

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego

w Warszawie

Instytut Medycyny Weterynaryjnej

Lek. wet. Piotr Kwieciński

**Analiza występowania bakterii z rodzaju
Campylobacter na różnych etapach produkcji mięsa
drobiowego – aspekt ochrony zdrowia publicznego**

*Analysis of the occurrence of bacteria of the genus *Campylobacter* at different
stages of poultry meat production – a public health protection issue*

Praca doktorska

Doctoral thesis

Praca wykonana pod kierunkiem

Prof. dr hab. Krzysztofa Anusza

w Katedrze Higieny Żywności
i Ochrony Zdrowia Publicznego

Promotor pomocniczy

Dr hab. Agnieszka Jackowska – Tracz

Warszawa 2024

Oświadczenie promotora pracy

Oświadczam, że niniejsza praca została przygotowana pod moim kierunkiem i stwierdzam, że spełnia ona warunki do przedstawienia jej w postępowaniu o nadanie stopnia naukowego.

Data 21.11.2024r.

Podpis promotora pracy Krzysztof Anus

Oświadczenie autora pracy

Świadom odpowiedzialności prawnej oświadczam, że niniejsza praca doktorska została napisana przeze mnie samodzielnie i nie zawiera treści uzyskanych w sposób niezgodny z obowiązującymi przepisami.

Oświadczam również, że przedstawiona praca nie była wcześniej przedmiotem procedur związanych z uzyskaniem stopnia naukowego wyższej uczelni.

Oświadczam ponadto, że niniejsza wersja pracy jest identyczna z załączoną wersją elektroniczną.

Data 21.11.2024r.

Podpis autora pracy [Podpis]

Streszczenie

Analiza występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* na różnych etapach produkcji mięsa drobiowego – aspekt ochrony zdrowia publicznego

Surowe mięso brojlerów jest najczęstszym źródłem zakażeń ludzi *Campylobacter* spp. (kampylobakterioza). Niniejsza praca analizuje częstość występowania *Campylobacter* spp. u brojlerów kurzych podczas produkcji pierwotnej (ferma), w zakładzie rozbioru oraz porcjowania mięsa drobiowego jako zagrożenia zdrowia publicznego. Ocenia znaczenie bioasekuracji kurnika poprzez utrzymanie czystości mikrobiologicznej przed rozpoczęciem chowu brojlerów kurzych, jak również występowania *Campylobacter* spp. u piskląt bezpośrednio po ich przywiezieniu na teren fermy. Określa także wpływ częściowej depopulacji stad brojlerów kurzych w 33-35 dniu chowu na ryzyko wprowadzenia *Campylobacter* spp. do stada oraz stopień zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. surowych produktów mięsnych (mięso drobiowe) ze skórą i bez skóry. Dziewięć ferm (F1-F9) testowano na podstawie ankiety (55 pytań) odnoszącej się do przestrzegania procedur higieniczno-hodowlanych oraz analiz mikrobiologicznych i molekularnych (Real-time PCR). Stwierdzono, że przestrzeganie procedur ograniczających ekspozycję brojlerów kurzych i kolonizację przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. zmniejsza zanieczyszczenie surowych produktów mięsnych, zatem zmniejsza zagrożenie dla zdrowia publicznego. Stwierdzono również, że niewystarczający „okres pusty” przed wprowadzeniem nowego stada uniemożliwia odpowiednie czyszczenie, dezynfekcję i wysuszenie kurnika przed rozpoczęciem chowu; wydłużenie okresu pustego dla całej fermy, z 7 do 9-14 dni, należy rozważyć jako część ulepszonych środków bioasekuracji specyficznych dla *Campylobacter* spp. Aby uniknąć sytuacji, kiedy w fermie są zarówno kurniki puste, jak i te, w których chowu jeszcze nie zakończono, dłuższy okres pusty powinien być ustalony dla całej fermy a nie tylko dla poszczególnych kurników. Jednodniowe pisklęta powinny być badane w kierunku bakterii z rodzaju *Campylobacter* przed wstawieniem do kurnika. Jest to ważny element polityki „*Campylobacter*-free”. Ze względu na dodatnią zależność pomiędzy stosowaniem częściowej depopulacji stad brojlerów kurzych w 33-35 dniu chowu a ryzykiem wprowadzenia *Campylobacter* spp. do stada, powinna być stosowana zasada all-in/all-out. Konsekwencją obniżenia wieku ubojowego brojlerów z 42 dni chowu do 35 lub poniżej, bez uprzedniej depopulacji, jest niższa częstość występowania i koncentracja w jelitach *Campylobacter* spp., co zmniejsza ryzyko zanieczyszczenia tuszek w ubojni oraz na etapach rozbioru. Surowe produkty mięsne ze skórą pochodzące od brojlerów kurzych są potencjalnie istotniejszym źródłem *Campylobacter* spp. niż produkty bez skóry.

Słowa kluczowe: bioasekuracja, brojlery kurze, *Campylobacter* spp., surowe produkty mięsne ze skórą i bez skóry, ochrona zdrowia publicznego

Abstract

Analysis of the occurrence of bacteria of the genus *Campylobacter* at different stages of poultry meat production - a public health protection issue

Raw broiler meat is the most common source of human infection with *Campylobacter* spp. (Campylobacteriosis). The present study examines the occurrence of *Campylobacter* spp. in chicken broilers during primary production (i.e. the farm), in the cutting plant and portioning of poultry meat as a public health risks. It evaluates the importance of ensuring biosecurity in the poultry house by maintaining microbiological purity before the rearing chicken broilers and presence of *Campylobacter* spp. in chicks immediately after arrival at the farm. It also determines the impact of partial depopulation of broiler flocks on day 33-35 of rearing on the risk of introducing *Campylobacter* spp. into the flock, and the degree of contamination with *Campylobacter* spp. in raw meat products (poultry meat) with and without skin. Nine farms (F1-F9) were tested based on survey (55 questions) relating to compliance with hygiene and breeding procedures, and microbiological and molecular (Real-time PCR) analysis. It was found that compliance with procedures limiting the exposure of chicken broilers and colonization of the gastrointestinal tract by *Campylobacter* spp. reduces contamination of raw meat products, thus reducing the risk to public health. Also the use of an inadequate „empty period” before the introduction of a new flock prevents proper cleaning, disinfection and drying of the poultry house before the start of rearing; extending the empty period from 7 to 9-14 days should be considered as part of improved biosecurity measures specific to *Campylobacter* spp. To avoid situations where a farm has both empty and unfinished poultry houses, a longer empty period should be set for the whole farm and not only specific poultry houses. Day-old chicks should be tested for *Campylobacter* spp. before they are placed in the poultry house. It is an important element of the "*Campylobacter*-free" policy. As partial depopulation of broiler chicken flocks on days 33-35 of rearing is positively correlated with the risk of introducing *Campylobacter* spp. to the flock, the all-in/all-out principle should be applied. The consequence of lowering the slaughter age of broilers from 42 days of rearing to 35 or less, without prior depopulation, is a lower incidence and levels of *Campylobacter* spp. in the intestines, which reduces the risk of carcass contamination at the slaughterhouse and cutting plant stages. Skinned raw meat products from broiler chickens are potentially a more significant source of *Campylobacter* spp. than skinless products.

Key words: biosecurity, chicken broilers, *Campylobacter* spp., skinned and skinless raw meat products, public health protection

Wykaz skrótów

Asp - kwas asparaginowy

BPW - zbuforowana woda peptonowa

C₁/C₂ - w dwóch kolejnych cyklach chowu

Ct - ang. treshold cycle, cykl graniczny

EFSA - ang. European Food Safety Authority, Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności

FCI - ang. Food Chain Information, informacja dotycząca łańcucha żywnościowego

Glu - kwas glutaminowy

jtk – jednostka tworząca kolonię

KHP - kryteria higieny procesu

Mbp - ang. million of base pairs, milion par zasad

MLST - ang. multi-locus sequence typing, sekwencjonowanie genów metabolizmu podstawowego

mCCD -ang. modified charcoal cefoperazone deoxylate agar, zmodyfikowana pożywka agarowa z węglem drzewnym, cefoperazonem i dezoksycholem

PAF - ang. population attributable fractions, frakcje przypisywane do populacji

Pro - prolina

real-time PCR- ang. real-time polymerase chain reaction, ilościowa reakcja łańcuchowa polimerazy

RFC – ang. Refined Functional Carbohydrates, Rafinowane Funkcjonalne Węglowodany

rpoS - ang. starvation/stationary phase sigma factor, głodowa /stacjonarna faza czynnika sigma

Ser - seryna

WHO - ang. World Health Organization, Światowa Organizacja Zdrowia

1. Wstęp	15
2. Cel pracy	27
3. Materiał i metody	29
3.1. Ocena porównawcza wdrożenia procedur ograniczających ryzyko ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp. w objętych badaniami fermach F1-F9 (etap produkcji pierwotnej) (realizacja celów nr 1, 2, 3, 4)	29
3.2. Wykrywanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp. w pierwszym kale piskląt (łac. <i>meconium</i> , mekonium) oraz w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej) (realizacja celu nr 2)	37
3.2.1. Wykrywanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp. w pierwszym kale piskląt (mekonium) (etap produkcji pierwotnej)	37
3.2.2. Wykrywanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp. w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)	38
3.3. Wykrywanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej) (realizacja celu nr 3)	40
3.3.1. Wykrywanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych przed częściową depopulacją ptaków (etap produkcji pierwotnej)	40
3.3.2. Wykrywanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych przed i po częściowej depopulacji ptaków (etap produkcji pierwotnej)	43
3.4. Ocena porównawcza wdrożenia procedur ograniczających ryzyko zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez <i>Campylobacter</i> spp. (etapy: transportu, w ubojni oraz w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa) (realizacja celu nr 4)	44
3.5. Wykrywanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> oraz określenie liczby bakterii z rodzaju <i>Campylobacter</i> na powierzchni tuszek brojlerów kurzych z objętych badaniami ferm F1-F9 (etap w ubojni) (realizacja celu nr 4)	51

3.6. Wykrywanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>Campylobacter coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> oraz określenie liczby bakterii z rodzaju <i>Campylobacter</i> w surowych produktach gotowych do sprzedaży detalicznej pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych z objętych badaniami ferm F1-F9 (etap zakładu rozbioru i porcjowania mięsa)	53
3.7. Diagnostyka mikrobiologiczna i molekularna w kierunku wykrycia bakterii z rodzaju <i>Campylobacter</i> spp.	55
3.7.1. Bakteriologiczne badanie ilościowe w kierunku <i>Campylobacter</i> spp.	55
3.7.2. Diagnostyka molekularna w kierunku <i>Campylobacter</i> spp. oraz identyfikacja gatunkowa w kierunku <i>C. jejuni</i> , <i>C.coli</i> i <i>C. lari</i>	57
3.7.2.1. Wykrywanie materiału genetycznego i identyfikacja gatunkowa bakterii z rodzaju <i>Campylobacter</i> metodą Real-Time PCR na etapie produkcji pierwotnej	57
3.7.2.2. Wykrywanie materiału genetycznego i identyfikacja gatunkowa bakterii z rodzaju <i>Campylobacter</i> metodą Real-Time PCR na etapach ubojni oraz zakładu rozbioru i porcjowania mięsa	59
4. Wyniki	61
4.1. Ocena porównawcza wdrożenia procedur ograniczających ryzyko ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp. w objętych badaniami fermach F1-F9 (etap produkcji pierwotnej)	61
4.2. Występowanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp. w pierwszym kale piskląt (mekonium) oraz w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)	69
4.2.1. Występowanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp. w pierwszym kale piskląt (mekonium) (etap produkcji pierwotnej)	69
4.2.2. Występowanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp. w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)	71
4.3. Występowanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)	73

4.3.1. Występowanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych przed częściową depopulacją ptaków (etap produkcji pierwotnej)	73
4.3.2. Występowanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych przed i po częściowej depopulacji ptaków (etap produkcji pierwotnej)	79
4.4. Ocena porównawcza wdrożenia procedur ograniczających ryzyko zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez <i>Campylobacter</i> spp. (etapy: transportu, w ubojni oraz w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa)	81
4.5. Występowanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>C. coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> oraz określenie liczby bakterii z rodzaju <i>Campylobacter</i> na powierzchni tuszek brojlerów kurzych z objętych badaniami ferm F1-F9 (etap w ubojni)	87
4.6. Występowanie materiału genetycznego <i>Campylobacter</i> spp., <i>Campylobacter coli</i> , <i>C. jejuni</i> , <i>C. lari</i> oraz określenie liczby bakterii z rodzaju <i>Campylobacter</i> w surowych produktach gotowych do sprzedaży detalicznej pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych z objętych badaniami ferm F1-F9 (etap zakładu rozbioru i porcjowania mięsa)	93
5. Dyskusja	103
6. Wnioski	119
7. Piśmiennictwo	121

Spis treści

1. Wstęp

Choroby odzwierzęce przenoszone drogą pokarmową są obecnie postrzegane jako poważne zagrożenie zdrowia publicznego. Spośród nich kampylobakterioza uznawana jest w Europie od 2005 r. za najczęściej występującą (Andrzejewska i in. 2015, Gruntar i in. 2015, Georgiev i in. 2017, Stella i in. 2017). Według raportu Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA, ang. European Food Safety Authority) w 2019 r. *Campylobacter* spp. był na Starym Kontynencie wiodącym patogenem pochodzenia żywnościowego - zachorowało wówczas ponad 220000 ludzi, co odpowiadało 50% raportowanych bakteryjnych zakażeń pokarmowych; 20500 osób wymagało hospitalizacji (EFSA J. 2021). Najwięcej zgłoszeń raportowały Czechy, Słowacja, Dania oraz Wielka Brytania. Liczba zachorowań na kampylobakteriozę w Polsce w 2019 r. wyniosła 715; hospitalizowano 581 osób (Czarkowski i in. 2019). Niektóre źródła podają, że w Unii Europejskiej na kampylobakteriozę choruje rocznie nawet 9 milionów osób (Seliwiorstow i in. 2016 b), a koszty ich leczenia szacuje się na 2,4 miliarda euro (EFSA J. 2010, Lu i in. 2021). Zasięg i efekty socjoekonomiczne kampylobakteriozy uznawane są przez ekspertów za niedoszacowane (Haas i in. 2017).

Do rodzaju *Campylobacter* zalicza się obecnie 49 gatunków (wliczając synonimy) (<https://www.bacterio.net/genus/campylobacter>). Głównym rezerwuarem *Campylobacter* spp. jest drób (Reich i in. 2008), a świeże mięso brojlerów uznawane jest za najważniejsze źródło kampylobakteriozy u ludzi zarówno na terenie Unii Europejskiej (EFSA J.2012), jak i poza jej granicami (Wagenaar i in. 2013, Szosland-Fałtyn i in. 2018, Hakeem i Lu 2021). W Słowenii w 2011 r. stwierdzono jeden z najwyższych poziomów zanieczyszczeń próbek pobranych od drobiu przez *Campylobacter* spp. na terenie Unii Europejskiej; patogen był obecny w 77% próbek kału oraz 92% próbek skóry z szyi tuszek drobiowych (Gruntar i in. 2015). Zgodnie z raportem EFSA (EFSA J. 2021) na 3346 próbek skóry z szyi drobiu rzeźnego pobranych podczas urzędowych kontroli w 2019 r. *Campylobacter*-dodatnich było 1365 (40,8%), a w 506 przypadkach (15,1%) liczba patogenu przekraczała 10^3 jtk - jednostek tworzących kolonię/g. Generalnie, porcje mięsa drobiowego bez skóry, np. pierś, zawierają mniejszą liczbę patogenu niż porcje kulinarne ze skórą, np. podudzie (EFSA J. 2011). Według danych EFSA w 2017 r. 37,4% próbek świeżego mięsa brojlerów było *Campylobacter*-dodatnie (EFSA J. 2018). Szosland-Fałtyn i in. (2018) wskazali w swych badaniach na jeszcze wyższy odsetek (70%) próbek świeżego mięsa brojlerów zanieczyszczonych *Campylobacter* spp. w trakcie badań (lata 2014-2018) dotyczących występowania *Campylobacter* spp. w gotowych produktach mięsnych

(z wyłączeniem produktów drobiowych) w sprzedaży detalicznej w Polsce, obecność *Campylobacter* spp. stwierdzono m.in. w wołowinie (12,7%) oraz mięsie wieprzowym (10,9%) (Andrzejewska i in. 2019).

Ponad połowę przypadków kampylobakteriozy u ludzi wywołuje *Campylobacter jejuni* (Gruntar i in. 2015), a za ok. 10% zachorowań odpowiada *Campylobacter coli* (Skarp i in. 2016, Hakeem i Lu 2021). W 2010 r. konsumpcja mięsa drobiowego brojlerów była przyczyną 20-30% kampylobakterioz, przy czym *C. jejuni* został powiązany z 50-80% przypadków tej zoonozy (EFSA J. 2010) i był najczęściej raportowanym patogenem przewodu pokarmowego u ludzi w Unii Europejskiej (Georgiev i in. 2017). Obserwuje się powiązanie wzrostu zachorowań na kampylobakteriozę u ludzi w okresie letnim ze zwiększoną liczbą drobnoustrojów izolowanych od brojlerów w tym czasie (Williams i in. 2015, Skarp i in. 2016, Haakem i Lu 2021). Typowanie molekularne bakterii z wykorzystaniem metody MLST (ang. multi-locus sequence typing), polegającej na analizie porównawczej sekwencji siedmiu genów metabolizmu podstawowego, wykazało powiązania między szczepami *Campylobacter* spp. (te same typy sekwencyjne: ST45, ST230, ST677) występującymi u drobiu i u ludzi (Haakem i Lu 2021). Objawy zakażenia wywołanego przez *Campylobacter* spp. u ludzi to m.in. ból brzucha, biegunka, bóle głowy, wymioty oraz gorączka. Zwykle ustępują one samoistnie po tygodniu. Bakterie z rodzaju *Campylobacter* są jedną z czterech kluczowych przyczyn biegunek w skali świata (<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>). Zakażenia mogą być poważniejsze, a nawet śmiertelne, u małych dzieci, ludzi starszych oraz osób z obniżoną odpornością. Do poważnych komplikacji po zakażeniu *Campylobacter* spp. zalicza się m.in. zapalenie stawów, syndrom Guillain-Barre’a, syndrom Millera-Fishera, zespół jelita drażliwego (Haas i in. 2017), nieswoiste zapalenie jelit, celiakię czy nowotwór okrężnicy (Hakeem i Lu 2021).

Rosnące globalne zapotrzebowanie na żywność pochodzenia zwierzęcego o niskiej zawartości tłuszczu, którą można szybko i prosto przetworzyć w warunkach domowych, sprzężone jest z intensywnym rozwojem sektora drobiarskiego. Średnie spożycie mięsa drobiowego w Polsce wzrosło w 2019 r. do 27,5 kg na mieszkańca, co oznacza 0,5 kg (1,9%) więcej niż w 2018 r. W tym samym okresie spożycie mięsa drobiowego w Unii Europejskiej wzrosło o 0,1 kg (0,4%). W 2019 r. polscy producenci zwiększyli zarówno wolumen eksportu drobiu, jak i jego wartość o 11%. Polski przemysł drobiarski był jednym z prężniej rozwijających się sektorów gospodarki (Wroniewski, 2020). Prognozuje się, że w 2023 r. produkcja mięsa drobiowego w ujęciu globalnym będzie największym sektorem produkcji

mięsa (130,7 mln ton) (Szosland-Fałtyn i in. 2018). Co więcej, mięso drobiowe, biorąc pod uwagę współczynnik wykorzystania paszy, uznawane jest za jedno z najbardziej zrównoważonych źródeł białka zwierzęcego (Wilkinson i in. 2011). W świetle ekonomicznych i zdrowotnych zagrożeń kampylobakteriozą narasta potrzeba wzmożonej kontroli oraz opracowania skutecznych działań w celu ograniczenia występowania *Campylobacter* spp. u drobiu.

Ponieważ zakażenia *Campylobacter* spp. u ludzi najczęściej są konsekwencją zanieczyszczeń krzyżowych, do których dochodzi między żywnością surową, a tą poddaną obróbce termicznej oraz konsumpcji niedogotowanego mięsa, najskuteczniejszym działaniem prewencyjnym jest ograniczenie liczby bakterii w mięsie (Hass i in. 2017). W celu ograniczenia ryzyka przeniesienia patogenu i zakażenia konsumentów stosuje się programy kontroli mikrobiologicznej w łańcuchu żywnościowym. W produkcji mięsa drobiowego można wyróżnić etapy istotne dla rozprzestrzeniania się bakterii z rodzaju *Campylobacter*, są to: produkcja pierwotna na fermie, transport drobiu do ubojni, ubój, rozbiór, obrót mięsem drobiowym w sektorze handlowym oraz postępowanie z mięsem u konsumenta. Główne działania ograniczające rozprzestrzenianie się patogenu obejmują ograniczenie liczby stad *Campylobacter*-dodatnich oraz redukcję liczby bakterii w środowisku chowu, zakładu uboju i rozbioru tuszek (Lawes i in. 2012). Niewłaściwe postępowanie podczas ubiórki, przekazywanie brojlerów do uboju w okresie letnim, wydłużanie czasu chowu (ubój w wieku powyżej 40 dni) oraz zły stan zdrowotny stada (mierzony liczbą upadków) powodują, że ptaki kierowane do uboju są skolonizowane większą liczbą bakterii, co, z uwagi na technologię uboju, może prowadzić do zwiększenia ryzyka zanieczyszczenia tuszek. Czynności sprzyjające rozprzestrzenianiu pałeczek *Campylobacter* spp. na etapie uboju to m.in. usuwania pierza i wytrzewianie, podczas gdy jako działania ograniczające poziom zanieczyszczenia tuszek patogenem wymienia się mycie i schładzanie tuszek (Lawes i in. 2012, Agunos i in. 2014, Skarp i in. 2016).

Działania zapobiegawcze i redukujące kolonizację drobiu przez bakterie z rodzaju *Campylobacter* na poziomie fermy nadal stanowią duże wyzwanie dla producentów drobiu (Hermans i in. 2011, Seliwiorstow i in. 2016 b, Lu i in. 2021). Wynika to między innymi z faktu, że patogenezę kampylobakteriozy drobiu nie jest w pełni poznana. *Campylobacter* spp. to bakterie Gram-ujemne, nie tworzące przetrwalników, o unikatowym helikalnym kształcie, który zmienia się w nitkowaty lub ziarniakowaty w odpowiedzi adaptacyjnej na stres środowiskowy (Hakeem i Lu 2021). *C. jejuni* ma stosunkowo mały genom (1,6 Mbp - ang.

millions of base pairs), z ograniczoną liczbą powtarzalnych sekwencji, bez insercji. Nie wykazuje też regulatora *rpoS* (ang. starvation/stationary phase sigma factor), co uznawane jest za strategię przetrwania, w celu zredukowania stresu głodzenia w fazie stacjonarnej. Temperatura ciała brojlerów kurzych (42°C) mieści się w optimum wzrostu większości *Campylobacter* spp., co czyni drób powszechnym nosicielem pałeczek *C. jejuni*, *C. coli* czy *C. lari*. Ponieważ temperatura ciała człowieka (37°C) nie stanowi czynnika ograniczającego wzrost patogennych gatunków *Campylobacter*, wywołują one liczne zakażenia u ludzi. Wzrost patogenu zostaje zatrzymany, gdy temperatura spada poniżej 30°C. Bakterie te mają niewielką tolerancję na reaktywne formy tlenu. Nieliczne enzymy, które są obecne (katalaza, reduktaza glutationowa, peroksydaza i dysmutaza ponadtlenkowa) odgrywają kluczową rolę ochronną wobec presji tlenu. *Campylobacter* spp. mają zdolność adhezji do komórek nabłonka błony śluzowej i w konsekwencji do trwałej, determinowanej genetycznie, kolonizacji, czyli zasiedlania błony śluzowej jelit większości zwierząt ciepłokrwistych (Knudsen i in. 2006, Mohan 2015). U drobiu z prawidłową mikrobiotą jelitową nie obserwuje się wnikania patogenu do komórek nabłonkowych. Han i in. (2020) wykazali, że *C. jejuni* wnika do komórek jelita ślepego ptaków z ograniczoną, wskutek leczenia antybiotykami, mikrobiotą jelitową i wywołuje objawy kliniczne oraz zmiany chorobowe. Pałeczki *Campylobacter* spp. występują jako komensale kolonizując śluzówkę jelita cienkiego, kątnicy i krypt kloak, powodując bezobjawowe nosicielstwo (Young i in. 2007, Hakeem i Lu 2021). Kolonizacja przewodu pokarmowego ptaków przez *Campylobacter* spp. może osiągnąć poziom nawet 10^{10} jtk/g treści jelit (Jagusztyn-Krynica i in. 2007, Hakeem i Lu 2021), a bakterie mogą być wydalone z kałem nawet przez 12 tygodni. Wiele doniesień naukowych wskazuje, że założenie o komensalizmie u drobiu może być błędne, ponieważ *Campylobacter* spp. ma zdolność do przekraczania bariery nabłonka jelit oraz translokacji do innych organów, np. śledziony, wątroby (van Deun i in. 2008, Jennings i in. 2011, Weber i in. 2014) czy do krwi (Richardson i in. 2011, Rasschaert i in. 2020). Obserwowano zmiany histopatologiczne w jelitach, takie jak spadek wysokości kosmków, zmniejszenie głębokości krypt i powierzchni kosmków w 7 dni po zakażeniu *C. jejuni* (Awad i in. 2014). Zmiany w błonie śluzowej mogą zaburzać transport elektrolitów, węglowodanów i aminokwasów, co wpływa na spadek masy ciała brojlerów. Kolonizacja i inwazja *Campylobacter* spp. powoduje zmiany ekspresji transporterów dla węglowodanów i aminokwasów w komórkach jelita, spadek wchłaniania, co w konsekwencji daje dostęp do źródeł węgla i azotu niezbędnych dla bakterii bytujących w pobliżu śluzówki. Wykazano, że w kale zakażonych brojlerów obecne są: kwas glutaminowy (Glu), seryna (Ser), prolina (Pro), kwas asparaginowy (Asp) - są to aminokwasy niezbędne do wzrostu *C. jejuni*

(Awad i in. 2014). Humphrey i in. (2014) dowiedli, że kurczęta w systemach intensywnej produkcji wykazują silną reakcję zapalną na zakażenie *C. jejuni*, prowadzącą do biegunek, które w konsekwencji uszkadzają stopy i nogi ptaków; częściej też występują zmiany chorobowe w stawach skokowych oraz kontaktowe zapalenie skóry podeszwy stopy u drobiu - *pododermatitis* (Williams i in. 2013, Awad i in. 2018, Lu i in. 2021). Stwierdzono również zmniejszenie wykorzystania paszy, co powoduje straty ekonomiczne. Stąd kontrolowanie sytuacji na fermie jest postrzegane jako korzystne dla producentów drobiu i powinno być prowadzone wraz z oceną mikrobiologiczną zanieczyszczenia tuszek opuszczających ubojnię, a także w zakładach przetwórczych. Nie jest to zadanie proste. Częstość występowania zakażeń w stadach drobiu jest ogólnie wysoka, chociaż może się różnić w zależności od regionu, pory roku czy systemu chowu, np. wolno-wybiegowy, ekologiczny i in. W niektórych stadach zanieczyszczenie *Campylobacter* spp. może sięgnąć 100% obsady kurników. Wiadomo, że patogen może zostać wprowadzony do kurników ze środowiska (Ellis-Iversen i in. 2012) poprzez przenoszenie różnymi drogami (horyzontalnie) (Lu i in. 2021) ze szkodnikami sanitarnymi takimi jak muchy, dzikie ptaki, gryzonie (Georgiev i in. 2017, Hakeem i Lu 2021), poprzez zanieczyszczoną wodę, paszę, kurz, systemy wentylacyjne, na butach pracowników wykonujących codzienne czynności, podczas ubiórki, na sprzęcie wykorzystywanym do obsługi stada podczas chowu czy przez osoby wizytujące fermę (Sleator i in. 2016, Rasschaert i in. 2020, Hakeem i Lu 2021). Ponadto wykazano, że pierwotniaki mogą być istotnymi czynnikami umożliwiającymi *Campylobacter* spp. dłuższe przetrwanie w środowisku. *C. jejuni* ma zdolność zakażenia, replikacji i przeżycia w gospodarzu takim, jak ameba (*Acanthamoeba polyphaga*). Eukarionty te mogą być obecne w wodociągach i w biofilmie na fermie, jest zatem wysoce prawdopodobne, że biorą udział w przenoszeniu *C. jejuni*. Następnie dochodzi do horyzontalnego przenoszenia patogenu od zakażonych ptaków do środowiska i dalej do wrażliwych osobników, a kolonizacja jelit całego stada może nastąpić w przeciągu kilku (4-7) dni, a nawet w okresie krótszym niż 4 dni (Shreeve i in. 2002). Rzadko występuje zakażenie *Campylobacter* spp. u ptaków młodszych niż 2-3-tygodniowe, co wiąże się z obecnością przeciwciał matczynych, z szybkim rozwojem przewodu pokarmowego pisklęcia oraz zasiedlającej go mikrobioty (Rasschaert i in. 2020). Wykazano również, że krytycznym okresem kolonizacji przewodu pokarmowego kurcząt przez *C. jejuni* jest 12-28 dzień życia (Awad i in. 2016). Trwają dyskusje, czy jest możliwe wertykalne przenoszenie *Campylobacter* spp. z jaj do piskląt. Wyniki wielu doświadczeń temu zaprzeczają (Hakeem i Lu 2021), aczkolwiek uznaje się za czynnik ryzyka zanieczyszczenie jaj kałomoczem ptaków. Klujące się pisklęta mogą zakazić się, jeśli dojdzie do zanieczyszczenia skorupy jaja, błony podskorupowej

czy białka. *Campylobacter* spp. jest niezwykle rzadko izolowany z treści jaj (Hakeem i Lu 2021).

Adhezja do błon śluzowych jest istotnym czynnikiem wpływającym na kolonizację i przetrwanie patogenu w przewodzie pokarmowym brojlerów, ponieważ pozwala bakteriom na przeciwstawienie się ruchom perystaltycznym i zasiedlenie środowiska jelit. Kilka czynników wpływa na stopień kolonizacji przewodu pokarmowego. Są to: szczep bakterii, rasa brojlerów, wiek ptaków, liczba żywych komórek bakteryjnych, sezonowość, liczebność obsady, liczba kurników, ubiórka, korzystanie z zużytej ściółki (co jest typową praktyką w USA), liczba dni pomiędzy kolejnymi obsadami w kurniku, typ chowu (Perez-Arnedo i Gonzales-Fandos 2019, Hakeem i Lu 2021, Lu i in. 2021), a także bliska odległość (1-2 km) zakażonych stad oraz obecność innych zwierząt hodowlanych na fermie. Eksperymentalnie *in vivo* udawało się zwiększać współczynnik kolonizacji jelit przez *Campylobacter* spp. nawet 1000-10000 razy. W okresie letnim wskaźnik kolonizacji jest wyższy, m.in. z powodu zwiększonej potrzeby wentylacji w kurniku, a co za tym idzie zwiększonym ryzyku dostania się bakterii ze środowiska zewnętrznego. W chowie ekologicznym i wolno-wybiegowym badania wskazywały na 100% stopień zakażenia stad (Hakeem i Lu 2021).

Kolonizacja przewodu pokarmowego na początku cyklu chowu jest istotnym czynnikiem wpływającym na liczbę drobnoustrojów w surowym mięsie drobiowym (Rouger i in. 2017). Ocenia się, że zanieczyszczona *Campylobacter* spp. tuszka drobiowa może być nośnikiem nawet 100000 komórek bakteryjnych, podczas gdy do wywołania objawów chorobowych u człowieka wystarczy zaledwie 500-800 komórek (Directorate General Health and Food Safety, 2018). Zatem opracowanie metod interwencji na poziomie chowu i w ubojni powinno przyczynić się do poprawy bezpieczeństwa konsumenta. Ocenia się, że redukcja liczby *Campylobacter* spp. w przewodzie pokarmowym ptaków o 3 jednostki logarytmiczne spowodowałyby zmniejszenie ryzyka wystąpienia kampylobakteriozy u ludzi o co najmniej 90% (Crotta i in. 2017). Ze względu na szybkie rozwijanie przez *Campylobacter* spp. oporności na antybiotyki, nie prowadzi się farmakoterapii w zwalczaniu patogenu na fermach, mimo iż w przypadku ludzi skuteczne pozostają erytromycyna czy aminoglikozydy. Na podstawie doświadczeń krajów skandynawskich, w których rozpowszechnienie *Campylobacter* zawsze było niewielkie, tzn. 0,6-13,1% (Skarp i in. 2016), wskazuje się, że działania prewencyjne na poziomie fermy mają największe znaczenie. Ograniczenie zakażeń *Campylobacter* spp. można osiągnąć dwiema drogami: pierwsza z nich to wczesne zapobieganie zarażeniu ptaków, druga - zmniejszenie liczby komórek bakteryjnych w przewodach pokarmowych drobiu.

Bioasekuracja odgrywa rolę w obu przypadkach w połączeniu ze zmianami w zarządzaniu stadem. Zasadniczo wzmożona bioasekuracja powinna ograniczyć kolonizację całego stada i jest działaniem strategicznym z obszaru pierwszej linii interwencji. Jednak jest stosunkowo niewiele badań naukowych i danych empirycznych sprawdzających tę hipotezę, a te które są różnią się metodami badawczymi (stosowanie odzieży ochronnej, indywidualna obsługa, sprzęt przeznaczony dla danego kurnika itd.). Inne działania proponowane jako strategie zapobiegawcze zakażeniu ptaków na terenie ferm to redukcja ryzyka rozprzestrzeniania się patogenu poprzez pojenie drobiu wodą chlorowaną lub zawierającą mieszaninę kwasów organicznych (pH wody powinno być obniżone do 4,0-4,5), podawanie bakteriocyn, ekstraktów roślinnych, probiotyków, prebiotyków (najbardziej obiecująca strategia) (Huff i in. 2013) oraz szczepienia (brak dostępnej komercyjnie szczepionki) (Georgiev i in. 2017, Lu i in. 2021). Również i te strategie są wciąż na etapie rozwoju bądź nie ma możliwości ich wprowadzenia na fermie. Jako przykład można podać pracę Froebel i in. 2020, gdzie w celu zmniejszenia adherencji patogenów *Salmonella* Typhimurium oraz *C. jejuni* w jelicie brojlerów podawano ptakom kompleks prebiotycznych rafinowanych funkcjonalnych węglowodanów - RFC (beta-glukan, MOS - mannoglikosacharydy i D-mannoza) pozyskanych z drożdży *Saccharomyces cerevisiae*. RFC zależnie od zastosowanej dawki redukuje liczbę *Campylobacter* spp. u brojlerów, kur niosek oraz u indyków podczas stresu transportu, poprzez blokowanie dostępu powierzchniowych adhezyn bakteryjnych do receptorów gospodarza, co powoduje pasaż bakterii przez przewód pokarmowy bez możliwości jego kolonizacji.

Do działań zwiększających poziom bioasekuracji stada, które ograniczają rozprzestrzenianie się *Campylobacter* spp. w kurniku (Rasschaert i in. 2020, Lu i in. 2021) należą:

1. Oddzielanie strefy brudnej i czystej barierą fizyczną (ang. dwarf wall); dodatkowo stosowanie mat dezynfekcyjnych oraz dezynfekcji specjalnego obuwia przeznaczonego do pracy w strefie czystej przez cały cykl chowu,
2. Trzymanie w kurniku sprzętu niezbędnego do obsługi stada przez cały cykl chowu, sprzęt nie może być przenoszony między kurnikami,
3. Dbanie o prawidłową higienę pracowników, zwłaszcza mycie rąk,
4. Używanie jednorazowej odzieży ochronnej, utylizowanej po każdym wyjściu z kurnika,
5. Prawidłowe zarządzanie programem zwalczania szkodników sanitarnych,
6. Zapewnienie ptakom wody pitnej dobrej jakości; prawidłowe mycie i dezynfekcja systemów wodociągowych,

7. Zaprzestanie karmienia brojlerów na 8-12 godz. przed ubojem, co pozwala na opróżnienie przewodu pokarmowego i wpływa na ograniczenie zanieczyszczenia krzyżowego już na etapie transportu do ubojni oraz w oparzelniku. Głodówka nie powinna jednak trwać zbyt długo - jeśli brak dostępu do paszy przekracza 14 godz. może to spowodować przełamanie bariery jelitowej i sprzyjać zwiększonemu zanieczyszczeniu,
8. Właściwe procedury ubiórki, odłowu i transportu ptaków, ograniczające zanieczyszczenia krzyżowe, nadmierne zagęszczenie i stres u ptaków. U zestresowanych zwierząt przyspieszone zostają ruchy perystaltyczne przewodu pokarmowego, co prowadzi do zwiększonego oddawania kałomoczu. Nieprawidłowe mycie i dezynfekcja kontenerów transportowych może przyczyniać się do zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. sięgającego nawet 91%,
9. Podawanie dodatków paszowych wspierających funkcje przewodu pokarmowego.

Kolejnym etapem mającym znaczenie w prewencji zagrożenia zdrowia konsumentów, jest ubojnia. Szacuje się, że do ubojni mogą trafiać ptaki zanieczyszczone *Campylobacter* spp. na poziomie 10^9 jtk/g treści kloaki (ang. *cecal content*). Ponadto do ubojni trafiają brojlery z wielu ferm o różnym poziomie bioasekuracji, co zwiększa ryzyko zanieczyszczenia (Hakeem i Lu 2021). Ubojnie w większości mają dużą zdolność przerobową (nawet 14000 ptaków/godzinę), co jest dodatkowym czynnikiem sprzyjającym zanieczyszczeniom krzyżowym, także w wyniku zanieczyszczenia sprzętu wykorzystywanego do uboju drobiu. Raportowano występowanie *Campylobacter* spp. na poziomie ubojni w 35% tuszek (sporadycznie zanieczyszczenie dochodziło do 100%) (Perez-Arnedo i Gonzales-Fandos 2019). Wykazano, że przy automatycznym wyładowywaniu brojlerów z pojemników transportowych ryzyko zanieczyszczenia tuszek *Campylobacter* spp. zwiększało się (Seliwiorstow i in. 2016 a). Oszacowano, że ubój stada *Campylobacter*-ujemnego po stadzie *Campylobacter*-dodatnim daje większe prawdopodobieństwo zanieczyszczenia krzyżowego z linii ubojowej. Dlatego w niektórych krajach, np. Danii, Norwegii czy Islandii, w programach zwalczania *Campylobacter* spp. stosuje się tzw. ubój logistyczny (ang. *logistic slaughter*), polegający na uboju stad *Campylobacter*-dodatnich po zakończonym uboju stad *Campylobacter*-ujemnych na koniec dnia/tygodnia uboju. Daje to znaczące zmniejszenie liczby *Campylobacter* spp. w tuszkach, nawet jeśli dochodzi do zanieczyszczenia krzyżowego oraz, w konsekwencji, niską zachorowalność konsumentów w Skandynawii (Sommer i in. 2013, Smith i in. 2016). Przeprowadzone w Japonii analizy ryzyka narażenia konsumentów wykazały,

że zastosowanie uboju logistycznego obniżyłoby ryzyko zakażenia u ludzi o 44% (Sasaki i in. 2013).

Niektóre szczepy *Campylobacter* mają zdolność przetrwania w środowisku ubojni nawet 2-3 tygodnie (Rasschaert i in. 2020). Sprzyja temu pozostawianie materii organicznej na powierzchniach maszyn, co daje bakteriom ochronę podczas dezynfekcji. Dodatkowo materia organiczna tworzy biofilm. Wykazano, że sam *Campylobacter* spp. nie ma dużych zdolności do tworzenia biofilmu, ale zazwyczaj stwierdza się go w biofilmach mieszanych, np. obecność *Pseudomonas aeruginosa* może dodatkowo chronić *Campylobacter* spp. przed działaniem stresu oksydacyjnego (Teh i in. 2019). Etap oparzania zmniejsza średnio o 2 cykle logarytmiczne liczbę *Campylobacter* spp., ponieważ patogen jest termowrażliwy. Wartości D^1 różnią się dla różnych szczepów *Campylobacter* oraz używanych w ubojni temperatur. Przykładowo osiągają: $D = 300$ sek. przy 50°C , $D = 50$ sek. przy 55°C i $D = 6$ sek. przy 60°C (Rasschaert i in. 2020). W ubojni w Niemczech przy podniesieniu temperatury w oparzelniku z 53°C na 54°C (dla obu temperatur $D = 180$ sek.) przy obróbce tuszek pochodzących ze stad *Campylobacter*-dodatnich osiągnęto znaczące zmniejszenie poziomu zanieczyszczenia, tj. z 4,5 log/tuszkę do poniżej 3,4 log/tuszkę, po etapie oparzania i skubania (Lehner i in. 2014). W cyklu działań podczas uboju stwierdzono, że *Campylobacter* spp. ma największe zdolności regeneracji po etapie oparzania w porównaniu z innymi patogenami (logarytmiczny wzrost z poziomu 1,8 do 3,7 jtk/ml popłuczyn z tuszki). Krytycznym etapem jest patroszenie. Badania wskazują, że liczba tuszek zanieczyszczonych *Campylobacter* spp. znacznie rośnie po tym etapie. Seliwiorstow i in. (2016 a) zidentyfikowali liczbę uszkodzonych przewodów pokarmowych podczas patroszenia jako czynnik ryzyka zanieczyszczenia tuszek po wychłodzeniu. Tuszki z ubijanych partii, w których uszkodzenia dotyczyły mniej niż 10% przewodów pokarmowych, były wyraźnie mniej zanieczyszczone. Wyciek treści jelit zanieczyszcza bardziej górną połowę tuszki (pierś i szyję) niż dolną (Hakeem i Lu 2021). Naukowcy zwracają uwagę na fakt, że *Campylobacter* spp. może zasiedlać także wole, zwłaszcza po transporcie ptaków (Rasschaert i in. 2020). Na poziomie stada izolowano *Campylobacter* spp. z wola 67% ptaków (Rasschaert i in. 2007), natomiast w innym badaniu, przeprowadzanym na brojlerach zawieszonych na linii ubojowej, wszystkie badane wola były *Campylobacter*-dodatnie, a liczba patogenu sięgała 4,7 log jtk/g (z kloaki 7,3 log jtk/g) (Berrang i in. 2000). Zatem należałoby zwrócić uwagę na niezanieczyszczanie tuszek treścią wola podczas patroszenia, co może przyczynić się do rozprzestrzeniania się bakterii z rodzaju

¹ Parametr określający czas potrzebny w danej temperaturze do dziesięciokrotnej redukcji liczby bakterii.

Campylobacter w trakcie uboju. Po etapie patroszenia stwierdzano zwiększenie zanieczyszczenia tuszek *Campylobacter* spp. sięgające 0,25-1,5 cyklu logarytmicznego. Z kolei mycie i chłodzenie tuszek są etapami, które zanieczyszczenie mogą ograniczyć o 1-1,5 cyklu logarytmicznego (Rasschaert i in. 2020). Skuteczną redukcję o 1-2 cykle logarytmiczne można byłoby uzyskać, np. poprzez mycie tuszek w kwasach organicznych lub chlorowanej wodzie (20-50 ppm chloru), ale te działania nie są zatwierdzone przez Unię Europejską (Perez-Arnedo i Gonzales-Fandos 2019, Rasschaert i in. 2020).

Campylobacter spp. nie namnaża się w matrycy żywnościowej, a chłodzenie i mrożenie skutecznie zmniejszają liczbę tych patogenów, np. 1 dzień mrożenia w temp. -20°C daje redukcję o 1 cykl logarytmiczny (Rasschaert i in. 2020). Jednakże ze względu na relatywnie małą dawkę zakażającą istotne jest zmniejszenie stopnia zanieczyszczenia mięsa drobiowego *Campylobacter* spp. poprzez spadek ilości patogenu na poziomie stada i ubojni. Wykrywanie ilościowe *Campylobacter* spp. stanowi poważne wyzwanie. W przeciwieństwie do programów zwalczania *Salmonella* w Europie i metod pobierania próbek w stadach, dla *Campylobacter*, jak do tej pory, nie opracowano wygodnej ani adekwatnej techniki diagnostycznej w celu identyfikacji i zliczenia bakterii w stadach brojlerów *ante-mortem*. Brak było także rozporządzenia unijnego zalecającego rutynowe badania mięsa drobiowego w kierunku *Campylobacter* spp., co utrudniało właściwe działania w celu zmniejszenia występowania *Campylobacter* spp. w mięsie drobiowym. Kierowano się rekomendowanymi kryteriami mikrobiologicznymi opracowanymi przez EFSA (EFSA J. 2011). Eksperti oszacowali, że zmniejszenie zagrożenia zdrowia publicznego o 50-90% mogłoby zostać osiągnięte, gdyby wszystkie partie produkcyjne były zgodne z kryterium mikrobiologicznym: <1000 jtk/g i <500 jtk/g odpowiednio dla skóry z szyi i skóry z piersi drobiowych. Dopiero od 2018 r. Rozporządzenie Komisji (UE) 2017/1495 z dnia 23 sierpnia 2017 r. zmieniające rozporządzenie (UE) nr 2073/2005 w odniesieniu do *Campylobacter* w tuszkach brojlerów wprowadziło kryterium higieny procesu z limitem krytycznym <1000 jtk/g na skórze z szyi (Rasschaert i in. 2020). W każdej ubojni 5 próbek skóry z szyi na tydzień musi być pobrane po etapie chłodzenia. Jeśli w przeciągu 10 tygodni 20 z 50 próbek będzie zawierało > 1000 jtk/g, należy podjąć działania naprawcze, zarówno na poziomie ubojni, jak i produkcji pierwotnej. Od 2020 r. kryterium zaostrzono do limitu 15 próbek z 50. Kolejne zaostrzenie, 10/50 próbek, będzie miało miejsce w 2025 r (Rasschaert i in. 2020).

Chociaż *Campylobacter* jest opisywany w literaturze jako wrażliwy na działanie tlenu, wysychanie czy obniżone pH, a jego hodowla wymaga szczególnych warunków (środowisko

mikroaerofilne i termofilne), może on z łatwością przetrwać w środowisku. Tylko *C. jejuni* może być rutynowo identyfikowany przy użyciu markerów fenotypowych. Według Murphy i in. (2006) oraz Mourkas i in. (2019) mechanizmy przystosowywania się *Campylobacter* spp. do warunków stresogennych (warunki środowiska i żywności) różnią się od tych występujących u innych bakterii, takich jak *Salmonella* czy *Escherichia coli* (Murphy i in. 2006), co może odgrywać istotną rolę w epidemiologii zakażeń u ludzi. Geny powiązane z wirulencją i adaptacją do zmiennych lub niekorzystnych warunków środowiska (ponad 30 genów), które opisano dla *Campylobacter* spp. to m.in. *flaA* (koduje flagellinę), *cadF* (koduje białko wiążące fibronektynę enterocytów, umożliwiając w ten sposób adhezję bakterii do nabłonka jelit), *cdtA*, *cdtB*, *cdtC* (koduują cytotoksynę CDT), *iamA* (koduje białko *iamA* powiązane z inwazyjnością). Dla oporności na stres środowiskowy szczególnie kluczowy jest system sekrecyjny typu VI (T6SS). *C. jejuni* może wykorzystywać zewnętrzne DNA, np. plazmid pVir, do modyfikacji genotypu, dlatego trudno jest identyfikować bakterie z rodzaju *Campylobacter* genotypowo (Burnham i Hendrixson 2018, Lu i in. 2021).

Stale rosnąca liczba przypadków kampylobakteriozy u ludzi wiąże się z licznymi badaniami nad bakteriami z rodzaju *Campylobacter*. Obecnie wykorzystuje się dwie normy: PN-EN ISO 10272–1:2007 (AP1:2008) „Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Campylobacter* spp. Część 1: Metoda wykrywania” oraz PKN-ISO/TS 10272–2:2008 „Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda do wykrywania obecności i oznaczania liczby *Campylobacter* spp. Część 2: Metoda liczenia kolonii” (Kwiatek i in. 2014). Treść pokarmowa oraz kałomocz to trudne matryce dla oznaczeń opartych o ilościową reakcję łańcuchową polimerazy (real-time PCR, ang. real-time polymerase chain reaction), ponieważ często występują w nich inhibitory, takie jak: tłuszcz, kwas moczowy czy bilirubina (Haas i in. 2017).

Ze względu na złożoną epidemiologię zakażeń *Campylobacter* spp. niezbędne jest kompleksowe podejście do kontroli oraz zmniejszenia zakażeń, biorąc pod uwagę czynniki narażenia i analizę ryzyka. Kontrola całego łańcucha produkcji mięsa drobiowego wydaje się stanowić optymalne podejście. Wskazuje się, że najskuteczniejszą ochronę konsumentów osiągnie się poprzez obniżenie poziomu zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. podczas uboju drobiu i dalszego jego przetwarzania (Seliwiorstow i in. 2016 a, b), ponieważ głównym ryzykiem dla konsumenta jest silnie zanieczyszczone mięso drobiowe, a nie sama obecność *Campylobacter* spp. WHO (ang. World Health Organization) doradza kontrolę nad *Campylobacter* spp. z uwzględnieniem warunków lokalnych oraz aspektów praktycznych, co

zostało zastosowane w przeprowadzonych badaniach. Wyniki badań będą mogły zostać wykorzystane biorąc pod uwagę szeroki aspekt skutecznej poprawy działań na terenie fermy i ubojni oraz zasad bioasekuracji. Stworzenie jedynie limitów liczby drobnoustrojów w mięsie może być niewystarczająco efektywnym narzędziem zapewnienia bezpieczeństwa konsumenta.

2. Cel pracy

1. Ocena częstości występowania *Campylobacter* spp. w obszarze produkcji pierwotnej brojlerów kurzych (ferma), zakładu rozbioru oraz porcjowania mięsa drobiowego w kontekście zagrożenia zdrowia publicznego.
2. Ocena znaczenia bioasekuracji kurnika w aspekcie zachowania czystości mikrobiologicznej przed rozpoczęciem chowu brojlerów kurzych oraz jakości piskląt pod względem występowania *Campylobacter* spp. bezpośrednio po ich przywiezieniu na teren fermy. Określenie przyczyn niezachowywania tych warunków.
3. Ocena wpływu częściowej depopulacji stad brojlerów kurzych w 33-35 dniu chowu na ryzyko wprowadzenia *Campylobacter* spp. do stada.
4. Ocena stopnia zanieczyszczenia pałeczkami *Campylobacter* spp. produktów mięsnych surowych (mięso drobiowe) ze skórą i bez skóry, w kontekście zagrożenia zdrowia publicznego.

3. Materiał i metody

3.1. Ocena porównawcza wdrożenia procedur ograniczających ryzyko ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. w objętych badaniami fermach F1-F9 (etap produkcji pierwotnej) (realizacja celów nr 1, 2, 3, 4)

W 2019 r. na podstawie ankiety będącej listą kontrolną obejmującą 55 pytań / zagadnień (Tabela 1) przeprowadzono ocenę porównawczą dziewięciu ferm na terenie województwa wielkopolskiego (F1-F9, 9 indywidualnych właścicieli) pod kątem wdrożenia procedur ograniczających ryzyko ekspozycji i kolonizacji przewodu pokarmowego brojlerów kurzych przez *Campylobacter* spp.

Tabela 1: Ankieta dotycząca ryzyka ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. (etap produkcji pierwotnej)

Nr pytania/zagadnienia	Forma odpowiedzi	Pytania/zagadnienia odnoszące się do ryzyka ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp.
1a	Liczba	Liczba ptaków - obsada fermy (w tys.)
1b*	Liczba	Liczba ptaków - średnia obsada kurnika (w tys.)
2	1-5	Organizacja fermy
3	1-5	Lokalizacja fermy
4	1-5	Higiena w fermie
5	Tak/Nie	Dwubarierowa procedura wejścia do fermy
6	Tak/Nie	Brak roślinności w bliskim sąsiedztwie kurnika (do 25 m)
7	Tak/Nie	Ubój w sezonie zimowym
8	Tak/Nie	Monogatunkowość w obrębie fermy
9	Tak/Nie	Jednopakoleniowość w obrębie fermy
10	Tak/Nie	Stosowanie wyłącznie wody pitnej

11	1-5	Poziom zabezpieczeń przed owadami
12	Tak/Nie	Automatyczne utrzymanie wilgotności na poziomie 60-70%
13	Tak/Nie	Brak gryzoni
14	Tak/Nie	Czas przestoju pomiędzy cyklami chowu - ponad 7 dni (w skali fermy)
15	Tak/Nie	Chów w systemie zamkniętym
16	Tak/Nie	Odpowiednie zagospodarowanie odchodów
17*	Tak/Nie	Łapacze much
18*	Tak/Nie	Siatki przeciwko owadom w oknach kurnika
19*	Tak/Nie	Siatki na wentylatorach (rozmiar oczek 3 mm)
20*	Tak/Nie	Dezynfekcja UV wody
21*	Tak/Nie	Zakwaszanie wody
22*	Tak/Nie	Dodatki pobudzające system immunologiczny w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez drobnoustroje patogenne – niespecyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.
23*	Tak/Nie	Zmiana butów pomiędzy kurnikami
24*	Tak/Nie	Zmiana odzieży pomiędzy kurnikami
25*	Tak/Nie	Pełne pojemniki na środki do dezynfekcji obuwia
26*	Tak/Nie	Czyszczenie butów przed dezynfekcją
27*	Tak/Nie	Umywalki przed wejściem do strefy czystej kurnika
28*	Tak/Nie	Mycie rąk przed wejściem do kurnika
29*	1-5	Zakres ograniczenia wprowadzania paszy, ściółki i sprzętu podczas cyklu chowu
30*	Tak/Nie	Dwubarierowa procedura wejścia do kurnika

31*	Tak/Nie	Wysokość fizycznej bariery - minimum 50 cm
32*	Tak/Nie	Szczelność bariery
33*	Tak/Nie	Czas przestoju pomiędzy cyklami chowu - ponad 7 dni (w odniesieniu do kurnika)
34	Tak/Nie	"All in-all out" = brak ubiórki ²
35	1-5	Jeśli ubiórka: zachowanie zasad bioasekuracji przez łapaczy
36	Tak/Nie	Jeśli ubiórka: brak przemieszczania pracowników pomiędzy kurnikami w tym samym dniu
37	Tak/Nie	Jeśli ubiórka: mycie i dezynfekcja sprzętu wykorzystywanego do obsługi stada podczas chowu
38	1-5	Poziom higieny w trakcie cyklu chowu do ubiórki
39	1-5	Poziom higieny w trakcie cyklu chowu po ubiorce
40	Tak/Nie	Wiek zwierząt w momencie ubiórki - poniżej 31 dni
41	Tak/Nie	Weryfikacja statusu „ <i>Campylobacter-free</i> ” piskląt jednodniowych
42	Tak/Nie	Chów NIE-bio (bez kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym)
43	Tak/Nie	Dodatki w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp. - specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.
44	Tak/Nie	Szczepienia w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp.

² ubiórka - podyktowana dobrostanem zwierząt częściowa depopulacja stad brojlerów kurzych przeprowadzana pomiędzy 33. a 35. dobą życia, polegająca na odłowieniu 20% ptaków do wcześniejszego uboju, w celu zachowania prawidłowego zagęszczenia stada.

45	Tak/Nie	Chów selektywny w kierunku „ <i>Campylobacter</i> -free”
46	Tak/Nie	Bakteriocyny (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.)
47	Tak/Nie	Bakteriofagi (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.)
48	Tak/Nie	Autoszczepionki ogólnie
49	Tak/Nie	Prebiotyki lub/i dodatki paszowe (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.)
50	Tak/Nie	Polityka „ <i>Campylobacter</i> -free”
51	1-5	Świadomość hodowcy odnośnie <i>Campylobacter</i> spp.
52	1-5	Hodowca rozpoznaje <i>Campylobacter</i> spp. jako ważny problem
53	1-5	Świadomość personelu odnośnie <i>Campylobacter</i> spp.
54	Tak/Nie	Szkolenia personelu odnośnie <i>Campylobacter</i> spp.
55	Tak/Nie	Czy planowane jest wdrożenie polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”?

Objaśnienia:

* - pytanie/zagadnienie odnoszące się do poszczególnych kurników w fermie; przedstawiony wynik jest średnią wartością dla wszystkich kurników w danej fermie

W pytaniach o formie odpowiedzi Tak/Nie do odpowiedzi TAK przypisano wartość 1; do odpowiedzi NIE przypisano wartość 0.

Ankietę będącą listą kontrolną obejmującą 55 pytań/zagadnień odnoszących się do ryzyka ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. utworzono na podstawie raportów Komisji Europejskiej (EFSA J. 2018) oraz przeglądu literatury (Wieczorek i Osek, 2010; Gomółka-Pawlicka i in. 2014, 2015), kierując się długoletnimi doświadczeniami własnymi. Oceniane pytania/zagadnienia dotyczyły

ogólnych procedur bezpieczeństwa biologicznego w odniesieniu do poziomu fermy (Tabela 2: obszar tematyczny 1A, 16 pytań [pyt. 1-16]), ścisłych procedur bezpieczeństwa biologicznego w odniesieniu do poziomu kurnika (Tabela 2: obszar tematyczny 1B, 17 pytań [pyt. 17-33]), procedur bezpieczeństwa biologicznego powiązanych z częściową depopulacją stada (Tabela 2: obszar tematyczny 1C, 6 pytań [pyt. 34-39]) oraz procedur bezpieczeństwa biologicznego specyficznych dla *Campylobacter* spp. (Tabela 2: obszar tematyczny 1D, 16 pytań [pyt. 40-55]).

Tabela 2: Obszary tematyczne (1A-1D) odnoszące się do kategorii procedur bezpieczeństwa biologicznego i przypisane im pytania/zagadnienia oceniane na etapie produkcji pierwotnej

Obszar tematyczny	Oceniane pytanie/zagadnienie odnoszące się do ryzyka ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji przewodu ich pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp.
1A Ogólne procedury bezpieczeństwa biologicznego odnoszące się do poziomu fermy	Liczba ptaków - obsada fermy (pyt. 1)
	Organizacja fermy (pyt. 2)
	Lokalizacja fermy (pyt. 3)
	Higiena w fermie (pyt. 4)
	Dwubarierowa procedura wejścia do fermy (pyt. 5)
	Brak roślinności w bliskim sąsiedztwie kurnika - do 25 m (pyt. 6)
	Ubój w sezonie zimowym (pyt. 7)
	Monogatunkowość w obrębie fermy (pyt. 8)
	Jednopakoleniowość w obrębie fermy (pyt. 9)
	Stosowanie wyłącznie wody pitnej (pyt. 10)
	Poziom zabezpieczeń przed owadami (pyt. 11)
	Automatyczne utrzymanie wilgotności na poziomie 60-70% (pyt. 12)
	Brak gryzoni (pyt. 13)
	Czas przestoju pomiędzy cyklami chowu - ponad 7 dni w skali fermy (pyt. 14)
	Chów w systemie zamkniętym (pyt. 15)
	Odpowiednie zagospodarowanie odchodów (pyt. 16)

1B Ścisłe procedury bezpieczeństwa biologicznego odnoszące się do poziomu kurnika	Owady	Łapacze much (pyt. 17)
		Siatki przeciwko owadom w oknach kurnika (pyt. 18)
		Siatki na wentylatorach - rozmiar oczek 3 mm (pyt. 19)
	Woda	Dezynfekcja UV wody (pyt. 20)
		Zakwaszanie wody (pyt. 21)
		Dodatki pobudzające system immunologiczny w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez drobnoustroje patogenne – niespecyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 22)
	Wejście personelu do kurnika	Zmiana butów pomiędzy kurnikami (pyt. 23)
		Zmiana odzieży pomiędzy kurnikami (pyt. 24)
		Pełne pojemniki na środki do dezynfekcji obuwia (pyt. 25)
		Czyszczenie butów przed dezynfekcją (pyt. 26)
		Umywalki przed wejściem do strefy czystej kurnika (pyt. 27)
		Mycie rąk przed wejściem do kurnika (pyt. 28)
		Zakres ograniczenia wprowadzania paszy, ściółki i sprzętu podczas cyklu chowu (pyt. 29)
	Fizyczna bariera wejścia do kurnika	Dwubarierowa procedura wejścia do kurnika (pyt. 30)
		Wysokość fizycznej bariery - minimum 50 cm (pyt. 31)
		Szczelność bariery (pyt. 32)
	Okres pusty	Czas przestoju pomiędzy cyklami chowu - ponad 7 dni w odniesieniu do kurnika (pyt. 33)

1C Procedury bezpieczeństwa biologicznego powiązane z częściową depopulacją stada (specyficzne dla ubiórki)	"All in-all out" = brak ubiórki (pyt. 34)	
	Jeśli ubiórka: zachowanie zasad bioasekuracji przez łapaczy (pyt. 35)	
	Jeśli ubiórka: brak przemieszczania pracowników pomiędzy kurnikami w tym samym dniu (pyt. 36)	
	Jeśli ubiórka: mycie i dezynfekcja sprzętu wykorzystywanego do obsługi stada podczas chowu (pyt. 37)	
	Poziom higieny w trakcie cyklu chowu do ubiórki (pyt. 38)	
	Poziom higieny w trakcie cyklu chowu po ubiórce (pyt. 39)	
1D Procedury bezpieczeństwa biologicznego specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.	Ulepszony system chowu	Wiek zwierząt w momencie uboju - poniżej 31 dni (pyt. 40)
		Weryfikacja statusu „ <i>Campylobacter</i> -free” piskląt jednodniowych (pyt. 41)
		Chów NIE-bio (bez kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym) (pyt. 42)
		Dodatki w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp. - specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 43)
		Szczepienia w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 44)
		Chów selektywny w kierunku „ <i>Campylobacter</i> -free” (pyt. 45)
		Bakteriocyny (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.) (pyt. 46)
		Bakteriofagi (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.) (pyt. 47)
		Autoszczepionki ogólnie (pyt. 48)
		Prebiotyki lub/i dodatki paszowe (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.) (pyt. 49)
		Polityka „ <i>Campylobacter</i> -free” (pyt. 50)
	Świadomość hodowcy i personelu	Świadomość hodowcy odnośnie <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 51)
		Hodowca rozpoznaje <i>Campylobacter</i> spp. jako ważny problem (pyt. 52)
		Świadomość personelu odnośnie <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 53)
		Szkolenia personelu odnośnie <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 54)
		Czy planowane jest wdrożenie polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”? (pyt. 55)

Ankieta będąca listą kontrolną zawierała 43 pytania zamknięte (odpowiedź tak/nie) - w tym 11 odnoszących się do poziomu fermy (pytania 5-10 oraz 12-17) i 16 odnoszących się do poziomu kurnika (pytania 17-28 oraz 30-33), 11 pytań o skalę zjawiska np. poziom higieny w trakcie cyklu chowu do ubiórki - w tym 4 odnoszące się do poziomu fermy (pytania 2-4, 11) i 1 odnoszące się do poziomu kurnika (pytanie 29) oraz 1 pytanie pomocnicze otwarte o przedział liczbowy (pytanie 1 obejmujące dwa podpunkty [a i b]), dotyczące, odpowiednio, liczby ptaków w fermie oraz średniej obsady kurników w fermie (Tabela 1). Fermy F1-F9 oceniono według poniższej reguły. Pytania zamknięte sformułowano w taki sposób, aby udzielenie odpowiedzi TAK, przypisanej do wartości 1, oznaczało działanie pożądane. Udzielenie odpowiedzi NIE, przypisanej do wartości 0, oznaczało brak działania, które przyczyniałoby się do ograniczenia występowania *Campylobacter* spp. Pytania o skalę zjawiska sformułowano w taki sposób, aby przyznanie najwyższej oceny (5 punktów) oznaczało pełne wdrożenie i prawidłowe działanie procedur mających na celu ograniczenie występowania *Campylobacter* spp., podczas gdy przyznanie najniższej oceny (1 punkt) oznaczało brak takich procedur lub ich zupełne nieprzestrzeganie. Wynik pytania pomocniczego nie był uwzględniony w sumarycznej punktacji obliczanej dla każdej z ferm. Wszystkie obserwacje były przeprowadzone przez tego samego lekarza weterynarii (specjalistę chorób drobiu).

Zastosowanie takiego rozwiązania pozwoliło na stworzenie listy rankingowej ferm objętych badaniem. Maksymalna liczba punktów przewidziana w ankiecie wynosiła 81 lub 98, odpowiednio dla ferm stosujących system „all in-all out” i ferm przeprowadzających częściową depopulację stada w trakcie chowu; dla ferm, które przeprowadzają tzw. ubiórkę przygotowano 5 dodatkowych pytań (pyt. 35-39), co zwiększyło pulę możliwych do uzyskania punktów o 17.

3.2. Wykrywanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w pierwszym kale piskłat (łac. *meconium*, mekonium) oraz w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej) (realizacja celu nr 2)

3.2.1. Wykrywanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w pierwszym kale piskłat (mekonium) przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)

Pierwszy kał piskłat (mekonium) pochodził od jednodniowych piskłat z okresu bezpośrednio poprzedzającego ich wprowadzenie do kurnika i rozpoczęcie objętego badaniem cyklu chowu³. Każdy cykl chowu - co do zasady - rozpoczynany był co najmniej 7 dni od uboju brojlerów kurzych poprzedniej obsady i poprzedzony był tzw. okresem pustym, w którym przeprowadzano m.in. mycie i dezynfekcję kurników. Utworzono 70 próbek zbiorczych mekonium - po 1 próbce zbiorczej pochodzącej od piskłat przeznaczonych do wstawienia do 1 kurnika (w każdej z ferm F1-F7 po 10 kurników). Próbkę zbiorczą tworzą po dowiezieniu zwierząt na fermę poprzez łączenie próbek pierwotnych mekonium pobranych bezpośrednio z 10 pojemników transportowych z piskłatami przeznaczonymi dla 1 kurnika w fermie (100 pojemników transportowych z piskłatami przeznaczonymi do obsady 10 kurników w każdej z ferm F1-F7). Próbkę pierwotną, w zależności od organizacji transportu, stanowiło mekonium z papierowej wyściółki pojemnika transportowego lub wymaz pobrany gąbką z takiego pojemnika, w przypadku transportu bez papierowej wyściółki.

Próbki zbiorcze pierwszego kału piskłat poddano badaniom molekularnym nie później niż 48 godzin po dostarczeniu do laboratorium i nie później niż 96 godzin od momentu pobrania (próbki zbiorcze przechowywano w temperaturze 2 - 8°C).

Do wykrywania materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu Kylt®*Campylobacter jejuni/coli* DNA-Extraction and Real-Time PCR Detection Kit for Thermophilic *Campylobacter* spp. (AniCon Labor GmbH, Niemcy) (opis metody w podrozdziale 3.7.2.1).

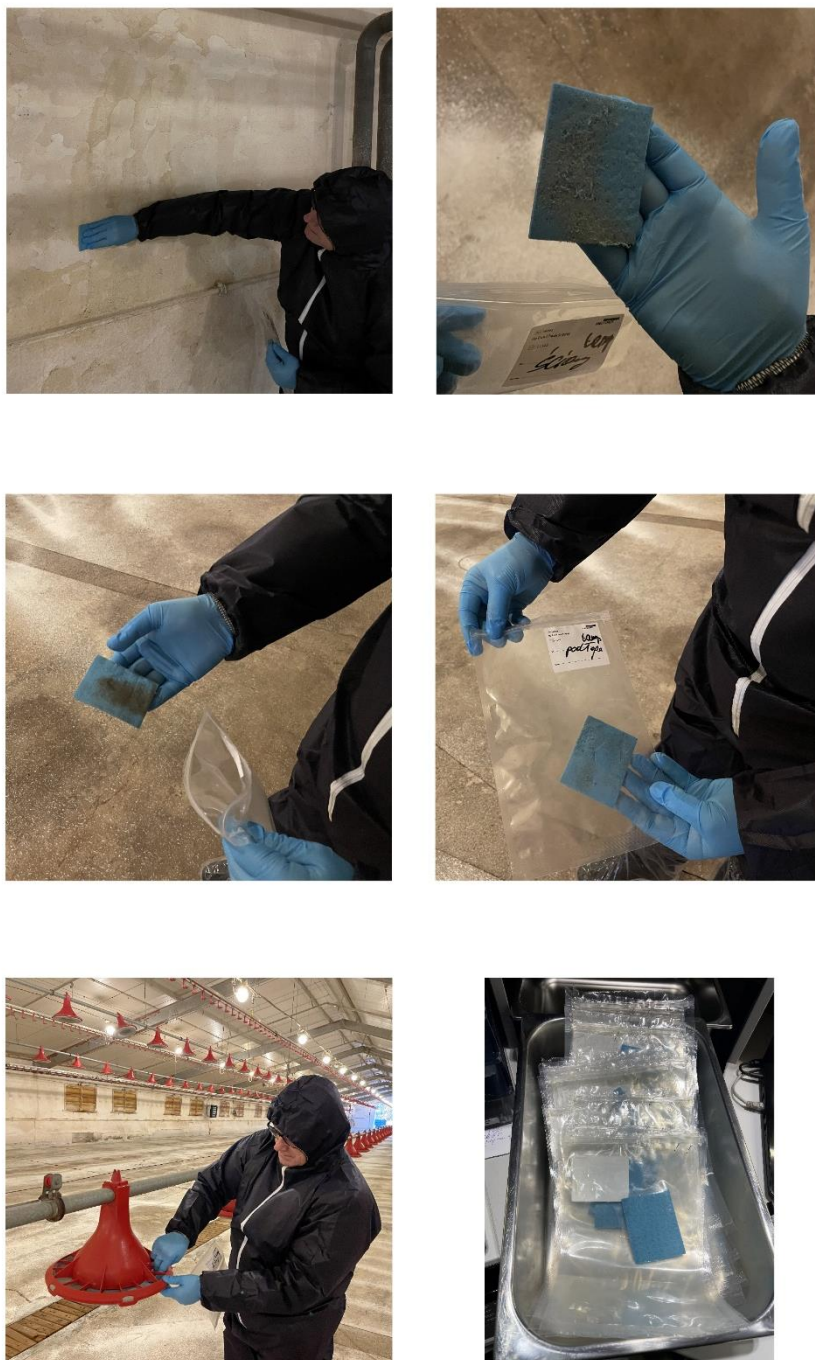
³ Badanie próbek zbiorczych mekonium w kierunku obecności materiału genetycznego *Campylobacter* spp. dotyczyło materiału pochodzącego od piskłat przeznaczonych na obsadę drugiego (C₂) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu.

3.2.2. Wykrywanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)

Z 70 kurników (w każdej z ferm F1-F7 po 10 kurników) przed rozpoczęciem drugiego (C₂) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu, po zakończeniu tzw. okresu pustego, 1 dzień przed wprowadzeniem piskląt, pobierano po 5 wymazów powierzchniowych - ze ścian (2 wymazy), z podłogi (1 wymaz), z karmidła (1 wymaz) i z poidła (1 wymaz)⁴ (350 wymazów). Wymazy pobierano przy użyciu komercyjnie dostępnych gąbek nasączonych wodą peptonową, przesuwając po badanej powierzchni dłuższą (10 cm) krawędzią gąbki ze szczególnym zwróceniem uwagi na to, aby cała powierzchnia gąbki przylegała do badanej powierzchni (Rycina 1). Następnie 5 wymazów z jednego kurnika łączono w próbkę zbiorczą. Łącznie pobrano 70 próbek zbiorczych wymazów powierzchniowych z kurników zlokalizowanych na terenie siedmiu ferm F1-F7⁵ - po jednej z każdego kurnika (10 próbek zbiorczych z każdej fermy).

⁴ Badanie próbek zbiorczych wymazów powierzchniowych ze środowiska bytowania brojlerów kurzych w kierunku obecności materiału genetycznego *Campylobacter* spp. dotyczyło wyłącznie kurników, w których prowadzony był drugi (C₂) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu.

⁵ Kurniki, w których prowadzony był drugi (C₂) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu zlokalizowane były na terenie siedmiu (F1-F7) spośród dziewięciu ferm.



Rycina 1. Pobieranie wymazów powierzchniowych w kurniku ze ścian (2 wymazy), z podłogi (1 wymaz), z karmidła (1 wymaz), z poidła (1 wymaz) oraz ich łączenie w próbkę zbiorczą (5 wymazów).

Próbki zbiorcze wymazów powierzchniowych poddano badaniom molekularnym nie później niż 48 godzin po dostarczeniu do laboratorium i nie później niż 96 godzin od momentu pobrania.

Do wykrywania materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu Kylt®*Campylobacter jejuni/coli* DNA-Extraction and Real-Time PCR Detection Kit for Thermophilic *Campylobacter* spp. (opis metody w podrozdziale 3.7.2.1).

3.3. Wykrywanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej) (realizacja celu nr 3)

3.3.1. Wykrywanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych przed częściową depopulacją ptaków (etap produkcji pierwotnej)

Badaniami objęto środowisko bytowania 152 stad brojlerów kurzych na terenie dziewięciu ferm (F1-F9) w dwóch kolejnych cyklach chowu (C_1 i C_2)⁶. Określone stado bytowało w przeznaczonym dla niego kurniku. Wymazy podeszwowe pobierano zgodnie z wytycznymi Rozporządzenia Komisji (WE) nr 200/2012 z dnia 8 marca 2012 r. w sprawie unijnego celu ograniczenia występowania *Salmonella* Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium w stadach brojlerów zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady. Z kurnika pobierano cztery wymazy podeszwowe, po dwa z połowy kurnika. Wymazy pobierano poprzez założenie na ochraniacze obuwia zwilżonych włókninowych okładzin i przejście co najmniej 100 kroków w każdej połowie kurnika, mając na uwadze proporcjonalne pobranie próbek z całej powierzchni (Rycina 2). Wymazy ze środowiska bytowania jednego stada umieszczano w sterylnej torebce tworząc próbkę zbiorczą. Próbką zbiorczą składała się z 4 wymazów podeszwowych.

⁶ Pierwszy (C_1) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu obejmował 82 stada brojlerów kurzych pochodzące z dziewięciu ferm (F1-F9).



Rycina 2. Pobieranie 4 wymazów podeszwowych w kurniku i ich łączenie w próbkę zbiorczą

Ze środowiska bytowania 82 stad brojlerów kurzych, objętych cyklem chowu C₁, pochodzących z ferm F1-F9 pobrano w 21 dniu życia zwierząt, 19-21 dni przed ubojem, 82 próbki zbiorcze wymazów podeszwowych (F1 - 8 próbek zbiorczych, F2 - 9 próbek zbiorczych, F3 - 7 próbek zbiorczych, F4 - 10 próbek zbiorczych, F5 - 10 próbek zbiorczych, F6 - 10 próbek zbiorczych, F7 - 10 próbek zbiorczych, F8 - 9 próbek zbiorczych, F9 - 9 próbek zbiorczych) - po 1 z każdego kurnika - odnoszące się do ptaków przed tzw. ubiórką. Wymazy podeszwowe pobrano w terminie obowiązkowego badania w kierunku *Salmonella*, czyli maksymalnie 21 dni przed ubojem, co było podyktowane terminem ważności tego badania w celu wydania świadectwa zdrowia przez Inspekcję Weterynaryjną, zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 11 stycznia 2017 r. w sprawie wprowadzenia „Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*) na lata 2017-2019. Obecnie wymazy podeszwowe pobierane są maksymalnie 14 dni przed ubojem, zgodnie z Rozporządzeniem Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 stycznia 2020 r. w sprawie wprowadzenia „Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*) na lata 2020-2022”.

Ze środowiska bytowania 70 stad brojlerów kurzych, objętych cyklem chowu C₂, pochodzących z ferm F1-F7 pobrano w 21 dniu życia zwierząt, 19-21 dni przed ubojem, 70

próbek zbiorczych wymazów podeszwowych (F1 - 10 próbek zbiorczych, F2 - 10 próbek zbiorczych, F3 - 10 próbek zbiorczych, F4 - 10 próbek zbiorczych, F5 - 10 próbek zbiorczych, F6 - 10 próbek zbiorczych, F7 - 10 próbek zbiorczych) - po 1 z każdego kurnika - odnoszących się do ptaków przed tzw. ubiórką.

W 64 kurnikach spośród 90 prowadzony był zarówno pierwszy (C_1) jak i drugi (C_2) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu. Z kurników tych, zlokalizowanych na terenie ferm F1- F7 pobrano w 21 dniu życia zwierząt, 19-21 dni przed ubojem, 128 próbek zbiorczych wymazów podeszwowych (F1 - 2 x 8 próbek zbiorczych, F2 - 2 x 9 próbek zbiorczych, F3 - 2 x 7 próbek zbiorczych, F4 - 2 x 10 próbek zbiorczych, F5 - 2 x 10 próbek zbiorczych, F6 - 2 x 10 próbek zbiorczych, F7 - 2 x 10 próbek zbiorczych) - po 1 z każdego kurnika dla każdego cyklu chowu (C_1 , C_2) - odnoszących się do ptaków przed tzw. ubiórką.

Próbki zbiorcze wymazów podeszwowych poddano badaniom molekularnym nie później niż 48 godzin po dostarczeniu do laboratorium i nie później niż 96 godzin od momentu pobrania.

Do wykrywania materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu Kylt®*Campylobacter jejuni/coli* DNA-Extraction and Real-Time PCR Detection Kit for Thermophilic *Campylobacter* spp. Próbki, w których stwierdzono obecność materiału genetycznego *Campylobacter*, przesiewano na pożywkę CAMP Chromagar *Campylobacter* (Graso Biotech, Polska) i inkubowano w odpowiednich warunkach, po czym wyrosłe kolonie identyfikowano gatunkowo za pomocą testu BAX®system Real-time PCR assay for *Campylobacter jejuni / coli / lari* (Hygiena, USA) (opis metod w podrozdziale 3.7.2.1).

Analiza statystyczna tej części materiału polegała na porównaniu występowania *Campylobacter* spp. i *Campylobacter jejuni* w cyklach chowu C_1 i C_2 . Zastosowano test Mc Nemara dla zmiennych zależnych, które dotyczyły dwóch następujących po sobie cykli. Obserwacje, w których nie stwierdzono *Campylobacter* spp. lub *Campylobacter jejuni* oznaczono jako 0, a obserwacje w których stwierdzono patogen oznaczono jako 1. Pozostałe gatunki (*C. coli* i *C. lari*) były zbyt rzadko reprezentowane, dlatego nie wykonano dla nich analizy statystycznej.

3.3.2. Wykrywanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych przed i po częściowej depopulacji ptaków (etap produkcji pierwotnej)

Ze środowiska bytowania 15 stad brojlerów kurzych (określone stado bytowało w przeznaczonym dla niego kurniku), objętych cyklem chowu C₁, pochodzących z czterech ferm (F2 - 4 kurniki, F4 - 4 kurniki, F5 - 4 kurniki, F7 - 3 kurniki) pobrano 30 próbek zbiorczych wymazów podeszwowych – każda próbka zbiorcza obejmowała 1 kurnik (F2 – 2 x 4 próbki zbiorcze, F4 – 2 x 4 próbki zbiorcze, F5 – 2 x 4 próbki zbiorcze, F7 – 2 x 3 próbki zbiorcze) - po 2 z każdego kurnika, z których jedna odnosiła się do ptaków przed tzw. ubiórką (próbka pobrana w 21 dniu życia zwierząt, 19-21 dni przed ubojem), a druga odnosiła się do ptaków po tzw. ubiorce (próbka pobrana 14 dni później, 24 godziny po częściowej depopulacji stada, w 35 dniu życia zwierząt, 5-7 dni przed ubojem).

Próbki zbiorcze wymazów podeszwowych poddano badaniom molekularnym nie później niż 48 godzin po dostarczeniu do laboratorium i nie później niż 96 godzin od momentu pobrania.

Do wykrywania materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu Kylt®*Campylobacter jejuni/coli* DNA-Extraction and Real-Time PCR Detection Kit for Thermophilic *Campylobacter* spp. Próbki, w których stwierdzono obecność materiału genetycznego *Campylobacter*, przesiewano na pożywkę CAMP Chromagar *Campylobacter* i inkubowano w odpowiednich warunkach, po czym wyrosłe kolonie identyfikowano gatunkowo za pomocą testu BAX®system Real-time PCR assay for *Campylobacter jejuni* / *coli* / *lari* (opis metod w podrozdziale 3.7.2.1).

Analiza statystyczna tej części materiału polegała na ocenie wpływu depopulacji na występowanie *Campylobacter* spp. i *Campylobacter jejuni*. Zastosowano test Mc Nemara dla zmiennych zależnych, które dotyczyły dwóch następujących po sobie etapów chowu: przed ubiórką i po ubiorce. Obserwacje, w których nie stwierdzono *Campylobacter* spp. lub *Campylobacter jejuni* oznaczono jako 0, a obserwacje w których stwierdzono patogen oznaczono jako 1. Pozostałe gatunki (*C. coli* i *C. lari*) były zbyt rzadko reprezentowane, dlatego nie wykonano dla nich analizy statystycznej.

3.4. Ocena porównawcza wdrożenia procedur ograniczających ryzyko zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez *Campylobacter* spp. (etapy: transportu, w ubojni oraz w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa) (realizacja celu nr 4)

Ocenę etapów transportu oraz w ubojni przeprowadzono na podstawie ankiety będącej listą kontrolną złożonej z 35 pytań/zagadnień, spośród których 31 stanowiły pytania zamknięte (odpowiedź tak/nie) - w tym 2 odnoszące się do etapu transportu oraz 29 odnoszących się do etapu w ubojni, a 4 to pytania o skalę zjawiska (ocena od 1 do 5 punktów) - w tym 3 odnoszące się do etapu transportu i 1 odnoszące się do etapu w ubojni (Tabela 3).

Tabela 3: Ankieta dotycząca ryzyka zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez *Campylobacter* spp. - etapy transportu i w ubojni

Nr pytania/zagadnienia	Forma odpowiedzi	Pytanie/zagadnienie odnoszące się do ryzyka zanieczyszczenia tusz brojlerów kurzych przez <i>Campylobacter</i> spp.
1	Tak/Nie	Czy jest rozdzielenie w czasie lub przestrzeni zwierząt z ferm <i>Campylobacter</i> -dodatnich i <i>Campylobacter</i> -ujemnych?
2	1-5	Ogólne warunki transportu zwierząt
3	1-5	Czyszczenie i dezynfekcja skrzynek, modułów i pojazdów transportowych
4	1-5	Miejsce składowania klatek po dezynfekcji jest oddzielone od miejsca z klatkami brudnymi
5	Tak/Nie	Klatki są wykonane z niekorodującego materiału
6	Tak/Nie	Czy w ubojni wdrożone są obowiązkowe kryteria higieny procesu (KHP) dla <i>Campylobacter</i> spp.?
7	Tak/Nie	Częstość badań jest większa niż wymagania prawne

8	Tak/Nie	Czy w ubojni wdrożone są dodatkowe kryteria dla <i>Campylobacter</i> spp.?
9	Tak/Nie	Wyniki badań stada w kierunku <i>Campylobacter</i> spp. przekazywane są do ubojni za pomocą dokumentacji FCI (ang. Food Chain Information - informacja dotycząca łańcucha żywnościowego)
10	Tak/Nie	Ubojnia ma swobodny dostęp do FCI
11	Tak/Nie	Skuteczność procedury mycia i dezynfekcji klatek jest weryfikowana badaniami mikrobiologicznymi
12	Tak/Nie	Nie ma przepływu powietrza z obszaru zawieszania ptaków do następnego etapu produkcyjnego
13	Tak/Nie	Stosuje się "multiple scald tanks" (wiele oparzelników - dla redukcji zanieczyszczeń)
14	Tak/Nie	Temperatura wody w oparzelnikach wynosi ponad 55°C
15	Tak/Nie	Woda jest regularnie wymieniana w oparzelnikach
16	Tak/Nie	Kierunek przepływu wody w oparzelniku jest odwrotny do kierunku przesuwu linii
17	Tak/Nie	Skubarki dostosowane do rozmiaru tuszek
18	Tak/Nie	"Palce" skubarek sprawdzane codziennie - za duże ciśnienie powoduje wydostanie się treści kloaki
19	Tak/Nie	Aerozol, który powstaje w obszarze skubania nie przedostaje się do kolejnego etapu produkcji
20	Tak/Nie	Bieżąca kontrola wzrokowa skuteczności wytrzewiania
21	Tak/Nie	Czy prowadzona jest kontrola perforacji, wycieków z jelit na etapie wytrzewiania?

Materiał i metody

22	Tak/Nie	Natryskowe mycie tuszek
23	Tak/Nie	Brak mycia tuszek przez zanurzanie w wodzie
24	Tak/Nie	Tylko mokre tuszki są przekazywane do chłodzenia
25	Tak/Nie	Chłodzenie: tzw. rapid cooling
26	Tak/Nie	Chłodzenie: brak kondensacji lub gromadzenia się wody
27	Tak/Nie	Brak chłodzenia natryskowego
28	Tak/Nie	Chłodzenie zimnym powietrzem
29	1-5	Prędkości linii umożliwia prawidłowe schłodzenie tuszek
30	Tak/Nie	Stosowanie promieniowania UV na tuszki wychodzące z obszaru chłodzenia
31	Tak/Nie	Personel strefy pakowania nie ma wstępu na wcześniejsze etapy produkcji
32	Tak/Nie	Czy ubojnia realizuje politykę „ <i>Campylobacter</i> -free” (przyjmuje do uboju tylko stada wolne od <i>Campylobacter</i> spp.)?
33	Tak/Nie	Czy w ubojni zapewniony jest przepływ powietrza w kierunku odwrotnym do ciągu technologicznego?
34	Tak/Nie	Brak głodówki przedubojowej
35	Tak/Nie	Czy stosowane są innowacyjne metody redukcji <i>Campylobacter</i> spp. na powierzchni tuszek

Objaśnienia:

W pytaniach o formie odpowiedzi TAK/Nie do odpowiedzi TAK przypisano wartość 1; do odpowiedzi NIE przypisano wartość 0

Ocenę etapu w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa przeprowadzono na podstawie 5 pytań zamkniętych (odpowiedź tak/nie) (Tabela 4).

Tabela 4: Ankieta dotycząca ryzyka występowania *Campylobacter* spp. w surowych produktach mięsnych - etap w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa

Nr pytania/zagadnienia	Forma odpowiedzi	Pytanie/zagadnienie odnoszące się do ryzyka występowania <i>Campylobacter</i> spp. w surowych produktach mięsnych
1	Tak/Nie	Czy zakład wprowadza do obrotu jedynie produkty „ <i>Campylobacter</i> -free”?
2	Tak/Nie	Mięso (cała partia) zanieczyszczone <i>Campylobacter</i> spp. poddawane jest mrożeniu (element polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”)
3	Tak/Nie	Mięso (cała partia) zanieczyszczone <i>Campylobacter</i> spp. poddawane jest obróbce termicznej (element polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”)
4	Tak/Nie	Do obrotu wprowadzane są jedynie produkty indywidualnie pakowane
5	Tak/Nie	Etykieta zawiera informacje o zagrożeniu <i>Campylobacter</i> spp. i/lub sposobie obróbki ograniczającym zagrożenie <i>Campylobacter</i> spp. i/lub informację „wolne od <i>Campylobacter</i> spp.”

Objaśnienia:

W pytaniach o TAK/Nie do odpowiedzi TAK przypisano wartość 1; do odpowiedzi NIE przypisano wartość 0

Ankiety będące listami kontrolnymi złożonymi z pytań/zagadnień ujętych w Tabelach 3 i 4 utworzono w odniesieniu do ryzyka zanieczyszczenia tuszek brojlerów przez *Campylobacter* spp. na podstawie raportów Komisji Europejskiej (EFSA J. 2018) oraz przeglądu literatury (Wieczorek i Osek, 2010; Gomółka-Pawlicka i in. 2014, 2015), kierując się długoletnimi doświadczeniami własnymi. Pytania/zagadnienia dotyczyły transportu zwierząt do ubojni (Tabela 5: obszar tematyczny 2A, 5 pytań [pyt. 1-5]), badań

mikrobiologicznych i FCI (Tabela 5: obszar tematyczny 2B, 6 pytań [pyt. 6-11]), oparzania i skubania (Tabela 5: obszar tematyczny 2C, 8 pytań [pyt. 12-19], wytrzewiania i mycia (Tabela 5: obszar tematyczny 2D, 4 pytania [pyt. 20-23]), chłodzenia i pakowania (Tabela 5: obszar tematyczny 2E, 8 pytań [pyt. 24-31]) oraz innych procedur specyficznych dla *Campylobacter* spp. (Tabela 5: obszar tematyczny 2F, 4 pytania [32-35]) oraz (Tabela 6: obszar tematyczny 3A, 5 pytań [pyt. 1-5]).

Tabela 5: Obszary tematyczne (2A-2F) i przypisane im zagadnienia badane na etapach transportu i ubojni

Obszar tematyczny	Oceniane pytanie/zagadnienie odnoszące się do ryzyka zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez <i>Campylobacter</i> spp.
2A Transport zwierząt do ubojni	Czy jest rozdzielenie w czasie lub przestrzeni zwierząt z ferm <i>Campylobacter</i> -dodatnich i <i>Campylobacter</i> -ujemnych (pyt. 1)
	Ogólne warunki transportu zwierząt (pyt. 2)
	Czyszczenie i dezynfekcja skrzynek, modułów i pojazdów transportowych (pyt. 3)
	Miejsce składowania klatek po dezynfekcji jest oddzielone od miejsca z klatkami brudnymi (pyt. 4)
	Klatki są wykonane z niekorodującego materiału (pyt. 5)
2B Badania mikrobiologiczne i FCI	Czy w ubojni wdrożone są obowiązkowe kryteria higieny procesu (KHP) dla <i>Campylobacter</i> spp.? (Rozp. 2073/2005 z późn. zm.) (pyt. 6)
	Częstość badań jest większa niż wymagania prawne (pyt. 7)
	Czy w ubojni wdrożone są dodatkowe (własne) kryteria dla <i>Campylobacter</i> spp.? (pyt. 8)
	Czy wyniki badań stada w kierunku <i>Campylobacter</i> spp. przekazywane są do ubojni za pomocą dokumentacji FCI (pyt. 9)
	Ubojnia ma swobodny dostęp do FCI (pyt. 10)
	Skuteczność procedury mycia i dezynfekcji klatek jest weryfikowana badaniami mikrobiologicznymi (pyt. 11)

2C Oparzanie i skubanie	Nie ma przepływu powietrza z obszaru zawieszania ptaków do następnego etapu produkcyjnego (pyt. 12)
	Stosuje się "multiple scald tanks" (wiele oparzelników - dla redukcji zanieczyszczeń) (pyt. 13)
	Temperatura wody w oparzelnikach wynosi ponad 55°C (pyt. 14)
	Woda jest regularnie wymieniana w oparzelnikach (pyt. 15)
	Kierunek przepływu wody w oparzelniku jest odwrotny do kierunku przesuwu linii (pyt. 16)
	Skubarki dostosowane do rozmiaru tuszek (pyt. 17)
	"Palce" skubarek sprawdzane codziennie - za duże ciśnienie powoduje wydostanie się treści kloaki (pyt. 18)
	Aerozol, który powstaje w obszarze skubania nie przedostaje się do kolejnego etapu produkcji (pyt. 19)
2D Wytrzewianie i mycie	Bieżąca kontrola wzrokowa skuteczności wytrzewiania (pyt. 20)
	Czy prowadzona jest kontrola perforacji, wycieków z jelit na etapie wytrzewiania? (pyt. 21)
	Natryskowe mycie tuszek (pyt. 22)
	Brak mycia tuszek przez zanurzanie w wodzie (pyt. 23)
2E Chłodzenie i pakowanie	Tylko mokre tuszki są przekazywane do chłodzenia (pyt. 24)
	Chłodzenie: tzw. rapid cooling (pyt. 25)
	Chłodzenie: brak kondensacji lub gromadzenia się wody (pyt. 26)
	Brak chłodzenia natryskowego (pyt. 27)
	Chłodzenie zimnym powietrzem (pyt. 28)
	Prędkości linii umożliwia prawidłowe schłodzenie tuszek (pyt. 29)
	Stosowanie promieniowania UV na tuszki wychodzące z obszaru chłodzenia (pyt. 30)
	Personel strefy pakowania nie ma wstępu na wcześniejsze etapy produkcji (pyt. 31)
2F Inne procedury specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.	Czy ubojnia realizuje politykę „ <i>Campylobacter</i> -free” (przyjmuje do uboju tylko stada wolne od <i>Campylobacter</i>)? (pyt. 32)
	Czy w ubojni zapewniony jest przepływ powietrza w kierunku odwrotnym do ciągu technologicznego? (pyt. 33)
	Brak głodówki przedubojowej (pyt. 34)
	Czy stosowane są innowacyjne metody redukcji <i>Campylobacter</i> spp. na powierzchni tuszek (pyt. 35)

Tabela 6: Obszar tematyczny (3A) i przypisane mu zagadnienia badane na etapie zakładu rozbioru i porcjowania mięsa

Obszar tematyczny	Oceniane pytanie/zagadnienie odnoszące się do ryzyka występowania <i>Campylobacter</i> spp. w surowych produktach mięsnych
3A Inne procedury specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.	Czy zakład wprowadza do obrotu jedynie produkty <i>Campylobacter</i> -free? (pyt. 1)
	Mięso (cała partia) zanieczyszczone <i>Campylobacter</i> spp. poddawane jest mrożeniu (element polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”) (pyt. 2)
	Mięso (cała partia) zanieczyszczone <i>Campylobacter</i> spp. poddawane jest obróbce termicznej (element polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”) (pyt. 3)
	Do obrotu wprowadzane są jedynie produkty indywidualnie pakowane (pyt. 4)
	Etykieta zawiera informacje o zagrożeniu <i>Campylobacter</i> spp. i/lub sposobie obróbki ograniczającym zagrożenie <i>Campylobacter</i> spp. i/lub informację „wolne od <i>Campylobacter</i> ” (pyt. 5)

Pytania zamknięte sformułowano w taki sposób, aby udzielenie odpowiedzi TAK, przypisanej do wartości 1, oznaczało działanie pożądane. Udzielenie odpowiedzi NIE, przypisanej do wartości 0, oznaczało brak działania, które przyczyniałoby się do ograniczenia występowania *Campylobacter* spp. Pytania o skalę zjawiska sformułowano w taki sposób, aby przyznanie maksymalnej oceny (5 punktów) oznaczało pełne wdrożenie i prawidłowe działanie procedur mających na celu ograniczenie występowania *Campylobacter* spp. Przyznanie minimalnej oceny (1 punkt) oznaczało brak takich procedur lub ich zupełne nieprzestrzeganie. Wszystkie obserwacje były przeprowadzone przez lekarza weterynarii (specjalistę chorób drobiu).

3.5. Wykrywanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* oraz określenie liczby bakterii z rodzaju *Campylobacter* na powierzchni tuszek brojlerów kurzych z objętych badaniami ferm F1-F9 (etap w ubojni) (realizacja celu nr 4)

Pobrano 199 próbek zbiorczych skór z szyi tuszek brojlerów kurzych, objętych cyklem chowu C₁ i/lub C₂, pochodzących z dziewięciu ferm (F1 - 15 próbek zbiorczych, F2 - 20 próbek zbiorczych, F3 - 22 próbek zbiorczych, F4 - 36 próbek zbiorczych, F5 - 37 próbek zbiorczych, F6 - 32 próbki zbiorcze, F7 - 24 próbki zbiorcze, F8 - 7 próbek zbiorczych, F9 - 6 próbek zbiorczych). Materiał do badań pobierano techniką aseptyczną, a następnie opisywano biorąc pod uwagę kurnik na terenie fermy pochodzenia oraz numer cyklu chowu. Procedura była zgodna z wytycznymi Rozporządzenia Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych i Rozporządzenia Komisji (WE) nr 2017/1495 z dnia 23 sierpnia 2017 r. zmieniającego rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do *Campylobacter* w tuskach brojlerów. Próbkę pierwotne skóry z szyi o masie około 9 g pobierano losowo po schłodzeniu tuszek wodą i powietrzem do temperatury 4°C. Proces chłodzenia rozpoczynano po wytrzewieniu i badaniu weterynaryjnym oraz myciu wewnętrznym i zewnętrznym tuszek wodą bieżącą o temperaturze naturalnej (zimna woda z sieci wodociągowej) za pomocą dysz nastrzykujących. Proces chłodzenia prowadzony był w tunelu chłodniczym, składającym się z sześciu wanien. Każda tuszka wisząc na strzemionach przesuwiała się przez kolejne wanny, wypełnione tzw. wodą lodową o temperaturze 4-7°C. Tuszki przebywały w każdej wannie od 1 do 1,5 minuty, co oznacza od 9 do 15 minut chłodzenia, w zależności od szybkości posuwu linii technologicznej. Tuszki po opuszczeniu ostatniej wanny trafiały do tunelu chłodniczego, gdzie były schładzane powietrzem o temperaturze 4°C (proces trwający około 1,5 godziny).

Próbki pierwotne skóry szyi pobierano po wyjściu tuszki z tunelu chłodniczego w hali rozbiorowej, nie później niż 1 godzinę po wyjściu z tunelu. Podczas jednej sesji pobierano próbki z 15 tuszek. Następnie próbki pierwotne z trzech tuszek brojlerów z tego samego stada pochodzenia łączono w próbkę zbiorczą o masie około 27 g, przygotowując w ten sposób 5 próbek zbiorczych (5 x 27 g).

Do wykrywania materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu Kylt®*Campylobacter jejuni/coli* DNA-Extraction and Real-

Time PCR Detection Kit for Thermophilic *Campylobacter* spp. (opis metody w podrozdziale 3.7.2.1).

Do wykrywania materiału genetycznego *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* w próbkach zbiorczych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu BAX®system Real-time PCR assay for *Campylobacter jejuni* / *coli* / i *lari* (opis metody w podrozdziale 3.7.2.2.). Badania mikrobiologiczne przeprowadzono horyzontalną metodą oznaczania liczby bakterii z rodzaju *Campylobacter* w żywności i paszy dla zwierząt (metoda referencyjna ISO) opisaną w rozdziale 3.7.1.

Analiza statystyczna tej części materiału polegała na ocenie występowania *Campylobacter* spp. i *C. jejuni* w próbach zbiorczych skór szyi z tuszek uzyskanych od brojlerów kurzych w zależności od lokalizacji (fermy) oraz cyklu chowu. W analizie nie uwzględniono ferm, w których nie wystąpił materiał genetyczny *Campylobacter* z obydwu cykliów (wykluczono fermy 1, 8 i 9). Z poszczególnych cykli materiał pochodził jednak z różnych kurników, gdyż nie wykazano różnic w standardach higienicznych między kurnikami. W analizie wykorzystano model regresji logistycznej, gdzie zmienną zależną była obecność lub brak *Campylobacter* spp. lub *C. jejuni* (brak patogenu oznaczono jako 0 zaś obecność jako 1), zaś zmiennymi niezależnymi były cykl chowu i lokalizacja (ferma). Cykle potraktowano w tej analizie jako zmienną niezależną, ponieważ poszczególne próbki pochodziły z nieznanymi partii, bez możliwości przyporządkowania ich do następujących po sobie cykli.

Ponadto dokonano analizy statystycznej liczby komórek *Campylobacter* spp w zbiorczych próbkach skór szyi z tuszek uzyskanych od zwierząt w zależności od lokalizacji (tj. fermy) oraz cyklu chowu. Wykonano dwa oddzielne modele, ze względu na to, że materiał reprezentowany był przez różne fermy w różnych cyklach. Zastosowano uogólnione modele liniowe z rozkładem normalnym i funkcją wiążącą tożsamość. W pierwszym modelu zmienną objaśniającą był cykl chowu, w drugim modelu zmienną objaśniającą była lokalizacja (ferma). W obydwu modelach zmienną zależną była liczebność *Campylobacter* spp. W celu uzyskania rozkładu normalnego zmiennej zależnej, poddano ją transformacji poprzez logarytmowanie ($\log_{10}$). Analizę statystyczną wykonano w programie SPSS (wersja 24.0, IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

3.6. Wykrywanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* oraz określenie liczby bakterii z rodzaju *Campylobacter* w surowych produktach gotowych do sprzedaży detalicznej pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych z objętych badaniami ferm F1-F9 (etap zakładu rozbioru i porcjowania mięsa) (realizacja celu nr 4)

Pobrano 139 próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych, objętych cyklem chowu C₁ i/lub C₂, pochodzących z ferm F1-F9. Produkty do badań pobierano w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa na końcu procesu produkcji, po zakończeniu czynności porcjowania, pakowania i etykietowania, bezpośrednio przed wyjściem produktu spod bezpośredniej kontroli przedsiębiorcy. Próbkę zbiorczą stanowiło 5 produktów tego samego asortymentu, pochodzących z tuszek brojlerów z tego samego stada pochodzenia. Opierając się na analizie ryzyka i mając na uwadze możliwe różnice w poziomie zanieczyszczenia różnych części tuszki przez *Campylobacter* spp., do badań wybrano zarówno produkty bez skóry - filet z piersi (56 próbek zbiorczych [F1 - 3 próbki zbiorcze, F2 - 7 próbek zbiorczych, F3 - 5 próbek zbiorczych, F4 - 8 próbek zbiorczych, F5 - 8 próbek zbiorczych, F6 - 8 próbek zbiorczych, F7 - 8 próbek zbiorczych, F8 - 4 próbki zbiorcze, F9 - 5 próbek zbiorczych]), jak i ze skórą - skrzydło (56 próbek zbiorczych [F1 - 3 próbki zbiorcze, F2 - 7 próbek zbiorczych, F3 - 5 próbek zbiorczych, F4 - 8 próbek zbiorczych, F5 - 8 próbek zbiorczych, F6 - 8 próbek zbiorczych, F7 - 8 próbek zbiorczych, F8 - 4 próbki zbiorcze, F9 - 5 próbek zbiorczych]) i mięso z nogi (27 próbek zbiorczych [F1 - 3 próbki zbiorcze, F2 - 3 próbki zbiorcze, F4 - 6 próbek zbiorczych, F5 - 6 próbek zbiorczych, F6 - 6 próbek zbiorczych, F7 - 3 próbki zbiorcze]).

Do wykrywania materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych surowych produktów gotowych do sprzedaży detalicznej pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu Kylt®*Campylobacter jejuni/coli* DNA-Extraction and Real-Time PCR Detection Kit for Thermophilic *Campylobacter* spp. (opis metody w podrozdziale 3.7.2.1).

Do wykrywania materiału genetycznego *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari* w próbkach zbiorczych stosowano technikę Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnego testu BAX®system Real-time PCR assay for *Campylobacter jejuni / coli / lari* (opis metody w podrozdziale 3.7.2.2.). Badania mikrobiologiczne przeprowadzono horyzontalną metodą

oznaczania liczby bakterii z rodzaju *Campylobacter* w żywności i paszy dla zwierząt (metoda referencyjna ISO) opisaną w rozdziale 3.7.1.

Analiza statystyczna tej części materiału polegała na ocenie występowania *Campylobacter* spp. i *C. jejuni* w próbach tuszek brojlerów kurzych zależnie od podziału na elementy ze skórą i bez skóry. W analizie wykorzystano model regresji logistycznej, gdzie zmienną zależną była obecność lub brak *Campylobacter* spp. lub *C. jejuni* (brak patogenu oznaczono jako 0, a obecność jako 1), zaś zmiennymi niezależnymi były:

- 1) cykl chowu,
- 2) obecność skóry na elemencie tuszki i
- 3) cykl chowu.

Cykle chowu potraktowano w tej analizie jako zmienną niezależną, ponieważ poszczególne próbki pochodziły z nieznanymi partii, bez możliwości przyporządkowania ich do następujących po sobie cykli. Po wstępnej analizie z modelu usunięto zmienną „ferma”, ze względu na niedopasowanie modelu.

Ponadto dokonano analizy statystycznej liczby bakterii *Campylobacter* spp. w próbkach tuszek zależnie od podziału na elementy ze skórą i bez skóry, ze względu na lokalizację (ferma) oraz cykl chowu. Zastosowano uogólniony model liniowy z rozkładem normalnym i funkcją wiążącą tożsamość. Zmienną zależną w modelu była liczba *Campylobacter* spp. a zmiennymi objaśniającymi były:

- 1) element ze skórą lub bez skóry,
- 2) lokalizacja (ferma),
- 3) cykl chowu.

Aby uzyskać rozkład normalny zmiennej zależnej, podano ją transformacji poprzez logarytmowanie ($\log_{10}$).

3.7. Diagnostyka mikrobiologiczna i molekularna w kierunku wykrycia bakterii z rodzaju *Campylobacter* spp.

3.7.1. Bakteriologiczne badanie ilościowe w kierunku *Campylobacter* spp.

Liczbę żywych komórek *Campylobacter* spp. określono w próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych (pobranych w ubojni) oraz w próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych (pobranych w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa). Badania mikrobiologiczne wykonano horyzontalną metodą obliczania liczby bakterii z rodzaju *Campylobacter*, zgodnie ze specyfikacją techniczną PN-EN ISO 10272-2:2017-10. Jest to metoda hodowlana (ilościowe badanie bakteriologiczne) opierająca się na obserwacji namnażania się żywych komórek na pożywkach mikrobiologicznych, przyjmująca założenie, że liczba wyrosłych kolonii na pożywce odpowiada liczbie żywych komórek bakterii w badanej próbce.

Próbki zbiorcze skór szyi o masie 26 g z tuszek brojlerów kurzych umieszczano w workach do homogenizacji zawierających dziewięciokrotnie więcej (234 ml) zbuforowanej wody peptonowej (BPW). W przypadku próbek zbiorczych surowych wyrobów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych, do badań wykorzystano naważkę o masie 10 g, do której dodawano 90 ml zbuforowanej wody peptonowej. Jeśli naważka przekraczała ustaloną masę, dodawano do niej odpowiednio większą objętość BPW, tak by stosunek naważki do BPW wynosił 1:10. Następnie mieszaninę homogenizowano w homogenizatorze typu Stomacher (Bagmixer, Interscience, Francja) przez 2 minuty. Z tak otrzymanej zawiesiny pierwotnej przygotowywano szereg dziesięciokrotnych rozcieńczeń, które wysiewano na pożywkę selektywną mCCD (Graso Biotech, Polska) (zmodyfikowana pożywka agarowa z węglem drzewnym, cefoperazonem i dezoksycholanem). Posiewy ilościowe wykonywano metoda posiewu powierzchniowego, rozprowadzając określoną objętość inokulum głaszczką na powierzchni agaru. Mając na uwadze ewentualną konieczność oszacowania niskich liczb *Campylobacter* spp., z zawiesiny pierwotnej wykonywano posiewy (1 ml) na trzy płytki Petriego (średnica 90 mm) z pożywką mCCD w dwóch równoległych powtórzeniach. Kolejne rozcieńczenia wysiewano wykorzystując objętość inokulum równą 0,1 ml.

Posiane płytki inkubowano przez 44 ± 4 godz. w temperaturze $41,5^{\circ}\text{C}$ w atmosferze mikroaerofilnej. Następnie z każdej płytki przeznaczonej do liczenia wybierano losowo 5 typowych i/lub podejrzanych kolonii do dalszej hodowli na pożywce nioselektywnej Columbia agar z 5% krwi baraniej (Graso Biotech, Polska) (inkubacja w $41,5^{\circ}\text{C}$ przez 24-48 godz. w warunkach mikroaerofilnych), a następnie kierowano do dalszych testów potwierdzających rozpoznanie bakterii. Badania potwierdzające obejmowały:

- 1) sprawdzenie cech morfologicznych bakterii i zdolności ruchu w badaniu mikroskopowym,
- 2) badanie zdolności wzrostu w temperaturze 25°C w warunkach tlenowych na pożywce agarowej Columbia z krwią oraz
- 3) wykrywanie oksydazy cytochromowej.

Materiał z kolonii wyrosłej na pożywce Columbia z krwią zawieszano w bulionie Brucella (Graso Biotech, Polska) i poddawano analizie mikroskopowej. Do dalszych badań kierowano wszystkie hodowle, w których stwierdzono obecność bakterii o morfologii (przecinkowate zakrzywione pałeczki) i ruchliwości (korkociągowy ruch) typowej dla rodzaju *Campylobacter*. Wybrany do dalszych badań materiał posiewano na podłoże agar Columbia z krwią i inkubowano przez 44 ± 4 godz. w warunkach tlenowych w temperaturze 25°C . Równolegle, materiał pochodzący z tej samej hodowli rozcierano eż polisterynową o pojemności 1 μl na bibule nasączonej odczynnikiem do wykrywania oksydazy cytochromowej (roztwór wodny $\text{N,N,N}^1,\text{N}^1$ -Tetrametylo-1,4-fenylenodiaminy dichlorowodoru, Bio-Rad, Wielka Brytania). Jeśli w ciągu 10 sekund od rozpoczęcia badania pojawiło się zabarwienie bibuły na kolor różowy, fioletowy lub ciemnoniebieski, reakcję uznawano za dodatnią.

Wynik badania uznawano za dodatni (stwierdzano obecność bakterii z rodzaju *Campylobacter*) jeśli w opisanych badaniach potwierdzających kolonie wykazywały łącznie następujące cechy:

- 1) małe zakrzywione pałeczki mające zdolność do charakterystycznego korkociągowego ruchu,
- 2) brak zdolności wzrostu w warunkach tlenowych w temperaturze 25°C ,
- 3) dodatnia reakcja w teście na wykrywanie oksydazy cytochromowej.

Wynik badania wyrażano w sposób ilościowy. Do liczenia wybierano płytki zawierające od 15 do 150 kolonii, a liczbę (N) bakterii *Campylobacter* spp. w badanym produkcie obliczano jako średnią ważoną z dwóch rozcieńczeń, według wzoru zawartego w PN-EN ISO 10272-2:2017-10 Mikrobiologia łańcucha żywnościowego. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Campylobacter* spp. Część 2: metoda liczenia kolonii:

$$N = \frac{\Sigma a}{V \times 1,1 \times d}$$

gdzie:

Σa – suma potwierdzonych kolonii na wszystkich płytkach z dwóch kolejnych rozcieńczeń,

V – objętość materiału naniesionego na każdą płytkę [ml],

d – wskaźnik rozcieńczenia odpowiadający pierwszemu liczonemu rozcieńczeniu

Wyniki przedstawiano w wartościach zlogarytmowanych

3.7.2. Diagnostyka molekularna w kierunku *Campylobacter* spp. oraz identyfikacja gatunkowa w kierunku *C. jejuni*, *C. coli* i *C. lari*

3.7.2.1. Wykrywanie materiału genetycznego i identyfikacja gatunkowa bakterii z rodzaju *Campylobacter* metodą Real-Time PCR na etapie produkcji pierwotnej

Badania molekularne na etapie produkcji pierwotnej (próbki zbiorcze wymazów powierzchniowych, wymazów podeszwowych oraz pierwszego kału piskląt) przeprowadzono techniką Real-Time PCR z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych testów pozwalających na wykrycie materiału genetycznego *Campylobacter coli*, *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter lari*. Badania przeprowadzono zgodnie z protokołem dla zestawu Kylt® *Campylobacter jejuni/coli* DNA-Extraction and Real-Time PCR Detection Kit for Thermophilic *Campylobacter* spp. (AntiCon Labor GmbH, Niemcy).

Izolację materiału genetycznego *Campylobacter* spp. rozpoczynano od procedury namnażania. W tym celu do 25 g badanej próbki zbiorczej, zawierającej wymazy z gąbką, okładziny podeszwowe lub próbki mekonium (z/bez papierowej wyściółki), dodawano 225 ml

buforu Boltona (POL-AURA, Polska), tak aby uzyskać stosunek wagowy 1:10. Następnie próbki zbiorcze homogenizowano przez 2 minuty w homogenizatorze typu Stomacher i inkubowano w atmosferze mikroaerofilnej generowanej za pomocą saszetek CampyGen Atmosphere Generation System (ThermoScientific). Inkubację prowadzono w temperaturze $42 \pm 1^\circ\text{C}$ przez 20 ± 2 godz.

Z otrzymanej hodowli pobierano 1,5 ml zawiesiny i wirowano przez 5 min ($12000 \times g$). Następnie dekantowano supernatant. Osad zawieszano w 100 μl mieszaniny DNA Extraction Mix II zawierającej zawiesinę kulek szklanych w buforze do ekstrakcji i inkubowano w $100 \pm 3^\circ\text{C}$ przez 10 min. Następnie próbkę zbiorczą ponownie odwirowano przez 5 min ($12000 \times g$). Otrzymany supernatant przenoszono do nowych probówek. Stężenie i czystość otrzymanego DNA mierzono przy użyciu spektrofotometru Nano (MaestroGen, Tajwan).

W teście multiplex Real-Time PCR wykorzystano gotowe do użycia startery (Reaction-Mix) umożliwiające amplifikację fragmentów genów specyficznych dla *C. coli*, *C. jejuni* i *C. lari*. Przygotowywano mieszaninę reakcyjną składającą się z 18 μl gotowego do użycia Reaction-Mix zawierającego startery, sondy i 2 μl DNA. Do każdej reakcji PCR przygotowano kontrolę ujemną (sterylna woda wolna od nukleaz) oraz dodatnią (DNA *Campylobacter* dostarczane razem z testem). Przebieg reakcji obejmował:

- 1) aktywację polimerazy (95°C , 10 min.),
- 2) denaturację (95°C , 15 sek.) oraz
- 3) przyłączanie sond/starterów i wydłużanie (60°C , 1 min.) w 42 cyklach.

Sygnał dla próbek dodatnich dla *Campylobacter* spp. otrzymywano w paśmie FAM, a dla kontroli wewnętrznej (pozwalającej ocenić poprawność przebiegu reakcji PCR, w tym np. obecność inhibitorów reakcji) w paśmie HEX. Wynik uznawano za dodatni, gdy wartość cyklu granicznego (Ct, ang. threshold cycle) osiągała wartość z zakresu 10-42 dla pasma FAM, lub za ujemny, gdy wartość ta osiągnięta została w paśmie HEX. Reakcję prowadzono na termocyklerach Real-Time (FAST 7500, Applied Biosystems oraz CFX96 Thermal Cycler, Bio Rad).

Próbki zbiorcze wymazów powierzchniowych, wymazów podszwowych oraz mekonium, z których uzyskano wyniki dodatnie (stwierdzono obecność materiału genetycznego *Campylobacter* spp.), przesiewano na pożywkę CAMP Chromagar

Campylobacter i inkubowano w temperaturze $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 24 ± 2 godz. w atmosferze mikroaerofilnej w celu późniejszego potwierdzenia gatunku *Campylobacter*. Po inkubacji obserwowano wzrost *Campylobacter* spp. w postaci drobnych, wypukłych, lśniących bordowych kolonii, o równych brzegach i żółtawej otoczce. Następnie wyrosłe kolonie identyfikowano gatunkowo za pomocą testu BAX®System Real-time PCR assay for *Campylobacter jejuni* / *coli* / *lari* i aparatu BAX®Q7 (Hygiena™/Qualicon Diagnostics DLL, USA).

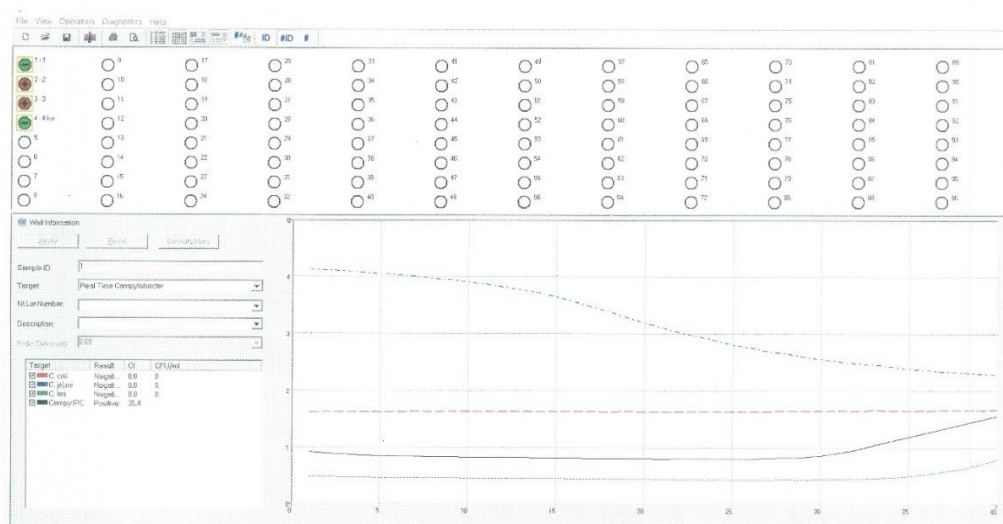
3.7.2.2. Wykrywanie materiału genetycznego i identyfikacja gatunkowa bakterii z rodzaju *Campylobacter* metodą Real-Time PCR na etapach ubojni oraz zakładu rozbioru i porcjowania mięsa

Wykrywanie i identyfikację gatunkową bakterii z rodzaju *Campylobacter* na etapach w ubojni oraz w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa przeprowadzano przy użyciu komercyjnego zestawu BAX®System Real-time PCR assay for *Campylobacter jejuni* / *coli* / *lari* (Hygiena™/Qualicon Diagnostics DLL, USA). Zasada testu opiera się na zastosowaniu zestawu starterów i sond molekularnych do wykrywania i różnicowania sekwencji DNA specyficznych dla jednego lub większej liczby drobnoustrojów w badanej próbce zbiorczej. Produktem reakcji jest specyficzny fragment DNA charakterystyczny dla *C. jejuni*, *C. coli* lub *C. lari*.

Wykrywanie i identyfikację gatunkową rozpoczynano od procedury namnażania *Campylobacter* spp. obecnego w próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych oraz w próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych. Zasada procedury namnażania była analogiczna jak w doświadczeniu opisanym w punkcie 3.7.2.1. W przypadku próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych (skrzydeł ze skórą oraz mięsa z nóg ze skórą), naważkę pobierano w taki sposób, aby została pobrana tkanka mięśniowa wraz z przylegającą skórą. Inkubację prowadzono w temperaturze $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ przez 48 godz. w warunkach mikroaerofilnych. Równolegle przygotowywano i inkubowano kontrolę negatywną, którą stanowił bulion Boltona.

Po zakończonej inkubacji przystępowano do badań molekularnych. Przygotowywano odczynnik do lizy poprzez dodanie 150 μ l proteazy do 12 ml buforu do lizy i rozdzielanie otrzymanego odczynnika do sterylnych probówek po 200 μ l. Następnie dodawano po 5 μ l zawiesiny pierwotnej (hodowla po wstępnym namnażaniu w buforze Boltone) lub 5 μ l kontroli ujemnej (bulion Boltone po inkubacji). Tak przygotowane próbki ogrzewano w blokach grzewczych w temperaturze 37°C przez 20 minut, a następnie w temperaturze 95°C przez 10 minut. Po ogrzewaniu lizaty chłodzono w bloku chłodzącym przez co najmniej 5 minut, tak aby osiągnęły temperaturę zakresie od +2°C do +8°C.

Następnie lizaty przenoszono (30 μ l) do probówek ze zliofilizowanymi składnikami reakcji. Reakcję Multiplex Real-Time PCR przeprowadzono za pomocą urządzenia BAX®Q7. Po upływie 70 minut uzyskiwano wyniki w formie graficznej, gdzie zielony znak minus oznaczał wynik ujemny (brak obecności specyficznego DNA *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* lub *Campylobacter lari* w badanej próbce), a czerwony znak plus oznaczał wynik dodatni (obecność specyficznego DNA *C. jejuni*, *C. coli* lub *C. lari*, bądź też obecność specyficznych DNA dla dwóch lub trzech z wyżej wymienionych gatunków *Campylobacter* w badanej próbce zbiorczej) (Rycina 3).



Rycina 3. Przykładowa forma graficzna prezentacji wyniku reakcji Multiplex-Real-Time PCR przeprowadzonej za pomocą urządzenia BAX®Q7.

4. Wyniki

4.1. Ocena porównawcza wdrożenia procedur ograniczających ryzyko ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. w objętych badaniami fermach F1-F9 (etap produkcji pierwotnej)

Szczegółowe wyniki oceny porównawczej objętych badaniem ferm F1-F9 w odniesieniu do poszczególnych pytań/zagadnień z listy kontrolnej zamieszczono w Tabeli 7.

Tabela 7: Ocena punktowa wdrożenia procedur ograniczających ryzyko ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. w objętych badaniami fermach F1-F9 (etap produkcji pierwotnej)

Obszar tematyczny	Pytania/zagadnienia odnoszące się do ryzyka ekspozycji brojlerów kurzych i kolonizacji ich przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp.	Forma odpowiedzi	Punkty									
			F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	Σ punktów
1A Ogólne procedury bezpieczeństwa biologicznego odnoszące się do poziomu fermy	Liczba ptaków - obsada fermy (w tys.) (pyt. 1a)	Liczba	46 4	20 0	23 8	21 0	21 0	21 0	21 0	25 2	25 2	
	Liczba ptaków - średnia obsada kurnika (w tys.) (pyt. 1b)	Liczba	58	20	23, 8	21	21	21	21	28	28	
	Organizacja fermy (pyt. 2)	1-5	5	3	5	4	4	4	4	3	3	35
	Lokalizacja fermy (pyt. 3)	1-5	5	3	5	4	4	4	4	4	4	37
	Higiena w fermie (pyt. 4)	1-5	5	4	5	3	3	3	3	3	3	32
	Dwubarierowa procedura wejścia do fermy (pyt. 5)	Tak/Nie	1	0	1	1	1	1	1	1	1	8
	Brak roślinności w bliskim sąsiedztwie kurnika (do 25 m) (pyt. 6)	Tak/Nie	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
	Ubój w sezonie zimowym (pyt. 7)	Tak/Nie	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
	Monogatunkowość w obrębie fermy (pyt. 8)	Tak/Nie	1	0	1	1	1	1	1	1	1	8
	Jednopakoleniowość w obrębie fermy (pyt. 9)	Tak/Nie	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3
	Stosowanie wyłącznie wody pitnej (pyt. 10)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
	Poziom zabezpieczeń przed owadami (pyt. 11)	1-5	5	1	5	5	5	5	5	5	5	41
	Automatyczne utrzymanie wilgotności na poziomie 60-70% (pyt. 12)	Tak/Nie	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3
	Brak gryzoni (pyt. 13)	Tak/Nie	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2
	Czas przestoju pomiędzy cyklami chowu - ponad 7 dni (w skali fermy) (pyt.14)	Tak/Nie	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3
	Chów w systemie zamkniętym (pyt. 15)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
	Odpowiednie zagospodarowanie odchodów (pyt. 16)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
Razem (obszar tematyczny 1A)												202

1B	Ścisłe procedury bezpieczeństwa biologicznego odnoszące się do poziomu kurnika	Łapacze much (pyt. 17*)	Tak/Nie	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
		Siatki p/owadom w oknach kurnika (pyt. 18*)	Tak/Nie	1	0	1	1	1	1	1	0	0	6
		Siatki na wentylatorach (rozmiar oczek 3 mm) (pyt. 19*)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Dezynfekcja UV wody (pyt. 20*)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		Zakwaszanie wody (pyt. 21*)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
		Dodatki pobudzające system immunologiczny w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego – niespecyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp. przez drobnoustroje patogenne (pyt. 22*)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
		Zmiana butów pomiędzy kurnikami (pyt. 23*)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
		Zmiana odzieży pomiędzy kurnikami (pyt. 24*)	Tak/Nie	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
		Pełne pojemniki na środki do dezynfekcji obuwia (pyt. 25*)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
		Czyszczenie butów przed dezynfekcją (pyt. 26*)	Tak/Nie	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2
		Umywalki przed wejściem do strefy czystej kurnika (pyt. 27*)	Tak/Nie	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3
		Mycie rąk przed wejściem do kurnika (pyt. 28*)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
		Zakres ograniczenia wprowadzania paszy, ściółki i sprzętu podczas cyklu chowu (pyt. 29*)	1-5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
		Dwubarierowa procedura wejścia do kurnika (pyt. 30*)	Tak/Nie	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
		Wysokość fizycznej bariery - min. 50 cm (pyt. 31*)	Tak/Nie	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2
		Szczelność bariery (pyt. 32*)	Tak/Nie	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
Czas przestoju pomiędzy cyklami chowu - ponad 7 dni (w odniesieniu do kurnika) (pyt. 33*)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9		
Razem (obszar tematyczny 1B)												81	

1C Procedury bezpieczeństwa biologicznego powiązane z częściową depopulacją stada (specyficzne dla ubiórki)	"All in-all out" = brak ubiórki (pyt. 34)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jeśli ubiórka: zachowanie zasad bioasekuracji przez łapaczy (pyt. 35)	1-5	2	1	2	2	2	2	2	2	2	17
	Jeśli ubiórka: brak przemieszczania pracowników pomiędzy kurnikami w tym samym dniu (pyt. 36)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Jeśli ubiórka: mycie i dezynfekcja sprzętu wykorzystywanego do obsługi stada podczas chowu (pyt. 37)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Poziom higieny w trakcie cyklu chowu do ubiórki (pyt. 38)	1-5	5	4	5	5	5	5	5	5	5	44
	Poziom higieny w trakcie cyklu chowu po ubiórce (pyt. 39)	1-5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	36
Razem (obszar tematyczny 1C)												97

1D Procedury bezpieczeństwa biologicznego specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.	Wiek zwierząt w momencie ubiórki - poniżej 31 dni (pyt. 40)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Weryfikacja statusu „ <i>Campylobacter</i> -free” piskląt jednodniowych (pyt. 41)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Chów NIE-bio (brak kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym) (pyt. 42)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
	Dodatki w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez <i>Campylobacter</i> spp. - specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 43)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Szczepienia w celu zwiększenia odporności brojlerów kurzych na kolonizację <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 44)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Chów selektywny w kierunku „ <i>Campylobacter</i> -free” (pyt. 45)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bakteriocyny (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.) (pyt. 46)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bakteriofagi (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.) (pyt. 47)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Autoszczepionki ogólnie (pyt. 48)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Prebiotyki lub/i dodatki paszowe (specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.) (pyt. 40)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Polityka „ <i>Campylobacter</i> - free” (pyt. 50)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Świadomość hodowcy odnośnie <i>Campylobacter</i> - spp. (pyt. 51)	1-5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	18
	Hodowca rozpoznaje <i>Campylobacter</i> spp. jako ważny problem (pyt. 52)	1-5	1	3	1	1	1	1	1	1	1	11
	Świadomość personelu odnośnie <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 53)	1-5	2	2	2	2	2	2	2	2	2	18
	Szkolenia personelu odnośnie <i>Campylobacter</i> spp. (pyt. 54)	Tak/Nie	1	1	1	1	1	1	1	1	1	9
	Czy planowane jest wdrożenie polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”? (pyt. 55)	Tak/Nie	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Razem (obszar tematyczny 1D)												65
RAZEM (obszary tematyczne 1A - 1D)			57	50	60	47	47	47	47	45	45	445

Objaśnienia:

* - pytanie/zagadnienie odnoszące się do poszczególnych kurników w fermie; przedstawiony wynik jest średnią wartością dla wszystkich kurników w danej fermie

W pytaniach o Tak/Nie do odpowiedzi TAK przypisano wartość 1; do odpowiedzi NIE przypisano wartość 0

Objęte badaniami fermy F1-F9 nie stosowały zasady „all in-all out”, a zatem maksymalna liczba punktów możliwa do przyznania każdej z ferm wynosiła 98.

Najwięcej punktów uzyskała ferma F3 zdobywając 61,22% maksymalnej liczby punktów (60 punktów/98 możliwych). Na drugim miejscu znalazła się ferma F1 (57 punktów; 58,16%), a na trzecim ferma F2 (50 punktów; 51,02%). Pozostałe fermy uzyskały 47 (F4-F7) i 45 (F8 i F9) punktów, co stanowi odpowiednio 47,96% i 45,92% maksymalnej liczby punktów (Tabela 7).

Różnica 15 punktów pomiędzy najwyżej ocenioną fermą F3 a najniżej ocenionymi fermami F8 i F9 wynika z ich niższej o 10 punktów oceny w obszarze (1A) ogólnych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu fermy (organizacja fermy: -2 punkty, lokalizacja fermy: -1 punkt, higiena w fermie: -2 punkty, ubój w sezonie zimowym: -1 punkt, jednopokoleniowość w obrębie fermy: -1 punkt, automatyczne utrzymywanie wilgotności na poziomie 60-70%: -1 punkt, brak gryzoni: -1 punkt, czas przestoju pomiędzy cyklami chowu - ponad 7 dni w skali fermy: -1 punkt,) oraz o 5 punktów w obszarze (1B) ścisłych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu kurnika (wysokość fizycznej bariery - minimum 50 cm: -1 punkt, łapacze much: -1 punkt, czyszczenie butów przed dezynfekcją: -1 punkt, umywalki przed wejściem do strefy czystej kurnika: -1 punkt, siatki p/owadom w oknach kurnika: -1 punkt) (Tabela 7).

Wyższa o 2 punkty ocena ferm F4-F7 niż ferm F8 i F9 wynika z wyżej ocenionej organizacji fermy (obszar [1A] ogólnych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu fermy): +1 punkt oraz obecności siatek przeciwko owadom w oknach kurników (obszar [1B] ścisłych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu kurnika): +1 punkt (Tabela 7).

Różnice w punktacji pomiędzy najwyżej ocenioną fermą F3 a fermą F1 wynikają z przeprowadzania w fermie F3 uboju w sezonie zimowym (obszar [1A] ogólnych procedur

bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu fermi): +1 punkt, czyszczenia butów przed dezynfekcją (obszar [1B] ścisłych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu kurnika): +1 punkt oraz obecności w kurnikach łapaczy much (obszar[1A] ścisłych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu kurnika): +1 punkt (Tabela 7).

Różnice w punktacji pomiędzy najwyżej ocenioną fermą F3 a fermą F2 wynikają z różnic w ocenie w obszarach: 1A ogólnych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu fermi (organizacja fermi: +2 punkty, lokalizacja fermi: +2 punkty, higiena w fermie: +1 punkt, dwubarierowa procedura wejścia do fermi: +1 punkt, brak roślinności w bliskim sąsiedztwie kurnika - do 25 m: -1 punkt, brak owadów: +4 punkty, brak gryzoni: +1 punkt, monogatunkowość w obrębie fermi: +1 punkt), 1B ścisłych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu kurnika (dwubarierowa procedura wejścia do kurnika: -1 punkt, wysokość fizycznej bariery - minimum 50 cm: +1 punkt, szczelność bariery: -1 punkt, siatki p/owadom w oknach kurnika: +1 punkt, zmiana odzieży pomiędzy kurnikami: -1 punkt), 1C procedur bezpieczeństwa biologicznego powiązanych z częściową depopulacją stada (higiena w trakcie cyklu chowu do ubiórki: +1 punkt, higiena łapaczy przy ubiórce: +1 punkt) oraz 1D procedur bezpieczeństwa biologicznego specyficznych dla *Campylobacter* spp. (hodowca rozpoznaje *Campylobacter* spp. jako ważny problem: -2 punkty) (Tabela 7).

W obszarze [1C] procedury bezpieczeństwa biologicznego powiązane z częściową depopulacją stada najniżej oceniono fermę F2, co wynikało z niższej oceny przestrzegania zasad bioasekuracji przez łapaczy (F2 -1 punkt w stosunku do F1, F3-F9), a także niższej oceny higieny w trakcie cyklu chowu do ubiórki (F2 -1 punkt w stosunku do F1, F3-F9). We wszystkich fermach nie zachowywano odpowiedniej higieny sprzętu wykorzystywanego do ubiórki (0 punktów), jak również zasady nieprzemieszczania się pracowników pomiędzy kurnikami w dniu ubiórki (0 punktów) (Tabela 7).

W objętych badaniami fermach F1-F9 spośród procedur bezpieczeństwa biologicznego specyficznych dla *Campylobacter* spp. stosowano jedynie te związane z rozszerzaniem wiedzy oraz świadomości hodowców i personelu. Nie wdrożono i nie planowano wdrożenia polityki *Campylobacter*-free. Nie prowadzono chowu selektywnego dla *Campylobacter* spp., nie stosowano specyficznych szczepień, bakteriocyn, bakteriofagów, autoszczepionek. Nie podawano specyficznych prebiotyków lub/i dodatków paszowych zwiększających odporność

brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. Natomiast we wszystkich fermach (F1-F9) podawano dodatki paszowe niespecyficzenie zwiększające odporność brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp., co zalicza się do ścisłych procedur bezpieczeństwa biologicznego odnoszących się do poziomu kurnika (Tabela 7).

Ponieważ we wszystkich fermach (F1-F9) uzyskano zbliżoną punktację (od 45 do 60 punktów), przeprowadzono również analizę obejmującą procedury bezpieczeństwa biologicznego w odniesieniu do zidentyfikowanych obszarów tematycznych dla wszystkich ferm łącznie.

W obszarze ogólne procedury bezpieczeństwa biologicznego odnoszące się do poziomu fermy (obszar tematyczny 1A) liczba uzyskanych punktów przez wszystkie fermy łącznie (F1-F9) wyniosła 202 punkty/279 możliwych, co stanowi 72,40% maksymalnej możliwej do uzyskania liczby punktów. Najwięcej punktów przyznano fermom w związku z brakiem występowania owadów (41 punktów/45 możliwych; 91,1%), właściwą ich lokalizacją (37 punktów/45 możliwych; 82,2%) i organizacją (35 punktów/45 możliwych; 77,7%) oraz stosunkowo wysoką higieną (32 punkty/45 możliwych; 71,1%). Najślabiej oceniono zagadnienia dotyczące braku roślinności w bliskim (do 25 m) sąsiedztwie kurnika (1 punkt/9 możliwych; 11,1%), uboju w sezonie zimowym (2 punkty/9 możliwych; 22,2%) oraz braku gryzoni (2 punkty/9 możliwych; 22,2%) (Tabela 7).

W obszarze ścisłe procedury bezpieczeństwa biologicznego odnoszące się do poziomu kurnika (obszar tematyczny 1B) liczba uzyskanych punktów przez wszystkie fermy łącznie (F1-F9) wyniosła 81 punktów/189 możliwych, co stanowi 42,85% maksymalnej możliwej do uzyskania liczby punktów, w tym: w obszarze zabezpieczeń przed obecnością owadów 8 punktów/27 możliwych (29,63%), w kwestii procedur związanych z bezpieczeństwem biologicznym wody 18 punktów/27 możliwych (66,67%), w odniesieniu do procedur wejścia pracowników do kurnika 42 punkty/99 możliwych (42,42%), w aspekcie oceny fizycznej bariery wejścia do kurnika 4 punkty/27 możliwych (14,81%), w związku z przestrzeganiem długości okresu pustego 9 punktów/9 możliwych (100 %) (Tabela 7).

W obszarze procedury bezpieczeństwa biologicznego powiązane z częściową depopulacją stad (obszar tematyczny 1C) liczba uzyskanych punktów przez wszystkie fermy łącznie (F1-F9) wyniosła 97 punktów/162 możliwe, co stanowi 59,87% maksymalnej możliwej do uzyskania liczby punktów. Uzyskane punkty wynikają w głównej mierze z przestrzegania

higieny w trakcie cyklu chowu do ubiórki i po ubiórcie oraz w mniejszym stopniu ze stosowania zasad bioasekuracji przez łapaczy. W żadnej z ferm nie przestrzegano higieny (mycia i dezynfekcji) sprzętu wykorzystywanego przy obsłudze stada podczas chowu oraz procedury zapewniającej nieprzemieszczanie się pracowników pomiędzy kurnikami w dniu ubiórki. Żadna z ferm nie stosowała systemu chowu all in- all out (tzn. bez ubiórki) (Tabela 7).

W obszarze procedury bezpieczeństwa biologicznego specyficzne dla *Campylobacter* spp. (obszar tematyczny 1D) liczba uzyskanych punktów to 65 punktów/252 możliwe, co stanowi 25,79% maksymalnej możliwej do uzyskania liczby punktów. Uzyskane punkty wynikają z dbałości o poszerzanie wiedzy oraz świadomości hodowców i personelu oraz z chowu Nie-bio (braku kontaktu ze środowiskiem zewnętrznym) we wszystkich badanych fermach (F1-F9). Pozostałe procedury i środki zwiększające bezpieczeństwo biologiczne dla *Campylobacter* spp. nie były w tych fermach stosowane (Tabela 7).

4.2. Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w pierwszym kale piskląt (mekonium) oraz w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)

4.2.1. Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w pierwszym kale piskląt (mekonium) (etap produkcji pierwotnej)

Materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 17 (24,28%) spośród 70 zbadanych próbek zbiorczych pierwszego kalu piskląt (Tabela 8).

Tabela. 8: Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w pierwszym kale piskląt (mekonium) stanowiących obsadę kurników ferm F1-F7 (n=70 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiło mekonium pobierane z 10 pojemników transportowych, od piskląt przeznaczonych do wstawienia do 1 kurnika)

Oznaczenie kurnika n=10	Fermy brojlerów kurzych (n=7)								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
a	+	-	-	+	-	-	-	Ø	Ø
b	+	-	+	-	-	+	-	Ø	Ø
c	-	-	-	-	-	-	-	Ø	Ø
d	-	+	-	-	+	-	+	Ø	Ø
e	+	+	+	-	+	-	-	Ø	Ø
f	+	-	+	-	-	-	-	Ø	Ø
g	-	-	+	-	+	-	-	Ø	Ø
h	+	-	-	-	-	-	-	Ø	Ø
i	-	-	-	-	-	-	-	Ø	Ø
j	-	-	-	-	-	-	-	Ø	Ø
Razem	5/10	2/10	4/10	1/10	3/10	1/10	1/10		

Objaśnienia:

Ø - nie badano lub nie występuje taki kurnik na danej fermie

(-) - wynik ujemny (brak materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbce zbiorczej)

(+) - wynik dodatni (występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbce zbiorczej)

W każdej z siedmiu ferm (F1-F7) występował co najmniej jeden kurnik, w którym pierwszy kał wstawionych piskląt zawierał materiał genetyczny *Campylobacter* spp. W 3 fermach (F4, F6, F7) stwierdzono materiał genetyczny *Campylobacter* spp. tylko w 1 spośród 10 zbadanych próbek zbiorczych pierwszego kału piskląt; próbki te pochodziły z kurników: 4a, 6b, 7d. W pozostałych czterech fermach uzyskano 20-50% wyników dodatnich (F2 - w 2/10 pr. zbiorczych [kurniki: 2d, 2e], F5 - 3/10 pr. zbiorczych [kurniki: 5d, 5e, 5g], F3 - 4/10 pr. zbiorczych [kurniki: 4a, 4e-g], F1 - 5/10 pr. zbiorczych [kurniki: 1a, 1b, 1e, 1f, 1h]).

4.2.2. Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)

Materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 39 (55,71%) spośród 70 zbadanych próbek zbiorczych wymazów powierzchniowych (Tabela 9).

Tabela. 9: Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w środowisku kurników ferm F1-F7 przed rozpoczęciem cyklu chowu C₂ (n=70 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiło 5 wymazów powierzchniowych z 1 kurnika)

Oznaczenie kurnika n=10	Fermy brojlerów kurzych (n=7)								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
a	-	+	+	+	-	-	-	Ø	Ø
b	-	+	-	+	-	-	-	Ø	Ø
c	+	+	+	+	-	+	+	Ø	Ø
d	-	+	+	+	-	+	-	Ø	Ø
e	+	+	+	+	-	-	+	Ø	Ø
f	-	+	-	+	+	+	+	Ø	Ø
g	-	+	-	+	-	-	-	Ø	Ø
h	-	+	+	+	+	+	-	Ø	Ø
i	-	+	+	+	-	+	-	Ø	Ø
j	+	+	-	+	-	-	-	Ø	Ø
Razem	3/10	10/10	9/10	10/10	2/10	5/10	3/10		

Objaśnienia:

Ø - nie badano lub nie występuje taki kurnik na danej fermie

(-) - wynik ujemny (brak materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbce zbiorczej)

(+) - wynik dodatni (występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbce zbiorczej)

W każdej z siedmiu ferm (F1-F7) występowały co najmniej dwa kurniki, w środowisku których stwierdzono obecność materiału genetycznego *Campylobacter* spp. przed rozpoczęciem cyklu chowu (C₂) brojlerów kurzych.

Najmniej wyników pozytywnych pochodziło z fermy F5 (2/10 pr. zbiorczych [kurniki: 5f, 5h]), a najwięcej z ferm F2 i F4 (10/10 pr. zbiorczych [kurniki: 2a-j; 4a-j]). W fermach F1 i F7 wyniki dodatnie uzyskano w 3/10 pr. zbiorczych [kurniki: 1c, 1e, 1j; 7c, 7e, 7f]). W fermach F3 i F6 wyniki dodatnie uzyskano, odpowiednio, w 6/10 pr. zbiorczych [kurniki: 3a, 3c-e, 3h, 3i] i 5/10 pr. zbiorczych [kurniki: 6c, 6d, 6f, 6h, 6i].

4.3. Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych (etap produkcji pierwotnej)

4.3.1. Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych przed częściową depopulacją ptaków (etap produkcji pierwotnej)

Materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 59 (38,82 %) spośród 152 zbadanych próbek zbiorczych wymazów podeszwowych pobranych z kurników zlokalizowanych na terenie ferm F1-F9 przed częściową depopulacją stad.

Liczbowy rozkład wyników występowania materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w fermach F1-F9 (suma wyników dodatnich z wszystkich kurników na danej fermie) przed ubiórką stad przedstawia Tabela 10.

Tabela 10: Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w środowisku kurników ferm F1-F9 przed ubiórką stad - zestawienie liczbowe wyników dodatnich w odniesieniu do danej fermy dla - łącznie - cyklu chowu C₁ i C₂. (n=152 próbki zbiorcze; 1 próbkę zbiorczą stanowiły 4 wymazy podeszwowe z 1 kurnika)

Ferma	Liczba próbek zbiorczych	Liczba próbek zbiorczych dodatnich	Występowanie <i>Campylobacter</i> spp. (%)
F1	18	7	38,89
F2	19	9	47,37
F3	17	9	52,94
F4	20	8	40
F5	20	4	20
F6	20	6	30
F7	20	7	35
F8	9	4	44,44
F9	9	5	55,56
F1-F9	152	59	38,82

Liczbowy rozkład wyników identyfikacji gatunkowej bakterii z rodzaju *Campylobacter* wyizolowanych ze środowiska kurników ferm F1-F9 przed ubiórką stad, dla cyklu chowu C₁ i C₂, przedstawia Tabela 11.

Tabela 11: Identyfikacja gatunkowa bakterii z rodzaju *Campylobacter* wyizolowanych ze środowiska kurników ferm F1-F9 przed ubiórką stad - zestawienie liczbowe wyników dodatnich w odniesieniu do danej fermy dla - rozłącznie - cyklu chowu C₁ i C₂

Kierunek badania	Fermy brojlerów kurzych (F1-F9) (n=9)									Razem
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9	
Pierwszy cykl chowu (C1)										
liczba dodatnich wyników próbek zbiorczych wymazów podeszwowych (zbadano n=82 próbki zbiorcze)										
Campylobacter spp.	1	3	4	0	0	0	2	4	5	19
w tym:										
C. jejuni	1	3	4	0	0	0	0	4	5	17
C. coli	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
inny	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2
Drugi cykl chowu (C2)										
liczba dodatnich wyników próbek zbiorczych wymazów podeszwowych (zbadano n=70 próbek zbiorczych)										
Campylobacter spp.	6	6	5	8	4	6	5	-	-	40
w tym:										
C. jejuni	5	6	5	7	3	5	4	-	-	35
C. coli	1	0	0	1	1	1	1	-	-	5
inny	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0

Objaśnienia:

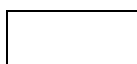
(-) - nie badano, lub nie występuje taki kurnik na fermie

Wyniki identyfikacji gatunkowej bakterii z rodzaju *Campylobacter* w poszczególnych kurnikach ferm F1-F9 przed ubiórką stad, dla cyklu chowu C₁ i C₂, przedstawia Tabela 12.

Tabela. 12: Obecność materiału genetycznego *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* w środowisku kurników ferm F1-F9 przed ubiórką stad w odniesieniu do cyklu chowu C₁ i C₂ (n=152 próbki zbiorcze; 1 próbkę zbiorczą stanowiły 4 wymazy podeszwowe z 1 kurnika) wymazy podeszwowe z kurnika)

Oznaczenie kurnika n=10	Fermy brojlerów kurzych (n=9)								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
	Cykl chowu								
	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂
a	+ ¹ / ₊ ¹	-/ ₊ ¹	+ ¹ / ₋	-/ ₊ ¹	-/-	-/-	+/-	-/ ∅	+ ¹ / ∅
b	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/-	-/ ₊ ¹	-/-	+ ¹ / ∅	-/ ∅
c	-/-	-/-	+ ¹ / ₋	-/ ₊ ¹	-/-	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/ ∅	+ ¹ / ∅
d	-/-	-/-	-/-	-/-	-/ ₊ ²	-/ ₊ ²	-/ ₊ ¹	-/ ∅	+ ¹ / ∅
e	-/ ₊ ¹	+ ¹ / ₊ ¹	+ ¹ / ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/-	+/ ₊ ¹	+ ¹ / ∅	-/ ∅
f	-/ ₊ ¹	+ ¹ / ₊ ¹	+ ¹ / ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/-	-/ ₊ ²	-/ ∅	+ ¹ / ∅
g	-/-	+ ¹ / ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/-	-/-	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	+ ¹ / ∅	-/ ∅
h	-/ ₊ ²	-/-	∅/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/ ₊ ¹	-/-	-/ ∅	+ ¹ / ∅
i	∅/-	-/-	∅/-	-/ ₊ ¹	-/-	-/ ₊ ¹	-/-	+ ¹ / ∅	-/ ∅
j	∅/ ₊ ¹	∅/ ₊ ¹	∅/-	-/ ₊ ²	-/-	-/-	-/-	∅/∅	∅/∅

Objaśnienia:



- nie stwierdzono *Campylobacter* spp.



- obecność *Campylobacter* spp. w dwóch kolejnych cyklach chowu (C₁/C₂)



- obecność *Campylobacter* spp. w pierwszym z dwóch kolejnych cykli chowu (C₁/C₂)



- obecność *Campylobacter* spp. w drugim z dwóch kolejnych cykli chowu (C₁/C₂)

-
- / - wyniki zapisane po lewej stronie znaku „/” odnoszą się do stad w pierwszym z dwóch kolejnych cykli chowu (C₁); wyniki zapisane po prawej stronie znaku „/” odnoszą się do stad w drugim z dwóch kolejnych cykli chowu (C₂)
 - Ø - nie badano lub nie występuje taki kurnik na fermie
 - +¹ - próbki dodatnie w kierunku *C. jejuni*
 - +² - próbki dodatnie w kierunku *C. coli*
 - +
 - próbki dodatnie w kierunku *Campylobacter* spp. (gatunek inny niż *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*)

Spośród 82 próbek zbiorczych wymazów podeszwowych pobranych z kurników ferm F1-F9 w cyklu chowu C₁, materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 19 (23,17%) próbach zbiorczych pochodzących z kurników zlokalizowanych w sześciu fermach (F1 [kurnik 1a], F2 [kurniki: 2e-2g], F3 [kurniki: 3a, 3c, 3e, 3f], F7 [kurniki: 7a, 7e], F8 [kurniki: 8b, 8e, 8g, 8i] oraz F9 [kurniki: 9a, 9c, 9d, 9f, 9h]). Najmniejszą liczbę dodatnich wyników stwierdzono w fermie F1 (1 wynik dodatni), a największą w fermie F9 (5 wyników dodatnich). W kurnikach 3 ferm (F4-F6) nie stwierdzono materiału genetycznego *Campylobacter* spp. (Tabele 11, 12).

Spośród 70 próbek zbiorczych pobranych wymazów podeszwowych z kurników ferm F1-F9 w cyklu chowu C₂, materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 40 (57,14%) próbach zbiorczych pochodzących z kurników zlokalizowanych w siedmiu fermach (F1 [kurniki: 1a, 1b, 1e, 1f, 1h, 1j], F2 [kurniki: 2a, 2b, 2e-2g, 2j], F3 [kurniki: 3b, 3e-3h], F4 [kurniki: 4a-4c, 4e, 4f, 4h-4j], F5 [kurniki: 5d-5f, 5h, 6b-6d], F6 [kurniki: 6g-6i] oraz F7 [kurniki: 7c-7g]). Najmniejszą liczbę dodatnich wyników stwierdzono w fermie F5 (4 wyniki dodatnie), a największą w fermie F4 (8 wyników dodatnich) (Tabele 11, 12).

W 64 kurnikach, w których próbki zbiorcze wymazów podeszwowych pobrano w dwóch kolejnych objętych badaniem cyklach chowu (C₁, C₂) stwierdzono co następuje: a) obecność materiału genetycznego *Campylobacter* spp. jedynie w cyklu chowu (C₁) stwierdzono w 3 kurnikach (4,68%) na dwóch fermach (F3 [kurniki: 3a, 3c] oraz F7 [kurnik 7a]); b) obecność materiału genetycznego *Campylobacter* spp. jedynie w drugim cyklu chowu (C₂) stwierdzono w 30 kurnikach (46,87%) na siedmiu fermach (F1 [kurniki: 1b, 1e, 1f, 1h], F2 [kurniki: 2a, 2b], F3 [kurniki: 3b, 3g], F4 [kurniki: 4a-4c, 4e-4f, 4h-4j], F5 [kurniki: 5d-5f, 5h], F6 [kurniki: 6b-6d, 6g-6i], F7 [kurniki: 7c-7d, 7f-g]); c) obecność materiału genetycznego

Campylobacter spp. w dwóch kolejnych cyklach chowu (C₁ i C₂) stwierdzono w 7 kurnikach (10,93%) na czterech fermach (F1 [kurnik: 1a], F2 [kurniki: 2e, 2f, 2g], F3 [kurniki: 3e, 3f] oraz F7 [kurnik 7e]). W próbach zbiorczych pobranych w 24 kurnikach (37,50%) na siedmiu fermach (F1 [kurniki: 1c-1d, 1g], F2 [kurniki: 2c-2d, 2h-2i], F3 [kurnik: 3d], F4 [kurniki: 4d, 4g], F5 [kurniki: 5a-5c, 5g, 5i-5j], F6 [kurniki: 6a, 6e-6f, 6j] oraz F7 [kurniki: 7b, 7h-7j]) nie stwierdzono materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w żadnym z objętych badaniem cykli chowu (Tabela 12).

Porównując stopień zanieczyszczenia przez *Campylobacter* spp. środowiska bytowania stad brojlerów kurzych przed częściową depopulacją stad w cyklach chowu C₁ i C₂ (w obydwu cyklach chowu badania wykonano w 21-ej dobie życia ptaków) w poszczególnych fermach stwierdzono, że występowanie zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. w cyklu chowu C₂ było istotnie częstsze ($\chi^2=20,5$, $p<0,001$, $N=64$).

Materiał genetyczny *C. jejuni* stwierdzono w każdej z dziewięciu ferm (F1-F9), co najmniej w 3 kurnikach. Spośród wszystkich 152 próbek zbiorczych wymazów podeszwowych materiał genetyczny *C. jejuni* stwierdzono w 52 (34,21%) próbach zbiorczych, spośród których 17 (F1 [kurnik 1a], F2 [kurniki: 2e-g], F3 [kurniki: 3a, 3c, 3e, 3f,], F8 [kurniki: 8b, 8e, 8g, 8i] oraz F9 [kurniki: 9a, 9c, 9d, 9f, 9h]) pochodziło z cyklu chowu C₁, a pozostałe 35 (F1 [kurniki: 1a, 1b, 1e, 1f, 1j], F2 [kurniki: 2a, 2b, 2e-g, 2j], F3 [kurniki: 3b, 3e-h], F4 [kurniki: 4a-c, 4e, 4f, 4h, 4i], F5 [kurniki: 5e, 5f, 5h], F6 [kurniki: 6b, 6c, 6g-i], F7 [kurniki: 7c-e, 7g]) z cyklu chowu C₂. Obecność materiału genetycznego wyłącznie *C. jejuni* stwierdzono w próbach zbiorczych (łącznie C₁ i C₂) pochodzących z 4 ferm (F2, F3, F8 i F9) (Tabele 11, 12).

W 5 fermach (F1, F4-F7) stwierdzono obecność materiału genetycznego zarówno *C. jejuni*, jak i *C. coli*, przy czym materiał genetyczny *C. coli* stwierdzono jedynie w drugim (C₂) cyklu chowu (F1 [kurnik 1h], F4 [kurnik 4j], F5 [kurnik 5d], F6 [kurnik 6d] oraz F7 [kurnik 7f]) (Tabele 11, 12).

W badanych próbkach zbiorczych nie stwierdzono materiału genetycznego *C. lari* w żadnym z dwóch objętych badaniem cykli chowu.

Ponadto, dwa wyniki wskazały obecność materiału genetycznego bakterii z rodzaju *Campylobacter*, jednak dalsze badania wykazały, że nie jest to materiał genetyczny *C. jejuni*, *C. coli* ani też *C. lari*. Oba wyniki dotyczą próbek zbiorczych pobranych w cyklu chowu C₁ w fermie F7 (kurniki 7a i 7e) (Tabele 11, 12).

W odniesieniu do *C. jejuni*, zaobserwowano, że - podobnie jak w przypadku *Campylobacter* spp. - występowanie patogenu w drugim (C₂) cyklu chowu było istotnie częstsze ($\chi^2=18,9$, $p<0,001$, $N=58$).

4.3.2. Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* w środowisku kurników na etapie chowu brojlerów kurzych przed i po częściowej depopulacji ptaków (etap produkcji pierwotnej)

Spośród 15 kurników zlokalizowanych w czterech fermach (F2, F4, F5, F7), z których środowiska pobierano materiał do badań zarówno przed, jak i po częściowej depopulacji stad, materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 1 próbce zbiorczej wymazów podeszwowych pochodzącej z kurnika położonego w F7 (kurnik 7e) w badaniu przed częściową depopulacją stad i w 13 próbkach zbiorczych wymazów podeszwowych pochodzących z kurników zlokalizowanych w czterech fermach (F2 [kurniki: 2a-2d], F4 [kurniki: 4a-4d] F5 [kurniki: 5a-5b] oraz F7 [kurniki: 7e-7g]) w badaniu po częściowej depopulacji stad. Tylko w 2 próbkach zbiorczych wymazów podeszwowych (F5 [kurniki: 5c, 5d]) spośród 30 zbadanych nie stwierdzono materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w badaniu zarówno przed, jak i po częściowej depopulacji stad (Tabela 13).

Tabela 13: Identyfikacja gatunkowa bakterii z rodzaju *Campylobacter* wyizolowanych ze środowiska kurników, przed i po częściowej depopulacji stad, w trakcie pierwszego (C₁) cyklu chowu (n=30 próbek zbiorczych wymazów podeszwowych; 1 próbkę zbiorczą stanowiły 4 wymazy podeszwowe z 1 kurnika)

Oznaczenie kurnika n=7	Fermy brojlerów kurzych							
	Przed częściową depopulacją stad (21. doba cyklu chowu C ₁)				Po częściowej depopulacji stad (35. doba cyklu chowu C ₁)			
	F2	F4	F5	F7	F2	F4	F5	F7
A	-	-	-		+ ¹	+ ¹	+ ¹	
B	-	-	-		+ ¹	+ ¹	+ ¹	
C	-	-	-		+ ¹	+ ¹	-	
D	-	-	-		+ ¹	+ ¹	-	
E				+				+ ¹
F				-				+ ¹
G				-				+ ¹

Objaśnienia:

- - próbki ujemne w kierunku *Campylobacter* spp.

+¹ - próbki dodatnie w kierunku *C. jejuni*

+ - próbki dodatnie w kierunku *Campylobacter* (gatunek inny niż *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*)

Występowanie bakterii z rodzaju *Campylobacter* było istotnie częstsze w stadach w badaniu po częściowej depopulacji ($p < 0,001$, $N=15$).

We wszystkich dodatnich próbkach zbiorczych wymazów podeszwowych pobranych do badań po częściowej depopulacji stad (n=13) stwierdzono obecność materiału genetycznego *C. jejuni*. W badaniu po częściowej depopulacji stad, nie stwierdzono obecności materiału genetycznego *C. coli* lub *C. lari*. Odnosząc wyniki z objętych badaniem 15 stad do statusu tych stad przed depopulacją, stwierdzono, że w badaniu przed częściową depopulacją wykazano obecność materiału genetycznego *Campylobacter* spp. tylko w 1 z 15 kurników

zlokalizowanych na fermie F7 (kurnik 7e), jednak nie był to materiał genetyczny *C. jejuni*, *C. coli*, ani też *C. lari* (Tabela 13).

Stwierdzono istotne różnice pomiędzy występowaniem *C. jejuni* w badaniu przed i po częściowej depopulacji stad, gdzie częściej wystąpił ten patogen po ubiorce ($p < 0,001$, $N=15$).

4.4. Ocena porównawcza wdrożenia procedur ograniczających ryzyko zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez *Campylobacter* spp. (etapy: transportu, w uboju oraz w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa)

Maksymalna liczba punktów możliwa do przyznania w wyniku oceny wdrożenia i stosowania procedur bezpieczeństwa biologicznego na etapach: transportu, w ubojni oraz w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa wynosiła 56. Łącznie przyznano 31 punktów (55,36%), w tym: za etap transportu (obszar tematyczny 2A: transport zwierząt do ubojni - przyznano 9 punktów/17 możliwych (52,94%) [Tabela 14]); etap w ubojni (obszar tematyczny 2B: badania mikrobiologiczne i dokumentacja i FCI - przyznano 2 punkty/6 możliwych (33,33%); obszar tematyczny 2C: oparzanie i skubanie - przyznano 5 punktów/8 możliwych (62,50%), obszar tematyczny 2D: wytrzewianie i mycie - przyznano 4 punkty/4 możliwe (100%), obszar tematyczny 2E: chłodzenie i pakowanie - przyznano 11 punktów/12 możliwych (91,67%) oraz obszar tematyczny 2F: inne procedury specyficzne dla *Campylobacter* spp. - przyznano 0 punktów/4 możliwe [Tabela 14]); etap w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa (obszar tematyczny 3A: inne procedury specyficzne dla *Campylobacter* spp. - przyznano 0 punktów/5 możliwych [Tabela 15]).

Tabela 14: Ocena punktowa wdrożenia procedur ograniczających ryzyko zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez *Campylobacter* spp. - etapy transportu i w ubojni

Obszar tematyczny	Pytanie/zagadnienie odnoszące się do ryzyka zanieczyszczenia tuszek brojlerów kurzych przez <i>Campylobacter</i> spp.	Forma odpowiedzi	Punkty
2A Transport zwierząt do ubojni	Czy jest rozdzielenie w czasie lub przestrzeni zwierząt z ferm <i>Campylobacter</i> -dodatnich i <i>Campylobacter</i> -ujemnych? (pyt. 1)	Tak/Nie	0
	Ogólne warunki transportu zwierząt (pyt. 2)	1-5	3
	Czyszczenie i dezynfekcja skrzynek, modułów i pojazdów transportowych (pyt. 3)	1-5	3
	Miejsce składowania klatek po dezynfekcji jest oddzielone od miejsca z klatkami brudnymi (pyt. 4)	1-5	2
	Klatki są wykonane z niekorodującego materiału (pyt. 5)	Tak/Nie	1
Razem (obszar tematyczny 2A)			9

Wyniki

2B Badania mikrobiologiczne i FCI	Czy w ubojni wdrożone są obowiązkowe kryteria higieny procesu (KHP) dla <i>Campylobacter</i> spp.? (pyt. 6)	Tak/Nie	1
	Częstotliwość badań jest większa niż wymagania prawne (pyt. 7)	Tak/Nie	0
	Czy w ubojni wdrożone są dodatkowe kryteria dla <i>Campylobacter</i> spp.? (pyt. 8)	Tak/Nie	0
	Wyniki badań stada w kierunku <i>Campylobacter</i> spp. przekazywane są do ubojni za pomocą dokumentacji FCI (pyt. 9)	Tak/Nie	0
	Ubojnia ma swobodny dostęp do FCI (pyt. 10)	Tak/Nie	1
	Skuteczność procedury mycia i dezynfekcji klatek jest weryfikowana badaniami mikrobiologicznymi (pyt. 11)	Tak/Nie	0
Razem (obszar tematyczny 2B)			2

Wyniki

2C Oparzanie i skubanie	Nie ma przepływu powietrza z obszaru zawieszania ptaków do następnego etapu produkcyjnego (pyt. 12)	Tak/Nie	0
	Stosuje się "multiple scald tanks" (wiele oparzelników – w celu redukcji zanieczyszczeń) (pyt. 13)	Tak/Nie	1
	Temperatura wody w oparzelnikach wynosi ponad 55°C (pyt. 14)	Tak/Nie	1
	Woda jest regularnie wymieniana w oparzelnikach (pyt. 15)	Tak/Nie	1
	Kierunek przepływu wody w oparzelniku jest odwrotny do kierunku przesuwu linii (pyt. 16)	Tak/Nie	0
	Skubarki dostosowane do rozmiaru tuszek (pyt. 17)	Tak/Nie	1
	"Palce" skubarek sprawdzane codziennie - za duże ciśnienie powoduje wydostanie się treści kloaki (pyt. 18)	Tak/Nie	1
	Aerozol, który powstaje w obszarze skubania nie przedostaje się do kolejnego etapu produkcji (pyt. 19)	Tak/Nie	0
Razem (obszar tematyczny 2C)			5
2D Wytrzewianie i mycie	Bieżąca kontrola wzrokowa skuteczności wytrzewiania (pyt. 20)	Tak/Nie	1
	Czy prowadzona jest kontrola perforacji, wycieków z jelit na etapie wytrzewiania? (pyt. 21)	Tak/Nie	1
	Natryskowe mycie tuszek (pyt. 22)	Tak/Nie	1
	Brak mycia tuszek przez zanurzanie w wodzie (pyt. 23)	Tak/Nie	1
Razem (obszar tematyczny 2D)			4

Wyniki

2E chłodzenie i pakowanie	Tylko mokre tuszki są przekazywane do chłodzenia (pyt. 24)	tak/nie	1
	Chłodzenie: tzw. rapid cooling (pyt. 25)	tak/nie	1
	Chłodzenie: brak kondensacji lub gromadzenia się wody (pyt. 26)	Tak/Nie	1
	Brak chłodzenia natryskowego (pyt. 27)	Tak/Nie	1
	Chłodzenie zimnym powietrzem (pyt. 28)	Tak/Nie	1
	Prędkości linii umożliwia prawidłowe schłodzenie tuszek (pyt. 29)	1-5	5
	Stosowanie promieniowania UV na tuszki wychodzące z obszaru chłodzenia (pyt. 30)	Tak/Nie	0
	Personel strefy pakowania nie ma wstępu na wcześniejsze etapy produkcji (pyt. 31)	Tak/Nie	1
Razem (obszar tematyczny 2E)			11
2F Inne procedury specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.	Czy ubojnia realizuje politykę „ <i>Campylobacter</i> -free” (przyjmuje do uboju tylko stada wolne od <i>Campylobacter</i>)? (pyt. 32)	Tak/Nie	0
	Czy w ubojni zapewniony jest przepływ powietrza w kierunku odwrotnym do ciągu technologicznego? (pyt. 33)	Tak/Nie	0
	Brak głodówki przedubojowej (pyt. 34)	Tak/Nie	0
	Czy stosowane są innowacyjne metody redukcji <i>Campylobacter</i> spp. na powierzchni tuszek (pyt. 35)	Tak/Nie	0
Razem (obszar tematyczny 2F)			0
RAZEM (obszary tematyczne 2A - 2F)			31

Objaśnienia:

W pytaniach o formie odpowiedzi Tak/Nie do odpowiedzi TAK przypisano wartość 1; do odpowiedzi NIE przypisano wartość 0

Tabela 15: Ocena punktowa wdrożenia procedur ograniczających ryzyko występowania *Campylobacter* spp. w surowych wyrobach mięsnych - etap w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa

Obszar tematyczny	Pytanie/zagadnienie odnoszące się do ryzyka występowania <i>Campylobacter</i> spp. w surowych produktach mięsnych	Forma odpowiedzi	Punkty
3A Inne procedury specyficzne dla <i>Campylobacter</i> spp.	Czy zakład wprowadza do obrotu jedynie produkty „ <i>Campylobacter</i> -free”? (pyt. 1)	Tak/Nie	0
	Mięso (cała partia) skażone <i>Campylobacter</i> spp. poddawane jest mrożeniu (element polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”) (pyt. 2)	Tak/Nie	0
	Mięso (cała partia) skażone <i>Campylobacter</i> spp. poddawane jest obróbce termicznej (element polityki „ <i>Campylobacter</i> -free”) (pyt. 3)	Tak/Nie	0
	Do obrotu wprowadzane są jedynie produkty indywidualnie pakowane (pyt. 4)	Tak/Nie	0
	Etykieta zawiera informacje o zagrożeniu <i>Campylobacter</i> spp. i/lub sposobie obróbki ograniczającym zagrożenie <i>Campylobacter</i> spp. i/lub informację „wolne od <i>Campylobacter</i> spp.” (pyt. 5)	Tak/Nie	0
RAZEM (obszar tematyczny 2F)			0

Objaśnienia:

W pytaniach o formie odpowiedzi Tak/Nie do odpowiedzi TAK przypisano wartość 1; do odpowiedzi NIE przypisano wartość 0

4.5. Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *C. coli*, *C. jejuni*, *C. lari* oraz określenie liczby bakterii z rodzaju *Campylobacter* na powierzchni tuszek brojlerów kurzych z objętych badaniami ferm F1-F9 (etap w ubojni)

Materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono na powierzchni 146 (73,37%) spośród 199 zbadanych próbek zbiorczych skór szyi pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych objętych cyklem chowu C₁ i/lub C₂ pochodzących z F1-F9. Liczbowy rozkład wyników występowania materiału genetycznego *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek brojlerów kurzych w odniesieniu do stad pochodzenia zwierząt, z których pozyskano tuszki przedstawia Tabela 16.

Tabela 16: Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek brojlerów kurzych (etap w ubojni) w odniesieniu do stad pochodzenia zwierząt (n=199 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiły próbki skóry szyi z trzech tuszek brojlerów kurzych z tego samego stada)

Ferma	Liczba próbek zbiorczych	Liczba próbek zbiorczych dodatnich	Występowanie <i>Campylobacter</i> spp. (%)
F1	15	12	80,00
F2	20	14	75,00
F3	22	13	59,09
F4	36	33	91,67
F5	37	26	70,27
F6	32	23	71,88
F7	24	15	62,50
F8	7	6	85,71
F9	6	4	66,67
Suma (F1-F9)	199	146	73,37

Rozpatrując wszystkie uzyskane wyniki łącznie (n=199) uzyskano 28,64% wyników w przedziale 100-999 jtk/g; 38,19% w przedziale 1000-10000 jtk/g oraz 6,53% powyżej 10000

jtk/g. Nie otrzymano wyników mieszczących się w przedziale 10-99 jtk/g. W 53 próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych nie wykryto pałeczek *Campylobacter* spp. (Tabela 17).

Tabela 17: Liczba bakterii *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek brojlerów kurzych (n=199 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiły próbki skóry szyi z trzech tuszek brojlerów kurzych z tego samego stada)

Liczba <i>Campylobacter</i> spp. (jtk/g)	Liczba próbek zbiorczych	Wartość średnia (jtk/g)	% Próbek dodatnich
0	53	-	-
10-99	0	-	0
100-999	57	382	39,04
1 000-10 000	76	2 828	52,05
powyżej 10 000	13	68 923	8,90

Objaśnienia:

jtk/g - jednostek tworzących kolonie/gram

Szczegółowy rozkład wyników dotyczących obecności materiału genetycznego *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek brojlerów kurzych, odniesionych do stad pochodzenia zwierząt, od których pozyskano tuszki, identyfikowanych przez oznaczenie fermy, kurnika i numeru cyklu chowu, z uwzględnieniem identyfikacji gatunkowej *Campylobacter* przedstawia Tabela 18.

Tabela. 18: Obecność materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych pobranych do badań w ubojni. Wyniki dotyczą stad pochodzenia zwierząt identyfikowanych poprzez oznaczenie fermy, kurnika i numer jednego z dwóch kolejnych cykli chowu, z uwzględnieniem identyfikacji gatunkowej *Campylobacter* (n=199 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiły próbki skóry szyi z trzech tuszek brojlerów kurzych z tego samego stada)

Oznaczenie kurnika n=10	Ferma pochodzenia brojlerów kurzych, z których pozyskano tusze (n=9)								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
	Cykl chowu								
	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂	C ₁ /C ₂
a		-/- + ¹ + ¹ + ¹ + ¹	+ ¹ /	+ ¹ /+ ¹ + ¹ + ¹ + ²	-/- - - + ¹ + ²	/- - + ¹ + ¹ + ¹	- - - - + ¹ / - - - + ¹ + ¹	+ ¹ /	- /
b		+ ¹ /	-/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ²	+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ¹ /	+ ¹ /- - + ¹ + ¹ + ²	/- + ¹ + ¹ + ¹ + ²		+ ¹ /	+ ¹ /
c		- /	+ ¹ /- - - + ¹ + ¹	/- + ¹ + ¹ + ¹ + ¹	- - - - + ¹ /	/- + ¹ + ¹ + ¹ + ¹		- /	+ ¹ /
d		- /	- /	/- - + ¹ + ¹ + ¹	/+ ¹ + ¹ + ¹ + ² + ²	/- + ¹ + ¹ + ¹ + ² + ²		+ ¹ /	
e	/- + ¹ + ¹ + ¹ + ¹			/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ²	/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ² + ²	+ ¹ /	+ ¹ /	+ ¹ /	+ ¹ /
f	/- + ¹ + ¹ + ¹ + ¹		+ ¹ /		/- + ¹ + ¹ + ¹ + ²	- /	/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ² + ²	+ ¹ /	+ ¹ /
g		/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ²	- /				- / + ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ²		- /
h	/- + ¹ + ¹ + ² + ²			/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ² + ²	/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ²	/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ²			
i				/+ ¹ + ¹ + ¹ + ¹ + ² + ²			- /	+ ² /	
j		/- - + ¹ + ¹ + ¹	/- - - + ¹ + ¹ + ²			/- - - + ¹ + ¹	+ ¹ /		

Wyniki

Objaśnienia:

- / - wyniki zapisane po lewej stronie znaku „/” dotyczą pierwszego (C₁) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu; wyniki zapisane po prawej stronie znaku „/” dotyczą drugiego (C₂) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu
- +¹ - próbki dodatnie w kierunku *C. jejuni*
- +² - próbki dodatnie w kierunku *C. coli*
-  - wyniki dodatnie zarówno w kierunku *C. jejuni* jak i *C. coli*

Analiza materiału genetycznego metodą PCR wykazała obecność *C. jejuni* w 125 (86,62%) spośród 199 próbek zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych pochodzących z kurników zlokalizowanych w dziewięciu fermach (F1 [kurniki: 1e, 1f, 1h], F2 [kurniki: 2a, 2b, 2g, 2j], F3 [kurniki: 3a-c, 3f, 3j], F4 [kurniki: 4a-e, 4h, 4i], F5 [kurniki: 5a-f, 5h], F6 [kurniki: 6a-e, 6h, 6j], F7 [kurniki: 7a, 7e-g, 7 j], F8 [kurniki: 8a, 8b, 8d-f], F9 [kurniki: 9b, 9c, 9e, 9f]) oraz *C. coli* w 27 (18,49%) spośród 199 próbek zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych pochodzących z kurników zlokalizowanych w ośmiu fermach (F1 [kurnik 1h], F2 [kurnik 2g], F3 [kurniki: 3b, 3j] F4 [kurniki: 4a, 4e, 4h, 4i], F5 [kurniki: 5a, 5b, 5d-f, 5h], F6 [kurniki: 6b, 6d, 6h], F7 [kurniki: 7f, 7g], F8 [kurnik 8i]), przy czym w 6 próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych stwierdzono materiał genetyczny zarówno *C. jejuni*, jak i *C. coli* (F2 [kurnik 2g], F4 [kurniki: 4h, 4i], F5 [kurnik 5e], F6 [kurnik 6d], F7 [kurnik 7f]). Wszystkie tuszki, na których powierzchni stwierdzono jednocześnie obecność materiału genetycznego *C. jejuni*, jak i *C. coli*, pochodziły z drugiego (C_2) z cyklu chowu. W żadnej z badanych próbek zbiorczych nie stwierdzono materiału genetycznego *C. lari* (Tabela 18).

Analiza statystyczna wyników wykazała, że występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych uzyskanych od zwierząt w pierwszym (C_1) i drugim (C_2) cyklu chowu różniła się istotnie. Drugi (C_2) cykl chowu prezentował większe prawdopodobieństwo wystąpienia *Campylobacter* spp. ($B=1,31$, $SE\pm 0,4$, $p=0,001$, $N=171$). Szanse na wystąpienie *Campylobacter* spp. w cyklu chowu C_2 były 3-krotnie wyższe niż w cyklu chowu C_1 ($\text{Exp}(B)=3,717$). Model był jednak słabo dopasowany, R-kwadrat Nagelkerkego wyniósł 0,088, ale 75,4% przypadków zostało sklasyfikowane prawidłowo (dla całego modelu). Podobną zależność wykazano dla gatunku *C. jejuni* ($B=0,76$, $SE\pm 0,39$, $p=0,049$, $N=171$), gdzie szanse na wystąpienie tego gatunku były 2-krotnie wyższe w cyklu chowu C_2 ($\text{Exp}(B)=2,149$). Niemniej jednak model ten był jeszcze słabiej dopasowany (R-kwadrat Nagelkerkego = 0,038, 62,0% prawidłowo sklasyfikowanych przypadków).

Biorąc pod uwagę fermę pochodzenia zwierząt stwierdzono, że występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych nie różni się statystycznie ($B=-0,05$, $SE\pm 0,114$, $p=0,683$). Nie wykazano również takiej zależności dla gatunku *C. jejuni* ($B=-0,1$, $SE\pm 0,1$, $p=0,333$).

Ponadto analiza statystyczna (uogólniony model liniowy) wykazała, że liczba bakterii *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek brojlerów pozyskanych od zwierząt z drugiego (C_2)

cyklu chowu była istotnie wyższa. W cyklu chowu C₂ logarytm liczby bakterii był istotnie wyższy niż w cyklu chowu C₁ (statystyka modelu: $\chi^2=6,78$, $p=0,009$).

Wyniki dotyczące liczby bakterii *Campylobacter* spp. (wartość średnia z wszystkich kurników na danej fermie) na powierzchni tuszek w odniesieniu do pierwszego (C₁) i drugiego (C₂) cykl chowu przedstawia Tabela 19.

Tabela 19: Występowanie bakterii *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek brojlerów kurzych (skóra z szyi). Wyniki dotyczą stad ferm pochodzenia zwierząt oraz cyklu chowu (n=199 próbek zbiorczych; statystyka zmiennej ferma dla cyklu pierwszego: $\chi^2=20,77$, $p=0,004$, dla cyklu drugiego: $\chi^2=7,56$, $p=0,272$)

Cykl chowu	Log liczby bakterii/ g								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
C ₁		0,77 ^a (n=4)	1,27 ^b (n=6)	3,86 ^{a,b,c,d,e} (n=6)	1,14 ^c (n=7)	1,69 (n=2)	1,11 ^{d,f} (n=9)	2,58 (n=7)	2,01 ^{e,f} (n=6)
C ₂	2,51 (n=15)	2,69 (n=16)	1,67 (n=16)	2,75 (n=30)	2,48 (n=30)	2,37 (n=30)	2,61 (n=15)		

Objaśnienia:

a-f - wartości oznaczone tymi samymi literami różnią się statystycznie dla pierwszego (C₁) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu; dla cyklu drugiego (C₂) nie wykazano różnic istotnych statystycznie.

Zaobserwowano istotne różnice w liczbie bakterii *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek brojlerów kurzych ze stad pochodzących z różnych ferm dla cyklu chowu C₁. Porównanie wykonano oddzielnie dla każdego cyklu chowu. Model dla cyklu chowu C₁ był istotny statystycznie ($\chi^2=17,20$, $p=0,016$), natomiast dla cyklu chowu C₂ model był nieistotny ($\chi^2=7,38$, $p=0,287$).

Spośród tuszek brojlerów kurzych pozyskanych ze stad pochodzących z pierwszego (C₁) cyklu chowu najwyższy poziom zanieczyszczenia bakteriami *Campylobacter* spp. występował na tuszkach pochodzących z fermy F4 (log 3,86 jtk/g). Jest to poziom zanieczyszczenia statystycznie wyższy od poziomu zanieczyszczenia tuszek pochodzących

z ferm F2 (log 0,77 jtk/g), F3 (log 1,27 jtk/g), F5 (log 1,14 jtk/g), F7 (log 1,11 jtk/g) i F9 (log 2,01 jtk/g). Pozostałe fermy zwykle nie wykazywały wzajemnych różnic (Tabela 19).

Biorąc pod uwagę tusze ze stad pochodzących z drugiego (C₂) cyklu chowu również najwyższy poziom zanieczyszczenia bakteriami *Campylobacter* spp. występował na tuszach pochodzących z fermy F4 (log 2,75 jtk/g), przy czym - w odniesieniu do cyklu chowu C₂ - podobny poziom zanieczyszczenia stwierdzono w fermach F1 (log 2,51 jtk/g), F2 (log 2,69 jtk/g), F5 (log 2,48 jtk/g), F6 (log 2,37 jtk/g) i F7 (log 2,61 jtk/g) (Tabela 19).

4.6. Występowanie materiału genetycznego *Campylobacter* spp., *Campylobacter coli*, *C. jejuni*, *C. lari* oraz określenie liczby bakterii z rodzaju *Campylobacter* w surowych produktach gotowych do sprzedaży detalicznej pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych z objętych badaniami ferm F1-F9 (etap zakładu rozbioru i porcjowania mięsa)

Materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 76 (54,68%) spośród 139 próbek zbiorczych pochodzących z ferm F1-F9. Biorąc pod uwagę podział asortymentu na surowe produkty mięsne bez skóry i ze skórą, udział wyników dodatnich wyniósł odpowiednio 14,29% (8 wyników dodatnich/56 próbek zbiorczych) i 81,93% (68 wyników dodatnich/83 próbki zbiorcze) (Tabela 20).

Tabela 20: Występowanie materiału genetycznego oraz liczba bakterii *Campylobacter* spp. w surowych produktach mięsnych bez skóry (n=56) i ze skórą (n=83) w odniesieniu do ferm chowu brojlerów (n=139 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiło 5 próbek tego samego surowego asortymentu mięsnego z tuszek brojlerów kurzych pozyskanych z tego samego stada)

Ferma	Produkt	Liczba próbek zbiorczych	Liczba próbek zbiorczych dodatnich	Ilość <i>Campylobacter</i> spp. Log jtk/g	Występowanie <i>Campylobacter</i> spp. (%)
F1	bez skóry	3	1	0,76*	33,33
	ze skórą	6	6	3,46	100
F2	bez skóry	7	0	0	0
	ze skórą	10	7	2,26	70,00
F3	bez skóry	5	1	0,42	20
	ze skórą	5	5	2,41	100
F4	bez skóry	8	3	0,93	37,50
	ze skórą	14	11	2,76	78,57
F5	bez skóry	8	1	0,27	12,50
	ze skórą	14	11	2,48	78,57
F6	bez skóry	8	2	0,53	25
	ze skórą	14	12	1,93	85,71
F7	bez skóry	8	0	0,00	0
	ze skórą	11	7	1,96	63,64
F8	bez skóry	4	0	0	0
	ze skórą	4	4	2,71	100
F9	bez skóry	5	0	0	0
	ze skórą	5	5	3,06	100
F1-F9	bez skóry	56	8	0,32	14,29
	ze skórą	83	68	2,56	81,93

Objaśnienia:

* - średnia arytmetyczna z próbek zbiorczych.

W surowych produktach mięsnych bez skóry bakterie *Campylobacter* spp. wykryto w 8 próbkach zbiorczych (14,28%), w których poziom zanieczyszczenia wynosił od 2,05 log jtk/g do 2,6 log jtk/g (średnio 2,28 log jtk/g). W 48 próbkach (85,72%) nie stwierdzono obecności żywych bakterii *Campylobacter* spp (Tabela 21).

Tabela 21: Liczba bakterii *Campylobacter* spp. w próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych bez skóry (n=56) i ze skórą (n=83), (n=139 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiło 5 próbek tego samego surowego asortymentu mięsnego z tuszek brojlerów kurzych pozyskanych z tego samego stada)

Liczba <i>Campylobacter</i> spp. (jtk/g)	Produkt	Liczba próbek zbiorczych	Wartość średnia <i>Campylobacter</i> spp. (jtk/g)	% Próbek dodatnich
0	bez skóry	48	-	-
	ze skórą	15	-	-
10-99	bez skóry	0	-	-
	ze skórą	3	27	4,41
100-999	bez skóry	8	209	100
	ze skórą	26	428	38,23
1 000-10 000	bez skóry	0	-	-
	ze skórą	36	2 908	52,94
powyżej 10 000	bez skóry	0	-	-
	ze skórą	3	33 111	4,41

W surowych produktach mięsnych ze skórą bakterie *Campylobacter* spp. wykryto w 68 próbkach zbiorczych (81,93%), w których oznaczona liczba bakterii *Campylobacter* spp. wynosiła od 20 jtk/g do 65000 jtk/g (średnio 2,56 log jtk/g). Bakterie *Campylobacter* spp. stwierdzono w zakresach 1,18-1,32 log jtk/g (3 próbki); 2,04-2,90 log jtk/g (26 próbek); 3,04-3,78 log jtk/g (36 próbek); 4,11-4,81 log jtk/g (3 próbki). W 15 próbkach zbiorczych (18,07%) nie stwierdzono żywych bakterii *Campylobacter* spp. (Tabela 21).

Szczegółowy rozkład wyników dotyczących identyfikacji gatunkowej *Campylobacter* w surowych produktach mięsnych bez skóry i ze skórą, z uwzględnieniem fermy, cyklu chowu i kurnika przedstawiają odpowiednio Tabele 22 i 23.

Tabela 22: Obecność materiału genetycznego *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* w próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych bez skóry (n=56 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiło 5 próbek tego samego surowego asortymentu mięsnego z tuszek brojlerów kurzych pozyskanych z tego samego stada) pobranych w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa - wyniki odniesione do stad, z których pozyskano tuszki, identyfikowanych przez oznaczenie fermy, kurnika i cyklu chowu

Oznaczenie kurnika n=10	Fermy chowu brojlerów kurzych, od których pozyskano tuszki będące surowcem dla produktów drobiowych bez skóry (filety z piersi) (n=9)								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
	Cykl chowu								
	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2
A		-/-	-/	+ ¹ /+ ¹	-/-	/-	-/-		-/
B		-/	-/	-/	+ ¹ /-	/+ ¹			-/-
C		-/	-/	/-		/-		-/	
D		-/		/-	/-	/-			
E	/-			/-	/-	-/	-/	-/	-/
F	/-		-/		/-	-/	/-	-/	-/
G		/-	+ ¹ /				-/-		
H	/+ ²			/-	/-	/+ ¹			
I				/+ ²			-/	-/	
J		/-				/-	-/		

Objaśnienia:

/ - wyniki zapisane po lewej stronie znaku „/” dotyczą pierwszego (C₁) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu; wyniki zapisane po prawej stronie znaku „/” dotyczą drugiego (C₂) z dwóch kolejnych cykli chowu

⁺¹ - próbki dodatnie w kierunku *C. jejuni*

⁺² - próbki dodatnie w kierunku *C. coli*

Tabela 23: Obecność materiału genetycznego *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* w próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą (n=83 próbek zbiorczych; 1 próbkę zbiorczą stanowiło 5 próbek tego samego surowego asortymentu mięsnego z tuszek brojlerów kurzych pozyskanych z tego samego stada), w tym skrzydeł (n=56) i mięśni z nogi (n=27), pobranych w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa - wyniki odniesione do stad, z których pozyskano tuszki, identyfikowanych przez oznaczenie fermy, kurnika i cyklu chowu

Oznaczenie kurnika	Ferma chowu brojlerów kurzych, od których pozyskano tuszki będące surowcem dla surowych produktów mięsnych ze skórą (skrzydło i mięso z nogi)								
	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
	cykl chowu								
	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2	C1/C2
a		- / + ¹ + ¹	+ ¹ /	+ ¹ / + ¹ + ²	- / + ² -	/+ ¹ + ¹	- / + ¹ + ¹		+ ^{1,2} /
b		+ ¹ /	+ ¹ /	- /	+ ¹ /+ ^{1,2} + ¹	/+ ¹ -			+ ¹ + ¹ /
c		- /	+ ¹ /	/+ ¹ + ¹		/+ ² + ¹		+ ¹ /	
d		+ ¹ /		/+ ¹ -	/+ ¹ + ²	/+ ¹ -			
e	/+ ¹ + ¹			/+ ² -	/+ ¹ + ¹	+ ¹ /	- /	+ ² /	+ ² /
f	/+ ¹ + ¹		+ ¹ /		/+ ^{1,2} + ¹	+ ¹ /	/+ ^{1,2} -	+ ¹ /	+ ¹ /
g		/+ ^{1,2} + ¹	+ ¹ /				- / + ¹ + ¹		
h	/+ ¹ + ^{1,2}			/+ ^{1,2} + ¹	/+ ¹ -	/+ ¹ + ¹			
i				/+ ^{1,2} + ¹			+ ¹ /	+ ¹ /	
j		/+ ¹ -				/+ ¹ + ¹	+ ¹ /		

Objaśnienia:

- / - wyniki zapisane po lewej stronie znaku „/” dotyczą pierwszego z dwóch kolejnych cykli chowu (C₁/C₂); wyniki zapisane po prawej stronie znaku „/” dotyczą drugiego z dwóch kolejnych cykli chowu (C₁/C₂)
- +¹ - próbki dodatnie w kierunku *C. jejuni*
- +² - próbki dodatnie w kierunku *C. coli*
-  - wyniki dodatnie zarówno w kierunku *C. jejuni* jak i *C. coli*

Badanie metodą PCR wykazało obecność materiału genetycznego *C. jejuni* w 6 (10,71 %) spośród 56 próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych bez skóry (filet z piersi) pochodzących z tuszek brojlerów kurzych pozyskanych z ferm F1-F9. Trzy wyniki dodatnie dotyczyły próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych pochodzących z cyklu chowu C₁ z trzech ferm (F3 [kurnik 3g], F4 [kurnik4a] i F5 [kurnik 5b]). Pozostałe 3 wyniki dodatnie dotyczyły próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych chowanych w drugim (C₂) cyklu i pochodziły z dwóch ferm (F4 [kurnik 4a] oraz F6 [kurniki: 6b, 6h]). Materiał genetyczny *C. coli* stwierdzono w 2 próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych bez skóry. Stada chowu brojlerów, z których pozyskano surowiec pochodziły z dwóch ferm: F1 [kurnik 1h] oraz F4 [kurnik 4i]), przy czym wszystkie wyniki dodatnie dotyczyły próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych z drugiego (C₂) cyklu chowu. Nie stwierdzono obecności materiału genetycznego *C. lari* w żadnej próbce zbiorczej surowych produktów mięsnych bez skóry (Tabela 22).

Identyfikacja gatunkowa *Campylobacter* metodą PCR wykazała obecność *C. jejuni* w 61 (73,49%) spośród 83 próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą (skrzydło, mięso z nogi), przy czym 20 (68,96%) wyników dodatnich dotyczyło próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą pozyskanych z tuszek brojlerów chowanych w pierwszym (C₁) cyklu chowu, a 41 (75,93%) wyników dodatnich dotyczyło próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą pozyskanych z tuszek pochodzących od brojlerów chowanych w drugim (C₂) cyklu chowu. Obecność materiału genetycznego *C. coli* stwierdzono w 15 (18,07%) próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą, z których 3 (10,34%) wyniki dodatnie dotyczyły próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą pozyskanych od brojlerów z pierwszego (C₁) cyklu chowu, a 12 (22,22%) wyników dodatnich próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych hodowanych w drugim (C₂) cyklu chowu. Nie stwierdzono obecności materiału genetycznego *C. lari* w żadnej próbce zbiorczej surowych produktów mięsnych ze skórą (Tabela 23).

Spośród 56 zbadanych próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą asortymentu skrzydło materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 49 (87,50%) próbkach zbiorczych pozyskanych od brojlerów kurzych pochodzących z kurników zlokalizowanych w dziewięciu objętych badaniami fermach. Stwierdzono 37 wyników dodatnich w kierunku *C. jejuni* (F1 [kurniki: 1e, 1f, 1h], F2 [kurniki: 1a, 2b, 2d, 2g, 2j], F3

[kurniki: 3a-c, 3f, 3g], F4 [kurniki: 4a, 4c, 4d, 4h, 4i], F5 [kurniki: 5b, 5d-f, 5h], F6 [kurniki: 6a-f, 6h, 6j], F7 [kurniki: 7a, 7f, 7g, 7i, 7j], F8 [kurniki: 8c, 8f, 8i], F9 [kurniki: 9a, 9b, 9f]), 5 wyników dodatnich w kierunku *C. coli* (F2 [kurnik 2g], F4 [kurniki: 4e, 4h, 4i], F5 [kurniki: 5a, 5b, 5f], F6 [kurnik 6c], F7 [kurnik 7f], F8 [kurnik 8e], F9 [kurniki: 9a, 9e]), 7 wyników dodatnich zarówno w kierunku *C. jejuni*, jak i *C. coli* (F2 [kurnik 2g], F4 [kurniki: 4h, 4i], F5 [kurniki: 5b, 5f], F7 [kurnik 7f], F9 [kurnik 9a]) (Tabela 23).

Spośród 27 zbadanych próbek zbiorczych surowych produktów mięsnych ze skórą asortymentu mięso z nogi, materiał genetyczny *Campylobacter* spp. stwierdzono w 19 (70,37 %) próbkach zbiorczych pozyskanych od brojlerów kurzych pochodzących z kurników zlokalizowanych w sześciu objętych badaniami fermach. Stwierdzono 16 wyników dodatnich w kierunku *C. jejuni* (F1 [kurniki: 1e, 1f, 1h], F2 [kurniki: 2a, 2g], F4 [kurniki: 4c, 4h, 4i], F5 [kurniki: 5b, 5e, 5f], F6 [kurniki: 6a, 6c, 6h, 6j], F7 [kurniki: 7a, 7g]), 2 wyniki dodatnie w kierunku *C. coli* (F4 [kurnik 4a], F5 [kurnik 5d]), 1 wynik dodatni zarówno w kierunku *C. jejuni* jak i *C. coli* (F1 [kurnik 1h]) (Tabela 23).

Porównując prawdopodobieństwo wystąpienia bakterii w próbkach zbiorczych surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych wykazano istotną zależność frekwencji *Campylobacter* spp. od cyklu chowu oraz typu surowego produktu mięsnego (ze skórą/bez skóry). Model regresji logistycznej był dość dobrze dopasowany (R kwadrat Nagelkerkego=0,421; 78,6% przypadków zostało sklasyfikowanych prawidłowo, N=112). Produkty ze skórą wykazały 14-krotnie większe szanse na wystąpienie *Campylobacter* spp. niż produkty bez skóry (B=2,64, SE=0,48, $p<0,001$, Exp (B)=14,05). Surowe produkty mięsne pochodzące od tusz brojlerów kurzych z drugiego (C₂) cyklu chowu wykazały 2-krotnie większe szanse na wystąpienie *Campylobacter* spp. niż produkty z cyklu pierwszego (C₁) (B=0,99, SE=0,50, $p=0,047$, Exp (B)=2,68). Nie wykazano różnic w odniesieniu do poszczególnych ferm.

Podobną zależność wykazano w stosunku do *C. jejuni*, przy czym nie stwierdzono zależności od cyklu chowu (B=0,46, SE=0,46, $p=0,314$), a jedynie różnice między surowymi produktami mięsnymi ze skórą/bez skóry, gdzie podobnie do *Campylobacter* spp., produkty ze skórą wykazały znacznie większe szanse (9-krotnie) na wystąpienie *C. jejuni* (B=2,27, SE=0,45, $p<0,001$, Exp (B)=9,67). Podobnie model był dość dobrze dopasowany (R kwadrat Nagelkerkego=0,326; 75,0% przypadków zostało sklasyfikowanych prawidłowo, N=112). Nie wykazano różnic między fermami.

Analiza uogólnionym modelem liniowym wykazała różnice między cyklami, typem surowego produktu mięsnego (produkt ze skórą/bez skóry) oraz między fermami (dla całego modelu: $\chi^2=83,94$, $p<0,001$). Liczebność bakterii *Campylobacter* spp. w surowych produktach mięsnych pochodzących z tuszek brojlerów kurzych z drugiego (C_2) cyklu chowu była niemal 2-krotnie wyższa niż z cyklu pierwszego (C_1) ($\chi^2=12,67$, $p<0,001$). Surowe produkty mięsne ze skórą prezentowały niemal 4-krotnie wyższą liczbę bakterii niż surowe produkty mięsne bez skóry ($\chi^2=86,63$, $p<0,001$). Wykazano również statystycznie istotne różnice między surowymi produktami mięsnymi w odniesieniu do ferm ($\chi^2=16,94$, $p=0,031$). Najwyższe poziomy liczby bakterii prezentowały surowe produkty mięsne pozyskane z tuszek brojlerów kurzych pochodzących z ferm F1 i F9, odpowiednio 2,40 i 2,00 co różniło je od surowych produktów mięsnych pozyskanych z tuszek brojlerów kurzych pochodzących z większości pozostałych ferm. Najniższy poziom prezentowały surowe produkty mięsne pozyskane z tuszek brojlerów kurzych pochodzących z fermy F6 (0,86) wykazując istotne różnice z surowymi produktami mięsnymi pozyskanymi z tuszek brojlerów kurzych pochodzących z większości pozostałych ferm.

5. Dyskusja

Spożycie mięsa drobiowego *per capita* w Unii Europejskiej wyniosło w 2017 r. średnio 24,1 kg przy dużej zmienności między państwami, tj. od 20,8 kg we Włoszech do 36,2 kg w Portugalii. Udział dominujący na rynku unijnym miało mięso brojlerów kurzych, którego średnie spożycie na osobę wynosiło 19,4 kg (EFSA J. 2020). Duża konsumpcja mięsa drobiowego wiąże się z zagrożeniami związanymi z patogenami przenoszonymi przez żywność pochodzenia zwierzęcego. Do 2005 r. w Europie za najpowszechniejszą zoonozę związaną z produkcją drobiu uważano salmonellozę. Po wprowadzeniu programów zwalczania *Salmonella* spp. w stadach kur niosek liczba zachorowań konsumentów mięsa drobiowego znacząco spadła. Według EFSA w 2017 r. odnotowano 91662 przypadki salmonellozy we wszystkich krajach unijnych (EFSA J. 2018). Obecnie zoonozę tę klasyfikuje się pod względem powszechności występowania na drugim miejscu, po kampylobakteriozie. W przypadku obydwu w/w chorób odzwierzęcych za główne źródło zakażenia u ludzi uznawane jest mięso drobiowe. Konsumpcja mięsa brojlerów odpowiada za 20-30% przypadków kampylobakteriozy u ludzi. Rezerwuarem *Campylobacter* spp. w 50-80% zachorowań jest drób (EFSA J. 2010). W badaniu ankietowym przeprowadzonym w 2008 r., w którym uczestniczyło 26 krajów Unii Europejskiej, a także Norwegia i Szwajcaria, celem którego było dostarczenie danych liczbowych do określenia występowania *Campylobacter* spp. w tuszkach drobiowych, próbki na obecność patogenu pobierano na początku i na końcu linii ubojowej drobiu. We wszystkich krajach stwierdzono obecność *Campylobacter* spp. Pobrano łącznie 10123 próbki z 561 ubojni. Patogen stwierdzono w 71,2% w jelitach u drobiu (stopień kolonizacji stad) i w 75,8% tuszek drobiowych (zanieczyszczenie). 80,6% izolatów zidentyfikowano jako *C. jejuni*, a 7,1 % jako *C. coli*. Wg EFSA (EFSA J. 2020, 2021), biorąc pod uwagę różnice między epidemiologią *Salmonella* i *Campylobacter* oraz wzorcami kolonizacji, nie przewiduje się wpływu programów kontroli *Salmonella* na występowanie *Campylobacter* w stadach brojlerów w gospodarstwie oraz w mięsie brojlerów pod koniec procesu uboju. W 2012 r. EFSA opublikowała techniczne specyfikacje zharmonizowanych epidemiologicznych indykatorów dla biologicznych zagrożeń, które powinny być uwzględniane podczas badania mięsa drobiowego (EFSA J. 2012). Zgodnie z opinią EFSA największe korzyści dla zdrowia publicznego w ograniczeniu zakażeń *Campylobacter* spp. ma kontrola na poziomie produkcji pierwotnej. Na tym etapie metodą z wyboru do testowania próbek kału z kloaki jest real-time PCR. Niektórzy badacze (Haas i in. 2017) wykorzystywali do detekcji *Campylobacter* spp. w kurnikach metodę wymazów podeszwowych zgodnie z wytycznymi Rozporządzenia

Komisji (WE) nr 200/2012 z dnia 8 marca 2012 r. w sprawie unijnego celu ograniczenia występowania *Salmonella* Enteritidis i *Salmonella* Typhimurium w stadach brojlerów zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady. Dokładnie taką metodę wykorzystano również w niniejszej pracy.

Dzięki projektom naukowym finansowanym ze środków unijnych, np. CAMCON, CAMPYBRO, CAMCHAIN, CAMPYSAFE, uzyskano nowe dane dotyczące możliwości interwencji na poziomie produkcji pierwotnej, co pozwoliło EFSA na przygotowanie nowego opracowania na temat kontroli *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów w 2020 r. (EFSA J. 2020). Zaktualizowano model oceny ryzyka oraz wykorzystano nowe opublikowane dane dotyczące związku między koncentracją *Campylobacter* spp. w jelitach brojlerów i na skórze ich tuszek.

Przeprowadzone badania skupiały się na dwóch obszarach wskazywanych przez EFSA jako kluczowe w inwazji *Campylobacter* spp.: obszarach produkcji pierwotnej oraz zakładu rozbioru i porcjowania mięsa. Wykorzystano autorskie kwestionariusze do oceny analizy ryzyka w obu obszarach - listy kontrolne (Tabele 1, 4). Na etapie produkcji pierwotnej zgodnie ze wskazaniami EFSA ocena dotyczyła pojedynczych kurników i ferm w dwóch kolejnych objętych badaniem cyklach chowu (C_1/C_2). Pobierano również próbki w celu oznaczenia stopnia zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. na poziomie stada oraz tuszek brojlerów i elementów z nich uzyskanych. Otrzymane wyniki wskazują na wysoki poziom występowania *Campylobacter* spp. w badanych etapach produkcji mięsa drobiowego. Odsetek próbek *Campylobacter*-dodatnich to: 55,71% próbek pobranych ze środowiska kurników przed rozpoczęciem cyklu chowu (Tabela 9), 24,28% próbek pierwszego kału piskląt przed ich wprowadzeniem do kurników (Tabela 8), 23,17% i 57,14% próbek pobranych odpowiednio podczas pierwszego (C_1) i drugiego (C_2) z dwóch kolejnych objętych badaniem cykli chowu (Tabela 12) oraz 86,67% próbek pobranych ze środowiska kurników po częściowej depopulacji stad w cykl chowu C_1 (Tabela 13); 73,37% próbek pobranych z tuszek brojlerów na etapie ubojni (Tabela 16) oraz ponad połowa (54,68%) surowych wyrobów mięsnych (Tabela 20).

Warunkiem niezbędnym do uzyskania stada wolnego od *Campylobacter* spp. jest wprowadzanie niezakażonych piskląt do kurników wolnych od patogenu, a następnie podjęcie wszelkich działań, które będą przeciwdziały przedostaniu się *Campylobacter* do środowiska bytowania poszczególnych stad drogą horyzontalną z zewnątrz (Lu i in. 2021). Przeprowadzone badania wykazały, że na fermach objętych badaniem, zarówno warunek

czystości mikrobiologicznej kurników przed rozpoczęciem chowu, jak i warunek nieobecności *Campylobacter* spp. u piskląt przywożonych na teren fermy, nie został zachowany. Przed wprowadzeniem piskląt do kurników wyizolowano materiał genetyczny *Campylobacter* spp. ze środowiska ponad połowy (55,71%) kurników objętych badaniem (n=70, Tabela 9). Przyczyny tego problemu można poznać dzięki analizie listy kontrolnej (Tabela 1). Do czynników ryzyka należy zaliczyć: błędy w procesach mycia i dezynfekcji, brak zachowania prawidłowej higieny pracowników oraz nieprzestrzeganie zasad bioasekuracji. W celu sprawdzenia skuteczności mycia i dezynfekcji, materiał do badań należy pobrać bezpośrednio po zakończeniu czynności mycia i dezynfekcji (Battersby i in. 2017, Crotta i in. 2017). W prezentowanych badaniach wymazy ze ścian, podłogi, karmideł i poidel pobierano w dniu rozpoczęcia chowu przed wprowadzeniem nowego stada do kurnika, przy czym czas od zakończenia mycia i dezynfekcji do dnia pobierania wymazów wynosił ok. 5 dni. Analiza literatury wskazuje, że wydłużenie okresu pustego zmniejsza ryzyko pozostałości zanieczyszczeń bakteryjnych. Newell i in. (2011) doradzają 14 dniowy okres pusty, podczas gdy Battersby i in. (2017) - 9 dniowy. Zgodnie z zaleceniami EFSA (2017) okres pusty, tj. czas pomiędzy pierwszą dezynfekcją kurnika a wprowadzeniem nowego stada, podczas którego kurnik musi być zamknięty, powinien wynosić 7 dni. Na wszystkich fermach objętych badaniem okres pusty był krótszy niż 7 dni, a reżim czasowy odnoszono do poziomu kurnika, a nie do fermy - w tym samym czasie na fermie znajdowały się kurniki puste, jak i te, w których chowu jeszcze nie zakończono (pyt. 14 i 33 z listy kontrolnej, Tabela 1). Taka sytuacja spowodowała, że ryzyko wprowadzenia *Campylobacter* spp. do pustego kurnika, będącego już po zabiegach mycia i dezynfekcji, było znacznie wyższe. Zostało to potwierdzone istotnie statystycznie wyższą częstością występowania patogenu w drugim cyklu chowu. Z wywiadu prowadzonego w trakcie badania wynikało, że wprowadzenie krótkich okresów pustych wymuszają przyjęte w systemach intensywnej produkcji drobiu modele kosztowe. Zbyt krótkie okresy puste mogą utrudniać właściwe czyszczenie sprzętu (czas potrzebny na demontaż, dezynfekcję i ponowne złożenie). Ważnym czynnikiem wpływającym na ograniczenie występowania *Campylobacter* spp. jest utrzymanie odpowiedniej wilgotności w kurnikach (Lu i in. 2021). Zbyt krótkie okresy puste nie pozwalają na odpowiednie wysuszenie kurników. Przeprowadzone badania wskazały, że zabiegi mycia, dezynfekcji i suszenia kurnika, uznawane w produkcji drobiarskiej jako standardowe, mogą nie być wystarczające do eliminacji *Campylobacter* spp. ze środowiska, a tym samym mogą przyczynić się do szybkiej kolonizacji nowego stada. Wydłużony okres pusty należy rozważyć jako jeden z elementów ulepszonych środków bioasekuracji specyficznych dla *Campylobacter* spp. Badania nad skutecznością

zabiegów mycia i dezynfekcji obejmujące sztuczne zakażenie piskląt *per os* dowodzą, że *Campylobacter*, w zależności od stosowanej metody mycia i dezynfekcji, może przetrwać te zabiegi (de Castro Burbarelli et al. 2017). Interesującym wydaje się fakt, że chociaż proponowana przez de Castro Burbarelli i in. (2017) procedura mycia i dezynfekcji okazała się skuteczna. Co więcej, po tygodniu chowu ptaki trzymane w obiektach poddanych proponowanym bardziej skutecznym zabiegom mycia i dezynfekcji miały również mniejszą liczbę *Campylobacter* spp. Jednakże nie stwierdzono różnic odnośnie występowania bakterii z rodzaju *Campylobacter* u drobiu w dniu uboju, to jest w 42-ej dobie życia. Taki stan rzeczy może wskazywać na potrzebę stosowania wielu działań łącznie, w tym adekwatnych dla *Campylobacter* spp. zabiegów mycia i dezynfekcji, a następnie utrzymaniu wysokiego reżimu sanitarnego. Battersby i in. (2017) wykazali, że niewłaściwe procedury mycia i dezynfekcji stanowią istotny czynnik ryzyka w rozprzestrzenianiu się *Campylobacter* spp. ze stada na stado.

Pisklęta w dniu wylęgu uważa się za wolne od *Campylobacter* spp. (Newell i Fearnley 2003), a co za tym idzie każde nowe stado w nowym rozpoczynającym się cyklu chowu można uznać za wolne od tego patogenu. Czas, w którym *Campylobacter*-ujemne stado zostanie skolonizowane przez *Campylobacter* spp. jest wypadkową rodzaju i efektywności zastosowanych środków bezpieczeństwa biologicznego (EFSA J. 2011). Wiele badań naukowych neguje możliwość wertykalnej transmisji *Campylobacter* spp. do piskląt (Hakeem i Lu 2021). Bakterie te są rzadko izolowane z treści jaj. Metaanaliza przeprowadzona przez kanadyjskich naukowców wykazała, że w wielu badaniach stwierdzano brak pasujących genotypów i uznano, że pionowa droga przenoszenia *Campylobacter* spp. jest mało prawdopodobna (Agunos i in. 2014). Jednak czynnikiem ryzyka jest zanieczyszczenie jaj kałomoczem i zarażanie się piskląt podczas klucia - tzw. pseudo-pionowa droga zakażenia (EFSA J. 2011). Możliwe jest wniknięcie *Campylobacter* spp. poprzez skorupę do jaja (Allen i Griffiths 2001). W tym przypadku zakażenie ogranicza się raczej do wewnętrznej powierzchni skorupy i błony podskorupowej. Wyniki prezentowanych badań jednoznacznie wskazują brak spełnienia warunku wprowadzania do chowu piskląt wolnych od *Campylobacter* spp., który powinien odnosić się do poziomu całej fermy, tj. wszystkich stad w fermie. Materiał genetyczny *Campylobacter* spp. wyizolowano z około jednej czwartej (24,28%) zbadanych próbek zbiorczych pierwszego kału piskląt (n=70) od piskląt pobieranych z pojemników transportowych (Tabela 8). W związku z tym już od pierwszego dnia chowu piskląt *Campylobacter* spp. był obecny w co najmniej jednym stadzie w każdej z ferm objętych badaniem. W trzech fermach (F4, F6 i F7) w jednym spośród dziesięciu kurników znalazły się

pisklęta, od których pobrane próbki mekonium okazały się *Campylobacter*-dodatnie. W pozostałych czterech fermach (F1-F3, F5) liczba kurników, do których wprowadzono *Campylobacter*-dodatnie stada, wyniosła od 2 do 5 (Tabela 8).

Należy podkreślić, że nie wykazano ani jednej fermy, w której chów piskląt rozpoczynałby się od statusu wszystkich stad jako wolnych od *Campylobacter* spp. Stwierdzono natomiast, że na terenie każdej z ferm znajdują się poszczególne stada, które można uznać za wolne od *Campylobacter* spp. w momencie zasiedlania kurników.

Rzadko występuje inwazja *Campylobacter* spp. u osobników młodszych niż 2-3-tygodniowe (Rasschaert i in. 2020). Część badaczy wskazuje, że krytycznym okresem kolonizacji przewodu pokarmowego kurcząt przez *C. jejuni* jest 12-28 dzień życia (Awad i in. 2016). Nieodpowiednie środki bioasekuracji i duża liczba kurników w fermie przyczyniają się do szybkiego rozprzestrzeniania *Campylobacter* spp. (Agunos i in. 2014). Według badań Perez-Arnedo i Gonzalez-Fandos (2019), w 7-ym i 14-tym dniu chowu *Campylobacter* spp. nie był obecny w wymazach z kloaki kurcząt. Mając powyższe na uwadze, w prezentowanych badaniach próbki pobierano w 21-ej i 33-35-tej dobie chowu (przed i po częściowej depopulacji stad).

Po wprowadzeniu *Campylobacter* spp. do kurnika następuje bardzo szybkie jego rozprzestrzenianie, doprowadzając nawet w ciągu kilku (4-7) dni do zasiedlenia przewodu pokarmowego wszystkich zwierząt w stadzie (kolonizacja całego stada przez *Campylobacter*). Przenoszenie *Campylobacter* spp. z ptaka na ptaka ma miejsce drogą fekalno-oralną najczęściej poprzez zanieczyszczoną wodę i paszę (Messens i in. 2009, Sparks 2009, Ridley i in. 2011). Transmisji sprzyja olbrzymia koncentracja *Campylobacter* spp. w odchodach ptaków i występujące u ptaków zjawisko koprofagii (Chaloner i in. 2014). W prezentowanych badaniach założono, że dodatni wynik badania w kierunku *Campylobacter* spp. z wymazów podeszwowych pobieranych ze środowiska bytowania stada (obecność materiału genetycznego *Campylobacter*) oznacza, że stado to jest *Campylobacter*-dodatnie. W 21-ej dobie chowu ptaków wykazano 38,82% (59/152) *Campylobacter*-dodatnich stad (Tabela 10). W odniesieniu do cyklu chowu jest to odpowiednio 23,17% (19/82) dla cyklu C₁ i 57,14% (40/70) dla cyklu C₂ (Tabela 12). W prezentowanych badaniach na żadnej z ferm nie zrezygnowano z powszechnie stosowanej częściowej depopulacji stad (nie stosowano zasady all-in/all-out), w odniesieniu do organizacji chowu (pyt. 34 z listy kontrolnej, Tabela 1). Stąd badanie mające na celu określenie stopnia kolonizacji stad powtórzono po przeprowadzeniu częściowej

depopulacji stad, pomiędzy czwartym a piątym tygodniem chowu (33-35-ta doba chowu). Porównując wszystkie stada objęte badaniem w cyklu chowu C₁, stwierdzono wzrost *Campylobacter*-dodatnich stad o 63,5% (wzrost z 23,17% do 86,67%) w badaniu przed i po częściowej depopulacji stad (Tabela 12). Jednak, biorąc pod uwagę tylko te stada, do których można przypisać indywidualne wyniki zarówno przed, jak i po depopulacji (wyniki uzyskane z czterech ferm F2, F4, F5, F7), można stwierdzić, że liczba *Campylobacter*-dodatnich stad wzrosła o 80% z 6,67% do 86,67% (Tabela 13), co potwierdzono statystycznie. W przeprowadzonych równolegle badaniach ankietowych stwierdzono uchybienia w stosowaniu zasad bioasekuracji podczas odławiania ptaków (pyt. 35-37 z listy kontrolnej, Tabela 1) oraz pogorszenie stanu higienicznego w kurnikach po częściowej depopulacji stad (pyt. 39 z listy kontrolnej, Tabela 1). Wg EFSA częściowa depopulacja stada, nawet przeprowadzona z zachowaniem najwyższych standardów bioasekuracji, jest czynnikiem ryzyka dla kolonizacji ptaków przez *Campylobacter* spp. Dodatnia zależność pomiędzy stosowaniem częściowej depopulacji stad a ryzykiem wprowadzenia *Campylobacter* spp. do stada została potwierdzona przez wielu badaczy (Lawes i in. 2012, Powell i in. 2012, Newell i in. 2011.). W badaniach w Irlandii wykazano, że po ubiórcie 85% stad było *Campylobacter*-dodatnich (Smith i in. 2016). W przeprowadzonym badaniu w 33-35-iej dobie chowu (cykl C₁) stwierdzono 86,67% *Campylobacter*-dodatnich stad (Tabela 13), co koresponduje z wynikami otrzymanymi przez hiszpańskich badaczy, którzy stwierdzili, że w 35-iej dobie chowu 75% objętych badaniem stad jest *Campylobacter*-dodatnich (Perez-Arnedo i Gonzalez-Fandos 2019). W badaniach prowadzonych na Węgrzech, począwszy od 4-go tygodnia chowu, 100% badanych stad (wymazy z kloaki) było *Campylobacter*-dodatnich (Tózsér i in. 2019).

W prezentowanych badaniach fermy F4-F7 były pod kontrolą tego samego właściciela. Podobna zależność dotyczyła ferm F8-F9. Rozpatrując te fermy jako dwa kompleksy stwierdza się, że większy kompleks F4-F7 charakteryzował się mniejszą liczbą *Campylobacter*-dodatnich stad w badaniu przed częściową depopulacją stad (2 stada dodatnie), niż mniejszy kompleks F8-F9 (9 stad dodatnich) (Tabela 12). Wyniki wskazują, że fermy będące własnością tego samego przedsiębiorcy wykazują podobny poziom higieny, co zostało potwierdzone w badaniu ankietowym - wszystkie fermy z kompleksu F4-F7 uzyskały po 47 punktów a fermy z kompleksu F8-F9 uzyskały po 45 punktów (Tabela 7). Według Allen i in. (2008) możliwe jest przenoszenie *Campylobacter* spp. z jednego gospodarstwa na drugie w sytuacji, gdy fermy są własnością tego samego przedsiębiorcy i zatrudniają te same zespoły łapaczy lub pojazdy do odłowu ptaków.

Uzyskane wyniki wskazują, że wprowadzenie zasady all-in/all-out, czyli rezygnacja z częściowej depopulacji stad, poprzez ograniczenie źródeł zakażenia (łapacze ptaków, kierowcy ciężarówek, sprzęt, kontenery) może przyczynić się - zgodnie z założeniami EFSA (2017) - do obniżenia poziomu występowania *Campylobacter* spp. w produkcji mięsa drobiowego. Potwierdzają to badania Koolman i in. (2014), którzy stwierdzili, że wprowadzony do stada podczas ubiórki *Campylobacter* spp. szybko rozprzestrzeni się w całym stadzie, osiągając u ptaków poziom 10^8 jtk/g treści kloaki w ciągu 4-5 dni po ubiorce. Podobne wyniki osiągnęli Higham i in. (2018) wskazując, że w kurnikach po ubiorce prawdopodobieństwo zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. wzrasta o 309%. Georgiev i in. (2017) twierdzą, że rezygnacja z depopulacji obniżyłaby liczbę stad *Campylobacter*-dodatnich o $\frac{1}{3}$.

Analiza danych zebranych w trakcie badań ankietowych wykazała, że rezygnacja z częściowej depopulacji stada jest z punktu widzenia przedsiębiorcy bardzo trudna. Tak więc, należy rozważyć kontrolę występowania *Campylobacter* spp. za pomocą środków bezpieczeństwa biologicznego. Od momentu, gdy stado osiąga status *Campylobacter*-dodatnich, stopień zanieczyszczenia środowiska wokół gospodarstwa przez *Campylobacter* spp. również znacząco się zwiększa. Dzieje się tak pomimo stosowania standardowych środków bezpieczeństwa biologicznego. Obecność pałeczek *Campylobacter* spp. wykrywano w odległości 20 m od kurnika (Ridley i in. 2011). Według Chowdhury i in. (2012) sąsiedztwo zainfekowanego stada zlokalizowanego w odległości nawet 2 km jest także czynnikiem ryzyka. Dlatego też należy rozważyć ściśle ukierunkowane na ograniczenie występowania *Campylobacter* spp. środki bezpieczeństwa biologicznego (Newell i in. 2011, Umaraw i in. 2017, Sibanda i in. 2018, Wagle i in. 2019). Zakłada się, że wzmożona bioasekuracja powinna ograniczyć rozprzestrzenianie się patogenu na fermach, a w konsekwencji kolonizację stad (EFSA J. 2020). W najnowszym opracowaniu EFSA (2020) względne ryzyko zostało oszacowane na poziomie produkcji pierwotnej za pomocą modelowania z użyciem frakcji przypisywanych do populacji (PAF, ang. population attributable fractions). Biorąc pod uwagę tę metodę oraz uwzględniając przegląd danych literaturowych (Lu i in. 2021) można wskazać działania pozwalające na zmniejszenie częstości występowania *Campylobacter* spp. w stadzie brojlerów. Do obliczeń użyto opcji kontrolnych uwzględniających: higieniczny przedpokój (mógłby obniżyć występowanie *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów o 5-13%), efektywne zwalczanie gryzoni (mógłby obniżyć występowanie *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów o 19%), brak zwierząt w pobliżu kurnika (mógłby obniżyć występowanie *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów o 45-88%), dodatek środka dezynfekującego do wody i unikanie poidel

z wodą stojącą (mogłoby obniżyć występowanie zakażeń *Campylobacter* spp. u ludzi o 24%), zatrudnianie na stałe ograniczonej liczby wysoko wykwalifikowanego personelu (mogłoby obniżyć występowanie *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów o 40%), wykorzystanie szczepionek, dodatków do wody i pasz oraz używanie narzędzi przeznaczonych dla danego kurnika. Wskazano, że redukcja zawartości *Campylobacter* spp. w kloace o 3 cykle logarytmiczne może zmniejszyć o 58% relatywne ryzyko wystąpienia u ludzi kampylobakteriozy wynikającej z konsumpcji mięsa drobiowego (Newell i in. 2011, Umaraw i in. 2017, Sibanda i in. 2018, Wagle i in. 2019).

Uzyskane wyniki ankiety wskazują, że wiele działań z zakresu bioasekuracji nie było prowadzonych na badanych fermach, np. brak dwubarierowej procedury wejścia do kurnika, bariery fizycznej powyżej 50 cm, zmiany odzieży między kurnikami, czyszczenia butów przed dezynfekcją, nieprzemieszczania się pracowników między kurnikami podczas ubiórki, brak roślinności w pobliżu kurnika, brak łapaczy much, brak siatki na wentylatorach, brak gryzoni, brak dezynfekcji UV wody, nie podawano specyficznych dodatków paszowych, bakteriocyn, bakteriofagów, szczepionek, autoszczepionek (Tabela 7). Według opinii ekspertów (EFSA 2017, Georgiev i in. 2017, EFSA 2020, Rasschaert i in. 2020, Lu i in. 2021, Marmion i in. 2021) powyższe działania mają kluczowe znaczenie. Natomiast we wszystkich fermach (F1-F9) podawano dodatki paszowe niespecyficznie zwiększające odporność brojlerów kurzych na kolonizację przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. (Tabela 7) W obszarze procedury bezpieczeństwa biologicznego specyficzne dla *Campylobacter* spp. (obszar tematyczny 1D, Tabela 7) badane fermy uzyskały 65 punktów na 252 możliwe, co stanowi 25,79% maksymalnej możliwej do uzyskania liczby punktów, a świadomość wśród hodowców i pracowników istotności problemu *Campylobacter* spp. w stadach brojlerów oceniono średnio na 2 punkty. Pokazuje to, że niezbędne są dalsze szkolenia oraz poszerzanie wiedzy osób związanych z produkcją pierwotną.

Na podstawie wyników ankiety można stwierdzić, że w badanych fermach organizacja i lokalizacja były na dobrym poziomie (pyt.2-3 z listy kontrolnej, Tabela 7, przeważają oceny 4-5 punktów), natomiast poziom higieny w większości ferm zdecydowanie powinien być poprawiony (pyt. 4 z listy kontrolnej, Tabela 7, 6 ferm otrzymało ocenę 3 punkty). Ferm, które uzyskały największą liczbę punktów w ankiecie, miały wyższy poziom higieny (F1-F3) obiektów, jednak na wszystkich fermach odnotowano problemy z higieną podczas ubiórki (pyt. 35-37 z listy kontrolnej, Tabela 7).

W środowisku kurników materiał genetyczny *C. jejuni* wykryto w każdej z 9 badanych ferm - 52 próbki zbiorcze (34,21%), z czego 17 próbek z pierwszego (C_1) cyklu chowu, a 35 z cyklu drugiego (C_2). Obecność materiału genetycznego *C. coli* stwierdzono jedynie w drugim (C_2) cyklu chowu (Tabele 11 i 12). Wszystkie dodatnie wyniki uzyskane z próbek zbiorczych wymazów podeszwowych pobranych do badań po częściowej depopulacji stad ($n=13$) wykazały obecność materiału genetycznego *C. jejuni*. W badaniu po częściowej depopulacji stad nie stwierdzono obecności materiału genetycznego *C. coli* lub *C. lari*. W pracy Gruntara i in. (2015) prowadzonej na 6 stadach w Słowenii *C. jejuni* wykryto w 5 stadach w każdej z pobranych próbek kału. Podobnie w badaniach Schets i in. (2017) w Holandii wszystkie *Campylobacter*-dodatnie próbki kału zawierały *C. jejuni*. Patogen ten wykryto też w próbkach środowiskowych (ścieki, powietrze, gleba). W badaniu przeprowadzonym przez Overesch i in. (2020) w Szwajcarii na 464 próbkach zbiorczych kału (stadach) 141 stad (30,4%) było ujemnych dla *C. jejuni/C. coli*, 100 stad było skolonizowanych na niskim poziomie (21,6%), 40 stad na poziomie umiarkowanym (8,6%), a 183 było silnie skolonizowane (39,4%).

Wprowadzenie obowiązku badania mikrobiologicznego oraz wdrożenie ścisłych środków bezpieczeństwa biologicznego ukierunkowanych na ograniczenie występowania *Campylobacter* spp. znacząco przyczyniłoby się już na etapie produkcji pierwotnej do ograniczenia występowania *Campylobacter* spp. w produkcji mięsa drobiowego. EFSA (EFSA J., 2010) zwraca uwagę, że kolejnym czynnikiem byłby wcześniejszy ubój (w 33-35-ej dobie chowu), co koresponduje z otrzymanymi w przeprowadzonym badaniu wynikami wzrostu zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. w 33-35-ej dobie chowu. Wiek ubojowy nadal znajduje się wśród czynników ryzyka zidentyfikowanych w badaniach epidemiologicznych. Brojlery produkowane w systemach konwencjonalnych prawie zawsze mają wyższą częstość występowania i koncentrację w jelitach ślepych *Campylobacter* spp. pod koniec cyklu produkcyjnego (Sommer i in. 2013, Legaudeau-Lydekaitiene i in. 2017, Higham i in. 2018). Wyniki projektu CAMCON wskazują, że gdyby wszystkie stada brojlerów ubijać w wieku 35 dni lub niższym, to zredukowano by kampylobakteriozę u ludzi o 10-18% (van Wageningen i in. 2016).

Kolejne etapy w łańcuchu produkcji mięsa drobiowego, które mają istotne znaczenie dla zdrowia publicznego w odniesieniu do szerzenia się *Campylobacter* spp. to ubój ptaków oraz rozbiór tusz. Zgodnie z raportem Perez-Arnedo i Gonzales-Fandos (2019) występowanie *Campylobacter* spp. na poziomie ubojni waha się w przedziale 35-100%. Różnice mogą wynikać z odmiennych praktyk uboju, wpływu określonych operacji procesowych, tj.

oparzanie, usuwanie piór, patroszenie, chłodzenie, jak również z poziomu higieny i rodzaju zastosowanego sprzętu do obsługi stada podczas chowu (EFSA 2017). Według Overesch i in. (2020) oraz Hakeem i Lu (2021) różne poziomy bioasekuracji na fermach, z których dostarczane są brojlery do ubojni, mogą zwiększać ryzyko zanieczyszczenia. W przeprowadzonym badaniu poziom bioasekuracji ferm był niski, a jednocześnie ponad 85% badanych stad uznano za *Campylobacter*-dodatnie w badaniu przeprowadzonym w 33-35-ej dobie chowu (Tabela 13). Zatem ryzyko zanieczyszczenia tuszek na poziomie ubojni można było ocenić jako wysokie. W badaniu na etapie ubojni stosując technikę PCR stwierdzono *Campylobacter* spp. na powierzchni aż 73,37% tuszek drobiowych (po wytrzewieniu i schłodzeniu). Procentowy udział wyników dodatnich, w zależności od fermy pochodzenia, wynosił od 59,09% do 91,67% (Tabela 16). Oceniona najwyższej pod względem bioasekuracji ferma F3 dała tuszki o najniższym stopniu zanieczyszczenia (59,09%). Badania monitoringowe prowadzone w Polsce w latach 2004-2005 wykazały, że, odpowiednio do lat, 74,0% i 75,4% tuszek drobiowych było zanieczyszczonych *Campylobacter* spp. (Wieczorek i Osek, 2010). We wspomnianych wcześniej badaniach w Unii Europejskiej z 2008 r. poziom zanieczyszczenia tuszek wynosił 76% (EFSA J. 2010). W badaniach przeprowadzonych we Włoszech w 2009 r. na etapie ubojni nie wyizolowano *C. coli*, natomiast *C. jejuni* stwierdzono w 52 (37,1%) ze 140 tuszek dla których badano próbki zbiorcze z czterech miejsc pobierania próbek: szyi, kloaki, piersi i grzbietu (Pepe i in. 2009). W Wielkiej Brytanii spośród 1174 partii drobiu, z których pobrano próbki na etapie ubojni, w okresie trzech lat badań (2007-2009), 79,2% było skolonizowanych przez *Campylobacter* spp. Większość izolatów stanowił gatunek *C. jejuni* (Lawes i in. 2012). Również w Wielkiej Brytanii Powell i in. (2012) skontrolował ubojnię, w których stwierdził, że 75% tuszek brojlerów było zanieczyszczonych *Campylobacter* spp. izolowanych z treści kloaki, a 87% z tego skażenia dotyczyło etapu uboju. Na Węgrzech stwierdzono obecność *Campylobacter* spp. we wszystkich badanych tuszkach, podrobach i wyrobach mięsnych (Tózsér i in. 2019). Jak widać problem zanieczyszczenia *Campylobacter* spp. na etapie ubojni utrzymuje się od lat na podobnym poziomie, choć może różnić się w zależności od kraju, w którym prowadzono badania. Wszystkie badania wskazują jednoznacznie, że dominującym gatunkiem jest *C. jejuni*.

W przeprowadzonym badaniu analiza materiału genetycznego metodą PCR wykazała obecność *C. jejuni* w 125 (86,62%) spośród 199 próbek zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych pochodzących z kurników zlokalizowanych w dziewięciu fermach oraz *C. coli* w 27 (18,49%) spośród 199 próbek zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych pochodzących

z kurników zlokalizowanych w ośmiu fermach. Ponadto w 6 próbkach zbiorczych skór szyi z tuszek brojlerów kurzych stwierdzono materiał genetyczny zarówno *C. jejuni*, jak i *C. coli*; tuszki pochodziły z drugiego (C₂) cyklu chowu (Tabela 18). Cykl C₂ wykazywał statystycznie istotne większe (3-krotnie) prawdopodobieństwo wystąpienia *Campylobacter* spp. ($B=1,31$, $SE\pm 0,4$, $p=0,001$, $N=171$) niż cykl pierwszy (C₁) (Tabela 19). Do analizy statystycznej wykorzystano model regresji logistycznej.

Na etapie zakładu rozbioru w przeprowadzonym badaniu stwierdzono materiał genetyczny *Campylobacter* spp. w 76 (54,68%) spośród 139 próbek zbiorczych pochodzących z ferm F1-F9. Dzieliąc asortyment na surowe produkty mięsne bez skóry i ze skórą można stwierdzić, że udział wyników dodatnich wyniósł odpowiednio 14,29% (8 wyników dodatnich/56 próbek zbiorczych) i 81,93% (68 wyników dodatnich/83 próbki zbiorcze) (Tabela 20). W surowych produktach mięsnych bez skóry *Campylobacter* spp. wykryto w 8 próbkach zbiorczych (14,28%), w których poziom zanieczyszczenia wynosił od 2,05 log jtk/g do log 2,61 jtk/g (średnio 2,28 log jtk/g). W 48 próbkach (85,72%) nie stwierdzono obecności żywych bakterii *Campylobacter* spp. W surowych produktach mięsnych ze skórą bakterie *Campylobacter* spp. wykryto w 68 próbkach zbiorczych (81,93%), w których oznaczona liczba bakterii *Campylobacter* spp. wynosiła od 2×10 jtk/g do $6,5 \times 10^4$ jtk/g (średnio 2,56 log jtk/g) (Tabela 21). Model regresji logistycznej wykazał istotną zależność frekwencji *Campylobacter* spp. od cyklu chowu oraz typu surowego produktu mięsnego (ze skórą/bez skóry). Odnosząc się do produktów ze skórą wykazano 14-krotnie większe prawdopodobieństwo wystąpienia *Campylobacter* spp. niż w odniesieniu do produktów bez skóry. W produktach pochodzących od tuszek brojlerów kurzych z drugiego cyklu (C₂) wykazano 2-krotnie większe prawdopodobieństwo wystąpienia *Campylobacter* spp. niż w produktach z cyklu pierwszego (C₁). Podobną zależność wykazano w stosunku do *C. jejuni*, przy czym nie stwierdzono zależności od cyklu chowu – w odniesieniu do produktów ze skórą wykazano 9-krotnie większe prawdopodobieństwo wystąpienia *C. jejuni*. Uogólniony model liniowy wykazał, że liczebność bakterii *Campylobacter* spp. w surowych produktach pochodzących od tuszek brojlerów kurzych z drugiego cyklu chowu (C₂) była niemal 2-krotnie wyższa niż z cyklu pierwszego (C₁). W surowych produktach ze skórą stwierdzono niemal 4-krotnie wyższą liczebność bakterii niż w produktach bez skóry. Wyniki innych badaczy również wskazują, że produkty ze skórą są bardziej zanieczyszczone (Stella i in. 2017). Na etapie oparzania bakterie dostają się przy udziale gumowych palców skubarki do otwartych mieszków piór, a następnie - na etapie chłodzenia - zostają w nich zamknięte, dzięki czemu patogeny mogą przetrwać niekorzystne

dla nich warunki. W latach 2007-2008 w Polsce w badaniach monitoringowych stwierdzono wysoki poziom zanieczyszczenia surowego mięsa z kurcząt (51,7%) (Wieczorek i Osek, 2010). Równie wysoki poziom dotyczył podrobów z kurcząt - 47,3% próbek dodatnich (Maćkiw i in. 2011). Występowaniu zanieczyszczeń krzyżowych sprzyja obrót surowymi wyrobami bez opakowań jednostkowych. W badaniach Mezher i in. (2016) występowanie *Campylobacter* spp. wynosiło 10,7% (6/50) w wyrobach nieopakowanych i 2,7% (3/108) w wyrobach drobiowych opakowanych. Groźne są również zanieczyszczenia krzyżowe na etapie transportu oraz zanieczyszczenia sprzętu, co było obserwowane przez Garcia-Sanchez i in. (2017). Stwierdzano obecność *Campylobacter* spp. na powierzchni skrzyń transportowych nawet po zabiegach mycia i dezynfekcji (Ellerbroek i in. 2010, Perez-Arnedo i Gonzalez-Fandos 2019, Rasschaert i in. 2020). W badaniach wykazano również, że przy automatycznym wyładowywaniu brojlerów z pojemników transportowych wzrastał poziom zanieczyszczenia tusz bakteriami z rodzaju *Campylobacter* (Seliwiorstow i in. 2016 a). Niektóre szczepy *Campylobacter* mają zdolność przetrwania w środowisku ubojni przez 2-3 tygodnie (Rasschaert i in. 2020). Stwierdzano również, że tuszki pochodzące ze stad o statusie *Campylobacter*-ujemnym w badaniu na etapie ubojni okazywały się być *Campylobacter*-dodatnie (Gruntar i in. 2015, Garcia-Sanchez i in. 2017, Perez-Arnedo i Gonzalez-Fandos 2019). Według badań Roccato i in. (2018) ilościowe oznaczanie bakterii wskaźnikowych, takich jak *Escherichia coli* lub bakterii należących do rzędu *Enterobacterales* na linii ubojowej mogłoby być przydatne do identyfikacji tuszek silnie zanieczyszczonych przez *Campylobacter* spp., bowiem liczba bakterii z rodzaju *Campylobacter* wzrasta znacząco wraz ze wzrostem liczby *E. coli* i *Enterobacterales*, przy czym zależność ta dla *E. coli* jest bardziej widoczna w badaniu po schłodzeniu tuszek niż bezpośrednio po ich wytrzewieniu.

Zgodnie z obowiązującym Rozporządzeniem Komisji (WE) 2017/1495 z dnia 23 sierpnia 2017 r. zmieniającym rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do *Campylobacter* spp. na tuszkach brojlerów, bakterie z rodzaju *Campylobacter* stanowią kryterium higieny procesu (KHP), tzn. kryterium określające wskaźnikowe wartości zanieczyszczenia, po przekroczeniu którego konieczne są działania naprawcze w celu utrzymania higieny procesu na poziomie zgodnym z prawem żywnościowym. Zgodnie z rozporządzeniem limit dla *Campylobacter* spp. na etapie ubojni wynosi 10^3 jtk/g dla nie więcej niż 20 (dla lat 2018-2019), 15 (dla lat 2020-2024) i 10 (począwszy od 2025) próbek skóry szyi z tuszek brojlerów po schłodzeniu. W prezentowanych badaniach stopień zanieczyszczenia powierzchni tuszek drobiowych określano poprzez pobranie do badań skór

z szyi, uznanej za miejsce predylekcyjne występowania *Campylobacter* spp. Wiele państw członkowskich UE, przed wprowadzeniem tego kryterium i obligatoryjnym badaniem skóry szyi, stosowało badanie próbek skóry z piersi drobiowych. Poziom higieny procesu przy spełnionym limicie do 10^3 jtk/g próbek skóry szyi należy ocenić wyżej niż przy limicie do 10^3 jtk/g próbek skóry piersi.

Podkreślenia wymaga fakt, że w przypadku wyników niezadawalających należy nie tylko poprawić higienę procesu, co jest działaniem standardowym w przypadku niezgodności w odniesieniu do KHP, ale również dokonać przeglądu środków bezpieczeństwa biologicznego w produkcji pierwotnej, co zostało omówione wcześniej. W prezentowanych badaniach poziom zanieczyszczenia tuszek drobiowych wynoszący ponad 10^3 jtk/g odnosił się aż do 44,72% zbadanych prób (Tabela 17), przy ogólnej liczbie prób dodatnich wynoszącej 73,37% (Tabela 16). Jest to bardzo wysoki odsetek wskazujący, zgodnie z działaniami opisanymi w Rozporządzeniu Komisji (WE) nr 2073/2005, na konieczność poprawy higieny uboju, przeglądu środków kontrolnych procesu, pochodzenia zwierząt i środków bezpieczeństwa biologicznego w fermach pochodzenia. Poziom zanieczyszczenia zbliżony do wykazanego w niniejszej prac w 2017 r. zgłosiła jedynie Hiszpania - 44% badanych próbek zbiorczych tuszek zawierało *Campylobacter* spp. na poziomie przekraczającym określony w przepisach prawa limit, to jest ponad 1000 jtk/g (EFSA J. 2018).

W przeprowadzonym badaniu oceniono także reżim sanitarny w badanej ubojni (Tabela 14) oraz procedury ograniczające ryzyko występowania *Campylobacter* spp. w surowych wyrobach mięsnych na poziomie zakładu rozbioru (Tabela 15) na podstawie ankiet. Maksymalna liczba punktów możliwa do przyznania w wyniku oceny wdrożenia i stosowania procedur bezpieczeństwa biologicznego na etapach: transportu, w ubojni oraz w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa wynosiła 56. Łącznie przyznano 31 punktów (55,36%), z czego za etap transportu 9 punktów, za etap uboju 22 punkty, a za etap rozbioru i porcjowania mięsa 0 punktów. Braki w punktacji wynikały w dużej mierze z braku wdrożenia środków specyficznych dla *Campylobacter* spp. (11 punktów), takich jak stosowanie polityki *Campylobacter*-free (pyt. 32 z listy kontrolnej, Tabela 3), rozdzielenie transportu stad *Campylobacter*-dodatnich i *Campylobacter*-ujemnych (pyt. 1 z listy kontrolnej, Tabela 3) czy brak głodówki przedubojowej (pyt. 34 z listy kontrolnej, Tabela 3). Działania te opisywane są przez ekspertów jako istotne w zmniejszeniu zagrożenia (Rasschaert i in. 2020, Lu i in. 2021). Również wymagania takie jak przepływ powietrza w kierunku odwrotnym do ciągu technologicznego i kierunek przepływu wody w oparzelnikach (pyt. 12, 16 i 33 z listy

kontrolnej, Tabela 3), stosowanie promieniowania UV i innowacyjnych metod redukcji *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek (pyt. 30, 35 z listy kontrolnej, Tabela 3), można uznać za specyficzne dla ograniczenia zanieczyszczeń *Campylobacter*. Należy podkreślić, że większość środków bezpieczeństwa biologicznego uważanych za standardowe w produkcji drobiarskiej zostały w ubojni wdrożone. Szczególnie dobrze został oceniony blok procedur powiązanych z procedurami mycia i chłodzenia tuszek (Seliwiorstow et al. 2016 a, b). W objętej badaniem ubojni stosowano również wiele oparzelników. Oparzanie jest pierwszym etapem gwarantującym redukcję mikroorganizmów w surowcu w ubojni średnio o 2 cykle logarytmiczne (Rasschaert i in. 2020). Przy zastosowaniu wielu oparzelników można zwiększyć redukcję do 3,0-3,9 cykli logarytmicznych/tuszkę (Umaraw i in. 2017). Do działań standardowych niżej ocenionych w badanej ubojni należą: procedury czyszczenia i dezynfekcji skrzynek i pojazdów (pyt. 3 z listy kontrolnej, Tabela 14; ocena 3 punkty), miejsce składowania klatek (pyt. 4 z listy kontrolnej, Tabela 14; ocena 2 punkty) oraz weryfikacja skuteczności mycia i dezynfekcji klatek (pyt. 11 z listy kontrolnej, Tabela 14; ocena 0 punktów). Te trzy procedury powinny być niezwłocznie udoskonalone, bowiem należą one do działań podstawowych, nie wymagających szczególnych nakładów finansowych ani znaczących zmian organizacyjnych, a mają istotny wpływ na ograniczenie zanieczyszczeń tuszek przez *Campylobacter*. Niestety negatywnie oceniono etap w zakładzie rozbioru i porcjowania mięsa (0 punktów, Tabela 15), ponieważ zakład nie prowadził żadnych działań ograniczających, bądź redukujących liczbę *Campylobacter* spp. w produktach, tj. mrożenie (Seliwiorstow i in. 2016, EFSA 2017, Rasschaert i in. 2020) indywidualne pakowanie (Hakeem i Lu 2021) czy obróbka termiczna partii skażonych *Campylobacter* - zaliczanych do polityki „*Campylobacter*-free”.

Wyniki przeprowadzonych badań poddano rozbudowanej analizie statystycznej, na podstawie której można wnioskować, że przestrzeganie procedur ograniczających ekspozycję brojlerów kurzych i kolonizację ich przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. może ograniczyć zanieczyszczenie tymi drobnoustrojami surowych produktów mięsnych, co zmniejsza zagrożenie zdrowia publicznego. Działania odnoszące się do etapów poprzedzających ubój są kluczowe z punktu widzenia bezpieczeństwa zdrowia publicznego. Ograniczenie się tylko do poprawy higieny uboju, a tak mylnie może być interpretowany prawny obowiązek badań w kierunku *Campylobacter* na etapie ubojni, bez analizy środków bezpieczeństwa biologicznego na etapie chowu może stanowić pokusę stosowania przez producentów środków lub metod ograniczających liczbę *Campylobacter* spp. na tuszkach nie eliminując przyczyny tego zjawiska. Według ekspertów ograniczenie poziomu kolonizacji

Campylobacter w stadach może zmniejszyć zanieczyszczenie tuszek i tym samym zredukować ryzyko dla konsumentów (Seliwiorstow i in. 2016 a, b).

6. Wnioski

1. Potwierdzono wysoką częstość występowania *Campylobacter* spp. w badanym obszarze produkcji pierwotnej brojlerów kurzych (ferma), zakładu rozbioru oraz porcjowania mięsa drobiowego, co stanowi poważne zagrożenie zdrowia publicznego.
2. Przestrzeganie procedur ograniczających ekspozycję brojlerów kurzych i kolonizację przewodu pokarmowego przez *Campylobacter* spp. ogranicza zanieczyszczenie tymi drobnoustrojami surowych produktów mięsnych, co zmniejsza zagrożenie dla zdrowia publicznego.
3. Trudności w zachowaniu czystości mikrobiologicznej kurników przed rozpoczęciem chowu wynikają przede wszystkim ze zbyt krótkiego okresu pustego (pomiędzy dezynfekcją kurnika a wprowadzeniem nowego stada), co uniemożliwia przeprowadzenie odpowiedniego czyszczenia, dezynfekcji i wysuszenia kurnika. Ponadto dłuższy okres pusty powinien być ustalany dla fermy, a nie jedynie dla określonego kurnika, co pozwala uniknąć sytuacji, kiedy w fermie są zarówno kurniki puste, jak i te, w których chowu jeszcze nie zakończono. Wydłużenie okresu pustego dla całej fermy, z 7 do 9-14 dni, należy rozważyć jako jeden z elementów ulepszonych środków bioasekuracji specyficznych dla *Campylobacter* spp.
4. Badanie jednodniowych piskląt przed wstawieniem do kurnika, w kierunku bakterii z rodzaju *Campylobacter* jest istotnym elementem polityki „*Campylobacter*-free”.
5. Dodatnia zależność pomiędzy stosowaniem częściowej depopulacji stad brojlerów kurzych w 33-35 dniu chowu a ryzykiem wprowadzenia *Campylobacter* spp. do stada wynika z nieprzestrzegania zasad bioasekuracji. Stosowanie zasady all-in/all-out zdecydowanie ogranicza to zagrożenie. Skrócenie wieku ubojowego brojlerów z 42 dnia do 35 lub poniżej 35 dnia chowu, bez uprzedniej depopulacji, powoduje, że ubijane są ptaki o niższej częstości występowania i koncentracji w jelitach *Campylobacter* spp., co obniża ryzyko zanieczyszczenia tuszek zarówno na etapie ubojni jak i zakładu rozbioru i porcjowania.
6. Stosowanie kompleksowego podejścia w zakresie wdrożenia specyficznych rozwiązań ograniczających kolonizację brojlerów kurzych przez *Campylobacter* spp. przyczynia się do ograniczenia rozprzestrzeniania się tego patogenu na etapie produkcji pierwotnej.
7. Surowe produkty mięsne ze skórą pochodzące od brojlerów kurzych są potencjalnie istotniejszym źródłem *Campylobacter* spp. niż surowe produkty mięsne bez skóry.

7. Piśmiennictwo

1. Agunos A, Waddell L, Léger D, Taboada E. **A systematic review characterizing on-farm sources of *Campylobacter* spp. for broiler chickens.** *PLoS One* 2014, 9(8):e104905. doi: 10.1371/journal.pone.0104905.
2. Allen KJ, Griffiths MW. **Effect of environmental and chemotactic stimuli on the activity of the *Campylobacter jejuni* flaAp promoter.** *FEMS Microbiol. Lett.* 2001, 205(1):43-8. doi: 10.1111/j.1574-6968.2001.tb10923.x.
3. Allen VM, Weaver H, Ridley AM, Harris JA, Sharma M, Emery J, Sparks N, Lewis M, Edge S. **Sources and spread of thermophilic *Campylobacter* spp. during partial depopulation of broiler chicken flocks.** *J. Food Prot.* 2008, 71(2):264-70. doi: 10.4315/0362-028x-71.2.264.
4. Andrzejewska M., Szczepańska B., Śpica D., Klawe JJ. **Trends in the occurrence and characteristics of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from poultry meat in Northern Poland.** *Food Control.* 2015, 51:190-194. doi: 10.1016/j.foodcont.2014.11.014.
5. Andrzejewska M, Szczepańska B, Śpica D, Klawe JJ. **Prevalence, virulence, and antimicrobial resistance of *Campylobacter* spp. in raw milk, beef, and pork meat in Northern Poland.** *Foods* 2019, 8(9):420. doi: 10.3390/foods8090420.
6. Awad WA, Aschenbach JR, Ghareeb K, Khayal B, Hess C, Hess M. ***Campylobacter jejuni* influences the expression of nutrient transporter genes in the intestine of chickens.** *Vet. Microbiol.* 2014, 172(1-2):195-201. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.04.001.
7. Awad WA, Dubleczyk F, Hess C, Dubleczyk K, Khayal B, Aschenbach JR, Hess M. ***Campylobacter jejuni* colonization promotes the translocation of *Escherichia coli* to extra-intestinal organs and disturbs the short-chain fatty acids profiles in the chicken gut.** *Poult Sci.* 2016, 95(10):2259-2265. doi: 10.3382/ps/pew151.
8. Awad WA, Hess C, Hess M. **Re-thinking the chicken-*Campylobacter jejuni* interaction: a review.** *Avian Pathol.* 2018, 47(4):352-363. doi: 10.1080/03079457.2018.1475724.
9. Battersby T, Walsh D, Whyte P, Bolton D. **Evaluating and improving terminal hygiene practices on broiler farms to prevent *Campylobacter* cross-contamination between flocks.** *Food Microbiol.* 2017, 64:1-6. doi: 10.1016/j.fm.2016.11.018.
10. Berrang ME, Dickens JA, Musgrove MT. **Effects of hot water application after defeathering on the levels of *Campylobacter*, coliform bacteria, and *Escherichia coli* on broiler carcasses.** *Poult. Sci.* 2000, 79(11):1689-1693. doi: 10.1093/ps/79.11.1689.

11. Burnham PM, Hendrixson DR. ***Campylobacter jejuni*: collective components promoting a successful enteric lifestyle.** *Nat. Rev. Microbiol.* 2018, 16(9):551-565. doi: 10.1038/s41579-018-0037-9.
12. Chaloner G, Wigely P, Humphrey S, Kemmett K, Lacharme-Lora L, Humphrey T, Williams N. **Dynamics of dual infection with *Campylobacter jejuni* strains in chickens reveals distinct strain-to-strain variation in infection ecology.** *Appl. Environ. Microbiol.* 2014, 80(20):6366-6372. doi: 10.1128/AEM.01901-14.
13. Chowdhury S, Sandberg M, Themudo GE, Ersbøll AK. **Risk factors for *Campylobacter* infection in Danish broiler chickens.** *Poult. Sci.* 2012, 91(10):2701-2709. doi: 10.3382/ps.2012-02412.
14. Crotta M, Georgiev M, Guitian J. **Quantitative risk assessment of *Campylobacter* in broiler chickens – Assessing interventions to reduce the level of contamination at the end of the rearing period.** *Food Control* 2017, 75:29–39. doi: 10.1016/j.foodcont.2016.12.024.
15. Czarkowski M., Niewęgłowska A., Szmulik-Misiurek K., Zbrzeźniak J. **Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce w 2019 roku.** ISSN 1643-8655. Warszawa, 2020.
16. de Castro Burbarelli MF, do Valle Polycarpo G, Deliberali Lelis K, Granghelli CA, Carão de Pinho AC, Ribeiro Almeida Queiroz S, Fernandes AM, Moro de Souza RL, Gaglianone Moro ME, de Andrade Bordin R, de Albuquerque R. **Cleaning and disinfection programs against *Campylobacter jejuni* for broiler chickens: productive performance, microbiological assessment and characterization.** *Poult. Sci.* 2017, 96(9):3188-3198. doi: 10.3382/ps/pex153.
17. Directorate General Health and Food Safety (European Commission). **Mitigation measures in place for *Campylobacter* spp. in poultry: overview report.** Publication Office 2018. doi: 10.2875/1113.
18. Ellerbroek LI, Lienau JA, Klein G. ***Campylobacter* spp. in broiler flocks at farm level and the potential for cross-contamination during slaughter.** *Zoonoses Public Health.* 2010, 57(7-8):e81-88. doi: 10.1111/j.1863-2378.2009.01267.x.
19. Ellis-Iversen J, Ridley A, Morris V, Sowa A, Harris J, Atterbury R, Sparks N, Allen V. **Persistent environmental reservoirs on farms as risk factors for *Campylobacter* in commercial poultry.** *Epidemiol. Infect.* 2012, 140(5):916-924. doi: 10.1017/S095026881100118X.

-
20. European Food Safety Authority. **Scientific opinion on quantification of the risk posed by broiler meat to human campylobacteriosis in the EU.** *EFSA J.* 2010, 8(1):1437. doi: 10.2903/j.efsa.2010.1437.
 21. European Food Safety Authority. **Scientific opinion on *Campylobacter* in broiler meat production: control options and performance objectives and/or targets at different stages of the food chain.** *EFSA J.* 2011, 9(4):2105. doi: 10.2903/j.efsa.2011.2105.
 22. European Food Safety Authority. **Technical specifications on the harmonised monitoring and reporting of antimicrobial resistance in *Salmonella*, *Campylobacter* and indicator *Escherichia coli* and *Enterococcus* spp. bacteria transmitted through food.** *EFSA J.* 2012, 10(6):2742. doi: 10.2903/j.efsa.2012.2742.
 23. European Food Safety Authority. **The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017.** *EFSA J.* 2018, 16(12):5500. doi:10.2903/j.efsa.2018.5500.
 24. European Food Safety Authority. **Update and review of control options for *Campylobacter* in broilers at primary production.** *EFSA J.* 2020;18(4):6090. doi: 10.2903/j.efsa.2020.6090
 25. European Food Safety Authority. **The European Union One Health 2019 Zoonoses Report.** *EFSA J.* 2021, 19(2):6406. doi: 10.2903/j.efsa.2021.6406.
 26. Froebel LK, Froebel LE, Duong T. **Refined functional carbohydrates reduce adhesion of *Salmonella* and *Campylobacter* to poultry epithelial cells *in vitro*.** *Poult. Sci.* 2020, 99(12):7027-7034. doi: 10.1016/j.psj.2020.09.031.
 27. García-Sánchez L, Melero B, Jaime I, Hänninen ML, Rossi M, Rovira J. ***Campylobacter jejuni* survival in a poultry processing plant environment.** *Food Microbiol.* 2017, 65:185-192. doi: 10.1016/j.fm.2017.02.009.
 28. Georgiev M., Beauvais W., Guitian J. **Effect of enhanced biosecurity and selected on-farm factors on *Campylobacter* colonization of chicken broilers.** *Epidemiol. Infect.* 2017, 145(3):553-567. doi: 10.1017/S095026881600251X.
 29. Gomółka-Pawlicka M., Pastuszczyk-Frąk M., Uradziński J., Migowska-Calik A., Wysok B., Lachowicz T. **Częstotliwość izolacji *Campylobacter* spp. z klatek transportowych podczas transportu brojlerów kurzych do rzeźni.** *Med. Wet.* 2014, 70(2):107-111.
 30. Gomółka-Pawlicka M., Pastuszczyk-Frąk M., Uradziński J., Migowska-Calik A., Wysok B., Lachowicz T. **Występowanie *Campylobacter* spp. w cyklu hodowlanym**

- kurcząt brojlerów w fermach północno-wschodniej Polski.** *Med. Wet.* 2015, 71(4):236-244.
31. Gruntar I., Biasizzo M., Kušar D., Pate M., Ocepek M. ***Campylobacter jejuni* contamination of broiler carcasses: Population dynamics and genetic profiles at slaughterhouse level.** *Food Microbiol.* 2015, 50:97-101. doi: 10.1016/j.fm.2015.03.007.
 32. Haas K, Overesch G, Kuhnert P. **A quantitative Real-Time PCR approach for assessing *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* colonization in broiler herds.** *J. Food Prot.* 2017, 80(4):604-608. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-395.
 33. Han Z, Li L, Willer T, Baumgärtner W, Rautenschlein S. **Adhesion and invasion of *Campylobacter jejuni* in chickens with a modified gut microbiota due to antibiotic treatment.** *Vet. Microbiol.* 2020, 240:108504. doi: 10.1016/j.vetmic.2019.108504.
 34. Hakeem MJ, Lu X. **Survival and control of *Campylobacter* in poultry production environment.** *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021, 10:615049. doi: 10.3389/fcimb.2020.615049.
 35. Hermans D, Van Deun K, Martel A, Van Immerseel F, Messens W, Heyndrickx M, Haesebrouck F, Pasmans F. **Colonization factors of *Campylobacter jejuni* in the chicken gut.** *Vet. Res.* 2011, 42(1):82. doi: 10.1186/1297-9716-42-82.
 36. Higham LE, Scott C, Akehurst K, Dring D, Parnham A, Waterman M, Bright A. **Effects of financial incentives and cessation of thinning on prevalence of *Campylobacter*: a longitudinal monitoring study on commercial broiler farms in the UK.** *Vet. Rec.* 2018, 183(19):595. doi: 10.1136/vr.104823.
 37. <https://www.bacterio.net/genus/campylobacter>
 38. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/campylobacter>
 39. Huff GR, Huff WE, Jalukar S, Oppy J, Rath NC, Packialakshmi B. **The effects of yeast feed supplementation on turkey performance and pathogen colonization in a transport stress/*Escherichia coli* challenge.** *Poult. Sci.* 2013, 92(3):655-62. doi: 10.3382/ps.2012-02787.
 40. Humphrey S, Chaloner G, Kemmett K, Davidson N, Williams N, Kipar A, Humphrey T, Wigley P. ***Campylobacter jejuni* is not merely a commensal in commercial broiler chickens and affects bird welfare.** *mBio.* 2014, 5(4):e01364-14. doi: 10.1128/mBio.01364-14.

41. Jagusztyn-Krynicka E., Grabowska A., Szymanek K, Wyszynska A. **Genetyczne podstawy kolonizacji przewodu pokarmowego kurcząt przez bakterie rodzaju *Campylobacter***. *Med. Wet.* 2007, 63(1):29-33.
42. Jennings JL, Sait LC, Perrett CA, Foster C, Williams LK, Humphrey TJ, Cogan TA. ***Campylobacter jejuni* is associated with, but not sufficient to cause vibronic hepatitis in chickens.** *Vet. Microbiol.* 2011, 149(1-2):193-199. doi: 10.1016/j.vetmic.2010.11.005.
43. Knudsen KN, Bang DD, Andresen LO, Madsen M. ***Campylobacter jejuni* strains of human and chicken origin are invasive in chickens after oral challenge.** *Avian Dis.* 2006, 50(1):10-14. doi: 10.1637/7376-051005R.1.
44. Koolman L, Whyte P, Bolton DJ. **An investigation of broiler caecal *Campylobacter* counts at first and second thinning.** *J. Appl. Microbiol.* 2014, 117(3):876-881. doi: 10.1111/jam.12580.
45. Kwiatek K., Kukier E, Goldstein M. **Normy metodyczne w badaniach mikrobiologicznych łańcucha żywnościowego.** *Życie Wet.* 2014, 89(6):519-523.
46. Lawes JR, Vidal A, Clifton-Hadley FA, Sayers R, Rodgers J, Snow L, Evans SJ, Powell LF. **Investigation of prevalence and risk factors for *Campylobacter* in broiler flocks at slaughter: results from a UK survey.** *Epidemiol. Infect.* 2012, 140(10):1725-37. doi: 10.1017/S0950268812000982.
47. Legaudaite-Lydekaitiene V, Serniene L, Vismantaite V, Malakauskas M, Kudirkienė E. **Broiler health status has a major negative impact on broiler flock contamination with *Campylobacter* spp. in Lithuania.** *Ann. Anim. Sci.* 2017, 17(3):799-817.
48. Lehner Y, Reich F, Klein G. **Influence of process parameter on *Campylobacter* spp. counts on poultry meat in a slaughterhouse environment.** *Curr. Microbiol.* 2014, 69(3):240-244. doi: 10.1007/s00284-014-0575-y.
49. Lu T, Marmion M, Ferone M, Wall P, Scannell AGM. **On farm interventions to minimize *Campylobacter* spp. contamination in chicken.** *Br. Poult. Sci.* 2021, 62(1):53-67. doi: 10.1080/00071668.2020.1813253.
50. Maćkiw E, Rzewuska K, Stoś K, Jarosz M, Korsak D. **Occurrence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry products for sale on the Polish retail market.** *J. Food. Prot.* 2011, 74(6):986-989. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-10-503.

-
51. Marmion M, Ferone MT, Whyte P, Scannell AGM. **The changing microbiome of poultry meat; from farm to fridge.** *Food Microbiol.* 2021, 99:103823. doi: 10.1016/j.fm.2021.103823.
52. Messens W, Herman L, De Zutter L, Heyndrickx M. **Multiple typing for the epidemiological study of contamination of broilers with thermotolerant *Campylobacter*.** *Vet. Microbiol.* 2009, 138(1-2):120-131. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.02.012.
53. Mezher Z, Saccares S, Marcianò R, De Santis P, Rodas EM, De Angelis V, Condoleo R. **Occurrence of *Campylobacter* spp. in poultry meat at retail and processing plants' levels in central Italy.** *Ital. J. Food Saf.* 2016, 5(1):5495. doi: 10.4081/ijfs.2016.5495.
54. Mohan V. **The role of probiotics in the inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization and virulence attenuation.** *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2015, 34(8):1503-1513. doi: 10.1007/s10096-015-2392-z.
55. Mourkas E, Flores-Cuadraro D, Pascoe B, Calland JK, Bayliss SC, Mageiros L, Méric G, Hitchings MD, Quesada A, Porrero C, Ugarte-Ruiz M, Gutiérrez-Fernández J, Domínguez L, Sheppard SK. **Gene pool transmission of multidrug resistance among *Campylobacter* from livestock, sewage and human disease.** *Environ. Microbiol.* 2019, 21(12):4597–4613. doi:10.1111/1462-2920.14760.
56. Murphy C, Carroll C, Jordan KN. **Environmental survival mechanisms of the foodborne pathogen *Campylobacter jejuni*.** *J. Appl. Microbiol.* 2006, 100(4):623-32. doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.02903.x.
57. Newell DG, Elvers KT, Dopfer D, Hansson I, Jones P, James S, Gittins J, Stern NJ, Davies R, Connerton I, Pearson D, Salvat G, Allen VM. **Biosecurity-based interventions and strategies to reduce *Campylobacter* spp. on poultry farms.** *Appl. Environ. Microbiol.* 2011, 77(24):8605-8614. doi: 10.1128/AEM.01090-10.
58. Newell DG, Fearnley C. **Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens.** *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69(8):4343-4351. doi: 10.1128/AEM.69.8.4343-4351.2003.
59. Overesch G, Haas K, Kuhnert P. **Assessing *Campylobacter* colonization of broiler herds *ante mortem* and monitoring *Campylobacter* contamination *post mortem* by qPCR.** *Pathogens* 2020, 9(9):742. doi: 10.3390/pathogens9090742.

-
60. Pepe T, de Dominicis R, Esposito G, Ventrone I, Fratafico PM, Cortesi ML. **Detection of *Campylobacter* from poultry carcass skin samples at slaughter in Southern Italy.** *J. Food Prot.* 2009, 72(8):1718-1721. doi: 10.4315/0362-028x-72.8.1718.
61. Perez-Arnedo I, Gonzalez-Fandos E. **Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry in three Spanish farms, a slaughterhouse and a further processing plant.** *Foods* 2019, 8(3):111. doi: 10.3390/foods8030111.
62. PKN-ISO/TS 10272-2:2008 Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda do wykrywania obecności i oznaczania liczby *Campylobacter* spp. Część 2: Metoda liczenia kolonii.
63. PN-EN ISO 10272-2:2017-10. Mikrobiologia łańcucha żywnościowego - Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Campylobacter* spp. - Część 2: Metoda liczenia kolonii.
64. PN-EN ISO 10272-1:2007 (AP1:2008) Mikrobiologia żywności i pasz. Horyzontalna metoda wykrywania obecności i oznaczania liczby *Campylobacter* spp. Część 1: Metoda wykrywania.
65. Powell LF, Lawes JR, Clifton-Hadley FA, Rodgers J, Harris K, Evans SJ, Vidal A. **The prevalence of *Campylobacter* spp. in broiler flocks and on broiler carcasses, and the risks associated with highly contaminated carcasses.** *Epidemiol. Infect.* 2012, 140(12):2233-2246. doi: 10.1017/S0950268812000040.
66. Rasschaert G, De Zutter L, Herman L, Heyndrickx M. ***Campylobacter* contamination of broilers: the role of transport and slaughterhouse.** *Int. J. Food Microbiol.* 2020, 322:108564. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108564.
67. Rasschaert G, Houf K, De Zutter L. **External contamination of *Campylobacter*-free flocks after transport in cleaned and disinfected containers.** *J. Food Prot.* 2007, 70(1):40-46. doi: 10.4315/0362-028x-70.1.40.
68. Reich F, Atanassova V, Haunhorst E, Klein G. **The effects of *Campylobacter* numbers in caeca on the contamination of broiler carcasses with *Campylobacter*.** *Int. J. Food Microbiol.* 2008, 127(1-2):116-120. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2008.06.018.
69. Richardson LJ, Cox NA, Buhr RJ, Harrison MA. **Isolation of *Campylobacter* from circulating blood of commercial broilers.** *Avian Dis.* 2011, 55(3):375-378. doi: 10.1637/9613-121310-Reg.1.
70. Ridley A, Morris V, Gittins J, Cawthraw S, Harris J, Edge S, Allen V. **Potential sources of *Campylobacter* infection on chicken farms: contamination and control of broiler-**

- harvesting equipment, vehicles and personnel.** *J. Appl. Microbiol.* 2011, 111(1):233-244. doi: 10.1111/j.1365-2672.2011.05038.x.
71. Roccato A, Mancin M, Barco L, Cibir V, Antonello K, Cocola F, Ricci A. **Usefulness of indicator bacteria as potential marker of *Campylobacter* contamination in broiler carcasses.** *Int. J. Food Microbiol.* 2018, 276:63-70. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.003.
72. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 z dnia 15 listopada 2005 r. w sprawie kryteriów mikrobiologicznych dotyczących środków spożywczych. *OJ L* 338 z 22.12.2005, s. 1.
73. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 200/2012 z dnia 8 marca 2012 r. w sprawie unijnego celu ograniczenia występowania *Salmonella enteritidis* i *Salmonella typhimurium* w stadach brojlerów zgodnie z rozporządzeniem (WE) nr 2160/2003 Parlamentu Europejskiego i Rady. *OJ L* 71 z 9.3.2012, s. 31.
74. Rozporządzenie Komisji (WE) 2017/1495 z dnia 23 sierpnia 2017 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 2073/2005 w odniesieniu do *Campylobacter* w tuszach brojlerów. *OJ L* 218 z 24.8.2017, s. 1.
75. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 11 stycznia 2017 r. w sprawie wprowadzenia „Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*) na lata 2017-2019. *Dz. U.* 2017. *Poz.* 114.
76. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi z dnia 24 stycznia 2020 r. w sprawie wprowadzenia „Krajowego programu zwalczania niektórych serotypów *Salmonella* w stadach brojlerów gatunku kura (*Gallus gallus*) na lata 2020-2022. *Dz. U.* 2020. *Poz.* 202.
77. Rouger A, Tresse O, Zagorec M. **Bacterial contaminants of poultry meat: sources, species, and dynamics.** *Microorganisms* 2017, 5(3):50. doi:10.3390/microorganisms5030050.
78. Sasaki Y, Maruyama N, Zou B, Haruna M, Kusukawa M, Murakami M, Asai T, Tsujiyama Y, Yamada Y. ***Campylobacter* cross-contamination of chicken products at an abattoir.** *Zoonoses Public Health.* 2013, 60(2):134-140. doi: 10.1111/j.1863-2378.2012.01509.x.
79. Schets FM, Jacobs-Reitsma WF, van der Plaats RQJ, Heer LK, van Hoek AHAM, Hamidjaja RA, de Roda Husman AM, Blaak H. **Prevalence and types of**

- Campylobacter* on poultry farms and in their direct environment.** *J. Water. Health.* 2017, 15(6):849-862. doi: 10.2166/wh.2017.119. PMID: 29215350.
80. Seliwiorstow T, Baré J, Berkvens D, Van Damme I, Uyttendaele M, De Zutter L. **Identification of risk factors for *Campylobacter* contamination levels on broiler carcasses during the slaughter process.** *Int. J. Food Microbiol.* 2016a, 226:26-32. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.03.010.
81. Seliwiorstow T, Baré J, Van Damme I, Gisbert Algaba I, Uyttendaele M, De Zutter L. **Transfer of *Campylobacter* from a positive patch to broiler carcasses of a subsequently slaughtered negative batch: A quantitative approach.** *J. Food Prot.* 2016b, 79(6):896-901. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-15-486.
82. Shreeve JE, Toszeghy M, Ridley A, Newell DG. **The carry-over of *Campylobacter* isolates between sequential poultry flocks.** *Avian Dis.* 2002, 46(2):378-85. doi: 10.1637/0005-2086(2002)046[0378:TCOOCI]2.0.CO;2.
83. Sibanda N, McKenna A, Richmond A, Ricke SC, Callaway T, Stratakos AC, Gundogdu O, Corcionivoschi N. **A review of the effect of management practices on *Campylobacter* prevalence in poultry farms.** *Front. Microbiol.* 2018, 9:2002. doi: 10.3389/fmicb.2018.02002.
84. Skarp CPA, Hänninen ML, Rautelin HIK. ***Campylobacteriosis*: the role of poultry meat.** *Clin. Microbiol. Infect.* 2016, 22(2):103-109. doi: 10.1016/j.cmi.2015.11.019.
85. Sleator RD, Lucey B, Dooley JSG, Snelling WJ. **The relationship between human campylobacteriosis and broilers.** *J. Bacteriol. Mycol.* 2016, 2(6):172-175. doi: 10.15406/jbmoa.2016.02.00047.
86. Smith S, Messam LL, Meade J, Gibbons J, McGill K, Bolton D, Whyte P. **The impact of biosecurity and partial depopulation on *Campylobacter* prevalence in Irish broiler flocks with differing levels of hygiene and economic performance.** *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2016, 6:31454. doi: 10.3402/iee.v6.31454.
87. Sommer HM, Heuer OE, Sørensen AI, Madsen M. **Analysis of factors important for the occurrence of *Campylobacter* in Danish broiler flocks.** *Prev. Vet. Med.* 2013, 111(1-2):100-111. doi: 10.1016/j.prevetmed.2013.04.004.
88. Sparks NHC. **The role of the water supply system in the infection and control of *Campylobacter* in chicken.** *World's Poult. Sci. J.* 2009, 65(3):459-474. doi:10.1017/S0043933909000324.
89. Stella S., Soncini G., Ziino G., Panebianco A., Pedonese F., Nuvoloni R., Di Giannatale E., Colavita G., Alberghini L., Giaccone V. **Prevalence and quantification of**

- thermophilic *Campylobacter* spp. in Italian retail poultry meat: Analysis of influencing factors.** Food Microbiol. 2017, 62:232-238. doi: 10.1016/j.fm.2016.10.028.
90. Szosland-Fałtyn A, Bartodziejska B, Królasik J, Paziak-Domańska B, Korsak D, Chmiela M. **The prevalence of *Campylobacter* spp. in Polish poultry meat.** Pol. J. Microbiol. 2018, 67(1):117-120. doi: 10.5604/01.3001.0011.6152.
91. Teh AHT, Lee SM, Dykes GA. **Association of some *Campylobacter jejuni* with *Pseudomonas aeruginosa* biofilms increases attachment under conditions mimicking those in the environment.** PLoS One 2019, 14(4):e0215275. doi: 10.1371/journal.pone.0215275.
92. Tőzsér D, Szakmár K, Szima R, Erdősi O, Szili Z, Laczay P. **Presence of *Campylobacter* and *Salmonella* spp. in poultry and environmental samples from farm to retail in Hungary.** Acta Aliment. 2019, 48(4), 488-494. doi: 10.1556/066.2019.48.4.10.
93. Umaraw P, Prajapati A, Verma AK, Pathak V, Singh VP. **Control of *Campylobacter* in poultry industry from farm to poultry processing unit: a review.** Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2017, 57(4):659-665. doi: 10.1080/10408398.2014.935847.
94. van Deun K, Pasmans F, Ducatelle R, Flahou B, Vissenberg K, Martel A, Van den Broeck W, van Immerseel F, Haesebrouck F. **Colonization strategy of *Campylobacter jejuni* results in persistent infection of the chicken gut.** Vet. Microbiol. 2008, 130(3-4):285-297. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.11.027.
95. van Wagenberg CPA, van Horne PLM, Sommer HM, Nauta M. **Cost-effectiveness of *Campylobacter* interventions on broiler farms in six European countries.** Microb. Risc. Anal. 2016, 2-3:53-62. doi: 10.1016/j.mran.2016.05.003
96. Wagenaar JA, French NP, Havelaar AH. **Preventing *Campylobacter* at the source: why is it so difficult?** Clin. Infect. Dis. 2013, 57(11):1600-1606. doi: 10.1093/cid/cit555.
97. Wagle BR, Upadhyay A, Shrestha S, Arsi K, Upadhyaya I, Donoghue AM, Donoghue DJ. **Pectin or chitosan coating fortified with eugenol reduces *Campylobacter jejuni* on chicken wingettes and modulates expression of critical survival genes.** Poult. Sci. 2019, 98(3):1461-1471. doi: 10.3382/ps/pey505.
98. Weber R, Auerbach M, Jung A, Glünder G. ***Campylobacter* infections in four poultry species in respect of frequency, onset of infection and seasonality.** Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr. 2014, 127(7-8):257-66.

99. Wieczorek K., Osek J. **Występowanie *Campylobacter* spp. w stadach oraz w tuszach brojlerów w krajach Unii Europejskiej w świetle badań monitoringowych.** *Życie Wet.* 2010, 85(6):534-538.
100. Wilkinson, K. G., Tee, E., Tomkins, R. B., Hepworth, G.,Premier, R. **Effect of heating and aging of poultry litter on the persistence of enteric bacteria.** *Poult. Sci.* 2011, 90(1):10-18. doi: 10.3382/ps.2010-01023.
101. Williams MS, Golden NJ, Ebel ED, Craey ET, Tate HP. **Temporal patterns of *Campylobacter* contamination on chicken and their relationship to campylobacteriosis cases in the United States.** *Int. J. Food Microbiol.* 2015, 208:114-121. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.018.
102. Wroniewski S. **Polski przemysł drobiarski jest gotowy do ponownego rozwoju** (światrolnika.info). 20.10.2020.
103. Young KT, Davis LM, Dirita VJ. ***Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis.** *Nat. Rev. Microbiol.* 2007, 5(9):665-679. doi: 10.1038/nrmicro1718.

Wyrażam zgodę na udostępnienie mojej pracy w czytelniach Biblioteki SGGW.

.....

(czytelny podpis autora)