

Received: 2012.08.02  
Accepted: 2013.07.27  
Published: 2014.01.22

## Mikrobiologiczna diagnostyka zakażeń wywołanych przez pałeczki *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* u ludzi

### Microbiological diagnosis of infections caused by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in humans

Natalia Rokosz, Waldemar Rastawicki, Tomasz Wołkowicz

Zakład Bakteriologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

#### Streszczenie

Pałeczki z rodzaju *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* to Gram-ujemne, mikroaerofilne bakterie szeroko rozpowszechnione w przyrodzie, wywołujące u człowieka odzwierzęcą chorobę nazywaną kamylobakteriozą. Zakażenia tymi drobnoustrojami spowodowane są głównie spożyciem skażonych bakteriami produktów żywnościowych pochodzenia zwierzęcego, przede wszystkim nieodpowiednio przygotowanego mięsa drobiowego. Kamylobakterioza przebiega najczęściej pod postacią zapalenia żołądka i jelit lub tylko zapalenia jelit, a do charakterystycznych objawów chorobowych należą: wodnisto-śluzowa biegunka często z obecnością krwi w kale, nudności, wymioty, ból brzucha i gorączka.

Z danych epidemiologicznych wynika, że w Europie, a także w Ameryce Północnej, bakterie z rodzaju *Campylobacter*, w tym przede wszystkim *C. jejuni* i *C. coli*, są najczęściej izolowanymi patogenami w przebiegu zakażeń przewodu pokarmowego u ludzi. Dane epidemiologiczne wskazują, że drobnoustroje te są znacznie częściej przyczyną ostrych biegunek, głównie u małych dzieci, niż pałeczki z rodzaju *Salmonella* czy *Yersinia*. Brak swoistych objawów choroby sprawia, że do rozpoznania kamylobakteriozy konieczne jest przeprowadzenie specjalistycznych badań mikrobiologicznych. Dotychczas laboratoryjna diagnostyka kamylobakteriozy oparta jest na badaniach bakteriologicznych i testach serologicznych, takich jak odczyn wiązania dopełniacza, odczyn immunoenzymatyczny ELISA czy odczyn western-immunoblotting. Ponieważ jak dotąd, badania te wykonywane są w Polsce jedynie w nielicznych laboratoriach, przeważająca liczba zachorowań na kamylobakteriozę nie była odnotowywana w polskich statystykach epidemiologicznych. Celem pracy jest omówienie zagadnień dotyczących mikrobiologicznej diagnostyki zakażeń wywołanych przez pałeczki *C. jejuni* i *C. coli*. Opisano również podstawowe dane epidemiologiczne, kliniczne oraz obowiązujące wytyczne dotyczące leczenia kamylobakteriozy u ludzi.

**Słowa kluczowe:** *Campylobacter jejuni* • *Campylobacter coli* • kamylobakterioza • zapalenie jelit

#### Summary

*Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* are Gram-negative, microaerophilic bacteria which are worldwide in distribution, causing a zoonotic disease in humans called campylobacteriosis. These infections are mainly caused by eating contaminated food products, most often improperly prepared poultry meat. Campylobacteriosis usually takes the form of gastroenteritis, or inflammation of the intestines, and the characteristic symptoms are watery-mucous diarrhea often with the presence of blood in stool, nausea, vomiting, abdominal pain and fever. The epidemiological data suggest that in Europe, as well as in North America, bacteria of the genus *Campylobacter*, especially *C. jejuni* and *C. coli*, are the most commonly isolated pathogens

	in infections of the gastrointestinal tract in humans. Epidemiological data indicate that these organisms are a much more common cause of acute diarrhea, mostly in young children, than <i>Salmonella</i> and <i>Yersinia</i> . The lack of specific symptoms makes the diagnosis of campylobacteriosis necessary to carry out specialized microbiological diagnostics. Because so far these studies are performed in our country only in a few laboratories, the overwhelming number of cases of campylobacteriosis are not recorded in Polish epidemiological statistics. The purpose of this paper is to discuss issues related to the microbiological diagnosis of infections caused by <i>C. jejuni</i> and <i>C. coli</i> . It also describes the basic epidemiological and clinical data, as well as current treatment of campylobacteriosis.
<b>Key words:</b>	<b><i>Campylobacter jejuni</i> • <i>Campylobacter coli</i> • campylobacteriosis • enteritis</b>
<b>Full-text PDF:</b>	<a href="http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1086079">http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1086079</a>
<b>Word count:</b>	1062
<b>Tables:</b>	1
<b>Figures:</b>	1
<b>References:</b>	33

**Adres autorki:** mgr Natalia Rokosz, Zakład Bakteriologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie, ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa; e-mail: nrokoz@pzh.gov.pl

## WPROWADZENIE

Pałeczki z rodzaju *Campylobacter* to Gram-ujemne, mikroaerofilne, ruchliwe pałeczki o długości 0,5–5 µm i średnicy 0,2–0,8 µm należące do typu *Proteobacteria*, klasy *Proteobacteria*, rodziny *Campylobacteraceae* [14,20,41,43]. Wywołują u ludzi odzwierzęcą chorobę nazwaną kampylobakteriozą.

Bakterie *Campylobacter* stanowią naturalną mikroflorę przewodu pokarmowego zarówno zwierząt hodowlanych (drób, bydło, owce, świnie), jak i dziko żyjących [1,9,14,38]. Do zakażenia pałeczkami *Campylobacter* sp. dochodzi najczęściej w wyniku spożycia niepoddanych odpowiedniej obróbce cieplnej potraw mięsnych, zwłaszcza przygotowanych z mięsa drobiowego oraz nieprzestrzegania podstawowych zasad higieny [7,12,27,31]. Do zakażenia może także doprowadzić spożycie skażonego pałeczkami *Campylobacter* sp. niepasteryzowanego mleka i jego przetworów lub skażonej wody. Znane są także przypadki zakażenia ludzi w następstwie bezpośredniego kontaktu ze zwierzętami domowymi lub hodowlanymi [9,19].

## EPIDEMIOLOGIA KAMPYLOBAKTERIOZY

W Polsce na mocy ustawy o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi z dnia 13 lipca 2012 r. każdy przypadek kampylobakteriozy podlega rejestracji [37,38,40,42]. Informacje o liczbie potwierdzonych przypadków kampylobakteriozy są publikowane w postaci „Meldunków o zachorowaniach na choroby zakaźne i zatrucia w Polsce” oraz w postaci biuletynów rocznych „Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce”. Z danych opublikowanych przez Zakład Epidemiologii Narodowego Insty-

tutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie w 2010 roku wynika, że w przeciągu ostatnich 6 lat liczba potwierdzonych przypadków kampylobakteriozy wzrosła prawie 14-krotnie; z 24 odnotowanych w 2004 r. do 352 odnotowanych w 2011 r., co daje zapadalność na poziomie 0,92 na 100 tysięcy mieszkańców [23,24]. Z danych epidemiologicznych przedstawionych w raporcie w 2011 r. przez Europejskie Centrum do Spraw Zapobiegania i Kontroli Chorób (ECDC) w 2009 r. wynika natomiast, że średnia zapadalność na kampylobakteriozę w Europie kształtowała się na poziomie 53,07. I tak, na przykład w 2009 r. zapadalność na kampylobakteriozę w krajach sąsiadujących z Polską wynosiła odpowiednio: w Czechach 193,54 (20259 przypadków zachorowań), w Słowacji 70,45 (3813 zachorowań), w Niemczech 76,57 (62787 przypadków) i na Litwie 24,24 (812 przypadków) [13].

Tak niska liczba potwierdzonych przypadków kampylobakteriozy w naszym kraju, w porównaniu do innych krajów europejskich, wynika z braku powszechnej rutynowej bakteriologicznej diagnostyki w wielu pracowniach diagnostycznych, a także z niezgłaszaniem się do lekarza osób z łagodnym przebiegiem kampylobakteriozy. Aczkolwiek badania przeprowadzone już w latach 80 i 90 XX w. w niektórych ośrodkach w Polsce wskazywały na konieczność wprowadzenia rutynowych badań w kierunku bakteriologicznej diagnostyki kampylobakteriozy. Obecnie bakteriologiczna diagnostyka kampylobakteriozy wykonywana jest zaledwie w kilku ośrodkach w Polsce w tym m. in. w: Powiatowej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Bielsku-Białej, PSSE w Tarnowie, w Samodzielnym Publicznym Specjalistycznym Szpitalu Zachodnim w Grodzisku Mazowieckim bądź w Samo-

dzielnym Publicznym Dziecięcym Szpitalu Klinicznym w Warszawie [28,32,38,40,44].

W większości przypadków kamylobakteriozę wywołują głównie pałeczki *C. jejuni*, znacznie rzadziej *C. coli*. W 2009 r. pałeczki z rodzaju *Campylobacter* wyhodowano w Polsce od 283 (78,6%) osób z kamylobakteriozą, z czego w 225 (62,5%) przypadkach były to pałeczki *C. jejuni*, u 47 (13,0%) pałeczki *C. coli* a jedynie u 11 (3,0%) osób pałeczki *C. upsaliensis* [36].

### OBRAZ KLINICZNY KAMPYLOBakteriozy

Kamylobakterioza przebiega najczęściej pod postacią zapalenia żołądka i jelit lub tylko zapalenia jelit. Objawy chorobowe są różnorodne i obejmują: biegunkę (52-100% przypadków) często z obecnością krwi w kale (0,5-32%), nudności (28-59%), wymioty (1-42%), ból brzucha w okolicy pępkowej (56-99%), gorączkę (6-75%) [9,25,29]. Choroba rozwija się w ciągu 1-7 dni od zakażenia i często poprzedzona jest objawami, takimi jak bóle głowy i mięśni czy gorączka [7,14,31]. Objawy kamylobakteriozy zazwyczaj ustępują samoistnie po 2-7 dniach, jednakże znane są także przypadki przewlekłej biegunki. U około 30% pacjentów mogą wystąpić tylko objawy grypopodobne [19]. Na zakażenie pałeczkami *C. jejuni* i *C. coli* narażeni są głównie ludzie ze skrajnych grup wiekowych, w tym przede wszystkim małe dzieci poniżej piątego roku życia, a także młodzi ludzie w wieku 15-35 lat [9,13,14,32]. U osób leczonych immunosupresyjnie oraz u osób z obniżoną odpornością w sporadycznych przypadkach może wystąpić uogólniona postać kamylobakteriozy – posocznica oraz zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych [9,13,19].

Przebyte zakażenie pałeczkami *C. jejuni* może u niektórych osób spowodować po 10-30 dniach od zakażenia groźne w skutkach powikłania neurologiczne, takie jak zespół Guillaina-Barrégo. Częstość występowania tego zespołu jest szacowana na 1-2 przypadki rocznie na 100 tys. osób [9,14,29]. Według tych samych źródeł nawet do 40% przypadków tego zespołu może być wynikiem wcześniejszego zakażenia pałeczkami *C. jejuni*, najczęściej należącymi do serotypu O:19. Do innych pozakaźnych powikłań, również o podłożu autoimmunologicznym, należy reaktywne zapalenie stawów lub zespół Reitera, który zazwyczaj obserwowany jest u osób posiadających antygen HLA B27 [9,14,19]. Częstość występowania stawowych powikłań po kamylobakteriozie ocenia się na 2-3% [25]. Ponadto stwierdzone są inne postacie kamylobakteriozy, takie jak: wrzodziejące zapalenie jelita grubego, zapalenie wątroby, trzustki lub pęcherzyka żółciowego [9,14].

### LECZENIE CHORYCH Z KAMPYLOBakteriozą

Kamylobakterioza należy do chorób samoograniczających się i zazwyczaj wymaga jedynie leczenia objawowego, polegającego na podawaniu płynów i elektrolitów, lekkostrawnej diety oraz stosowaniu probiotyków i preparatów witaminowych [9]. Etiotropowe leczenie wskazane jest w przypadku ciężkiego przebiegu zakaże-

nia objawiającego się wysoką gorączką oraz ostrą, krwawą biegunką, utrzymującą się ponad tydzień, a także u osób z niedoborem odporności i u ciężarnych kobiet [9,25,40,48]. Pałeczki *C. jejuni/coli* są zwykle odporne na większość antybiotyków  $\beta$ -laktamowych (z wyjątkiem karbapenemów), trimetoprim, sulfametoksazol, rifampicynę czy wankomycynę, dlatego też w leczeniu pacjentów ze zdiagnozowaną kamylobakteriozą standardem we wstępnej terapii jest podawanie antybiotyków makrolidowych, takich jak erytromycyna czy azytromycyna [1,4,9, 14,20,33,35,48]. O zastosowaniu tych leków w terapii decyduje zazwyczaj łatwość ich użycia, niewystępowanie poważnych działań niepożądanych, a przede wszystkim stosunkowo wysoki stopień skuteczności klinicznej [3]. W Polsce jak dotąd nie obserwuje się występowania oporności na erytromycynę czy azytromycyną wśród szczepów *Campylobacter*.

W terapii zakażeń o etiologii *Campylobacter* stosowane też mogą być fluorochinolony, które podaje się pacjentom powyżej 16 r.ż z niezdiagnozowanymi stanami zapalnymi jelit, ze względu na ich szeroki zakres działania [3,9,11,15,17,34,35]. Niestety w ostatnich latach zaobserwowano gwałtownie narastającą oporność szczepów *Campylobacter* na fluorochinolony, głównie na ciprofloksacynę i kwas nalidyksowy, sięgającą poziomu ponad 70% opornych szczepów *C. jejuni* i prawie 100% *C. coli*. [9,11,20,45,48]. Oporność na te leki związana jest m.in. z mutacjami punktowymi w genach *gyrA* i *gyrB* kodujących gyrazę oraz *parC* i *parE* kodujących topoisomerazę IV [3,9,35]. Czynnikiem ryzyka w zakażeniach szczepami opornymi na fluorochinolony są zagraniczne podróże i wcześniejsze stosowanie tych leków [15]. Spośród innych leków stosowanych w leczeniu kamylobakteriozy należy wymienić: tetracyklinę, gentamycynę, amoksylicynę z kwasem klawulanowym oraz karbapenemy. Jednak wśród 40% szczepów *Campylobacter* izolowanych w Polsce w 2008 r. stwierdzono oporność na tetracyklinę wynikającą przede wszystkim z częstego stosowania tych antybiotyków zarówno w medycynie, jak i w weterynarii [31,33,34,35,47,50]. Amoksylicyna z kwasem klawulanowym (jednak nie sulbactam ani tazobactam) wydają się lekami skutecznymi [40]. Ostre infekcje powinny być leczone aminoglikozydami, np. gentamycyną lub imipenemem. Gentamycyna może być skuteczna w połączeniu z karbapenemami w leczeniu posocznicy oraz innych układowych zakażeń bakteryjnych jednak nie może być stosowana u kobiet w ciąży [21]. Z kolei imipenem może być stosowany tylko wówczas, gdy inne możliwości antybiotykowe zostały wykorzystane. W terapii zakażeń pałeczkami *Campylobacter* sp. lekami z wyboru są dwa antybiotyki: erytromycyna u pacjentów ze zdiagnozowaną kamylobakteriozą oraz fluorochinolony u pacjentów z niezdiagnozowanymi stanami zapalnymi jelit [1,9,11,15,16].

Istotnym problemem jest stosowanie rifaksyminy w zakażeniach o etiologii *Campylobacter*. Pierwotnie lek ten był w Polsce (ale nie w innych krajach) zarejestrowany do stosowania w leczeniu bardzo różnorodnych zakażeń

przewodu pokarmowego wywołanych przez różne bakterie patogenne, w tym pałeczki *Salmonella*, *Shigella* oraz *Campylobacter*. Badania przeprowadzone (dane niepublikowane) w Zakładzie Bakteriologii NIZP-PZH wykazały jednak bardzo wysoki poziom niewrażliwości *Campylobacter* na ten lek.

## DIAGNOSTYKA BAKTERIOLOGICZNA

Podstawą laboratoryjnego kryterium rozpoznania kampylobakteriozy jest wyizolowanie patogenu z próbek materiału klinicznego [1,5,9,19,40,46]. Bakteriologiczna diagnostyka kampylobakteriozy obejmuje bezpośrednio badanie mikroskopowe oraz izolację i identyfikację drobnoustrojów. W przypadku zakażeń jelitowych materiałem do badań bakteriologicznych jest próbka kału ewentualnie wymaz z odbytu. W przypadku zakażenia uogólnionego materiałem może być krew lub płyn mózgowo-rdzeniowy [1,9,40,46]. Próbka kału powinna być pobrana w ostrej fazie choroby do jałowego naczynia lub do podłoża transportowego zawierającego węgiel aktywowany (podłoże Amiesa, Stuarta czy Cary-Blaira) i niezwłocznie dostarczona do laboratorium mikrobiologicznego [1,9,46]. Próbka kału pobrana do jałowego pojemniczka powinna zostać dostarczona do laboratorium najpóźniej w ciągu kilku godzin, natomiast do podłoża transportowego w ciągu 48 godzin. Próbkę krwi lub płynu mózgowo-rdzeniowego należy posiać na płynne podłoże standardowo przeznaczone do tego rodzaju materiału klinicznego [40].

Hodowlę pałeczek *Campylobacter* prowadzi się 1-5 dni w warunkach mikroaerofilnych w temperaturze 42°C. Do izolacji pałeczek *C. jejuni* czy *C. coli* stosuje się zazwyczaj wzbogacone selektywne pożywki najczęściej z dodatkiem 5% krwi baraniej lub końskiej. Wybór pożywki zależy od rodzaju posiewanej próbki materiału. Jedną z najczęściej wykorzystywanych pożywek do posiewu próbki kału jest podłoże CCDA (*Campylobacter blood* – free selective medium – charcoal, cefoperazon, deoxycholate agar). Jest to podłoże najbardziej przydatne do izolacji pałeczek *C. jejuni* i *C. coli*. Zawiera ono m.in. węgiel drzewny, amfoterycynę B, cefoperazon i dezoksychofan sodu (ryc.1). Innymi stosowanymi do hodowli pożywkami selektywnymi są: Agar Skirrow, Agar Karmali, Agar Prestona [46]. Odpowiednie mikroaerofilne warunki hodowli, tj. atmosferę: 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub> można zapewnić wykorzystując zamknięte systemy typu CampyGen, GasPak CampyPak czy Generbox, produkowane przez takie firmy jak Oxoid, bioMérieux lub Becton Dickinson [26,46].

Na podłożu CCDA pałeczki *Campylobacter* rosną w postaci szarych lub mlecznych kolonii. W zależności od szczepu i wilgotności podłoża kolonie mogą być zwarte, okrągłe lub lekko rozlewające się [46].

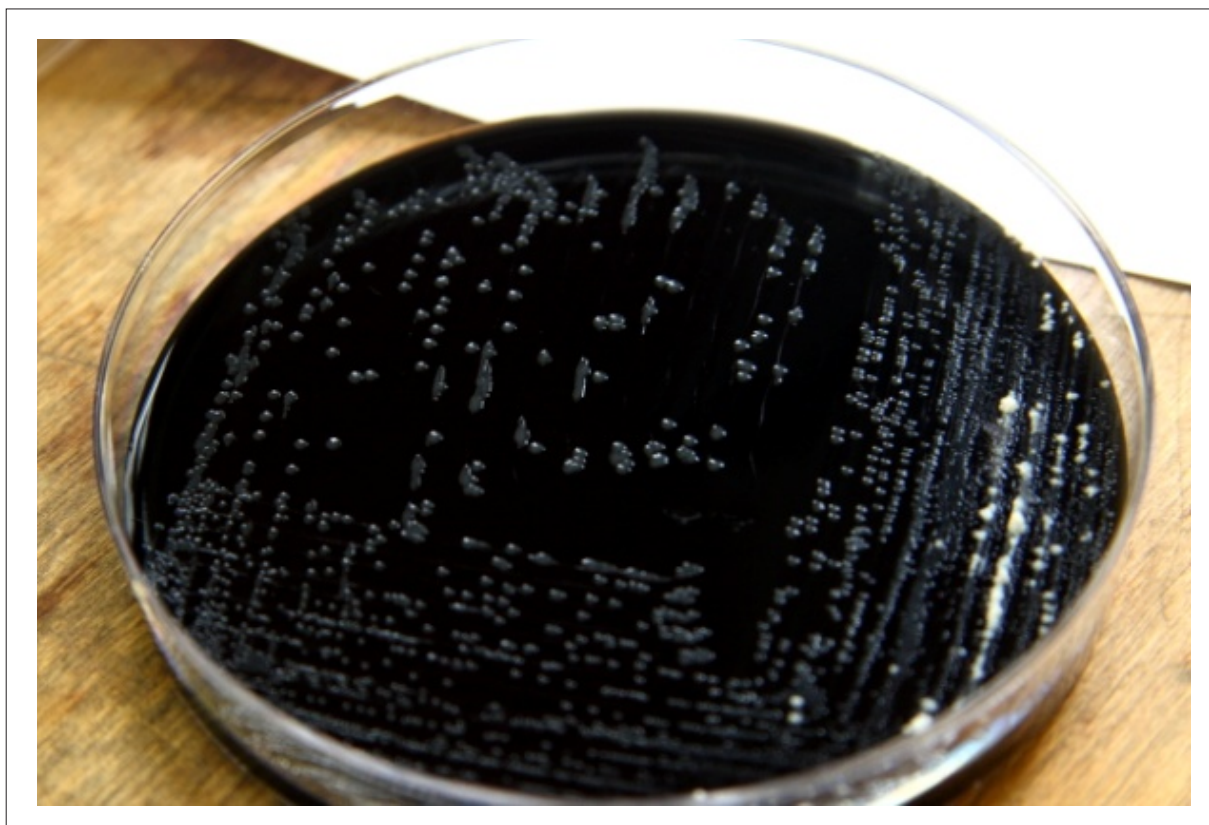
Po uzyskaniu wzrostu drobnoustrojów na pożywkach stałych przeprowadza się wstępne testy identyfikujące, takie jak preparat przyżyciowy (pozwalający na spraw-

dzenie zdolności do ruchu), preparat barwiony metodą Grama oraz test na wytwarzanie oksydazy cytochromowej (pałeczki *Campylobacter* zawsze dają dodatni wynik tego testu). Preparat przyżyciowy wykonujemy przez zawieszenie pojedynczej kolonii w kropli soli fizjologicznej lub podłoża płynnego. Preparaty należy oglądać pod mikroskopem przy powiększeniu 600-krotnym [20,26,46]. W preparacie barwionym metodą Grama poszukujemy Gram-ujemnych, spiralnych lub sierpowatych komórek [1,37]. Pałeczki *C. jejuni* i *C. coli*, dzięki pojedynczej rzęście umieszczonej na jednym lub dwóch biegunach komórki, są zdolne do spiralnego ruchu.

Podejrzone kolonie, o morfologii Gram-ujemnych pałeczek wykazujących dodatni wynik testu na ruch oraz testu na wytwarzanie oksydazy cytochromowej, przesiewa się na podłoże Columbia agar z dodatkiem 5% krwi baraniej (np. Columbia agar + sheep blood plus firmy Oxoid), które następnie inkubuje się przez 24 godziny w temperaturze 42°C. Następnie wykonuje się identyfikację wyrosłych kolonii bakteryjnych [26,46].

W niektórych krajach do izolacji pałeczek *C. jejuni* i *C. coli* z próbki kału stosuje się metodę filtracji, wykorzystującą dwie bardzo charakterystyczne cechy tych bakterii – ruchliwość i bardzo mały rozmiar komórki. Metoda ta polega na selektywnym przechodzeniu pałeczek *Campylobacter* przez filtr membranowy o średnicy 0,45-0,65 µm przy jednoczesnym zatrzymaniu pozostałych bakterii jelitowych na membranie. Po usunięciu filtra z podłoża, płytki inkubuje się w warunkach mikroaerofilnych w temperaturze 42°C, po czym wyrosłe kolonie poddaje się dalszej identyfikacji. Szacuje się, że metoda filtracji próbki kału jest przede wszystkim przydatna do izolacji innych niż *C. jejuni* i *C. coli* pałeczek *Campylobacter* (przy zastosowaniu tej metody izolacji zaobserwowano wzrost izolacji tych pałeczek z 1 do prawie 20%) [26,46].

Różnicowanie pałeczek *Campylobacter* sp., umożliwiające identyfikację wyizolowanych szczepów, polega na ocenie cech morfologicznych wyrosłych kolonii oraz ocenie właściwości biochemicznych, które w większości można oznaczyć testem API Campy firmy bioMérieux [26]. Na podłożu Columbia agar z dodatkiem 5% krwi baraniej, typowe pałeczki *Campylobacter* tworzą szare kolonie z metalicznym połyskiem lub bez połysku [26,46]. Obecnie podstawowymi testami biochemicznymi wykorzystywanymi do różnicowania pałeczek *C. jejuni* i *C. coli* od innych gatunków rodzaju *Campylobacter* są: zdolność do wytwarzania katalazy, hydrolizy octanu indoksyłu i hydrolizy hipuranu sodu. Test na zdolność hydrolizy hipuranu sodu pozwala przede wszystkim na odróżnienie pałeczek *C. jejuni*, mających taką zdolność, od *C. coli*, *C. lari* czy *C. upsaliensis*, niehydrolizujących hipuranu sodu. Niestety liczne publikacje donoszą o występowaniu szczepów *C. jejuni* niehydrolizujących hipuranu sodu [15,26,46]. Szacuje się, że izolaty te stanowią około 10% wszystkich izolowanych szczepów tego gatunku. Testami biochemicznymi nie można odróżnić hipuranoujemnych szczepów *C. jejuni* od szczepów *C. coli*. W takim przypadku, przynależność



Ryc. 1. Wzrost *C. jejuni* na selektywnym podłożu CCDA

wyhodowanego szczepu do gatunku można określić metodą PCR z użyciem odpowiednich, gatunkowo swoistych par starterów [30,45].

#### **BADANIE LEKOOPORNOŚCI**

Obecnie najczęściej lekooporność pałeczek *Campylobacter* oznacza się paskami E-test na podłożu stałym Mueller-Hinton agar z dodatkiem 5% krwi końskiej, co pozwala na określenie wartości MIC (MIC - minimal inhibitory concentration) poszczególnych leków. Do kontroli podłoża stosowanego dla pasków E-testu wykonuje się oznaczenie lekooporności szczepu referencyjnego *C. jejuni* ATCC 33560 lub *C. coli* ATCC 33559. Inkubację prowadzi się w warunkach mikroaerofilnych w temperaturze 42°C przez 24 godziny [9,12,14,48]. Europejski Komitet do spraw Oznaczenia Lekowrażliwości (EUCAST) sugeruje oznaczanie lekooporności pałeczek *C. jejuni* czy *C. coli* tańszą i prostszą w wykonaniu metodą krążkowo-dyfuzyjną [12]. Do tego celu używa się stałego podłoża Mueller-Hinton agar z dodatkiem 5% krwi końskiej. Po rozprowadzeniu na powierzchni podłoża zawiesiny bakterii o gęstości 0,5 McFarlanda, nakłada się krążek z odpowiednim antybiotykiem, tj. ciprofloksacyną, erytromycyną lub tetracykliną. Niestety, obecnie EUCAST podaje wytyczne interpretacyjne jedynie dla ciprofloksacyny, erytromycyny, azytromycyny, klarytromycyny, doksycyliny oraz tetracykliny. Na stronie EUCAST można znaleźć aktualne wytyczne dotyczące wyznaczonych wartości MIC dla poszczegól-

nych antybiotyków [12]. Jednak ze względu na fakt, iż dla wielu antybiotyków nie ma jednoznacznych kryteriów interpretacyjnych dla metody krążkowo-dyfuzyjnej obecnie do oznaczania lekooporności szczepów pałeczek *C. jejuni* przez EUCAST preferowana jest metoda pasków E-test, która stosowana jest już od wielu lat w niektórych ośrodkach [12,31,33].

#### **BADANIA GENETYCZNE**

W określaniu gatunku pałeczek *Campylobacter* wykorzystano technikę PCR, wykrywającą swoiste dla różnych gatunków sekwencje DNA, w tym głównie sekwencje 16S rDNA, sekwencje genu *hipO* kodującego hipurykazę lub genu *asp* kodującego aspartokinazę [2,22]. Jedną z zalet metody PCR jest krótki czas oczekiwania na wynik identyfikacji tych bakterii w porównaniu do metod stosowanych w testach biochemicznych. Z danych opublikowanych przez Bessede i wsp. [7] wynika, że metoda PCR, w stosunku do hodowli, jak i metody oznaczania antygenu pałeczek *Campylobacter* w próbce kału, odznacza się 85,7% czułością oraz 99,3% swoistością. W związku z tym, do różnicowania gatunkowego pałeczek *Campylobacter* stosowana jest metoda PCR. Obecnie nie ma dostępnych na rynku komercyjnych zestawów umożliwiających identyfikację i różnicowanie szczepów *Campylobacter* wyizolowanych z materiału klinicznego metodą PCR. Identyfikacja pałeczek *Campylobacter* metodą PCR wykonywana jest m. in. w Zakładzie Bakteriologii NIZP-PZH w Warszawie [6].

Ponadto w ostatnich latach do identyfikacji pałeczek *C. jejuni* i różnicowania ich od innych innych drobnoustrojów wywołujących zakażenia przewodu pokarmowego, takich jak *Yersinia*, *Salmonella* i *Shigella* wykorzystywana jest jakościowa i ilościowa metoda real-time PCR [2,21,49,51].

### **OZNACZANIE ANTYGENU PAŁECZEK *C. JEJUNI* I *C. COLI* W PRÓBCE KAŁU**

W diagnostyce zakażeń pałeczkami *C. jejuni* i *C. coli* coraz bardziej powszechne są badania serologiczne. Obecnie dostępne są komercyjne testy ELISA umożliwiające wykrycie odczynem immunoenzymatycznym ELISA antygenu pałeczek *C. jejuni* i/lub *C. coli* w próbce kału [7,17]. W sprzedaży dostępne są komercyjne zestawy ELISA, takie jak: Prospec T *Campylobacter* EIA firmy Remel (test dostępny jest od ponad 10 lat w USA, a obecnie również w Europie), PremierCAMPY EIA i ImmunoCard STAT! CAMPY firmy Meridian Bioscience (USA) (tabela 1). Z badań przeprowadzonych przez Granato i wsp. wynika, iż testy te odznaczają się wysoką czułością, która wynosi odpowiednio dla testu Prospec T 80-96%, testu PremierCAMPY EIA 96,7% i testu ImmunoCard STAT! CAMPY 98,1% [17]. Istotną zaletą tej metody jest możliwość uzyskania wyniku badania już po około 2 godzinach. Ze względu na możliwość uzyskania nieswoistego wyniku badania, laboratoryjna diagnostyka kamylobakteriozy nie może być jednak oparta wyłącznie na poszukiwaniu antygenu w próbkach kału. Ostatnie publikacje potwierdzają, iż poszukiwanie antygenu odczynem ELISA, tak samo jak i metodą PCR, nabiera ją coraz większego znaczenia w rutynowej diagnostyce kamylobakteriozy i stanowią bardzo dobre uzupełnienie tradycyjnych metod [7,17].

### **OZNACZANIE POZIOMU SWOISTYCH PRZECIWCIAŁ W SUROWICY**

Podobnie jak poszukiwanie antygenu w próbce kału, oznaczanie poziomu swoistych przeciwciał w próbce surowicy, należy traktować jako badanie uzupełniające diagnostykę bakteriologiczną i/lub genetyczną.

Początkowo w serodiagnostyce kamylobakteriozy stosowano odczyn wiązania dopełniacza [6,8,18,27,28,39]. Obecnie, ze względu na wysoką czułość oraz możliwość określania poziomu swoistych przeciwciał dla różnych antygenów pałeczek *C. jejuni*/*C. coli* w poszczególnych klasach immunoglobulin w serologicznej diagnostyce kamylobakteriozy i jej powikłań stosuje się odczyn immunoenzymatyczny ELISA oraz odczyn western-immunoblotting [27,28,39]. Badania serologiczne wykonywane są powszechnie w wielu krajach Europy Zachodniej i USA, a od 2008 r. również w Polsce (NIZP-PZH) [28]. Są one szczególnie przydatne w diagnostyce powikłań występujących po zakażeniu pałeczkami *C. jejuni*, takich jak reaktywne zapalenie stawów czy zespołach Guillaina-Barrégo i Millera-Fishera [6,28,29]. Badania serologiczne w kierunku kamylobakteriozy mają również znaczenie w przypadku, gdy u pacjenta rozpoczęto leczenie antybiotykami lub objawy kliniczne wskazują na zakażenie pałeczkami *C. jejuni* i/lub *C. coli*, a wynik badania bakteriologicznego był ujemny [28]. Dostępnych

jest na rynku wiele testów komercyjnych, takich jak Serion ELISA Classic *Campylobacter* IgA/IgG/IgM firmy Virion/Serion (Niemcy) czy recomWell *Campylobacter* IgA/IgG firmy Mikrogen (Niemcy) (tabela 1) [6,28,29,36,39]. W teście ELISA firmy Virion/Serion producent zastosował uzyskane w warunkach natywnych termostabilne białko o masie 45 kDa będące głównym białkiem błony zewnętrznej pałeczek *Campylobacter jejuni* [18]. W podobnym teście firmy Mikrogen zastosowano z kolei rekombinowane białka *C. jejuni* i *C. coli*, takie jak: PEB4, OMP18, P39 [28].

Serodiagnostyka kamylobakteriozy napotyka jednak na wiele problemów, związanych z dużą antygenową różnorodnością szczepów *Campylobacter* i zmienną, zależną od przebiegu klinicznego, odpowiedzią immunologiczną osób chorych [8,28].

W przebiegu zakażenia wywołanego przez pałeczki *Campylobacter* wytwarzane są surowicze przeciwciała klasy IgA, IgM i IgG [6,8,9,25,39]. Przeciwciała klasy IgA dla antygenów pałeczek *C. jejuni* pojawiają się w surowicy około piątego dnia od zakażenia osiągając maksymalny poziom w drugim tygodniu choroby [9,19]. Przeciwciała tej klasy można wykryć na diagnostycznie znamiennej poziomie w surowicy osób z przebiegłą kamylobakteriozą do trzech miesięcy od początku objawów klinicznych [9,19]. Poziom przeciwciał klasy IgG narasta powoli, lecz utrzymuje się na wysokim poziomie nawet do kilku-kilkunastu miesięcy [19]. Uważa się, że w celu potwierdzenia ostrej infekcji jelitowej, najwyższą wartość diagnostyczną ma wykazanie znamiennego przyrostu poziomu przeciwciał klasy IgA i IgM, rzadziej klasy IgG, w dwóch próbkach surowicy uzyskanych w odstępie 2 tygodni [28,39]. W przypadku powikłań kamylobakteriozy przyjęto, iż największe znaczenie ma wykazanie serokonwersji przeciwciał klasy IgA i IgG [6,8,10,28,29,39].

Obecnie w wielu krajach prowadzone są badania mające na celu uzyskanie nowych rekombinowanych antygenów pałeczek *C. jejuni* i *C. coli*. Wydaje się, iż odpowiednio wyselekcjonowane białka staną się w najbliższym czasie podstawą do opracowania prototypu nowych testów diagnostycznych umożliwiających nie tylko rozpoznanie kamylobakteriozy czy jej powikłań, ale również różnicowanie faz tej choroby [10].

### **PODSUMOWANIE**

Diagnostyka mikrobiologiczna zakażeń pałeczkami *C. jejuni* i *C. coli* obejmuje zarówno metody izolacji bakterii z próbek materiału klinicznego, jak i techniki biologii molekularnej i metody serologiczne. Trzeba pamiętać, że złotym standardem w diagnostyce kamylobakteriozy jest metoda izolacji i hodowli tych drobnoustrojów. Istnieją jednak ograniczenia tej metody polegające na stosunkowo niewielkiej czułości w późniejszych fazach choroby, konieczności użycia specjalistycznych pożywek oraz na długim okresie oczekiwania na wynik badania bakteriologicznego. W przypadku wyizolowania

Tabela 1. Metody laboratoryjnej diagnostyki zakażeń wywołanych przez pałeczki *C. jejuni* i *C. coli*

Metoda/ pożywka	Dostępny zestaw komercyjny/czułość i swoistość	Uwagi
Podłoże transportowe z węglem aktywowanym (podłoże Amiesa, Stuarta lub Cary – Blaira) Podłoże selektywne CCDA. Pożywki selektywne: Agar Skirrow, Agar Karmali, Agar Prestona Podłoże Columbia agar z dodatkiem 5% krwi baraniej	Podłoża wykonane we własnym zakresie lub gotowe podłoża komercyjne Czułość 94,6% Swoistość: 100% [7]	Typowe pałeczki <i>C. jejuni</i> tworzą szare kolonie z metalicznym połyskiem lub bez połysku. Kolonie <i>C. coli</i> są szare, wypukłe o wilgotnym wyglądzie
<b>Rodzaj badania</b>	<b>PCR</b>	
Łańcuchowa reakcja polimerazy (PCR)	Metoda PCR opracowana we własnym zakresie w wybranych krajowych ośrodkach. Czułość 85,7% Swoistość 99,3% [7]	Brak dotychczas dobrze zwalidowanej metody, która mogła być wykorzystywana w rutynowej diagnostyce mikrobiologicznej kamylobakteriozy
<b>Rodzaj badania</b>	<b>Badania serologiczne</b>	
Oznaczenie obecności antygeny pałeczek <i>C. jejuni</i> i <i>C. coli</i> w próbce kału	• Premier™CAMPY Assay Firmy Meridian Bioscience, Inc., (czułość: 96,7%, swoistość: 95,6%*),	Odczyn immunoenzymatyczny ELISA Czas wykonania badania około 3 godzin
	• ProSpecT™ Campylobacter Microplate firmy Remel, (czułość: 83,7-89%, swoistość: 97,7%*),	
	• Ridascreen Campylobacter firmy Biopharm (czułość: 96,8%, swoistość: 99,2%*)	
Oznaczenie poziomu przeciwciał dla antygenów <i>C. jejuni</i> i/lub <i>C. coli</i> w próbce surowicy	• ImmunoCard STAT CAMPY firmy Meridian Bioscience, Inc. (czułość: 98,1%, swoistość: 95,9%*),	Test immunochromatograficzny Czas wykonania około 20 minut
	• Xpect Campylobacter Assay (Remel) (czułość: 74,2 %, swoistość: 99,4% [14]; test jeszcze niedostępny na rynku komercyjnym [14])	
	CFT Campylobacter jejuni firmy Virion/Serion	Odczyn wiązania dopełniacza Brak możliwości oznaczenia poziomu przeciwciał w poszczególnych klasach immunoglobulin
Oznaczenie poziomu przeciwciał dla antygenów <i>C. jejuni</i> i/lub <i>C. coli</i> w próbce surowicy	Serion ELISA classic Campylobacter jejuni IgA/IgG/IgM firmy Virion/Serion, (czułość: >99 %, - swoistość: 83,6%*)	Odczyn immunoenzymatyczny ELISA Oznaczenie poziomu pprzeciwciał dla białka <i>C. jejuni</i> o masie 45 kDa
	RecomWell Campylobacter IgG/ IgA firmy Mikrogen, (czułość: IgG -86 %, IgA – 40%*)	Odczyn immunoenzymatyczny ELISA Oznaczenie poziomu przeciwciał w klasie IgA i IgG dla rekombinowanych białek <i>C. jejuni</i> i <i>C. coli</i> , tj. PEB4, OMP18 i P39
Oznaczenie obecności przeciwciał dla antygenów <i>C. jejuni</i> i/lub <i>C. coli</i> w próbce surowicy	RecomLine Campylobacter IgG/ IgA firmy Mikrogen, (czułość: IgG -80 %, IgA -37 %*)	Odczyn western-immunobloting. Oznaczenie poziomu przeciwciał dla rekombinowanych białek <i>C. jejuni</i> i <i>C. coli</i> , tj. MOMP, PEB4, PEB2, PEB1, OMP18 i P39

\*[dane producenta]

z próbki materiału klinicznego szczepu *C. jejuni* czy *C. coli* należy określić jego lekowrażliwość. W diagnostyce kampylobakteriozy wykorzystywana jest również metoda PCR umożliwiająca określenie przynależności danego szczepu do określonego gatunku *Campylobacter* sp., jak również ocenę występowania poszczególnych markerów zjadliwości. W przypadku dłużej utrzymujących się infekcji i w diagnostyce powikłań występujących po zakażeniu pałeczkami *C. jejuni* i/lub *C. coli*, takich jak reaktywne zapalenie stawów czy zespół Guillaina-Barrego przydatne są metody serologiczne umożliwiające

poszukiwanie swoistych przeciwciał w próbkach surowicy osób chorych.

Europejskie statystyki epidemiologiczne wskazują, że zapadalność na tę chorobę w Polsce jest znacznie niższa niż w pozostałych krajach europejskich. Ze względu na dużą liczbę przypadków bezobjawowej kampylobakteriozy u ludzi znaczna część tych przypadków pozostaje nierozpoznana. Dodatkowo, badania bakteriologiczne jak i serologiczne w kierunku kampylobakteriozy wykonywane są w Polsce w nielicznych laboratoriach.

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Adedayo O., Kirkpatrick B.: *Campylobacter jejuni* infections: update of presentation, diagnosis, and management. *Hosp. Physician.*, 2008; 44: 9-15
- [2] Al Amri A., Senok A.C., Ismael A.Y., Al-Mahmeed A.E., Botta G.A.: Multiplex PCR for direct identification of *Campylobacter* spp. in human and chicken stools. *J. Med. Microbiol.*, 2007; 56: 1350-1355
- [3] Albrecht P., Kotowska M. Antybiotykoterapia bakteryjnych zakażeń przewodu pokarmowego – *Helicobacter pylori*, *Yersinia enterocolitica*, *Campylobacter jejuni*. *Przew. Lek.*, 2007; 2: 133-138
- [4] Allos B.M.: *Campylobacter jejuni* infections: Update on emerging issues and trends. *Clin Infect. Dis.*, 2001; 32: 1201-1206
- [5] Allos B., Taylor D.: *Campylobacter* infections. W: *Bacterial infections of humans. Epidemiology and control.*, red. Evans A., Brachman Ph. New York and London 1998, 169-190
- [6] Ang C.W., Krogfelt K., Herbrink P., Keijser J., van Pelt W., Dalby T., Kuijff M., Jacobs B.C., Bergman M.P., Schiellerup P., Visser C.E.: Validation of an ELISA for the diagnosis of recent *Campylobacter* infections in Guillain-Barre and reactive arthritis patients. *Clin. Microbiol. Infect.*, 2007; 13: 915-922
- [7] Bessede E., Delcamp A., Sifre E., Buissonniere A., Megraud F.: New methods for detection of *Campylobacter*s in stool samples in comparison to culture. *J. Clin. Microbiol.*, 2011; 49: 941-944
- [8] Blaser M., Duncan D.: Human serum antibody response to *Campylobacter jejuni* infections as measured in an enzyme-linked immunosorbent assay. *Infect. Immun.*, 1984; 44: 292-298
- [9] Blaser M.J., Engberg J.: Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections. W: *Campylobacter*, 3rd ed., red.: Nachamkin J., Szymanski C.M., Blaser J., ASM Press, Washington, 2008; 99-121
- [10] Corso J., Lugert R., Groß U., Zautner A.E.: Is the *Campylobacter jejuni* secretory protein Cj0069 a suitable antigen for serodiagnostics? *Eur. J. Microbiol. Immunol.*, 2011; 1: 86-94
- [11] Daczowska-Kozon E.: Co wiemy i czego nie wiemy o *Campylobacter* sp.? *Postępy Mikrobiol.*, 2002; 41: 85-104
- [12] European Centre for Disease Prevention and Control: Annual epidemiological report. Reporting on 2009 surveillance data and 2010 epidemic intelligence data. Stockholm: ECDC; 2011; 71-73; [www.ecdc.europa.eu](http://www.ecdc.europa.eu) (06.07.2012)
- [13] Europejski Komitet Do Spraw Oznaczania Lekowrażliwości (EUCAST): Zasady interpretacji wyników oznaczania lekowrażliwości drobnoustrojów - zalecenia ekspertów EUCAST, wersja 1, kwiecień 2008
- [http://www.korl.edu.pl/pdf/eucast/Eucast\\_expert\\_rules\\_strona\\_20.pdf](http://www.korl.edu.pl/pdf/eucast/Eucast_expert_rules_strona_20.pdf) (16.07.2012)
- [14] Everest P, Ketley M.: *Campylobacter*. W: *Molecular Medical Microbiology*, red. Sussman M., Academic Press, Londyn, 2002, 1311-1329
- [15] Fitzgerald C., Whichard J., Nachamkin I.: Diagnosis and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* species. W: *Campylobacter*, 3d ed., red. Nachamkin J., Szymański C.M. and Blaser M.J., ASM Press, Washington, 2008, 227-244
- [16] Garlicki A., Leśniak M.: Leczenie chorób biegunkowych o etiologii zakaźnej u dorosłych. *Przegl. Epidemiol.*, 2009; 63: 395-400
- [17] Granato P.P., Chen L., Holiday I., Rawling R.A., Nowak-Weekley S.M., Quinlan T., Musser K.A.: Comparison of premier CAMPY enzyme immunoassay (EIA), ProSpecT *Campylobacter* EIA, and ImmunoCard STAT! CAMPY tests with culture for laboratory diagnosis of *Campylobacter* enteric infections. *J. Clin. Microbiol.*, 2010; 48: 4022-4027
- [18] Jakubczak A., Rastawicki W., Jagielski M.: Wykorzystanie odczynu ELISA w serologicznej diagnostyce kampylobakteriozy. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2007; 59: 359-370
- [19] Janssen R., Krogfelt K.A., Cawthraw S., van Pelt W., Wagenaar J.A., Owen R.J.: Host-pathogen interactions in *Campylobacter* infections: the host perspective. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008; 21: 505-518
- [20] Krutkiewicz A.: Kampylobakterioza u ludzi i zwierząt. *Życie Weterynaryjne*, 2008; 83: 285-289
- [21] Lehtopolku M., Nakari U.M., Kotilainen P., Huovinen P., Siitonen A., Haakanen A.J.: Antimicrobial susceptibility of multidrug-resistant *Campylobacter jejuni* and *C. coli* strains: in vitro activities of 20 antimicrobial agents. *Antimicrob. Ag. Chemother.*, 2010, 54: 1232-1236
- [22] Linton D., Lawson R., Owen R.J., Stanley J.: PCR detection, identification to species level, and fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* direct from diarrheic samples. *J. Clin. Microbiol.*, 1997; 35: 2568-2572
- [23] Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego Państwowy Zakład Higieny – Zakład Epidemiologii, Główny Inspektor Sanitarny. Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce w 2010 roku., Warszawa, 2011, [http://www.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index\\_p.html](http://www.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html) (06.07.2012)
- [24] Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego Państwowy Zakład Higieny – Zakład Epidemiologii, Główny Inspektor Sanitarny: „Meldunki o zachorowaniach na choroby zakaźne, zakażeniach i zatruciach w Polsce”, Warszawa,
- [http://www.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index\\_p.html#01](http://www.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html#01) (06.07.2012)
- [25] Peterson M.C.: Clinical aspects of *Campylobacter jejuni* infections in adults. *West J. Med.*, 1994; 161: 148-152
- [26] Przybylska A.: Zatrucia i zakażenia pokarmowe w Polsce w 2002 roku. *Przegl. Epidemiol.*, 2004; 58: 85-101



- [27] Rokosz N., Rastawicki W., Jagielski M.: Ocena odczynem western-immunoblotting antygenowych właściwości białek *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli*. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2008; 60: 121-129
- [28] Rokosz N., Rastawicki W., Jagielski M.: Ocena przydatności komercyjnego testu recomWell *Campylobacter* do rutynowej serodiagnostyki zakażeń wywoływanych przez pałeczki *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli*. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2008; 60: 289-295
- [29] Rokosz N., Rastawicki W., Jagielski M., Hetkowska-Abramczyk Z.: Wykrywanie przeciwciał dla pałeczek *Campylobacter jejuni* u dzieci z zespołem Guillain-Barre przy zastosowaniu różnych preparatów antygenowych. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2011; 63: 255-261
- [30] Rożynek E., Dzierżanowska-Fangrat K., Józwiak P., Popowski J., Korsak D., Dzierżanowska D.: Prevalence of potential virulence markers in Polish *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. *J. Med. Microbiol.*, 2005; 54: 615-619
- [31] Rożynek E., Dzierżanowska-Fangrat K., Korsak D., Konieczny P., Wardak S., Szych J., Jarosz M., Dzierżanowska D.: Comparison of antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from humans and chicken carcasses in Poland. *J. Food Prot.*, 2008; 71: 602-607
- [32] Rożynek E., Dzierżanowska D., Stafiej-Modrowska E., Orłowski L.: Biochemical and serologic characteristic of *Campylobacter jejuni/coli* strains causing diarrhea in children. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 1989; 41: 37-42
- [33] Rożynek E., Dzierżanowska-Fangrat K., Szczepańska B., Wardak S., Szych J., Konieczny P., Albrecht P., Dzierżanowska D.: Trends in antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolates in Poland (2000-2007). *Pol. J. Microbiol.*, 2009; 58: 111-115
- [34] Rutkiewicz A., Klimuszko D.: Mechanizmy oporności pałeczek *Campylobacter* spp. na chemioterapeutyki. *Postępy Mikrobiol.*, 2008, 47: 489-495
- [35] Rzewuska K., Korsak D., Maćkiw E.: Oporność bakterii *Campylobacter* sp. na antybiotyki i chemioterapeutyki. *Przegl. Epidemiol.*, 2010, 64: 63-68
- [36] Sadkowska-Todys M., Kucharczyk B.: *Kampylobakterioza* w Polsce w 2009 roku. *Przegl. Epidemiol.*, 2011; 65: 239-241
- [37] Sadkowska-Todys M., Kucharczyk B.: *Kampylobakterioza* w Polsce w 2010 roku. *Przegl. Epidemiol.*, 2012; 66: 255-258
- [38] Sadkowska-Todys M., Wardak S.: *Kampylobakterioza* w 2006 roku. *Przegl. Epidemiol.*, 2008; 62: 295-299
- [39] Strid M.A., Engberg J., Larsen L.B., Begtrup K., Molbak K., Kroghelt K.A.: Antibody responses to *Campylobacter* infections determined by an enzyme-linked immunosorbent assay: 2-year follow-up study of 210 patients. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 2001; 8: 314-319
- [40] Szych J.: *Kampylobakterioza*. W: *Choroby zakaźne i pasożytnicze - epidemiologia i profilaktyka*. Red. Magdzik W., Naruszewicz-Lesiuk D., Zieliński A. Alfa-Medica Press, Bielsko-Biała 2007; 154-158
- [41] Taxa covered by the ICSP Subcommittee on the Taxonomy of *Campylobacter* and related bacteria - August 2011. <http://www.the-icsp.org/taxa/Campylobacterlist.htm> (30.09.2013)
- [42] Ustawa z dnia 13 lipca 2012 r. o zapobieganiu oraz zwalczaniu zakażeń i chorób zakaźnych u ludzi. Kancelaria Sejmu
- [43] Vandamme P.: *Taxonomy of the Family Campylobacteraceae. Campylobacter* 2d ed. Red.: Nachamkin J., Blaser J., ASM Press, Washington, 2000; 3-26
- [44] Wardak S., Duda U., Szych J.: Epidemiologiczna analiza zakażeń wywoływanych przez pałeczki *Campylobacter* sp. wykrytych przez Stację Sanitarno-Epidemiologiczną w Bielsku-Białej. *Przegl. Epidemiol.*, 2007; 61: 417-424
- [45] Wardak S., Szych J.: Występowanie wybranych genów zjadliwości w szczepach pałeczek *Campylobacter jejuni* izolowanych od ludzi na terenie Polski w latach 2003-2005. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2006; 58: 217-222
- [46] Wardak S., Szych J.: Zakażenia przewodu pokarmowego zatrucia pokarmowe wywoływane przez bakterie rosnące w warunkach mikroaerofilnych. W: *Etiologia, obraz kliniczny i diagnostyka ostrej zakażeń i zarażeń przewodu pokarmowego oraz zatruc pokarmowych*, red. Marek Jagielski, Fundacja Pro Pharmacia Futura, Warszawa, 2010; 123-129
- [47] Wardak S., Szych J.: Ocena wrażliwości na tygocyklinę klinicznych szczepów pałeczek *Campylobacter jejuni* opornych na tetracyklinę. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2010; 62: 345-350
- [48] Wardak S., Szych J., Duda U.: Wrażliwość na antybiotyki i chemioterapeutyki szczepów pałeczek *Campylobacter* sp. izolowanych od ludzi w latach 2005-2006 w regionie Bielsko-Białej. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2007; 59: 43-49
- [49] Wiemer D., Loderstaedt U., von Wulffen H., Priesnitz S., Tannich E., Hagen R.M.: Real-time multiplex PCR for simultaneous detection of *Campylobacter jejuni*, *Salmonella*, *Shigella* and *Yersinia* species in fecal samples. *Int. J. Med. Microbiol.*, 2011; 301: 577-584
- [50] Wołkowicz T., Szych J., Wardak S.: Analiza podłoża genetycznego i mechanizmów rozprzestrzeniania się oporności na tetracyklinę populacji szczepów z rodzaju *Campylobacter* izolowanych w Polsce w latach 2007-2008. *Med. Dośw. Mikrobiol.*, 2011; 63: 305-334
- [51] Zhang M.J., Qiao B., Xu X.B., Zhang J.Z.: Development and application of a real-time polymerase chain reaction method for *Campylobacter jejuni* detection. *World J. Gastroenterol.*, 2013, 19: 3090-3095

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.