

Received: 19.10.2017
Accepted: 17.04.2018
Published: 22.07.2018

Zakażenia *Campylobacter* - poważny problem higieniczno-epidemiologiczny dwudziestego pierwszego wieku

Campylobacter infections, a significant hygienic epidemiological issue of twenty first century

Anna Szosland-Fałtyń¹, Beata Bartodziejska¹, Julia Laskarys², Magdalena Chmiela²

¹Institut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. W. Dąbrowskiego, Zakład Jakości Żywności, Pracownia Mikrobiologii w Łodzi

²Uniwersytet Łódzki, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej w Łodzi

Streszczenie

Pałeczki *Campylobacter* spp. - szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, wykrywane w produktach pochodzenia zwierzęcego oraz w zanieczyszczonej wodzie pitnej, są obecnie jednym z najczęstszych etiologicznych czynników zaburzeń żołądkowo-jelitowych u ludzi. Mogą doprowadzić do zakażeń człowieka, w ostrym przebiegu określanych jako kamylobakterioza. W artykule scharakteryzowano bakterie z rodzaju *Campylobacter*, przedstawiono czynniki wirulencji warunkujące ich chorobotwórczość, aktualne dane epidemiologiczne dotyczące kamylobakteriozy oraz metody zapobiegające zakażeniom tymi patogenami.

Słowa kluczowe: *Campylobacter* spp. • czynniki wirulencji • kamylobakterioza • epidemiologia • profilaktyka zakażeń

Summary

The *Campylobacter* spp. rods, which are widespread in nature, detected in animal products, and contaminated drinking water are currently one of the most common etiologic agents of gastrointestinal disorders in humans, that in an acute stage are known as campylobacteriosis. The article describes *Campylobacter* spp., the virulence factors of these bacteria, which determine their pathogenicity and presents current epidemiological data on campylobacteriosis and methods to prevent this foodborne illness.

Keywords: *Campylobacter* spp. • virulence factors • campylobacteriosis • epidemiology • prevention strategies

GICID	01.3001.0012.2056
DOI:	10.5604/01.3001.0012.2056
Word count:	3296
Tables:	–
Figures:	2
References:	45

Adres autorki: dr Anna Szosland-Fałtyn, Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. W. Dąbrowskiego, Zakład Jakości Żywności, Pracownia Mikrobiologii w Łodzi, al. J. Piłsudskiego 84, 92-202 Łódź; e-mail: anna.szosland@ibprs.pl

WSTĘP

Szeroko rozpowszechnione w przyrodzie pałeczki *Campylobacter* spp., u ludzi wywołują chorobę zwaną kamylobakteriozą [33]. W krajach Unii Europejskiej kamylobakterioza jest najczęstszą chorobą przenoszoną drogą pokarmową [7, 38]. Według raportu Europejskiego Urzędu ds. Bezpieczeństwa Żywności, w 2015 r. liczba zgłoszonych przypadków ludzkiej kamylobakteriozy wynosiła 229 213, co odpowiada 65,5 przypadków na 100 000 mieszkańców. W porównaniu z 2014 r. zanotowano co prawda spadek liczby przypadków o 5,8%, jednak obecnie znów utrzymuje się na wyższym poziomie, podobnym jak w latach 2012-2013. Polska, obok Rumunii, Bułgarii, Cypru, Portugalii i Łotwy, znajduje się wśród krajów, w których odnotowano w 2015 r. jeden z najniższych wskaźników $\leq 3,7$ zgłoszonych przypadków na 100 000 mieszkańców [9]. Wynik niższy od średniej europejskiej najprawdopodobniej jest skutkiem braku powszechnej rutynowej diagnostyki i niezgłaszania się do lekarzy osób z objawami biegunek [33].

Do typowych objawów towarzyszących zakażeniu, należą wodnista lub krwawa biegunka, nudności, wymioty, skurcze brzucha, poprzedzone kilkudniowym okresem inkubacji [24]. U prawie 30% pacjentów mogą wystąpić wyłącznie objawy grypopodobne [33]. Biegunka najczęściej pojawia się po około 48-godzinnym okresie gorączki, co wskazuje, że bezpośrednie upośledzenie funkcji nabłonka jelitowego wynika z wcześniejszego procesu zapalnego [42]. *Campylobacter* spp. są zdolne do adhezji i inwazji ludzkich komórek nabłonkowych jelita i makrofagów, zaburzenia integralności bariery jelitowej, wydzielania toksyn i unikania odpowiedzi immunologicznej gospodarza [38]. Około 10% zakażeń wymaga hospitalizacji, natomiast 0,2% kończy się śmiercią [35]. Należy również podkreślić, że choroby wywołane przez *Campylobacter* spp. obejmują nie tylko biegunki o różnym przebiegu, ale są ważnym czynnikiem ryzyka zapalnej choroby jelit oraz schorzeń narządów spoza układu trawiennego, takich jak zapalenia: opon mózgowych, mięśnia sercowego, wsierdzia, reaktywne zapalenie stawów [17]. Ponadto, istnieje wiele doniesień na temat powikłań neurologicznych, obejmujących zespoły Guillaina-Barrégo (GBS) oraz Millera-Fishera (MFS) [2]. Klasyczna postać GBS jest demielinizacyjnym zespołem

wielokorzeniowo-nerwowym objawiającym się niedowładem czterokończynowym. Natomiast w zespole MFS wyróżnia się neuropatię z ataksją, niedowład mięśni gałkoruchowych z towarzyszącym opadaniem powiek [13, 36, 37, 38]. Obecnie szacuje się, że nawet 40% przypadków GBS może być inicjowanych przez zakażenia *Campylobacter* spp. [45]. Do innych powikłań o podłożu autoimmunologicznym, prawdopodobnie powiązanych z takimi zakażeniami, należą reaktywne zapalenie stawów oraz zespół Reitera, zazwyczaj występujący u osób posiadających antygen zgodności tkankowej HLA (human leukocyte antigen) B27. Częstość występowania stawowych powikłań po kamylobakteriozie oceniana jest na 2-3% [33]. Niekiedy stwierdza się także inne postaci kamylobakteriozy, takie jak wrzodziejące zapalenie jelita grubego, zapalenie wątroby, trzustki, pęcherzyka żółciowego [33]. Większość zakażeń *Campylobacter* spp. przebiega bezobjawowo, a prawdopodobieństwo zakażenia zmienia się z wiekiem oraz obniżoną odpornością. Największe jest wśród małych dzieci (poniżej 4 lat), młodych dorosłych (20-40 lat) oraz u osób starszych [39]. Możliwość wystąpienia zakażenia objawowego jest 40-100% wyższa u osób z AIDS [42]. Objawy kamylobakteriozy najczęściej ustępują samoczynnie, wymagając jedynie leczenia objawowego, polegającego głównie na uzupełnianiu płynów i elektrolitów [33]. Jednak u pacjentów z niedoborami odporności zakażenie *Campylobacter* spp. może doprowadzić do przedłużającego się zapalenia jelit oraz posocznicy i wymaga leczenia farmakologicznego [28].

ODKRYCIE I TAKSONOMIA PAŁECZEK Z RODZAJU *CAMPYLOBACTER* SPP.

Pierwsze wzmianki na temat *Campylobacter* spp. pojawiły się w 1886 r. dzięki Theodorowi Escherichowi. Pediatra, specjalizujący się w chorobach zakaźnych. Zaobserwował spiralne, niedające się wyhodować pałeczki w kale niemowląt chorych na ostrą biegunkę. W 1906 r., lekarze weterynarii McFadyean i Stocman odkryli komórki *Campylobacter* w płodach owczych poddanych aborcji. Kilka lat później Smith i Taylor, kontynuując prace poprzedników, wyizolowali je z płodu bydłęcego identyfikując jednak jako *Vibrio fetus*. W 1927 r. Smith i Orcut, ze względu na podobieństwo morfologiczne do przecinkowców, ponownie zaklasyfikowali je do rodzaju *Vibrio*. Dopiero

w 1963 r. Sebald i Veron – francuscy mikrobiolodzy, opierając się na jednej z pierwszych analiz DNA, wyodrębnili rodzaj *Campylobacter* [37]. W 1978 r. wybuchła największa zarejestrowana epidemia, podczas której zakażonych *Campylobacter* spp. było ponad 2000 osób [45]. Znaczącym krokiem w badaniach systematyki *Campylobacter* spp. było zsekwencjonowanie w 2000 r. genomu *Campylobacter jejuni* [5]. Zgodnie z taksonomią, pałeczki *Campylobacter* spp. i *Arcobacter* spp. należą do typu *Proteobacteria*, klasy *Epsilonproteobacteria*, rodziny *Campylobacteriaceae*, rzędu *Campylobacterales*. Rodzaj *Campylobacter* obejmuje 29 gatunków i 11 podgatunków [11]. Niedawno jednak wyizolowano od ssaków płetwonogich (uchatek) nowy gatunek *C. pinnipediorum* sp. nov., w którym wyróżniono dwa podgatunki *C. pinnipediorum* subsp. *pinnipediorum* subsp. nov. oraz *C. pinnipediorum* subsp. *caledonicus* subsp. nov. [14].

Z przypadków kampylobakteriozy u ludzi, najczęściej są izolowane cztery termotolerancyjne gatunki *C. jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis* [40].

CHARAKTERYSTYKA PAŁECZEK Z RODZAJU *CAMPYLOBACTER* SPP.

W badaniu mikroskopowym *Campylobacter* spp. są identyfikowane jako Gram-ujemne, helikalne pałeczki o zagiętym kształcie, długości do 5,0 µm i szerokości do 0,8 µm, nietworzące spor. Są termofilne, mikroaerofilne i kapnofilne, do wzrostu wymagają atmosfery o zwiększonej zawartości dwutlenku węgla. Zawierają rzęskę lub rzęski umieszczone na jednym lub obu biegunach komórki, dzięki którym wykazują ruch korkociągowy, a w organizmie gospodarza mogą się przemieszczać w rejony występowania najkorzystniejszych do rozwoju warunków [25, 27]. Rzęska jest zbudowana z ciałka podstawowego, haka i filamentu [2, 10, 12, 16, 37]. W regulację ekspresji genów kodujących rzęski jest zaangażowany unikatowy dla *Campylobacter* spp., system

składający się: z FlgR/FlgS i FlhF GTP-azy, białek regulujących ekspresję flageliny i wiążących GTP-guanozyno-5'-trifosforan oraz czynników transkrypcji sigma54 i sigma28 [31]. Filament rzęski składa się z dwóch homologicznych białek flagelinowych FlaA i FlaB (z przewagą tego pierwszego) kodowanych przez odpowiednio dwa geny *flaA* i *flaB*. Wyłączenie obu genów powoduje powstanie nieruchliwych mutantów pałeczek *Campylobacter* spp. przez co obniża się ich zdolność do kolonizacji i inwazji śluzówki jelita [22, 34]. Podstawą identyfikacji *Campylobacter* spp. jest typowa morfologia kolonii, brak wzrostu w warunkach tlenowych, dodatni wynik testu na ruch i oksydazę cytochromową [30]. *Campylobacter* spp. są wrażliwe na wysychanie oraz obniżone pH. Dysmutaza ponadtlenkowa chroni je przed stresem oksydacyjnym i zapewnia tolerancję na tlen, co pomaga im przetrwać w produktach spożywczych [7].

Najczęściej wykorzystywanymi do wyodrębniania pałeczek *Campylobacter* spp. testami biochemicznymi są: ocena wytwarzania katalazy, hydroliza octanu indoksyli i hipuranu sodu. Test na zdolność hydrolizy hipuranu sodu pozwala na odróżnienie pałeczek *C. jejuni* (mających taką cechę) od *C. coli*, *C. lari* czy *C. upsaliensis*, niehydrolizujących hipuranu (tabela 1). Jednak według ostatnich danych 10% szczepów *C. jejuni* nie hydrolizuje hipuranu sodu, co utrudnia diagnostykę. Dlatego też coraz powszechniej wykorzystuje się różnicowanie molekularne (np. elektroforezę pulsacyjną (PFGE) czy różne odmiany techniki PCR) przynoszące jednoznaczne wyniki [33,41].

C. lari, *C. upsaliensis* oraz *C. concisus* również mogą mieć związek z chorobami przewodu pokarmowego u ludzi [38]. Jednak na całym świecie to *C. jejuni* jest jedną z najczęstszych przyczyn bakteryjnego zapalenia żołądka i jelit, często wiążącego się z możliwością wystąpienia poważnych powikłań [25, 35].

Tabela 1. Testy różnicujące gatunki *Campylobacter* spp.

Cecha	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. upsaliensis</i>
morfologia		małe, zakrzywione pałeczki Gram-ujemne		
ruchliwość			charakterystyczna	
oksydaza	+	+	+	+
katalaza	+	+	+	+
hydroliza hipuranu	+	-	-	-
produkcja H ₂ S	-	+	+	-
oporność na cefalotynę	R	R	R	S
oporność na kwas nalidyksowy	S	S	R/S	S
oporność na metronidazol	S	R	R	R

R - gatunek odporny, S - gatunek wrażliwy, R/S - zmiennie w zależności od podgatunku; opracowano za Debruyne i wsp. i Khalifa i wsp. [6, 17]

EPIDEMIOLOGIA I CHOROBOTWÓRCZOŚĆ *CAMPYLOBACTER* SPP.

Najczęstszym źródłem *Campylobacter* spp. u ludzi jest zjedzone niedogotowane mięso, zwłaszcza drobiowe i wieprzowe [1, 25, 36, 42] oraz niepasteryzowane mleko [13, 25, 38]. Bakterie tego rodzaju kolonizują również zwierzęta domowe, przeważnie szczenięta, a także bywają wykrywane w rekreacyjnych zbiornikach wodnych [13, 25]. 1000 komórek to dawka infekcyjna *Campylobacter* spp., która jest konieczna do zainicjowania objawowego przebiegu choroby u człowieka [13]. Mimo bardzo częstych zakażeń wywołanych przez *Campylobacter* spp., dokładny mechanizm ich patogenyzy nie został jeszcze poznany. Jest to proces zależny od wielu czynników i najprawdopodobniej główną rolę odgrywa moment adhezji drobnoustrojów do ścian jelita i odpowiedź układu odpornościowego gospodarza [1]. Pałeczki *Campylobacter* spp. wytwarzają białko CadF (*Campylobacter* adhesion to fibronectin) o masie 37 kDa, które jest istotne w patogenyzy zakażenia, wiążąc się z fibronektyną enterocytów nabłonka jelit i umożliwiając w ten sposób adhezję bakterii do komórek nabłonka (tabela 2). Wykazano, że mutanty niewytwarzające białka CadF nie kolonizują komórek nabłonkowych [34]. Oprócz zdolności ruchu i adhezji czynnikami wirulencji pałeczek *Campylobacter* spp. są także: zdolność do chemotaksji i energotaksji, obecność lipooligosacharydu i otoczki polisacharydowej, wytwarzanie toksyn i białek sekrecyjnych, obecność plazmidu pVir oraz zmienność genetyczna [12, 19, 22, 34]. Najlepiej poznaną toksyną jest cytoletalna genotoksyna - CDT (cytolethal distending toxin), kodowana przez geny: *cdtA*, *cdtB* i *cdtC* (tabela 2), które są niezbędne do wyrażenia pełnej aktywności toksyny [20]. Mechanizm jej działania polega na uszkodzeniu materiału genetycznego komórek eukariotycznych, zatrzymaniu ich cyklu komórkowego i doprowadzeniu do obumierania komórek.

Czynnikiem odgrywającym istotną rolę w patogenyzy *Campylobacter* spp. jest również zdolność jego adaptacji do niesprzyjających warunków środowiska. W odpowiedzi na stres, wywołany: niedoborem substancji odżywczych, zbyt wysoką lub niską temperaturą, hiperosmolarnością, niskim pH, warunkami tlenowymi, pałeczkowate formy RF (rod form) mogą się przekształcać w żywe, niehodowlalne postaci VBNC (viable but not culturable), które nie rosną na znanych klasycznych pożywkach hodowlanych [2, 4]. Po raz pierwszy stadium VBNC u *C. jejuni* opisali Rollins i Colwell [4]. Pałeczki wchodzące w stan VBNC podlegają morfologicznym, fizjologicznym oraz genetycznym przemianom, które pozwalają im przetrwać w niesprzyjającym środowisku przez dłuższy czas, zachowując zdolność infekcji [4, 26, 29]. W czasie inkubacji *C. jejuni* w temperaturze 4°C przez 38 dni Chaisowong i wsp. obserwowali stadium VBNC. W komórkach VBNC dochodziło do ekspresji genów odpowiedzialnych za wirulencję, tj. *flaA*, *flaB*, *cadF*, *ciaB*, *cdtA*, *cdtB* i *cdx*. Komórki adherowały do komórek nabłonka jelitowego linii komórkowej Caco-2 [4]. Podobne wyniki badań, dotyczące stresu zimna, otrzymali Patrone i wsp.

Naukowcy wykazali w komórkach VBNC *C. jejuni* wysoki poziom ekspresji genu *cadF* i zdolność adhezji do Caco-2 w hodowlach *in vitro* [29].

WYSTĘPOWANIE *CAMPYLOBACTER* SPP. U ZWIERZĄT

Bakterie z rodzaju *Campylobacter*, choć nie są typowymi przedstawicielami mikrobioty jelitowej, kolonizują bezobjawowo, będąc komensalami, przewód pokarmowy zarówno zwierząt domowych, jak i dzikich [1, 25, 36, 42]. Najważniejszym rezerwuarem omawianych patogenów jest ptactwo, zwłaszcza drób hodowlany. Ze względu na termofilny charakter większości gatunków *Campylobacter*, a zwłaszcza *C. jejuni* i *C. coli* (głównych przyczyn kamylobakteriozy) temperatura ciała ludzi i ptaków, wynosząca odpowiednio 37 i 42°C, jest dla nich najlepsza do rozwoju. Mechanizmy odpowiadające za adaptację i trwałą kolonizację przewodu pokarmowego drobiu przez *Campylobacter* nie są jednak dokładnie poznane. Pomyślna i trwała kolonizacja zależy od wielu czynników, m.in. determinowanych genetycznie. Jednym z takich genów jest gen *cmeABC*, kodujący wielolekową pompę efluksową. Wykazano, że w przeciwieństwie do dzikich, szczepy *C. jejuni* ze zmutowanym genem *cmeABC*, nie zasiedlały jelit kurcząt. Nie zaobserwowano również kolonizacji jelita przez *C. jejuni* ze zmutowanymi genami *docB* i *docA*, odpowiedzialnymi za kodowanie chemotaktycznego białka MCP i cytochromu C [25]. W genomie *C. jejuni* stwierdzono ponadto liczne geny kodujące białka, odpowiedzialne za skoordynowane szlaki chemotaksji. Chemoatraktanty, występujące w śluzie jelitowym, należą do ważniejszych czynników ułatwiających kolonizację jelita kurczaków przez *C. jejuni*. Glikoproteiny, cukry (L-fukoza obecna w żółci, mucyna), aminokwasy (cysteina, asparaginian, seryna i glutaminian) oraz sole kwasów organicznych (cytrynian, fumaran, α-ketoglutaran, jabłczan, pirogromian, czy bursztynian), to najważniejsze atraktanty uczestniczące w skutecznym zasiedlaniu przewodu pokarmowego gospodarza [25].

Ze względu na to, że źródłem *Campylobacter* spp. mogą być też inne zwierzęta hodowlane, takie jak: bydło, kozy, owce, czy świnie, badano i potwierdzono mechanizmy kolonizacji jelit również u tych gatunków zwierząt [1, 18]. Należy podkreślić, że u zwierząt proces kolonizacji jest bezobjawowy, w przeciwieństwie do ludzi, u których w wyniku inwazji patogenem, wydzielane są IL-1α, IL-1β, IL-6 oraz chemokiny IL-8, CCL2, CCL20, CXCL2, tzw. mediatory procesów zapalnych [1]. Chociaż poziom kolonizacji jelit zwierząt jest wysoki (u drobiu może wynosić nawet 10¹⁰ jtk/g treści jelit), brak objawów chorobowych uniemożliwia eliminację ze stad osobników zakażonych. Ponieważ *C. jejuni* wykrywa się w jelicie ślepym ponad 90% kurczaków [24], to właśnie spożywanie mięsa drobiowego ma największe znaczenie w szerzeniu się zakażeń u ludzi. Ponad 98% dostępnych w sklepach produktów z mięsa kurczaków może być zakażonych tymi bakteriami [7]. Transmisja z rodzica na piskle jest rzadkością, a stada kurcząt zazwyczaj określa się jako *Campylobacter*-pozytywne dopiero gdy osiągną wiek około

Tabela 2. Najważniejsze czynniki odpowiedzialne za wirulencję *Campylobacter* spp.

Mechanizm	Czynnik wirulencji	Geny
ruchliwość	flagelina A, B, białka ciała podstawowego rzęski (FlIF, FlIM, FlIY, FlGL), czynniki σ^{28} , σ^{54}	<i>flaA, flaB, flif, flim, fliy, flgl, flia, rpoN</i>
adhezja	białko CadF, CapA, fosfolipaza A, lipoproteina, adhezyna i białko wiążące ligand Peb1,	<i>cadF, capA, pldA, jlpA, peb1A</i>
chemotaksje	białka chemotaktyczne: Che A, B, R, V, W i Z	<i>cheA, cheB, cheR, cheV, chew i cheZ</i>
inwazyjność	składniki systemu sekrecji typu III (T3SS), białko FlaC, chaperon HtrA,	<i>flhA, flhB, fltQ, fljP, fltO, fltR, flaC, htrA</i>
cytotoksyczność	cytotoletalna genotoksyna	<i>cdtA, cdtB, cdtC</i>
system N-glikozylacji	N-glikozylacja	<i>pgl</i>
wielolekooporność i oporność na sole żółci	pompa efluksowa Cme	<i>cmeA, cmeB, cmeC</i>
odporność na stres	katalaza KatA, peroksydaza grupy tiolowej, białka szoku cieplnego	<i>kata, tpx, dnaI</i>

według Boltona [2] zmodyfikowano

dwóch tygodni. Najważniejszymi czynnikami powodującymi zanieczyszczenie partii mięsa przez *Campylobacter* spp. jest ubój częściowy (przerzedzanie populacji), ubój w miesiącach letnich (czerwcu, lipcu i sierpniu) oraz wiek ptaków (od 36 dni do >40 dni) [39]. Dodatkowym zagrożeniem dla konsumentów jest zdolność przeżycia i namnażania się patogenu w żywności podczas obróbki przemysłowej i przechowywania [7].

BIOFILM TWORZONY PRZEZ *CAMPYLOBACTER* SPP. A ZDROWIE PUBLICZNE

Biofilm, który jest wielowarstwowym osadem tworzonym przez organizmy (bakterie, pleśnie, glony, pierwotniaki) na powierzchniach stałych, odgrywa obecnie olbrzymią rolę w zapewnianiu bezpieczeństwa żywności i zdrowia konsumentów. Biofilm powoduje wtórne zanieczyszczenie produktów spożywczych i wody pitnej. Jest dużo bardziej odporny na działanie środków dezynfekcyjnych niż komórki w stanie planktonicznym, przez co utrudnione jest utrzymanie higieny w przemyśle spożywczym, a także w warunkach domowych [15]. Bakterie z rodzaju *Campylobacter*, oprócz *Salmonella* sp., *Escherichia coli*, *Legionella pneumophila*, należą do najbardziej niebezpiecznych patogenów, m.in. z powodu zdolności tworzenia biofilmu, w różnych warunkach. Liczne badania dowiodły, że pałeczki *Campylobacter* spp. nie tylko adherują do powierzchni biotycznych (skóry zwierząt, komórek nabłonkowych), ale również abiotycznych, stosowanych w przemyśle spożywczym (stali nierdzewnej, szkła, polipropylenu) [15, 21, 32, 39]. Reuter i wsp. wykazali, że w atmosferze zawierającej 20% O₂ tworzenie biofilmu przez *C. jejuni* NCTC 11168 zachodzi dużo szybciej niż w atmosferze z podwyższoną zawartością CO₂ (5% O₂, 10% CO₂) [32]. Z dostępnej literatury wynika, że również inne gatunki *Campylobacter*, m.in. *C. concisus* wyizolowany od ludzi z różnymi dolegliwościami przewodu pokarmowego (chorobą Crohna, ostrym zapaleniem błony śluzowej żołądka) wykazuje tę cechę [21]. Gunther i Chen oceniali adhezję 16 szczepów reprezentujących 14 różnych gatunków z rodzaju *Campylobacter* do trzech różnych powierzchni abiotycznych (szkła, stali nierdzewnej

oraz plastiku). Wykazali, że szczepy beztlenowe z rodzaju *Campylobacter* (*C. rectus*, *C. showae*, *C. mucosalis*, *C. concisus*, *C. curvus*, *C. gracilis*) miały większe predyspozycje do kolonizacji różnych powierzchni i tworzenia biofilmu na wszystkich matrycach, w porównaniu ze szczepami mikroaerofilnymi. Szczepy mikroaerofilne (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. lari*, *C. fetus*, *C. sputorum*, *C. helveticus*, *C. hyointestinalis*) tworzyły biofilm tylko na jednej z testowanych powierzchni bądź wcale, a materiałem sprzyjającym tworzeniu biofilmu była stal nierdzewna [15]. Sulaeman i wsp. wykazali, że spośród 46 przebadanych szczepów *C. jejuni* i *C. coli*, tylko niektóre adherowały do powierzchni polistyrenu. Na ogół szczepy *C. coli* wykazywały słabszą zdolność do wzrostu w postaci biofilmu niż *C. jejuni*. Ponadto, szczepy kliniczne oraz wyizolowane z żywności statystycznie częściej przejawiały lepsze właściwości tworzenia biofilmu niż szczepy wyizolowane od zwierząt oraz z tusz wieprzowych i drobiowych [39]. Badania te wskazują, że zdolność tworzenia biofilmu jest cechą szczepową warunkowaną wieloma czynnikami.

PROFILAKTYKA ZAKAŻEŃ *CAMPYLOBACTER* SPP.

Zakażenia *Campylobacter* spp. mogą mieć charakter bezpośredni, co wynika ze spożywania surowego lub niedogotowanego mięsa lub pośredni, do którego dochodzi przez zanieczyszczone powierzchnie, mające kontakt z zakażonym mięsem [7].

Profilaktyka zakażeń *Campylobacter* spp. u ludzi jest stosunkowo prosta i polega na:

- prawidłowym przyrządzaniu mięsa - produkt powinien być gotowany tak, aby osiągnąć minimalną temperaturę wewnętrzną 74°C,
- myciu rąk podczas przygotowywania żywności, zwłaszcza po kontakcie z surową żywnością pochodzenia zwierzęcego,
- stosowaniu oddzielnych desek do krojenia żywności pochodzenia zwierzęcego oraz innych produktów

spożywczych i dokładnym ich czyszczeniu, a także blatów oraz naczyń po przygotowaniu surowej żywności pochodzenia zwierzęcego,

- unikaniu picia niepasteryzowanego mleka lub nieoczyszczonych wód powierzchniowych,
- starannym myciu rąk przez osoby z biegunką (zwłaszcza dzieci) oraz po kontakcie z odchodami zwierząt [37].

Zapobieganie kamylobakteriozie u ludzi najczęściej polega na ograniczaniu występowania *Campylobacter* spp. w mięsie dostępnym komercyjnie [7]. Mięso, zwłaszcza świeże zawiera odpowiednie ilości wody, protein i składników odżywczych, zapewniając jednocześnie preferowane przez drobnoustroje pH [44]. W Unii Europejskiej (UE) *Campylobacter* spp. są obecne średnio w 71% partii kurcząt brojlerów [35]. Fizyczne metody inaktywacji drobnoustrojów w mięsie, takie jak mrożenie czy obróbka termiczna nie zawsze zapewniają bezpieczeństwo mikrobiologiczne produktów mięsnych, dlatego też w celu ich zabezpieczenia, dodawane są substancje przeciwdrobnoustrojowe, których stosowanie określa Rozporządzenie Komisji Europejskiej nr 601/2014. Obecnie dodawanie konserwantów chemicznych wzbudza kontrowersje, ze względu na ich potencjalne działanie toksyczne i kancerogenne na organizm człowieka [44]. W ostatniej dekadzie konsumenci coraz bardziej zainteresowani są produktami „bio” oraz „organicznymi”, niezawierającymi chemicznych konserwantów [8]. Zmniejszenie zagrożenia dla zdrowia publicznego, w granicach 50-90%, może być osiągnięte przez chemiczne odkażanie tusz, np. chlorem, jednak zabiegi takie nie są dozwolone w Unii Europejskiej [39]. Wykazano także że polifosforany dodawane do mięsa mogą pomagać w utrzymywaniu się *Campylobacter* w żywności [7].

Do głównych strategii opracowywanych w celu ograniczenia liczby *Campylobacter* spp. w mięsie paczkowanym należy zwiększanie bezpieczeństwa biologicznego na farmach, odseparowywanie zakażonych stad, szczepienie zwierząt hodowlanych oraz poprawa higieny podczas uboju [7]. Metody tego rodzaju są korzystne zarówno ze względów ekologicznych, jak i ekonomicznych [35]. Ważne jest, by wzrastała świadomość hodowców w zakresie procedur bezpieczeństwa mikrobiologicznego oraz zarządzania hodowlami [39]. Nowe strategie przeciwko *Campylobacter* spp. obejmują także skarmianie zwierząt specjalnie opracowanymi mieszkami bakterii, ograniczającymi adhezję patogenów do komórek nabłonka jelitowego. Znana jest wrażliwość pałeczek z rodzaju *Campylobacter* spp. na zakwaszenie środowiska, dlatego podejmowane są także próby zakwaszania karmy i wody [7]. Niestety, procedury mające zapewnić higieniczną hodowlę drobiu wolnego od *Campylobacter* spp. w przypadku gospodarstw ekologicznych spotykają się z przeszkodami, do których należą m.in. chów na świeżym powietrzu, inne oprócz drobiu zwierzęta hodowlane oraz ptaki dziko żyjące [8].

W obliczu problemu jakim jest szerząca się antybiotyko-

oporność bakterii, w tym *Campylobacter* spp, skutecznym i ekonomicznym rozwiązaniem może być stosowanie przeciwdrobnoustrojowych związków pochodzenia naturalnego. Peptydami przeciwdrobnoustrojowymi aktywnymi wobec *C. jejuni* są m. in. reuteryna, czy bakteriocyny B602, OR7, E50-52, L-1077, a spośród skutecznych substancji pochodzenia roślinnego ekstrakt z czosnku (*Allium sativum*), czy eukaliptusa (*Eucalyptus occidentalis*). Skuteczność działania czosnku opiera się na uszkodzeniu białkowych, lipidowych i polisacharydowych komponentów błony komórkowej pałeczek *Campylobacter*, natomiast mechanizmy działania ekstraktu z eukaliptusa nie są dokładnie poznane [24]. Rośliny cechuje duży potencjał, który można wykorzystać w ochronie produktów spożywczych przed skażeniem *Campylobacter* spp., w zwalczaniu chorób związanych z tymi patogenami oraz jako dodatków do pasz, ograniczających kolonizację zwierząt hodowlanych. Skuteczność wykazują m.in. akacja Farnesa (*Acacia farnesiana*), bylica luizjańska (*Artemisia ludoviciana*), opuncja figowa (*Opuntia ficus-indica*) oraz karczoch zwyczajny (*Cynara scolymus*). Badane są związki fenolowe pochodzące z roślin, bioaktywne składniki jagód i jeżyn, tymol i karwakrol [38].

Wciąż opracowywane są także nowe metody oparte na zjawisku konkurencyjności drobnoustrojów, działaniu bakteriofagów, wykorzystaniu czynników przeciwdrobnoustrojowych bądź probiotyków [7, 23, 35]. Wykazano, iż podawanie żywym ptakom swoistych bakteriofagów krótko przed ubojem, może być skutecznym środkiem ochrony [7]. W 2005 r. dowiedziono, że terapia fagowa okazała się obiecującą metodą zmniejszenia kolonizacji brojlerów przez *C. jejuni*, jako środek zapobiegawczy lub terapeutyczny. Zgodnie z uzyskanymi wynikami stosowanie fagów nie zapobiega jednak kolonizacji jelita, lecz może ją opóźniać. W badaniach z wykorzystaniem bakteriofagów CP8 oraz CP34, następowało zmniejszenie liczby komórek *C. jejuni* w kątnicy kurczaków 0,5-5 log jtk/g. Natomiast pojedyncza dawka bakteriofaga CP220 (o mianie 10⁷ lub 10⁹ jednostek tworzących blaszki) powodowała spadek liczby *Campylobacter* spp. u kurcząt o 2 log jtk/g, a po zakończeniu leczenia tylko 2% odzyskanych komórek *Campylobacter* spp. było opornych na CP220. Należy podkreślić, że redukcja liczby *Campylobacter* spp. w tuszach drobiowych o dwie jednostki logarytmiczne może się przyczynić do 30-krotnego zmniejszenia występowania kamylobakteriozy u ludzi [27]. Dowiedziono także, że podawanie swoistych bakteriofagów kurczętom w paszy lub wodzie obniża liczbę kolonizujących przewód pokarmowy ptaków, *Campylobacter* spp. Początkowo o 2 log jtk/g stabilizuje się do wartości niższej o 1 log jtk/g w porównaniu z grupą kontrolną [43].

W ostatnich latach wzrasta zainteresowanie innowacyjnymi systemami pakowania, rozwiązaniami wykorzystującymi tzw. aktywne opakowania, mogące przedłużać trwałość surowych i gotowanych produktów mięsnych. Systemy tego typu mogą obejmować obecne w opako-

waniach pochłaniacze tlenu, substancje absorbujące lub emitujące dwutlenek węgla, arkusze chłoneące wycieki, antyoksydanty lub całe opakowania o działaniu przeciwdrobnoustrojowym, np. folie przeciwbakteryjne wytwarzane z chitozanu bądź hydroksypropylometylocelulzy, zawierające olejki eteryczne. Folie takie wykazywały znaczącą aktywność przeciwko *Campylobacter* spp. podczas przechowywania przez 12 dni, w temperaturze 12°C [7].

Badany jest także wpływ ciśnienia hydrostatycznego, pulsacyjnego pola elektrycznego, olejków eterycznych oraz temperatury na przeżywalność *Campylobacter* spp. Spośród metod wykorzystujących wysoką temperaturę, najlepsze okazują się oparte na działaniu gorącej pary, gdyż para lepiej niż gorąca woda czy powietrze przenika zagłębienia, szczeliny oraz mieszki włosowe na powierzchni mięsa [3]. Synergistyczne połączenie różnych metod może się okazać skutecznym narzędziem eliminacji *Campylobacter* spp. z mięsa drobiowego.

PIŚMIENICTWO

[1] Aguilar C., Jimenez-Marin A., Martins R.P., Garrido J.J.: Interaction between *Campylobacter* and intestinal epithelial cells leads to a different proinflammatory response in human and porcine host. *Vet. Immunol. Immunopathol.*, 2014; 162: 14-23

[2] Bolton D.J.: *Campylobacter* virulence and survival factors. *Food Microbiol.*, 2015; 48: 99-108

[3] Chaine A., Arnaud E., Kondjoyan A., Collignan A., Sarter S.: Effect of steam and lactic acid treatments on the survival of *Salmonella* Enteritidis and *Campylobacter jejuni* inoculated on chicken skin. *Int. J. Food Microbiol.*, 2013; 162: 276-282

[4] Chaisowong W., Kusumoto A., Hashimoto M., Harada T., Maklon K., Kawamoto K.: Physiological characterization of *Campylobacter jejuni* under cold stresses conditions: its potential for public threat. *J. Vet. Med. Sci.*, 2012; 74: 43-50

[5] Dasti J.I., Tareen A.M., Lugert R., Zautner A.E., Groß U.: *Campylobacter jejuni*: a brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2010; 300: 205-211

[6] Debruyne L., On S.L.W., De Brandt E., Vandamme P.: Novel *Campylobacter lari*-like bacteria from humans and molluscs: description of *Campylobacter peloridis* sp. nov., *Campylobacter lari* subsp. *concheus* subsp. nov. and *Campylobacter lari* subsp. *nov.* *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2009; 59: 1126-1132

[7] Djenane D., Yanguela J., Roncales P.: A review and future potential approach for *Campylobacter* control in retail poultry meat. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2014; 8: 4041-4052

[8] Dubois-Dauphin R., Vandeplass S., Didderen I., Marcq C., Théwis A., Thonart P.: In vitro antagonistic activity evaluation of lactic acid bacteria (LAB) combined with cellulase enzyme against *Campylobacter jejuni* growth in co-culture. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2011; 21: 62-70

[9] EFSA: The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015. *EFSA J.*, 2016; 14: 4634

[10] Epps S.V., Harvey R.B., Hume M.E., Phillips T.D., Anderson R.C., Nisbet D.J.: Foodborne *Campylobacter*: infections, metabolism, pathogenesis and reservoirs. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2013; 10: 6292-6304

PODSUMOWANIE

Jeszcze w niedalekiej przeszłości przekroczenie przez *Campylobacter* spp. bariery międzygatunkowej zwierzę-człowiek nie stanowiło tak realnego zagrożenia epidemiologicznego. O tym, jak poważny jest problem zatruc pokarmowych spowodowanych tymi patogenami świadczy wzrost liczby publikacji dotyczących tego zagadnienia w ostatnich latach. Najbardziej istotnym źródłem infekcji, w świetle danych zawartych w raportach UE dotyczących tej zoonozy, jest mięso drobiowe, dlatego szczególnie narażone na zakażenie są osoby zajmujące się jego produkcją. Hodowle drobiu prowadzone na masową skalę, zasiedlanie się dzikiego ptactwa wodnego (kaczek, łabędzi, mew itp.) w aglomeracjach miejskich oraz bliska więź z zwierzętami domowymi powodują narastanie zagrożenia pałeczkami *Campylobacter* spp., co sprawia, że badania prowadzone w celu lepszego poznania mechanizmów ich chorobotwórczości, epidemiologii oraz metod diagnozowania, leczenia oraz profilaktyki takich zakażeń powinny być priorytetowe.

[11] Euzèbe J.P.: List of prokaryotic names with standing in nomenclature: genus *Campylobacter*. 2012. <http://www.bacterio.net/> (27.09.2017)

[12] Firdich E., Biboy J., Adams C., Lee J., Ellermeier J., Giela L.D., Dirita V.J., Girardin S.E., Vollmer W., Gaynor E.C.: Peptidoglycan-modifying enzyme Pgp1 is required for helical cell shape and pathogenicity traits in *Campylobacter jejuni*. *PLoS Pathog.*, 2012; 8: e1002602

[13] Gharst G., Oyarzabal O.A., Hussain S.K.: Review of current methodologies to isolate and identify *Campylobacter* spp. from foods. *J. Microbiol. Methods*, 2013; 95: 84-92

[14] Gilbert M.J., Miller W.G., Leger J.S., Chapman M.H., Timmerman A.J., Duim B., Foster G., Wagenaar J.A.: *Campylobacter pinnipediorum* sp. nov., isolated from pinnipeds, comprising *Campylobacter pinnipediorum* subsp. *pinnipediorum* subsp. nov. and *Campylobacter pinnipediorum* subsp. *caledonicus* subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2017; 67: 1961-1968

[15] Gunther IV N.W., Chen C.Y.: The biofilm forming potential of bacterial species in the genus *Campylobacter*. *Food Microbiol.*, 2009; 26: 44-51

[16] Josefsen M.H., Bhunia A.K., Engvall E.O., Fachmann M.S., Hoerfar J.: Monitoring *Campylobacter* in the poultry production chain- from culture to genes and beyond. *J. Microbiol. Methods*, 2015; 112: 118-125

[17] Kaakoush N.O., Castaño-Rodríguez N., Mitchell H.M., Man S.M.: Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2015; 28: 687-720

[18] Khalifa N.O., Afify J.S.A., Rabie N.S.: Zoonotic and molecular characterizations of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from beef cattle and children. *Global Veterinaria*, 2013; 11: 585-591

[19] Koolman L., Whyte P., Burgess C., Bolton D.: Virulence gene expression, adhesion and invasion of *Campylobacter jejuni* exposed to oxidative stress (H₂O₂). *Inter. J. Food Microbiol.*, 2016; 220: 33-38

[20] Lai C.K., Chen Y.A., Lin C.J., Lin H.J., Kao M.C., Huang M.Z., Lin Y.H., Chiang-Ni C., Chen C.J., Lo U.G., Lin L.C., Lin H., Hsieh J.T., Lai C.H.: Molecular mechanisms and potential clinical applications of *Campylobacter jejuni* cytolethal distending toxin. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2016; 6: 9

- [21] Lavrencic P., Kaakoush N.O., Huinao K.D., Kain N., Mitchell H.M.: Investigation of motility and biofilm formation by intestinal *Campylobacter concisus* strains. *Gut Pathog.*, 2012; 4: 22
- [22] Melo R.T., Nalevaiko P.C., Mendonça E.P., Borges L.W., Fonseca B.B., Beletti M.E., Rossi D.A.: *Campylobacter jejuni* strains isolated from chicken meat harbour several virulence factors and represent a potential risk to humans. *Food Control*, 2013; 33: 227-231
- [23] Messaoudi S., Kergourlay G., Dalgalarondo M., Choiset Y., Ferchichi M., Prevost H., Pilet M.F., Chobert J.M., Manai M., Dousset X.: Purification and characterization of a new bacteriocin active against *Campylobacter* produced by *Lactobacillus salivarius* SMXD51. *Food Microbiol.*, 2012; 32: 129-134
- [24] Messaoudi S., Kergourlay G., Rossero A., Ferchichi M., Prevost H., Drider D., Manai M., Dousset X.: Identification of lactobacilli residing in chicken ceca with antagonism against *Campylobacter*. *Int. Microbiol.*, 2011; 14: 103-110
- [25] Mohan V.: The role of probiotics in the inhibition of *Campylobacter jejuni* colonization and virulence attenuation. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 2015; 34: 1503-1513
- [26] Moore J.E.: Bacterial dormancy in *Campylobacter*: abstract theory or cause for concern? *Int. J. Food Sci. Technol.*, 2001; 36: 593-600
- [27] Myga-Nowak M., Godela A., Głab T., Lewańska M., Boratyński J.: Bakteriofagi w walce z infekcjami pokarmowymi wywołanymi zanieczyszczeniem żywności bakteriami z rodzaju *Campylobacter*. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2016; 70: 989-1000
- [28] Nobile C.G., Costantino R., Bianco A., Pileggi C., Pavia M.: Prevalence and pattern of antibiotic resistance of *Campylobacter* spp. in poultry meat in Southern Italy. *Food Control*, 2013; 32: 715-718
- [29] Patrone V., Campana R., Vallorani L., Dominici S., Federici S., Casadei L., Gioacchini A.M., Stocchi V., Baffone W.: CadF expression in *Campylobacter jejuni* strains incubated under low-temperature water microcosm conditions which induce the viable but non-culturable (VBNC) state. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2013; 103: 979-988
- [30] Pitkanen T.: Review of *Campylobacter* spp. in drinking and environmental waters. *J. Microbiol. Methods*, 2013; 95: 39-47
- [31] Radomska K.A., Ordonez S.R., Wösten M.M., Wagenaar J.A., van Putten J.P.: Feedback control of *Campylobacter jejuni* flagellin levels through reciprocal binding of FlhW to flagellin and the global regulator CsrA. *Mol. Microbiol.*, 2016; 102: 207-220
- [32] Reuter M., Mallett A., Pearson B.M., van Vliet A.H.: Biofilm formation by *Campylobacter jejuni* is increased under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2010; 76: 2122-2128
- [33] Rokosz N., Rastawicki W., Wołkowicz T.: Mikrobiologiczna diagnostyka zakażeń wywołanych przez pałeczki *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* u ludzi. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 48-56
- [34] Rokosz-Chudziak N., Rastawicki W.: Wybrane mechanizmy chorobotwórczości pałeczek *Campylobacter jejuni*. *Med. Dośw. Mikrob.*, 2014; 66: 47-58
- [35] Saint-Cyr M.J., Guyard-Nicodeme M., Messaoudi S., Chemaly M., Cappelier J.M., Dousset X., Haddad N.: Recent advances in screening of anti-*Campylobacter* activity in probiotics for use in poultry. *Front. Microbiol.*, 2016; 7: 553
- [36] Saint-Cyr M.J., Haddad N., Taminiau B., Poezevara T., Quesne S., Amelot M., Daube G., Chemaly M., Dousset X., Guyard-Nicodeme M.: Use of the potential probiotic strain *Lactobacillus salivarius* SMXD51 to control *Campylobacter jejuni* in broilers. *Int. J. Food Microbiol.*, 2017; 247: 9-17
- [37] Silva J., Leite D., Fernandes M., Mena C., Gibbs P.A., Teixeira P.: *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: A review. *Front. Microbiol.*, 2011; 2: 200
- [38] Silva J., Teixeira P.: Tackling *Campylobacter*: a review. *Am. J. Adv. Food Sci. Technol.*, 2015; 3: 107-124
- [39] Skarp C.P., Hanninen M.L., Rautelin H.I.: *Campylobacteriosis*: the role of poultry meat. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2016; 22: 103-109
- [40] Sulaeman S., Le Bihan G., Rossero A., Federighi M., De E., Tresse O.: Comparison between the biofilm initiation of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* strains to an inert surface using BioFilm Ring Test®. *J. Appl. Microbiol.*, 2010; 108: 1303-1312
- [41] Vondrakova L., Pazlarova J., Demnerova K.: Detection, identification and quantification of *Campylobacter jejuni*, *coli* and *lari* in food matrices all at once using multiplex qPCR. *Gut Pathog.*, 2014; 6: 12
- [42] Wassenaar T.M., Blaser M.J.: Pathophysiology of *Campylobacter jejuni* infections of humans. *Microbes Infect.*, 1999; 1: 1023-1033
- [43] Wernicki A., Nowaczek A., Urban-Chmiel R.: Bacteriophage therapy to combat bacterial infections in poultry. *Virology*, 2017; 14: 179
- [44] Woraprayote W., Malila Y., Sorapukdee S., Swetwathana A., Benjakul S., Visessanguan W.: Bacteriocins from lactic acid bacteria and their applications in meat and meat products. *Meat Sci.*, 2016; 120: 118-132
- [45] Yang X., Kirsch J., Simonian A.: *Campylobacter* spp. detection in the 21st century: a review of the recent achievements in biosensor development. *J. Microbiol. Methods*, 2013; 95: 48-56

Autorki deklaruja brak potencjalnych konfliktów interesów.