnika. Stoga veterinari trebaju upozoriti vlasnike na zoonotski potencijal kampilobaktera za druge članove kućanstva i naglasiti važnost provođenja odgovarajućih higijenskih mjera, osobito kada kućni ljubimci imaju proljev (GREENE, 2011.). U jednom istraživanju je izdvojen *C.upsaliensis* iz čovjeka s krvavim proljevom, kao i kod njegovog psa, koji je također imao proljev (GREENE, 2011.), druga istraživanja su također govorila o gastroenteritisu kod ljudi uzrokovanog s *C.upsaliensis*, kao i kod njihovih kućnih ljubimaca (GREENE, 2011.).

Veća učestalost izdvajanja kampilobaktera iz pasa s proljevom u ovom istraživanju vjerojatno je posljedica dominacije vrste *C.jejuni* koje su bili svi izdvojeni izolati. Navedeno naglašava potrebu za identifikacijom vrste kampilobaktera većeg broja izolata da bi se sa većom sigurnošću potvrdili ishodi ovog istraživanja.

Ovo istraživanja predstavlja temelj za daljnja istraživanja kampilobakterioze pasa, s naglaskom na identifikaciju više izdvojenih izolata, određivanje njihove osjetljivosti na antimikrobne tvari te istraživanja rizika od prijenosa infekcije s kućnih ljubimaca na ljude.

6. ZAKLJUČCI

1. *Campylobacter* sp. izdvojen je značajno češće iz pasa s proljevom nego iz zdravih pasa.
2. Učestalost izlučivanja *Campylobacter* sp. u pasa s proljevom vrlo je visoka.
3. Učestalost izlučivanja *Campylobacter* sp. u pasa s proljevom neovisna je o dobi životinje.
4. Zdravi psi češće izlučuju *Campylobacter* sp. u dobi mlađoj od godinu dana.
5. Značajna uloga *Campylobacter* sp. u etiologiji proljeva ustanovljena ovim istraživanjem vjerojatno je posljedica dominacije vrste *C. jejuni*, dok je u istraživanjima čiji rezultati upućuju nakomenzalizam kampilobaktera i samim time preispituju njegov klinički značaj, najčešća vrsta bila *C. upsaliensis*.
6. Vrlo je bitna identifikacija vrste kampilobaktera izdvojenih iz pasa s proljevom.
7. Za ljude najveći rizik predstavlja kontakt sa psima s proljevom neovisno o dobi pasa i sa zdravim psima u dobi mlađoj od godine dana.

7. LITERATURA

1. ACKE, E., K. MCGILL, O. GOLDEN, B.R. JONES, S. FANNING, P. WHYTE (2009): Prevalence of thermophilic *Campylobacter* species in household cats and dogs in Ireland. *Vet Rec* (164), 44-47.
2. ADAK, G.K., J.M. COWDEN, S. NICHOLAS, H.S. EVANS (1995): The Public Health Laboratory Service national case-control study of primary indigenous sporadic cases of *Campylobacter* infection. *Epidemiol Infect* (115), 15-22.
3. ANDRZEJEWSKA, M., J.J. KLAWE, B. SZCZEPANSKA, D. SPICA (2011): Occurrence of virulence genes among *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from domestic animals and children. *Pol J Vet Sci*. 14(2), 207 – 211.
4. BEGOVAC, J., D. BOŽINOVIĆ, M. LISIĆ, B. BARŠIĆ, S. SCHÖNWALD (2006): *A.C. jejuni* i srodne vrste. *Infektologija*, I izdanje, Profil, Zagreb. str. 610 – 611.
5. BESSEDE E., O. SOLECKI, E. SIFRE, L. LABADI, F. MEGRAUD (2011): Identification of *Campylobacter* species and related organisms by matrix assisted laser desorption ionization – time of flight (MALDI – TOF) mass spectrometry. *Clin Microbiol Infect*. 17(11), 1735-9.
6. BOLTON, F.J., SB. SURMAN, K. MARTIN, D. WAREING, T. HUMPHREY (1999): Presence of campylobacter and salmonella in sand from bathing beaches. *Epidemiol infect* (122), 7 – 13
7. BROWN, P.E., O.F. CHRISTENSEN, H.E. CLOUGH, P.J. DIGGLE, C.A. HART, S. HAZEL, R. KEMP, A.J. LEATHERBARROW, A. MOORE, J. SUTHERST, J. TURNER, N.J. WILLIAMS, E.J. WRIGHT, N.P. FRENCH (2004): Frequency and spatial distribution of environmental *Campylobacter* spp. *Appl Environ Microbiol* (70), 6501-6511.
8. COKER, A.O., R.D. ISOKPEHI, BN. THOMAS, KO. AMISU, CL. OBI (2002): Human campylobacteriosis in developing countries. *Emerg Infect Dis*. 8(3), 237-44.
9. CVETNIĆ, S. (2002): Bakterijske i gljivične bolesti životinja. Medicinska naklada, Zagreb. str 136-138
10. CVETNIĆ, Ž. (2013): Bakterijske i gljivične zoonoze životinja. Medicinska naklada, Zagreb. str. 64 – 71.

11. DEFRA, (2007): Zoonoses Report United Kingdom (2007):
12. DENNEBERG, T., M. FRIEDBERG, L. HOLMBERG, C. MATHIASSEN, K.O. NILSSON, R. TAKOLANDER, M. WALDER (1982): Combined plasmapheresis and hemodialysis treatment for severe hemolytic-uremic syndrome following *Campylobacter colitis*. *Acta Paediatr Scand* (71), 243-245
13. ENGBERG, J., F. M. AARESTRUP, D. E. TAYLOR, P. GERNER – SMIDT, I. NACHAMKIN (2001): Quinolone and macrolide resistance in *Campylobacter jejuni* and *C. coli*: resistance mechanisms and trends in human isolates. *Emerg Infect Dis.* 7(1), 24-34.
14. ENGVALL, E. O., B. BRANDSTROM, L. ANDERSSON, V. BAVERUD, G. TROWALD – WIGH, L. ENGLUND (2003): Isolation and identification of thermophilic *Campylobacter* species in faecal samples from swedish dogs. *Scand J Infect Dis.* 35(10), 713-8.
15. FEODOROFF, F.B., A.R. LAUHIO, S.J. SARNA, M.L. HANNINEN, H.I. RAUTELIN (2009). Severe diarrhoea caused by highly ciprofloxacin-susceptible *Campylobacter* isolates. *Clin Microbiol Infect*
16. FOX, J.G. (2012): Infectious Diseases of the Dog and Cat. Enteric Bacterial Infections. 4th Edition
17. GREENE, C. E. (2011): Infectious Diseases of the Dog and Cat, 4th Edition, Elsevier, Saunders. 37, 370 – 374.
18. HABRUN, B. (2014): Klinička veterinarska bakteriologija. Medicinska naklada, Zagreb. str. 274 – 281
19. HAH (Hrvatska agencija za hranu): Godišnje izvješće o zoonozama u Hrvatskoj za 2015./16. godinu. str 21 – 23.
20. HALD, B., K. PEDERSEN, M. WAINO, J.C. JORGENSEN, M. MADSEN (2004): Longitudinal study of the excretion patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. in young pet dogs in Denmark. *J Clin Microbiol* (42), 2003-2012.
21. HALD, B., M. MADSEN (1997): Healthy Puppies and Kittens as Carriers of *Campylobacter* spp., with Special Reference to *Campylobacter upsaliensis*. *J Clin Microbiol.* 35(12), 3351-2.
<http://www.defra.gov.uk/foodfarm/farmanimal/diseases/atoz/zoonoses/documents/reports/zoonoses2007.pdf> Accessed 30 September 2009.

22. HUMPHREY, T., SARAH O'BRIEN, MOGENS MADSEN (2007): *Campylobacters* as zoonotic pathogens: A food production perspective. *Int J Food Microbiol.* 117(3), 237 – 57.
23. KAPPERUD, G., E. SKJERVE, N.H. BEAN, S.M. OSTROFF, J. LASSEN (1992): Risk factors for sporadic *Campylobacter* infections: results of a case-control study in southeastern Norway. *J Clin Microbiol* (30), 3117-3121.
24. KOENE, M.G., D.J. HOUWERS, J.R. DIJKSTRA, B. DUIM, J.A. WAGENAAR (2008): Simultaneous presence of multiple *Campylobacter* species in dogs. *J Clin Microbiol* (42), 819-821.
25. LABARCA, J.A., J. STURGEON, L. BORENSTEIN, N. SALEM, S.M. HARVEY, E. LEHNKERING, R. REPORTER, L. MASCOLA (2002): *Campylobacter upsaliensis*. *Clin Infect Dis* (34), 59-60.
26. LASTOVICA, A.J., E. LE ROUX (2003): Prevalence and optimal detection of *C. upsaliensis* in stool specimens. *Clin Infect Dis* (36), 1624-1625.
27. LOPEZ, C.M., G. GIACOBONI, A. AGOSTINI, F.J. CORNERO, D.M. TELLECHEA, J.J. TRINIDAD (2002): Thermotolerant *Campylobacters* in domestic animals in a defined population in Buenos Aires, Argentina. *Prev Vet Med* (55), 193-200.
28. MADIĆ, J., LJ. PINTER, T. NAGLIĆ, D. HAJSIG (2005): Veterinarska mikrobiologija – specijalna bakteriologija i mikologija. Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu / Hrvatsko mikrobiološko društvo, Zagreb. str. 103 – 108.
29. MARINCULIĆ, A., B. HABRUN, LJ. BARBIĆ, R. BECK (2009): Biološke opasnosti u hrani. Hrvatska agencija za hranu (HAH), Grafika d.o.o., Osijek. str. 17 – 19.
30. MARKS, L. S., S. C. RANKIN, B. A. BYRNE, J. S. WEESE (2011): Enteropathogenic Bacteria in Dogs and Cats: Diagnosis, Epidemiology, Treatment and Control. *J Vet Intern Med.* 25 (6), 1195 – 1208.
31. MIKULIĆ, M., A. HUMSKI, B. NJARI, D. STOJEVIĆ, L. JURINOVIĆ, S. ŠPIČIĆ, S. DUVNJAK, Ž. CVETNIĆ: VETERINARSKA STANICA 48 (4), (2017): Metode izdvajanja i dokazivanja bakterija roda *Campylobacter* – klasične i molekularne metode.
32. MORGAN, R.V. (2007): Handbook of small animal practice. 5th Edition. Saunders. 113, str. 1105.
33. MUGHINI, G., J. H. SMID, J. WAGENAAR, J. KOENE, A. HAVELAAR, M. FRIESEMA, N. FRENCH, C. FLEMMING, J. D. GALSON, C. GRAZIANI, L.

- BUSAN, W. VAN PELT (2013): Increased risk of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* infection of pet origin in dog owners and evidence for genetic association between strains causing infection in humans and their pets. *Epidemiol Infect.* 141(12), 2526-35.
34. PARSONS, B. N. (2010): The epidemiology of *Campylobacter* Infection in Dogs in the Context of Risk of Infection to Humans. Disertacija. Department of Veterinary Pathology. University of Liverpool.
35. POTOČNJAK D., D. STANIN, N. TURK (2010): Bolesti probavnog sustava pasa i mačaka. Medicinska naklada, Zagreb.
36. REES, J. H., S. E. SOUDAIN, N. A. GREGSON, R. A. HUGHES (1995): *Campylobacter jejuni* infection and Guillain – Barré syndrome. *N Eng J Med.* 333(21), 1374 – 9.
37. ROSSI, M., M.L. HANNINEN, J. REVEZ, M. HANNULA, R.G. ZANONI (2008): Occurrence and species level diagnostics of *Campylobacter* spp., enteric *Helicobacter* spp. and *Anaerobiospirillum* spp. in healthy and diarrheic dogs and cats. *Vet Microbiol* (129), 304 – 314
38. SANDBERG, M., B. BERGSJØ, M. HOFSHAGEN, E. SKJERVE, H. KRUSE (2002): Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. *Prev Vet Med.* 55(4), 241 – 253.
39. SANDSTEDT, K., J. URSING, M. WALDER (1983): Thermotolerant *Campylobacter* with no or weak catalase activity isolated from dogs. *Current Microbiology.* str. 209 – 213.
40. SEBALD, M., M. VERON (1963): Base DNA Content and Classification of *Vibrios*. *Ann Inst Pasteur, Paris* 105, 897-910
41. STOYANCHEV, T., I. VASHIN, C. RING, V. ATANASSOVA (2007): Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry products for sale on the Bulgarian retail market. *Antonie Van Leeuwenhoek* (92), 285-288.
42. TENKATE, T.D., R.J. STAFFORD (2001): Risk factors for *Campylobacter* infection in infants and young children: a matched case-control study. *Epidemiol Infect* (127), 399-404.
43. TORRE, E., M. TELIO (1993): Factors influencing fecal shedding of *Campylobacter jejuni* in dogs without diarrhea. *American Journal of Veterinary Research.* 54(2), 241 – 253.

44. TSAI, H.J., H.C. HUANG, C.M. LIN, Y.Y. LIEN, C.H. CHOU (2007): Salmonellae and Campylobacters in Household and Stray Dogs in Northern Taiwan. *Vet Res Commun* (31), 931-939.
45. VANDAMME, P., E. FALSEN, E. ROSSAU, R. HOSTE, B. SEGERS, P. TYTGAT, R. DE LEY (1991): Revision of *Campylobacter*, *Helicobacter*, and *Wolinella* taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of *Arcobacter* gen. nov. *Int J Syst Bacteriol* (41), 88 -103.
46. VANDENBERG, O., K. HOUF, N. DOUAT, L. VLAES, P. RETORE, J.P. BUTZLER, A. DEDISTE (2006): Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of non-jejuni/coli *Campylobacters* and *arcobacters* from Belgium. *J Antimicrob Chemother* (57), 908-913.
47. WEESE, J. S., M. FULFORD (2011): Companion animal zoonoses. Wiley-Blackwell. First Edition. str. 126 – 132.
48. WHEELER, J.G., D. SETHI, J.M. COWDEN, P.G. WALL, L.C. RODRIGUES, D.S. TOMPKINS, M.J. HUDSON, P.J. RODERICK (1999): Study of infectious intestinal disease in England: rates in the community, presenting to general practice, and reported to national surveillance. The Infectious Intestinal Disease Study Executive. *Bmj* (318), 1046-1050.
49. WIELAND, B., G. REGULA, J. DANUSER, M. WITTEW, A.P. BURNENS, T.M. WASSENAAR, K.D. STARK (2005): *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Switzerland: risk factor analysis and molecular characterization with AFLP. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health* (52), 183-189.
50. WILSON, D.J., E. GABRIEL, A.J. LEATHERBARROW, J. CHEESBROUGH, S. GEE, E. BOLTON, A. FOX, C.A. HART, P.J. DIGGLE, P. FEARNHEAD (2008): Rapid evolution and the importance of recombination to the gastroenteric pathogen *Campylobacter jejuni*. *Mol Biol Evol* (26), 385-397.
51. WORKMAN, S.N., G.E. MATHISON, M.C. LAVOIE (2005): Pet dogs and chicken meat as reservoirs of *Campylobacter* spp. in Barbados. *J Clin Microbiol* (43), 2642-2650.

8. SAŽETAK

Doris Švob

Određivanje učestalosti izlučivanja bakterija roda *Campylobacter* u zdravih pasa i pasa s proljevom

Bakterije roda *Campylobacter* sp. imaju važnu ulogu u etiologiji zaraznih enteritisa pasa, drugih vrsta životinja, ali i ljudi. Životinje koje izlučuju ovu bakteriju izmetom predstavljaju izvor infekcije za druge životinje i ljude.

Kampilobakterioza je zoonoza, bolest koja se na čovjeka prenosi sa životinja i proizvoda životinjskog podrijetla. Iako se meso peradi i goveda smatra glavnim izvorom bolesti, izvor također može biti i izmet pasa, a bakteriju mogu izlučivati i zdravi psi. Izvor infekcije za pse predstavljaju kontaminirana hrana, voda i okoliš, kontakt s izmetom inficiranih životinja, a zaraza se širi feko oralno. Čimbenici rizika od infekcije u pasa su izloženost vodama stajaćicama te život u aglomeracijama poput azila i uzgajivačnica koji omogućuje lakše širenje infekcije. Veća učestalost kliničkog očitovanja bolesti u štenadi i mladih pasa je najvjerojatnije posljedica slabijeg razvitka imunog sustava. Klinički bolest se očituje nespecifičnim znakovima gastroenteritisa, a infekcija može biti i subklinička, kada životinje izlučuju uzročnika izmetom. Kampilobakterioza je vodeća bakterijska zoonoza povezana s trovanjem hranom u zemljama Europske unije, dok je u Hrvatskoj i dalje na prvom mjestu salmoneloza, ali je kampilobakterioza odmah na drugom mjestu.

Ciljevi ovog istraživanja bili su utvrditi i usporediti učestalosti izdvajanja kampilobaktera iz zdravih pasa i pasa s proljevom, utvrditi i usporediti učestalosti izdvajanja kampilobaktera unutar dobnih skupina, te identificirati vrstu izdvojenih kampilobaktera.

U istraživanje određivanja učestalosti izlučivanja bakterija roda *Campylobacter* u pasa uključeno je 70 pasa s proljevom i 70 zdravih pasa te su podijeljeni u dvije dobne skupine: mlađe od godinu dana i starije od godinu dana.

Od ukupno 140 pretraživanih uzoraka izmeta pasa, iz njih 36,4% su izdvojene bakterije roda *Campylobacter*. U skupini pasa s proljevom 67,1% pasa je bilo pozitivno, a u skupini zdravih pasa 5,7%. Značajno je češće izdvojen iz pasa sa proljevom nego iz zdravih pasa ($p < 0,01$). U skupini zdravih pasa češće je izdvojen iz pasa mlađih od godine dana ($p < 0,01$). U skupini pasa s proljevom nije bilo razlike između dobnih skupina. Svi pohranjeni izolati porijeklom od pasa s proljevom identificirani su MALDI-TOF metodom kao vrsta *C. jejuni*. Rezultati istraživanja govore u prilog tome da je učestalost izlučivanja kampilobaktera u pasa velika, posebice u pasa s proljevom. Unutar skupine zdravih životinja veća učestalost izlučivanja uzročnika utvrđena je u pasa mlađih od godinu dana, što treba imati na umu posebice ako životinje dolaze u kontakt s djecom ili imunokompromitiranim osobama.

Ključne riječi: *Campylobacter* sp., pas, gastroenteritis, zoonoza.

9. SUMMARY

Doris Švob

Prevalence of *Campylobacter* sp. shedding in healthy dog and dogs with diarrhea

Campylobacter sp. have an important role in the etiology of contagious enteritis of dogs, other species of animals, but also of humans. Animals that excrete this bacterium by feces are a source of infection for other animals and humans.

Campylobacteriosis is zoonoses, a disease that is transmitted to humans from animals and animal products. Although poultry and cattle are considered the main source of disease, the source can be feces of dogs and also bacterium can be excreted by healthy dogs. The source of the infection in dogs is contaminated food, water, environment, contact with feces of infected animals and the infection spreads faeco oral way. Factors of the risk of infection in dogs are exposure to water retention and life in agglomerations such as asylum and kennel that makes it easier to spread the infection. The higher incidence of clinical manifestation of disease in puppies and young dogs is most likely a consequence of weaker immune system development. Clinical illness is manifested by nonspecific signs of gastroenteritis, and the infection may be subclinical when animals excrete *Campylobacter* sp. by faeces. Campylobacteriosis is the leading bacterial zoonosis associated with food poisoning in European Union countries, while in Croatia in the first place is salmonella, but campylobacteriosis is in the second place.

The aim of this study was to establish and compare the frequency of separation of campylobacter from healthy dogs and dogs with diarrhea, to determine and compare the frequency of campylobacter isolation within age groups and to identify the type of isolated campylobacter.

In the study of the rate of excretion of bacterial strains of *Campylobacter* in dogs, 70 dogs with diarrhea and 70 healthy dogs were included and were divided into two age groups: younger than one year and older than one year.

Out of a total of 140 examined samples of feces, 36.4% tested positive. In the group of dogs with a diarrhea, 67.1% was positive and in the group of healthy dogs 5.7%. It is significantly more common in dogs with diarrhea than in healthy dogs ($p < 0.01$). In the group of healthy dogs it is more commonly isolated from dogs under the age of one year ($p < 0.01$). In dogs with diarrhea there was no difference between the age groups. All stored isolates of dogs with diarrhea were identified by the MALDI-TOF method as *C. jejuni* species. The results of the study suggest that the incidence of *Campylobacter* sp. shedding in dogs is high, especially in diarrheic dogs. Within the group of healthy animals, a higher incidence of shedding has been found in dogs under one year old. That should be kept in mind, especially when animals come into contact with children or immunocompromised people.

Key words: *Campylobacter* sp., dog, gastroenteritis, zoonoses

10. ŽIVOTOPIS:

Rođena sam 14. 02. 1989. godine u Zagrebu, Hrvatska. U Zagrebu sam završila osnovnu školu, te maturirala u Poljoprivrednoj školi Zagreb 2007. Nakon završetka srednje škole upisala sam Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Za vrijeme studija shvatila sam da me zanimaju zarazne bolesti, te sam radi stjecanja dodatnog praktičnog iskustva, volontirala na Klinici za zarazne bolesti Veterinarskog fakulteta u Zagrebu. Aktivno sam sudjelovala na raznim simpozijima i radionicama (VETERINARSKI DANI 2014., Opatija; Annual Meeting of the Slovene Dermatology Study Group 2014., Portorož; FECAVA 2015., München; WSAVA 2015., Bangkok; IX international symposium of small animal diseases 2015., Sarajevo; Veterinarski seminar male prakse, 2015., Zagreb; Veterinarski seminar male prakse, 2016., Zagreb; Veterinary science and profession, 2017., Zagreb na kojem sam aktivno sudjelovala s predavanjem pod naslovom "Isolation and species identification of *Campylobacter* pp. from healthy and diarrheic dogs"). Također 2012. godine u Zagrebu dobila sam Dekanovu nagradu za znanstveni studentski rad pod naslovom Biokemijski parametri prilikom pojave katarakte u pasa.