



ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ & ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

**ΣΥΓΚΡΙΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ  
*CAMPYLOBACTER* ΩΣ ΠΑΘΟΓΟΝΟ ΒΑΚΤΗΡΙΟ**

ΚΡΙΣΙΛΙΑ ΣΟΦΙΑ ΕΥΑΓΓΕΛΙΑ

ΑΜ: 16048

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΜΠΑΤΡΙΝΟΥ ΑΝΘΙΜΙΑ

ΑΘΗΝΑ 2020





FACULTY OF FOOD SCIENCE

DEPARTMENT OF FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY

**COMPARATIVE STUDY OF THE GENUS  
*CAMPYLOBACTER* AS A PATHOGENIC  
BACTERIA**

KRISILIA SOFIA EVANGELIA

SUPERVISOR: BATRINOY ANTHIMIA

ATHENS 2020



## ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

**Μπατρίνου Ανθμία**

Λέκτορας Εργαστηρίου Μικροβιολογίας Τροφίμων, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής (Επιβλέπουσα)

**Στρατή Ειρήνη**

Λέκτορας Εργαστηρίου Χημείας, Ανάλυσης και Σχεδιασμού Διεργασιών Επεξεργασίας Τροφίμων, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

**Σπυρίδων Κοντελές**

Ακαδημαϊκός Υπότροφος, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Σχολή Επιστημών Τροφίμων, Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, μέλος του προσωπικού του Ενιαίου Φορέα Ελέγχου Τροφίμων



## **ΔΗΛΩΣΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ/COPYRIGHT**

Έχοντας πλήρη επίγνωση των συνεπειών του νόμου περί πνευματικής ιδιοκτησίας, δηλώνω ότι είμαι αποκλειστική συγγραφέας της παρούσας πτυχιακής εργασίας. Δηλώνω, επίσης, ότι αναλαμβάνω όλες τις συνέπειες, όπως αυτές νομίμως ορίζονται, στην περίπτωση που διαπιστωθεί διαχρονικά ότι η εργασία μου αυτή ή τμήμα αυτής αποτελεί προϊόν λογοκλοπής.

Κρίσιλια Σοφία Ευαγγελία





## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Ευχαριστώ την τριμελή επιτροπή, τη λέκτορα κυρία Μπατρίνου Ανθιμία, τη λέκτορα κυρία Στρατή Ειρήνη και τον ακαδημαϊκό υπότροφο κύριο Σπυρίδωνα Κοντελέ, η οποία πρόκειται να εκτιμήσει το έργο που επιτελέστηκε.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα την επιβλέπουσα λέκτορα κυρία Μπατρίνου Ανθιμία, για τον χρόνο που αφιέρωσε και την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή της καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας εργασίας.



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στα πλαίσια του μαθήματος της πτυχιακής εργασίας πραγματοποιήθηκε μία συγκριτική μελέτη για το γένος *Campylobacter* ως προς την παθογένεια του. Σκοπός αυτής της εργασίας είναι η περιγραφή του βακτηρίου, η κατανόηση των μηχανισμών παθογένειας και η ανάλυση των στατιστικών δεδομένων σχετικά με την καμπυλοβακτηρίωση στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Το *Campylobacter* είναι ένα παθογόνο βακτήριο με πολυάριθμα ταυτοποιημένα είδη, ενώ συνεχώς παρουσιάζονται νέα. Είναι υπεύθυνο για το μεγαλύτερο ποσοστό πρόκλησης οξείας γαστρεντερίτιδας στις χώρες της ΕΕ, δεδομένου ότι παρουσιάζεται συχνότερα από τα γένη *Salmonella*, *Listeria* και *Shigella* γνωστά παθογόνα που συνδέονται με τροφικές δηλητηριάσεις. Πηγές του βακτηρίου αποτελούν τα ζώα, κυρίως το κοτόπουλο, μολυσμένα γλυκά και θαλασσινά νερα. Παρά το γεγονός ότι το *Campylobacter* αποτελεί σοβαρή τροφική απειλή, δεν έχουν γίνει οι κατάλληλες έρευνες για την πλήρη κατανόηση των μηχανισμών παθογένειάς του. Αυτό οφείλεται εν μέρη στο γεγονός ότι η καμπυλοβακτηρίωση είναι αυτοπεριοριζόμενη και συχνά δεν γίνεται αντιληπτό ότι η λοίμωξη του ασθενή οφείλεται στο συγκεκριμένο βακτήριο. Συνεπώς βάσει της σοβαρότητας της νόσου είναι απαραίτητη η περαιτέρω μελέτη του βακτηρίου για να επιτευχθεί ο περιορισμός και η πρόληψη της νόσου που προκαλεί.

## **ABSTRACT**

During the thesis course, a comparative study was performed about the genus *Campylobacter* in terms of its pathogenesis. The purpose of this work is to describe the bacterium, to understand the mechanisms of pathogenesis and to analyze the statistical data on campylobacter in the European Union. *Campylobacter* is a pathogenic bacterium with numerous identified species, while new ones are constantly being presented. It is responsible for the highest incidence of acute gastroenteritis in EU countries, as it appears more frequently than the pathogens *Salmonella*, *Listeria* and *Shigella*, which are commonly known pathogens associated with food poisoning. The bacterium is commonly found in animals, mainly chicken, contaminated freshwater and seawater. Although *Campylobacter* poses a serious food threat, appropriate research has not been conducted to fully understand its pathogenic mechanisms. This is due to the fact that campylobacteriosis is self-limiting, making it harder to determine that the patient's infection is due to that particular bacterium. Therefore, based on the severity of the disease, further study of the bacterium is necessary, in order to achieve the reduction and prevention of the disease it causes.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΔΗΛΩΣΗ ΛΟΓΟΚΛΟΠΗΣ/COPYRIGHT .....	i
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ .....	iii
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	v
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ .....	vii
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ .....	ix
ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	x
1. Εισαγωγή .....	1
2. Γένος <i>Campylobacter</i> .....	3
2.1 Χαρακτηριστικά <i>Campylobacter</i> .....	3
2.2 Είδη <i>Campylobacter</i> .....	4
2.2.1 <i>C. jejuni</i> .....	4
2.2.2 <i>C. coli</i> .....	7
2.2.3 <i>C. upsaliensis</i> .....	8
2.2.4 <i>C. fetus</i> .....	10
2.2.5 <i>C. lari</i> (πρώην <i>C. laridis</i> ) .....	12
2.2.6 <i>C. concisus</i> .....	13
3. Βιοχημεία / Γενετική .....	16
3.1 Θερμοκρασίες ανάπτυξης .....	16
3.2 Εκλεκτικά υποστρώματα .....	16
3.2.1 <i>Campylobacter</i> Selective Agar (PRESTON) .....	17
3.2.2 CHROMagar™ <i>Campylobacter</i> .....	17
3.2.3 <i>Campylobacter</i> Blood-free Agar Base .....	18
3.3 Βιοχημικές δοκιμές .....	19
3.3.1 Υδρόλυση ιππουρικού οξέος .....	19
3.3.2 Υδρόλυση οξικού ινδοξυλίου .....	20
3.3.3 Υδρόλυση Ουρεάσης .....	21
3.3.4 Υδρόλυση DNA .....	22
3.3.5 Παραγωγή καταλάσης .....	24
3.3.6 Παραγωγή Οξειδάσης .....	26
3.3.7 Παραγωγή H <sub>2</sub> S σε μέσο σιδήρου .....	26
3.3.8 Αναγωγή νιτρικών αλάτων .....	28
3.3.9 Αναγωγή νιτρωδών αλάτων .....	28
3.3.10 Δοκιμή ανάπτυξης παρουσία TMAO .....	29
3.4 Αντοχή στα αντιβιοτικά .....	29
3.5 Γενετική .....	31
3.5.1 Προσδιορισμός G + C .....	31

3.5.2	Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).....	32
4.	Σημασία στα τρόφιμα .....	37
4.1	Πηγές μόλυνσης .....	37
4.1.1	<i>Campylobacter spp.</i> στο κοτόπουλο .....	37
4.1.2	<i>Campylobacter spp.</i> σε άλλα τρόφιμα .....	39
4.1.3	<i>Campylobacter spp.</i> στο περιβάλλον .....	40
4.2	Παθογένεια.....	41
4.3	Κλινική εικόνα λοίμωξης από <i>Campylobacter spp.</i> .....	43
4.4	Μέθοδοι πρόληψης & αντιμετώπισης.....	45
4.4.1	Πρόληψη .....	45
4.4.2	Αντιμετώπιση.....	47
5.	Επιδημιολογικά δεδομένα .....	49
5.1	Καμπυλοβακτηρίωση στους ανθρώπους.....	49
5.1.1	Γεωγραφική Κατανομή.....	49
5.1.2	Εποχιακή κατανομή .....	55
5.1.3	Κατανομή με βάση την ηλικία και το φύλο.....	55
5.1.4	Σύγκριση των <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Listeria</i> και <i>Campylobacter</i> .....	56
5.2	Συχνότητα σε τρόφιμα.....	57
5.3	Συχνότητα σε ζώα .....	59
6.	Συμπεράσματα.....	62
	ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	65
	ΠΗΓΕΣ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	82

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

<b>Πίνακας 1.</b> Διαφορές μεταξύ των ειδών <i>Campylobacter</i> .....	15
<b>Πίνακας 2.</b> Βιοχημικά και γενετικά χαρακτηριστικά διαχωρισμού των ειδών <i>Campylobacter</i> (Bourke, Chan, & Sherman, 1998; Barrett, Patton, & Morris, 1988; Corry & Atabay, 2001) .....	35
<b>Πίνακας 3.</b> Επιβεβαιωμένα κρούσματα Καμπυλοβακτηρίωσης σε χώρες της Ε.Ε. ...	49
<b>Πίνακας 4.</b> Επιβεβαιωμένα κρούσματα Καμπυλοβακτηρίωσης ανά 100.000 άτομα σε χώρες της Ε.Ε. (ECDC, 2019b) .....	51
<b>Πίνακας 5.</b> Αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων, νοσηλευόμενων και θανάτων από καμπυλοβακτηρίωση στην ΕΕ (ECDC, 2016; ECDC, 2017b; ECDC, 2018b; ECDC, 2019b) .....	53
<b>Πίνακας 6.</b> Συνολικός αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων στην ΕΕ για τα <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Listeria</i> και <i>Campylobacter</i> (ECDC, 2019b; ECDC, 2020) ....	56
<b>Πίνακας 7.</b> Συνολικός αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων ανά 100.000 άτομα στην ΕΕ για τα <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Listeria</i> και <i>Campylobacter</i> (ECDC, 2019b; ECDC, 2020) .....	57
<b>Πίνακας 8.</b> Περίληψη των στατιστικών <i>Campylobacter</i> που σχετίζονται με κατηγορίες τροφίμων, που αναφέρθηκαν στην ΕΕ.(ECDC, 2016; ECDC, 2017b; ECDC, 2018b; ECDC, 2019b).....	58
<b>Πίνακας 9.</b> Περίληψη των στατιστικών <i>Campylobacter</i> που σχετίζονται με είδη ζώων, που αναφέρθηκαν στην ΕΕ. (ECDC, 2016; ECDC, 2017b; ECDC, 2018b; ECDC, 2019b) .....	60

## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

<b>Εικόνα 1.</b> Κατα Gram χρώση <i>Campylobacter</i> (Αρνητική) ( <a href="#">http1</a> ) .....	4
<b>Εικόνα 2.</b> <i>Campylocacter jejuni</i> (CDC, 2019) .....	6
<b>Εικόνα 3.</b> <i>Campylobacter upsaliensis</i> (Couturier, Hale, & Couturier, 2012).....	9
<b>Εικόνα 4.</b> Γλάροι: πηγή <i>Campylobacter lari</i> ( <a href="#">http2</a> ).....	12
<b>Εικόνα 5.</b> <i>Campylobacter concisus</i> (Casanova, Schweiger, von Steiger, Droz, & Marschall, 2015) .....	14
<b>Εικόνα 6.</b> Αποτελέσματα καλλιέργειας <i>Campylobacter</i> σε Preston Agar ( <a href="#">http3</a> ) .....	17
<b>Εικόνα 7.</b> Αποτελέσματα καλλιέργειας <i>Campylobacter</i> σε CHROMagar™ <i>Campylobacter</i> ( <a href="#">http4</a> ) .....	18
<b>Εικόνα 8.</b> Αποτελέσματα καλλιέργειας <i>Campylobacter</i> σε <i>Campylobacter</i> blood-free agar ( <a href="#">http5</a> ).....	19
<b>Εικόνα 9.</b> Αποτελέσματα υδρόλυσης ιππουρικού οξέος. A: αρνητικό, B: θετικό, C: πιθανό θετικό ( <a href="#">http6</a> ) .....	20
<b>Εικόνα 10.</b> Αποτελέσματα υδρόλυσης οξικού ινδοξυλίου. Μπλε: θετικό, Κίτρινο: αρνητικό ( <a href="#">http7</a> ).....	21
<b>Εικόνα 11.</b> Αποτελέσματα υδρόλυσης ουρεάσης. Κίτρινο: αρνητικό, Πορτοκαλί: μη καλλιεργημένο άγαρ, Ροζ: θετικό. ( <a href="#">http8</a> ) .....	22
<b>Εικόνα 12.</b> Αποτελέσματα υδρόλυσης δεσοξυριβονουκλεάσης. A: θετικό, B: θετικό, C: αρνητικό ( <a href="#">http9</a> ). .....	23
<b>Εικόνα 13.</b> Θετικό αποτέλεσμα δοκιμής σωλήνα παραγωγής καταλάσης. (Reiner, 2010) .....	25
<b>Εικόνα 14.</b> Αρνητικό αποτέλεσμα δοκιμής σωλήνα παραγωγής καταλάσης (Reiner, 2010) .....	25
<b>Εικόνα 15.</b> Αποτελέσματα δοκιμής δίσκου παραγωγής καταλάσης. Πάνω: θετικό, Κάτω: αρνητικό. (Reiner, 2010) .....	25
<b>Εικόνα 16.</b> Αποτελέσματα παραγωγής οξειδάσης. Αριστερά: αρνητικό, Δεξιά: θετικό.( <a href="#">http10</a> ) .....	26
<b>Εικόνα 17.</b> Αποτελέσματα παραγωγής υδροθείου. Κίτρινο: αρνητικό, Μαύρο: θετικό ( <a href="#">http11</a> ).....	27
<b>Εικόνα 18.</b> Αποτελέσματα αναγωγής νιτρικών αλάτων. Αριστερά: αρνητικό, Δεξιά: θετικό ( <a href="#">http12</a> ). .....	28



<b>Εικόνα 19.</b> Χημικός τύπος κεφαλοθίνης ( <a href="#">http13</a> ) .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
<b>Εικόνα 20.</b> Χημικός τύπος ναλιδιξικού οξέος ( <a href="#">http14</a> ).....	31
<b>Εικόνα 21.</b> Ανίχνευση και ανάγνωση Multiplex PCR (Wang, et al., 2002). .....	34
<b>Εικόνα 22.</b> Νωπό κοτόπουλο: κύρια πηγή <i>Campylobacter</i> ( <a href="#">http15</a> ).....	38
<b>Εικόνα 23.</b> Βοοειδή: πηγή <i>Campylobacter</i> ( <a href="#">http16</a> ) .....	39
<b>Εικόνα 24.</b> Οστρακοειδή: πηγή <i>Campylobacter</i> ( <a href="#">http17</a> ) .....	40
<b>Εικόνα 25.</b> Κατοικίδια ζώα: πηγή <i>Campylobacter</i> ( <a href="#">http18</a> ).....	40



## 1. Εισαγωγή

Το ευρύ φάσμα των τροφιμογενών λοιμώξεων έχει αλλάξει δραματικά με την πάροδο του χρόνου, καθώς τα καθιερωμένα παθογόνα έχουν τεθεί υπό έλεγχο ή εξαλειφθεί και έχουν εμφανιστεί νέα. Η εμφάνιση της τροφικής ασθένειας παραμένει σοβαρή, καθώς ένας στους τέσσερις ανθρώπους παγκοσμίως εκτιμάται ότι αντιμετωπίζει μια σημαντική τροφική ασθένεια κάθε χρόνο. Η πλειονότητα αυτών των ασθενειών δεν οφείλεται σε γνωστά παθογόνα, για αυτό πρέπει να ανακαλυφθούν περισσότερα. Μεταξύ των γνωστών τροφιμογενών παθογόνων, κυριαρχούν εκείνοι που πρόσφατα εντοπίστηκαν, υποδηλώνοντας ότι όσο περισσότερα μαθαίνονται για τα παθογόνα, μπορούν πιο εύκολα να περιοριστούν. Εκτός από την εμφάνιση ή την αναγνώριση νέων παθογόνων, άλλα αντικείμενα επιστημονικού ενδιαφέροντος περιλαμβάνουν παγκόσμιες πανδημίες ορισμένων τροφιμογενών παθογόνων, την εμφάνιση αντοχής σε αντιβιοτικά, την ταυτοποίηση παθογόνων που είναι ιδιαίτερα ευκαιριακά, που επηρεάζουν, δηλαδή, μόνο πληθυσμούς κάτω από ειδικές συνθήκες, και την αυξανόμενη αναγνώριση μεγάλων και διεσπαρμένων εστιών. Ταυτόχρονα, νέα παθογόνα μπορούν να προκύψουν λόγω της αλλαγής της οικολογίας ή της αλλαγής τεχνολογίας που συνδέει ένα πιθανό παθογόνο με την τροφική αλυσίδα. Στο παρελθόν, ο διαχωρισμός των ανθρώπινων λυμάτων και των περιττωμάτων των ζώων από τα ανθρώπινα τρόφιμα και την παροχή νερού ήταν κρίσιμος για τη βελτίωση της δημόσιας υγείας. Τώρα, η ανθρώπινη υγεία εξαρτάται όλο και περισσότερο από την ασφάλεια των ζωοτροφών και του νερού για τα ίδια τα ζώα. Αυτό είναι σημαντικό, γιατί τα αναδυόμενα τροφικά παθογόνα μπορούν να εντοπιστούν τόσο σε ασυμπτωματικές ζωνοσούς και όσο και σε σοβαρές λοιμώξεις, που επηρεάζουν ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς (Tauxe, 2002).

Ένα από αυτά τα παθογόνα είναι το *Campylobacter*, το οποίο προκαλεί μια από τις συχνότερα οξείες ασθένειες της γαστρεντερίτιδας στον άνθρωπο. Ο φυσιολογικός βιότοπος του είδους *Campylobacter* είναι το έντερο των θερμόαιμων ζώων, και ιδίως των πτηνών. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, οι κύριοι παράγοντες κινδύνου που αναγνωρίζονται για τη διευκόλυνση της εμφάνισης καμπυλοβακτηρίωσης να είναι η κατανάλωση κρέατος πουλερικών που δεν είναι ψημένο κατάλληλα, η κατανάλωση νεπού γάλακτος, η κατανάλωση μη επεξεργασμένου νερού και, σε μικρότερο βαθμό, η συγκατοίκηση με γάτα ή σκύλο. Τα συμπτώματα μπορεί να κυμαίνονται από ήπιες

έως σοβαρές λοιμώξεις των παιδιών και των ηλικιωμένων και μόνιμα νευρολογικά συμπτώματα (Koenraad, Rombouts, & Notermans, 1997).

Η σημασία του *Campylobacter* ως παθογόνο καθώς και η συνεχώς αυξανόμενη αναγνώριση άλλων αναδυόμενων *Campylobacter* παθογόνων απαιτούν επειγόντως καλύτερη κατανόηση του τρόπου με τον οποίο αυτά τα υποτιμημένα είδη προκαλούν ασθένειες, μεταδίδουν και εξελίσσονται. Παράλληλα με την ενισχυμένη κλινική ευαισθητοποίηση για την καμπυλοβακτηρίωση λόγω βελτιωμένων διαγνωστικών πρωτοκόλλων, η εφαρμογή της αλληλουχίας υψηλής απόδοσης επέτρεψε ολοκληρωμένες συγκριτικές αναλύσεις για διάφορα είδη παθογόνων, όπως το *C. fetus* και το *C. concisus* (Costa & Iraola, 2019).

Η παρακάτω εργασία αναφέρεται βιβλιογραφικά στα χαρακτηριστικά και τα είδη του *Campylobacter*, στα βιοχημικά και γενετικά χαρακτηριστικά και τις συνθήκες επώασης τα οποία βοηθούν στον διαχωρισμό μεταξύ των ειδών, καθώς και στην παρουσία του στα τρόφιμα και το περιβάλλον, που έχει ως αποτέλεσμα την πρόκληση ασθενειών. Θα αναφερθούν πιθανά συμπτώματα και τρόποι αντιμετώπισης της νόσου. Επιπρόσθετα, θα παρατεθούν στοιχεία για την συχνότητα εμφάνισης του στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης, αλλά και στις διάφορες κατηγορίες τροφίμων και ειδών ζώων που συνδέονται με την νόσο της καμπυλοβακτηρίωσης.

## 2. Γένος *Campylobacter*

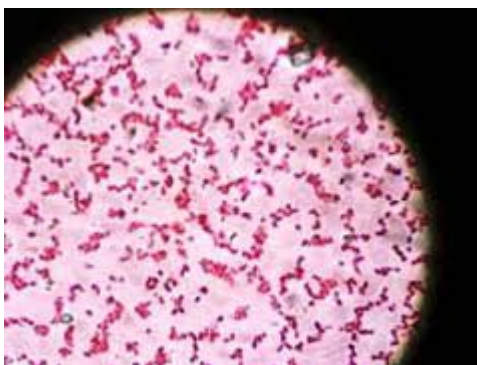
### 2.1 Χαρακτηριστικά *Campylobacter*

Οι οργανισμοί του γένους *Campylobacter* είναι Gram αρνητικά, σπειροειδή, καμπυλωτά ραβδία της οικογένειας *Campylobacteriaceae*. Οι οργανισμοί αυτοί κινούνται με τη βοήθεια ενός μαστιγίου που βρίσκεται στο ένα ή και στα δύο άκρα τους. Τα καμπυλοβακτηρίδια είναι αυστηρά μικροαερόφιλα, καθώς απαιτούν 5 έως 10% οξυγόνο περιβάλλοντος και δεν αναπτύσσονται στον αέρα (Crushell, Harty, Sharif, & Bourke, 2004). Επιπλέον, έχουν περιορισμένο εύρος ανάπτυξης σχετικά με τη θερμοκρασία. Αυτό συμπεραίνεται από το γεγονός ότι, ενώ αναπτύσσονται βέλτιστα στους 42°C, οι οργανισμοί δεν αναπτύσσονται σε θερμοκρασίες κάτω των 30°C (Park, 2002). Ο Levin (2007) πρότεινε ότι αυτοί οι οργανισμοί θα πρέπει να αναφέρονται ως «θερμοστατικοί», δεδομένου ότι δεν εμφανίζουν πραγματική θερμοφιλία (ανάπτυξη στους 55°C ή παραπάνω). Τα καμπυλοβακτηρίδια είναι επίσης πολύ ευαίσθητα σε πολλές άλλες περιβαλλοντικές συνθήκες. Για παράδειγμα, είναι πολύ ευαίσθητα στην αποξήρανση και συνεπώς δεν επιβιώνουν σε ξηρές επιφάνειες, καθώς και στην παρουσία συγκέντρωσης χλωριούχου νατρίου 2% (Doyle & Roman, 1982). Παράλληλα, παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία σε χαμηλές τιμές του pH, με τους οργανισμούς να είναι ανίκανοι να αναπτυχθούν σε pH ίσο με 4,9 και να θανατώνονται εύκολα σε τιμές pH μικρότερες από αυτό (Blaser, Hardesty, Powers, & Wang, 1980). Η ανάπτυξη δεν συμβαίνει σε περιβάλλοντα με ενεργότητα νερού ( $a_w$ ) χαμηλότερο από 0.987, ενώ η βέλτιστη ανάπτυξη λαμβάνει χώρα σε μια  $a_w = 0,997$ . Αυτά τα χαρακτηριστικά, μειώνουν την ικανότητα των *Campylobacters* να πολλαπλασιάζονται τόσο έξω από έναν ξενιστή ζώου όσο και σε τρόφιμα κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας και αποθήκευσής τους (Park, 2002). Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό των καμπυλοβακτηρίδιων που αξίζει να σημειωθεί είναι η έντονη εποχικότητά της επιδημιολογίας του. Σε εύκρατα κλίματα, η συχνότητα κορυφώνεται στα τέλη της άνοιξης / στις αρχές του καλοκαιριού, γεγονός που σχετίζεται με τις θερμοκρασίες ανάπτυξης του μικροοργανισμού (Sorwith, et al., 2003).

Τα καμπυλοβακτηρίδια απενεργοποιούνται εύκολα με θερμικές επεξεργασίες με τιμή D να είναι μικρότερη από 1 λεπτό, καθώς και οι διαδικασίες κατάψυξης και απόψυξης μειώνουν τον πληθυσμό τους. Σε καθαρές καλλιέργειες, τα *Campylobacter spp.* κανονικά απενεργοποιούνται με αποθήκευση σε συνθήκες κατάψυξης, στους -15°C,

σε μόλις 3 ημέρες (Stern & Kotula, 1982), ωστόσο, η κατάψυξη δεν εξαλείφει το παθογόνο από μολυσμένες τροφές (Lee, Smith, & Coloe, 1998).

Η οικογένεια *Campylobacteraceae* συνέχεια εξελίσσεται. Έχουν επικυρωθεί δεκατέσσερα είδη *Campylobacter* και εξακολουθούν να εμφανίζονται νέα μέλη. Κύρια είδη αποτελούν, το *C. fetus*, το *C. jejuni*, το *C. coli*, το *C. upsaliensis*, το *C. lari* και το *C. concisus* (Crushell, Harty, Sharif, & Bourke, 2004).



Εικόνα 1. Κατα Gram χρώση *Campylobacter* (Αρνητική) (<http1>)

## 2.2 Είδη *Campylobacter*

### 2.2.1 *C. jejuni*

Το *Campylobacter jejuni* θεωρείται η βασική, από τα είδη του γένους *Campylobacter*, πηγή εντερικής ασθένειας προκαλώντας ήπια έως σοβαρά συμπτώματα, συμπεριλαμβανομένων νευρολογικών ασθενειών, όπως το Guillain-Barré Syndrome (Blaser, et al., 1979). Η μεταφορά του συγκεκριμένου οργανισμού γίνεται στο έντερο πολλών άγριων και κατοικίδιων ζώων, ιδίως ειδών πτηνών, συμπεριλαμβανομένων των πουλερικών, όπου το έντερο αποικίζεται με αποτέλεσμα να καθιστά τα υγιή ζώα ως φορείς. Έχει εξελιχθεί για να αποικίσει κατά προτίμηση το έντερο του κοτόπουλου, υπό τις βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξής του, π.χ. 42°C. Μόλις απεκκρίνεται στο περιβάλλον, το *C. jejuni* συνήθως δεν πολλαπλασιάζεται, λόγω της σχετικά υψηλής ελάχιστης θερμοκρασίας ανάπτυξης (Snelling, Matsuda, Moore, & Dooley, 2005a). Ο οργανισμός μπορεί να επιβιώσει σε θερμοκρασίες ψυγείου για αρκετές εβδομάδες υπό υγρές μικροαερόβιες συνθήκες, αλλά μόνο λίγες ημέρες σε θερμοκρασία δωματίου (Blaser, Hardesty, Powers, & Wang, 1980). Η αδυναμία ανάπτυξης κάτω των 30°C σχετίζεται με την απουσία γονιδίων πρωτεΐνης ψυχρού σοκ που παίζουν ρόλο στην προσαρμογή σε χαμηλές θερμοκρασίες σε πολλά βακτήρια (Hazeleger, Wouters, Rombuts, & Abee, 1998).

Το *C. jejuni* θεωρείται στενά συνδεδεμένο με το *C. coli*, το πρώτο διακρίνεται από το δεύτερο μέσω της δοκιμής υδρόλυσης του ιππουρικού οξέος. Αυτό συμβαίνει γιατί είναι τα δύο είδη που συνδέονται συχνότερα με την ανθρώπινη καμπυλοβακτηρίωση (Thomas, Gibson, Hill, & Mabey, 1998). Η μολυσματική δόση για τον άνθρωπο έχει βρεθεί ότι είναι τόσο χαμηλή όσο 2-3 κύτταρα ανά ml.

Οι οργανισμοί *C. jejuni* είναι κινητικοί με μια χαρακτηριστική κίνηση τύπου ανοιχτήρι, μέσω ενός πολικού μη ελαστικού μαστιγίου. Το μικρό μέγεθος του γονιδιώματός του αντικατοπτρίζεται ίσως σε μια απαίτηση για σύνθετα μέσα ανάπτυξης, χωρίς οξειδωση ή ζύμωση υδατανθράκων, χωρίς δραστηριότητα λιπάσης ή λεκιθινάσης και έλλειψη ανάπτυξης κάτω από το pH 4,9 (Snelling, Matsuda, Moore, & Dooley, 2005a). Άλλο ένα χαρακτηριστικό που είναι μοναδικό στο *C. jejuni* είναι η ύπαρξη της ιππουρικής. Ωστόσο, κάποια στελέχη δίνουν αρνητικά αποτελέσματα στον έλεγχο ιππουρικού οξέος, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να διαφοροποιηθούν από στελέχη του *C. coli* από αρνητική ιππουρική (Rautelin, Jusufovic, & Hänninen, 1999). Επιπλέον, τα κύρια φαινοτυπικά χαρακτηριστικά που βοηθούν στην αναγνώριση ειδών του *C. jejuni*, περιλαμβάνουν την αναγωγή νιτρικών σε νιτρώδη, την υδρόλυση ιππουρικού, την απουσία ουρεάσης, την ευαισθησία ναλιδιζικού οξέος, την ανθεκτικότητα σε κεφαλοθίνη και την αδυναμία χρήσης υδατανθράκων. Ακόμη, τα περισσότερα προϊόντα απομόνωσης του *C. jejuni* παράγουν καταλάση. Ωστόσο, άτυπα υπάρχουν μερικά στελέχη που είναι γνωστά για τα αρνητικά αποτελέσματα στην καταλάση και έτσι δεν θεωρείται κοινό χαρακτηριστικό όλων των απομονωμένων ειδών (Hernandez, Owen, Costas, & Lastovica, 1991).

Όσον αφορά στις υδρόβιες πηγές των *Campylobacters*, το *C. jejuni* βρέθηκε να παραμένει βιώσιμο όταν εσωτερικεύεται από τα υδατοφερόμενα πρωτόζωα *Tetrahymena pyreiformis* και *Acanthamoeba castelani* για έως 36 ώρες περισσότερο σε σχέση με όταν ήταν σε καθαρά πλαγκτονική κατάσταση. Τα εσωτερικευμένα *Campylobacters* φάνηκε ότι μπορούσαν να ανιχνευθούν για έως και 8 ημέρες στους 25°C και ήταν σημαντικά πιο ανθεκτικά στη χημική απολύμανση από τα πλαγκτονικά κύτταρα. Από αυτά τα δεδομένα συμπεραίνεται ότι η εσωτερίκευση του βακτηρίου από τα πρωτόζωα μπορεί να καθυστερήσει τη μείωση της βιωσιμότητας στο πόσιμο νερό και αυξάνει τις δυνατότητες του να αποικίσει σε πουλερικά (Snelling, McKenna, Lecky, & Dooley, 2005b).

Το *C. jejuni* βρέθηκε ότι αποικίζει κυρίως την κατώτερη γαστρεντερική οδό των νεοσσών. Όταν οι νεοσσοί ηλικίας 8 ημερών χορηγήθηκαν από το στόμα *C. jejuni*, οι βασικές θέσεις εντοπισμού μετά από 7 ημέρες ήταν το τυφλό, το παχύ έντερο και η αμάρα, όπου παρατηρήθηκαν κύτταρα πυκνά περιβαλλόμενα από βλέννα μέσα σε κρύπτες. Τα κύτταρα του *C. jejuni* βρέθηκαν να διεισδύουν ελεύθερα στην κοιλότητα των κρυπών χωρίς να προσκολλούνται στα μικροβίλια των κρυπών. Η χημική έλξη του *C. jejuni* στη φουκόζη, που περιέχει η βλέννα, προσελκύει πιθανώς τον οργανισμό στην τελευταία, όπου είναι εξαιρετικά κινητικός. Εντός των κρυπών, η βλεννίνη θεωρείται ότι χρησιμοποιείται ως υπόστρωμα, το οποίο πιθανώς προάγει την αποίκιση του οργανισμού στην περιοχή του εντέρου (Beery, Hugdahl, & Doyle, 1988). Υπάρχουν επιπλέον πτυχές της φυσιολογίας των στελεχών του *C. jejuni* που επισημαίνουν επίσης το γεγονός ότι ο οργανισμός έχει εξελιχθεί για να καταλάβει το βλεννογόνο στρώμα του γαστρεντερικού σωλήνα. Πρώτον, η μικροαερόφιλη φύση τους είναι πιθανώς μια αντανάκλαση της συγκέντρωσης οξυγόνου που συναντάται σε αυτήν τη θέση. Δεύτερον, ο ανταγωνισμός για βασικά θρεπτικά συστατικά μεταξύ της βακτηριακής κοινότητας εντός του γαστρεντερικού σωλήνα είναι πιθανό να είναι έντονος και φαίνεται ότι τα *Campylobacters* έχουν αναπτύξει μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να ανταγωνίζονται με επιτυχία σε αυτό το περιβάλλον. Για παράδειγμα, σίδηρος είναι ένα τόσο σημαντικό θρεπτικό συστατικό, το οποίο θα έχει περιορισμένη διαθεσιμότητα εντός του εντέρου. Κατά συνέπεια, τα κύτταρα του *C. jejuni* έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για την απόκτηση σιδήρου τόσο από τον ξενιστή όσο και από τη γαστρεντερική χλωρίδα (Pickett, Auffenberg, Pesci, Sheen, & Jusuf, 1992).



Εικόνα 2. *Campylobacter jejuni* (CDC, 2019)



### 2.2.2 *C. coli*

Το *Campylobacter coli* είναι ένα μικροαερόβιο, θετικό στον έλεγχο οξειδάσης βακτήριο του είδους *Campylobacter*. Ένας τρόπος για να διακρίνουμε την παρουσία *C. coli* είναι η χρήση προπιονικού οξέος, ενώ, σε αντίθεση με το *C. jejuni*, δίνει αρνητική ιππουρικάση. Το συγκεκριμένο, αναπτύσσεται αργά στην καλλιέργεια και έχει τη βέλτιστη θερμοκρασία 42°C. Οι παλιές καλλιέργειες ή αυτές που εκτίθενται στον αέρα για παρατεταμένες περιόδους τείνουν να γίνουν σφαιρικές ή κοκκοειδείς από το σχήμα ράβδου που έχουν σε κανονικές συνθήκες (Allos, 2001)

Το *C. coli*, μαζί με το *C. jejuni*, είναι ένα από τα πιο συνηθισμένα είδη του γένους και είναι ένας σημαντικός παράγοντας γαστρεντερίτιδας και οξείας εντεροκολίτιδας στον άνθρωπο, καθώς και οξείας διάρροιας στις ανεπτυγμένες χώρες. Η μόλυνση σχετίζεται κυρίως με τον χειρισμό και την κατανάλωση ωμού κρέατος, ενώ η πλειονότητα των περιπτώσεων είναι σποραδικές με εστίες που αντιπροσωπεύουν μόνο έναν μικρό αριθμό περιπτώσεων (Fitzgerald & Nachamkin, 2015). Παρατηρείται η εμφάνισή του σε ένα ευρύ φάσμα ζώων, όπως χοίροι, βοοειδή, πρόβατα, πτηνά ακόμη και στον άνθρωπο. Συνεπώς, η διάδοση του βακτηρίου μπορεί να γίνει από την κατανάλωση μολυσμένης τροφής, κυρίως πουλερικών, ή μολυσμένου νερού, καθώς και μέσω της επαφής με μολυσμένο ζώο (Cogan, Bloomfield, & Humphrey, 1999).

Το *C. coli* μπορεί να προκαλέσει σοβαρή ασθένεια σε μολυσμένα άτομα, αλλά μεταφέρεται στις εντερικές οδούς όλων των τύπων κατοικίδιων ζώων και πολλών άγριων ζώων, σχεδόν πάντα χωρίς επιβλαβείς επιπτώσεις, όπως το *C. jejuni*. Αυτή η μεταφορά έχει σημαντικές συνέπειες για την ανθρώπινη υγεία από την άποψη της τροφικής ασθένειας. Οι διαφορές στη συμπεριφορά των παθογόνων στον άνθρωπο και στα ζώα δεν είναι ακόμη πλήρως κατανοητές, αλλά πιθανότατα οφείλονται στη διαφορική έκφραση του βακτηριακού γονιδίου σε διαφορετικούς ξενιστές (Humphrey, O'Brien, & Madsen, 2007).

Μελέτες έχουν δείξει ότι ανάμεσα σε περιπτώσεις νόσου από *C. jejuni* και *C. coli* δεν υπάρχουν διαφορές στο φύλο, τα συμπτώματα ή τη διάρκεια της ασθένειας. Παρατηρήθηκε, όμως, ότι οι ασθενείς που είχαν μολυνθεί με *C. coli* ήταν μεγαλύτερης ηλικίας από τους ασθενείς με *C. jejuni*. Μια επιπλέον διαφορά σημειώθηκε στην εθνικότητα των ασθενών. Όσοι είχαν νοσήσει από *C. coli* ήταν πιο πιθανό να κατάγονται από την Ασία ή να είχαν ταξιδέψει πριν την εμφάνιση των συμπτωμάτων.

Παράλληλα, οι ασθενείς του *C. coli* φαίνεται να τρέφονται κυρίως με επεξεργασμένο κρέας, παραπροϊόντα του ή πατέ και να καταναλώνουν εμφιαλωμένο νερό. Το εμφιαλωμένο νερό είναι πιθανό να μολυνθεί από *C. coli* και, ενώ ελέγχεται για παράσιτα και παθογόνους οργανισμούς, σπάνια πραγματοποιείται δοκιμή για καμπυλοβακτηρίδια. Παράλληλα, όσον αφορά στο επεξεργασμένο κρέας και το πατέ, είναι γεγονός ότι οφείλεται στη χρήση χαμηλής ποιότητας κρέατος σε αυτά τα προϊόντα καθώς και ότι το πατέ αποτελείται κυρίως από χοιρινό, μια από τις κύριες πηγές του *C. coli* (Gillespie, et al., 2002).

Τέλος, κάτι που δεν αναφέρεται συχνά είναι ότι, εκτός από τους κινδύνους από την κατανάλωση τροφίμων και νερού, η επαφή με κατοικίδια ζώα ή ζώα εκτροφής (Carrique-Mas, et al., 2005) κάποιο πρόβλημα στο σύστημα αποχέτευσης των σπιτιών (Eberhart-Phillips, et al., 1997), καθώς και υποκείμενες ιατρικές καταστάσεις (διαβήτης, μειωμένη γαστρική οξύτητα) λόγω της χρήσης αντλίας αναστολέων πρωτονίων, έχουν αποδειχθεί ότι σχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης από *C. coli* (Neal & Slack, 1997).

### **2.2.3 *C. upsaliensis***

Το *Campylobacter upsaliensis* έχει εμφανίσει πολύ ισχυρά επιδημιολογικά στοιχεία που υποστηρίζουν έναν σημαντικό ρόλο ως ανθρώπινο εντεροπαθογόνο, ωστόσο παραμένει σχετικά άγνωστο στον τομέα της κλινικής μικροβιολογίας. Κλινικές μελέτες δείχνουν ότι η μόλυνση από αυτόν τον οργανισμό συνήθως σχετίζεται με καλοήγη αυτοπεριοριζόμενη διάρροια. Ακόμη έχει απομονωθεί στο πλαίσιο της χρόνιας και υποτροπιάζουσας διάρροιας, ενώ έχει περιγραφεί να συνοδεύεται από απώλεια βάρους. Επιπλέον, το *C. upsaliensis* μπορεί να προκαλέσει βακτηραιμία σε εξασθενημένους και ανοσοκατεσταλμένους ασθενείς και έχει συσχετιστεί με εξωεντερικές λοιμώξεις, αυθόρμητη ανθρώπινη αποβολή εμβρύου, αιμολυτικό-ουραιμικό σύνδρομο και Guillain-Barré Syndrome (Bourke, Chan, & Sherman, 1998). Τα συμπτώματα που παρουσιάζει η μόλυνση από *C. upsaliensis* είναι παρόμοια με αυτά της μόλυνσης από *C. jejuni*. Δηλαδή, μια οξεία, αυτοπεριοριζόμενη διάρροια είναι η πιο συνηθισμένη παρουσίαση, ενώ ο πυρετός, ο εμετός και ο κοιλιακός πόνος είναι ασυνεπή χαρακτηριστικά. Σε μια μειονότητα ασθενών, υπάρχει αίμα ή λευκοκύτταρα στα κόπρανα, ενώ μπορεί επίσης να εμφανιστεί ασυμπτωματική λοίμωξη. Τα νεαρά βρέφη και τα παιδιά μπορεί να επηρεάζονται συχνότερα από τους ενήλικες και η μόλυνση σε αυτή την ηλικία μπορεί να σχετίζεται με παρατεταμένη διάρροια (Penner, 1988). Μία

επιπλέον ασθένεια με την οποία συνδέεται το *C. upsaliensis* είναι η διάρροια του ταξιδιώτη. Αυτό εξηγείται από μελέτες που έγιναν σε ανθρώπους που ζώντας στο εξωτερικό κατά τους καλοκαιρινούς μήνες επέστρεφαν στον τόπο καταγωγής τους και με αυτό τον τρόπο εκτέθηκαν σε νέα μέλη της μικροβιολογικής χλωρίδας, συχνά σε ανθυγιεινές συνθήκες (Goossens, et al., 1990).

Το *C. upsaliensis* εμφανίστηκε πρώτη φορά στην Ουψάλα της Σουηδίας, από την οποία ονομάστηκε (Sandstedt, Ursing, & Walder, 1983). Είναι μια μικροαερόφιλη, θερμο-ανεκτική, κινητή, Gram αρνητική ράβδος. Ο οργανισμός έχει ένα μοναδικό πολικό ή διπολικό μαστίγιο και εμφανίζει τις χαρακτηριστικές κινήσεις των καμπυλοβακτηριδίων (Sandstedt & Ursing, 1991). Σχηματίζει λείες, ακριβείς, γκρίζες ή ημιδιαφανείς αποικίες σε πλάκες άγαρ αίματος. Το σμήνος μπορεί να παρατηρηθεί όταν ο οργανισμός αναπτύσσεται σε υγρά μέσα. Ενώ, κατά την έκθεση στον αέρα, ενδέχεται να εμφανιστούν μορφές κοκκοειδών (Stanley, et al., 1992). Το *C. upsaliensis* μπορεί να διαφοροποιηθεί λόγω της έλλειψης δραστηριότητας καταλάσης και της αδυναμίας υδρόλυσης του ιππουρικού οξέος, λόγω της ευαισθησίας του στο ναλιδιξικό οξύ, καθώς και εξαιτίας της έλλειψης παραγωγής υδρόθειου σε τριπλό σάκχαρο και της θετικής δοκιμής οξειδάσης (Sandstedt & Ursing, 1991).



**Εικόνα 3.** *Campylobacter upsaliensis*  
(Couturier, Hale, & Couturier, 2012)

Επιπλέον, έχει απομονωθεί από ασθενείς σε τέσσερις ηπείρους. Ωστόσο, είναι ευαίσθητο σε αντιβιοτικά, όπως η κεφαλοθίνη, που χρησιμοποιείται συχνά για απομόνωση εντερικών καμπυλοβακτηρίων. Επομένως, η συμβολή του *C. upsaliensis* στη διάρροια και σε άλλες ανθρώπινες ασθένειες είναι δύσκολο να προσδιοριστεί από τα παρόντα δεδομένα (Walmsley & Karmali, 1989). Η επιτυχής απομόνωση του *C. upsaliensis* από τα δείγματα κοπράνων βασίστηκε στη χρήση μιας μεθόδου

φιλτραρίσματος. Αυτή η μέθοδος εμπλουτίζει μολυσμένα με *Campylobacter* δείγματα κοπράνων και έτσι βοηθά στην αύξηση της απόδοσης όταν καλλιεργείται σε στερεά μέσα. Αυτό επιτυγχάνεται χρησιμοποιώντας ένα φίλτρο με μέγεθος πόρων αρκετά μεγάλο ώστε να επιτρέπει τη διέλευση των μικρών οργανισμών *Campylobacter* αλλά αρκετά μικρό ώστε να αποκλείει μεγαλύτερα μολυσματικά κόπρανα (Steele & McDermott, 1984). Ωστόσο, η μέθοδος αυτή χαρακτηρίστηκε από έλλειψη ευαισθησίας και δυσκινητικότητα. Για τον λόγο αυτό έδωσε τη θέση της στη χρήση ενός νέου επιλεκτικού μέσου για την απομόνωση θερμοφιλικών καμπυλοβακτηρίων, ένα μέσο χωρίς αίμα που περιέχει κεφοπεραζόνη, αμφοτερικίνη και τεϊκοπλανίνη (CAT) (Aspinall, Wareing, Hayward, & Hutchinson, 1996).

Μελέτες έδειξαν ότι και αυτό το βακτήριο μεταδίδεται από ζώα, αλλά κυρίως οικόσιτα (π.χ. γάτα, σκύλος), τα οποία μπορεί να είναι ασυμπτωματικά ή και να έχουν χρόνιες διάρροιες, σε αντίθεση με το *C. coli* και το *C. jejuni* που μεταδίδονται κυρίως από το χειρισμό ή την κατανάλωση ωμού κρέατος (Sandstedt, Ursing, & Walder, 1983). Ενώ, έχει απομονωθεί σε μεγαλύτερο ποσοστό από άλλα καμπυλοβακτήρια σε μία μελέτη στην Ιταλία (Hastings, 1978). Παράλληλα, έχει εμμέσως αποδειχθεί ότι το συγκεκριμένο είδος *Campylobacter* μπορεί να μεταδοθεί από άτομο σε άτομο (Walmsley & Karmali, 1989). Επιπροσθέτως, το *C. upsaliensis* έχει απομονωθεί, έκτος από τα κόπρανα και το έντερο, σε θέσεις όπως το απόστημα του μαστού και το εμβρυοπλαστικό υλικό από μια αυθόρμητη ανθρώπινη αποβολή (Gurgan & Diker, 1994).

Η αποτυχία αναγνώρισης του *C. upsaliensis* στη ρύθμιση πολλών κλινικών εργαστηρίων μικροβιολογίας σχετίζεται αναμφίβολα με την ευαισθησία αυτού του οργανισμού στα αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται συνήθως σε επιλεκτικά μέσα *Campylobacter*. Ως αποτέλεσμα, στον τομέα της κλινικής μικροβιολογίας, το *C. upsaliensis* παραμένει σχετικά ασαφές. Επειδή έχει λάβει ελάχιστη προσοχή, η κατανόηση για αυτό το εντερικό *Campylobacter* έχει μείνει πολύ πίσω από αυτήν των σχετικών παθογόνων όπως το *C. jejuni* (Bourke, Chan, & Sherman, 1998).

#### **2.2.4 *C. fetus***

Το *Campylobacter fetus* είναι ένα μικροαερόφιλο και θετικό στην καταλάση βακτήριο (George, Hoffman, Smibert, & Krieg, 1978). Χαρακτηρίζεται ακόμη για την ανθεκτικότητά του στο ναλιδιξικό οξύ, σε αντίθεση με το *C. upsaliensis*, γεγονός που

βοηθά στο μεταξύ τους διαχωρισμό. Δεν παρουσιάζει δραστηριότητα στην αλκαλική φωσφατάση και δεν υδρολύει το DNA ή το ιππουρικό νάτριο. Η αδυναμία υδρολύσεως του ιππουρικού διακρίνει το *C. fetus* από την πλειοψηφία των *C. jejuni* στελεχών (Hébert, et al., 1982). Τα περισσότερα, αλλά όχι όλα, στελέχη του *C. fetus* δεν μπορούν να αναπτυχθούν στους 42°C, ενώ έχουν βέλτιστο φάσμα θερμοκρασιών ανάπτυξης μεταξύ 25 και 37°C, και αυτό μπορεί να εξαρτάται από τις ατμοσφαιρικές συνθήκες που χρησιμοποιούνται. Η βέλτιστη συγκέντρωση οξυγόνου για την ανάπτυξή του αναφέρεται να είναι 6% O<sub>2</sub> και αυτή η μικροαερόφιλη φύση του μαζί με το γεγονός ότι απαιτεί την ύπαρξη διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) έχουν κάνει πολύπλοκη την ανάκτηση του μικροοργανισμού από ανθρώπινες ή ζωικές πηγές (Kiggins & Plastridge, 1956). Παράλληλα, δεν μπορεί να αναπτυχθεί σε αναερόβιες συνθήκες και για αυτό το λόγο είναι πιθανό να μην εντοπιστεί σε συστήματα καλλιέργειας αίματος. Ωστόσο διατίθενται χημικά μέσα που υποστηρίζουν την ανάπτυξή του (Wang & Blaser, 1986).

Το *C. fetus* αποτελείται από τρία υποείδη: το *C. fetus subsp. fetus* (Cff), το *C. fetus subsp. venerealis* (Cfv), και το περιγραφόμενο πιο πρόσφατα υποείδος *C. fetus subsp. testudinum* (Cft), το οποίο πιστεύεται ότι προέρχονται από ερπετά, αλλά σχετίζεται επίσης με λοιμώξεις στον άνθρωπο (Duma, et al., 2020). Στα ζώα, τόσο το Cfv όσο και το Cff είναι γνωστό ότι προκαλούν αναπαραγωγική ανεπάρκεια και στειρότητα. Το Cff έχει μια ευρύτερη γκάμα ξενιστών και βρίσκεται σε βοοειδή, πρόβατα, ερπετά και ανθρώπους, και παρόλο που το Cfv έχει απομονωθεί από τον άνθρωπο, προκαλεί ασθένεια μόνο στα βοοειδή (Fitzgerald, et al., 2014).

Είναι ένα παθογόνο που δε συνηθίζει να προσβάλλει ανθρώπους, αν και η συχνότητα εμφάνισης του είναι σχεδόν σίγουρα υποτιμημένη και πιθανώς αυξανόμενη (Blaser, 1998). Αν και μερικές φορές αναφέρεται η διάρροια ως σύμπτωμα της μόλυνσης από *C. fetus*, ειδικά σε προηγουμένως υγιείς ξενιστές, είναι πολύ λιγότερο πιθανό να αναγνωριστεί ότι προκαλεί διάρροια σε σχέση με το *C. jejuni*. Ο τρόπος μετάδοσης του στον άνθρωπο, συχνά, δεν είναι σίγουρος, αλλά είναι πιθανό να είναι παρόμοιος με αυτόν των ζώων, δηλαδή με κατάποση μολυσμένων τροφίμων. Οι συχνές περιπτώσεις διάρροιας λόγω κατάποσης μολυσμένου γάλακτος με *C. fetus*, επιβεβαιώνουν τον παραπάνω συλλογισμό (Klein, et al., 1986).

Η πλειοψηφία των ασθενών που παρουσιάζουν σοβαρή μόλυνση από *C. fetus* είναι είτε έγκυες γυναίκες είτε άτομα με κάποια υποκείμενη ασθένεια (Anstead, Jorgensen, Craig, Blaser, & Patterson, 2001). Μετά την εγκατάστασή του στον εντερικό σωλήνα,

μπορεί να προκαλέσει παροδική βακτηριαιμία που μπορεί να παρουσιάσει συμπτώματα, αλλά τις περισσότερες φορές δεν παρουσιάζει. Σε μολυσμένους ξενιστές, η παρατεταμένη βακτηριαιμία είναι μία από τις πιο κοινές ανιχνεύσιμες εκδηλώσεις της νόσου του *C. fetus* (Ray, et al., 2000). Το συγκεκριμένο βακτήριο μπορεί να προκαλέσει και άλλες σοβαρές ασθένειες, όπως μηνιγγίτιδα, περικαρδίτιδα, αορτικό ανεύρυσμα και προκαλεί επίσης την αποβολή του εμβρύου αν η ασθενής είναι έγκυος (Blaser, Newell, Thompson, & Zechner, 2008). Το γεγονός ότι ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός παρατηρείται πιο συχνά να προσβάλλει άτομα με χαμηλό ανοσοποιητικό σύστημα υπογραμμίζει την σημασία της φυσικής άμυνας του ξενιστή στην αντίσταση της εισβολής του *C. fetus* στον οργανισμό. Επίσης, πέρα από τον εντερικό σωλήνα το συγκεκριμένο καμπυλοβακτηρίδιο μπορεί να βρεθεί σε δευτερεύουσες τοποθεσίες που έχουν προκύψει, για παράδειγμα, από εστίες που προσπαθούν να επουλωθούν (Neuzil, Wang, Haas, & Blaser, 1994).

### 2.2.5 *C. lari* (πρώην *C. laridis*)

Το *Campylobacter lari* είναι ένα από τα θεرمόφιλα καμπυλοβακτηρίδια που αναπτύσσονται άριστα στους 42°C, όπως το *C. jejuni* και το *C. coli*. Αν και είναι αρνητικό στην κατά Gram χρώση όπως τα υπόλοιπα είδη, διαφοροποιείται από αυτά εξαιτίας της αναερόβιας ανάπτυξής του (Nachamkin, et al., 1984). Στη συνέχεια, το καμπυλοβακτηρίδιο βρέθηκε θετικό στην ουρεάση, γεγονός που επηρέασε τους βιοχημικούς ελέγχους, που πραγματοποιούνται για το διαχωρισμό των ειδών, και προστέθηκε ο έλεγχος ουρεάσης (Mégraud, Chevrier, Desplaces, Sedallian, & Guesdon, 1988). Επιπλέον, παρουσιάζει θετικές δοκιμές για παραγωγή καταλάσης και αναγωγή νιτρικών αλάτων, ενώ τα τεστ για υδρόλυση ιππουρικού, οξικού ινδοξυλίου, και παραγωγής H<sub>2</sub>S βγήκαν αρνητικά και παρατηρήθηκε αντοχή τόσο στο ναλιδιξικό οξύ όσο και στην κεφαλοθίνη (Werno, Klana, Shaw, & Murdoch, 2002).



Εικόνα 4. Γλάροι: πηγή *Campylobacter lari* ([http2](#))

Το *C. lari* απομονώθηκε για πρώτη φορά από είδη πτηνών, ιδίως γλάρων, το 1980 και ονομάστηκε *C. laridis* από τους Skirrow και Benjamin. Αργότερα, άλλαξε ονοματολογία σε *C. lari* (Von Graevenitz, 1990). Το καμπυλοβακτήριο βρίσκεται,

επίσης, σε θηλαστικά της θάλασσας, καθώς και σε οστρακοειδή, θαλασσίνο και γλυκό νερό (Debruyne, On, De Brandt, & Vandamme, 2009). Παρόλο που στελέχη του έχουν βρεθεί σε ζώα, όπως κοτόπουλο (Tresierra-Ayala & Bernuy, 1994), συνδέεται κυρίως με παράκτιες περιοχές και λεκάνες απορροής (Miller, et al., 2014). Μελέτες έχουν δείξει ότι το *C. lari* απομονώνεται από μεταναστευτικά πουλιά, σε μεγαλύτερο ποσοστό από τα *C. jejuni*, *C. coli*, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι αυτά τα είδη πτηνών μπορούν να λειτουργήσουν ως φορείς στη μετάδοση αυτών των παθογόνων σε μεγάλες αποστάσεις σε εξημερωμένα ζώα ή ανθρώπους (Waldenström, et al., 2002).

Το 1984, αναφέρθηκε η πρώτη περίπτωση ανθρώπινης νόσου που σχετίζεται με το *C. lari* και έκτοτε έχουν αναφερθεί σποραδικές περιπτώσεις εντερικής λοίμωξης καθώς και μια επιδημική εντερική λοίμωξη (Nachamkin, et al., 1984). Το *C. lari* σπάνια εντοπίζεται σε ανθρώπους, αλλά μπορεί περιστασιακά να οδηγήσει σε εντερίτιδα, βακτηριαμία, μόνιμη λοίμωξη βηματοδότη, πυώδης πλευρίτιδα και ουρολοίμωξη (Martinot, et al., 2001). Πιθανά συμπτώματα πριν την εμφάνιση της διάρροιας είναι η ανορεξία, η ναυτία και οι κράμπες στην κάτω κοιλιακή χώρα, ενώ κατά την εμφάνιση της διάρροιας παρατηρείται και η εμφάνιση πυρετού στον ξενιστή (Simor & Wilcox, 1987).

### **2.2.6 *C. concisus***

Το *Campylobacter concisus* αποικίζει κυρίως την ανθρώπινη στοματική κοιλότητα και ορισμένα στελέχη μπορούν να μεταφερθούν στην εντερική οδό. Από ανάλυση γονιδιώματος στελεχών του *C. concisus* που απομονώθηκαν από δείγματα σάλιου έχει εντοπιστεί ένας βακτηριακός δείκτης που σχετίζεται με ενεργή νόσο του Crohn (Kaakoush & Mitchell, 2012).

Το συγκεκριμένο είδος όμοια με την πλειοψηφία των άλλων ειδών έχει καμπύλο ή σπειροειδές σχήμα και ένα μονό πολικό μαστίγιο. Η αποικία του εμφανίζεται ως κυρτό σχήμα, ημιδιαφανές και έχει διάμετρο περίπου 1 mm. Ενώ, τα στελέχη του *C. concisus* μπόρεσαν να αναπτυχθούν υπό αναερόβιες συνθήκες, με μικροσκοπικές αποικίες που παρατηρήθηκαν μετά από 3 ημέρες καλλιέργειας υπό αναερόβιες συνθήκες, δείχνοντας ότι είναι ένα αναερόβιο βακτήριο. Παράλληλα, το *C. concisus* είναι ένα χημειολιθότροφον βακτήριο, ικανό, δηλαδή, να χρησιμοποιεί το H<sub>2</sub> ως πηγή ενέργειας για να αυξήσει σημαντικά την ανάπτυξή του. Το *C. concisus* είναι

αρνητικό στην καταλάση, συμβάλλοντας στην αδυναμία του να αναπτυχθεί υπό μικροαεροβικές συνθήκες (Liu, Ma, Wang, & Zhang, 2018).

Επί του παρόντος, οι άνθρωποι είναι οι μόνοι γνωστοί ξενιστές του *C. concisus* με τη στοματική κοιλότητα να είναι η φυσική τοποθεσία αποικισμού του. Το *C. concisus* έχει απομονωθεί από δείγματα σιέλου παιδιών από την ηλικία των 3 ετών, αν και το ποσοστό θετικής απομόνωσης ήταν σημαντικά χαμηλότερο από τις άλλες ηλικιακές ομάδες, αφού το υψηλότερο ποσοστό απομόνωσης του βακτηρίου παρατηρήθηκε στην ηλικιακή ομάδα των 12-17. Τα μολυσμένα από *C. concisus* τρόφιμα ή ποτά, ιδιαίτερα αυτά που αποθηκεύονται σε ψυγεία, μπορούν επίσης να διαδραματίσουν ρόλο στη μετάδοση του. Αυτό εξηγείται από την ικανότητα του μικροοργανισμού να διατηρείται καλύτερα σε θερμοκρασίες ψυγείου, παρά σε θερμοκρασίες περιβάλλοντος (Zhang, Lee, Grimm, Riordan, & Lemberg, 2014)

Τα νοσήματα που συνδέονται με το συγκεκριμένο παθογόνο είναι πολυάριθμα. Τα πλέον διαδεδομένα είναι η ουλίτιδα και η περιοδοντίτιδα, ο οισοφάγος του Barrett, που αποτελεί μια νόσο γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης, κοινή γαστρεντερίτιδα και τέλος φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (πχ Chron και ελκώδη κολίτιδα) (Liu, Ma, Wang, & Zhang, 2018).



**Εικόνα 5.** *Campylobacter concisus*  
(Casanova, Schweiger, von Steiger, Droz, & Marschall, 2015)



Στον παρατάτω πίνακα παρατίθενται συνολικά οι διαφορές μεταξύ των ειδών *Campylobacter* σχετικά με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, τις πιθανές πηγές μόλυνσης, τις σχετικές ασθένειες και την ευαισθησία τους ως προς το οξυγόνο.

**Πίνακας 1.** Διαφορές μεταξύ των ειδών *Campylobacter*

	<b>C. jejuni</b>	<b>C. coli</b>	<b>C. upsaliensis</b>	<b>C. fetus</b>	<b>C. lari</b>	<b>C. concisus</b>
<b>Πηγή</b>	Πουλερικά, άγρια και κατοικίδια ζώα	Χοίροι, βοοειδή, πρόβατα, πτηνά, άνθρωπος	Κατοικίδια ζώα	Βοοειδή, πρόβατα, ερπετά και άνθρωπος	Γλάροι, μεταναστευτικά πουλιά, θηλαστικά της θάλασσας, οστρακοειδή, θαλασσινό, γλυκό νερό, παράκτιες περιοχές, λεκάνες απορροής	Ανθρώπινη στοματική κοιλότητα
<b>Αποικίες</b>	Γκρίζες που δημιουργούν σμήνη	Στρογγυλές κυρτές, ολόκληρες, λαμπερές μεγέθους 1-2 mm, Χρώμα μπεζ ή ελαφρώς ρόδινο.	Λείες γκρίζες ημιδιαφανείς	Γκρίζες κυρτές	Στρογγυλές κυρτές, ολόκληρες, λαμπερές, μεγέθους 1-2 mm, Χρώμα μπεζ ή ελαφρώς ρόδινο.	Κυρτές, ημιδιαφανείς μεγέθους 1 mm
<b>Μαστίγιο</b>	Ένα μονό πολικό	Ένα μονό πολικό	Ένα μονό πολικό ή διπολικό	Ένα μονό πολικό	Ένα μονό πολικό	Ένα μονό πολικό
<b>Ευαισθησία στο O<sub>2</sub></b>	Μικροαερόβιο	Μικροαερόβιο	Μικροαερόβιο	Μικροαερόβιο	Αναερόβιο	Αναερόβιο
<b>Σχετικές ασθένειες</b>	Guillain-Barré Syndrome	Γαστρεντερίτιδα, οξεία εντεροκολίτιδα, οξεία διάρροια	Guillain-Barré Syndrome	Παροδική βακτηριαμία, μηνιγγίτιδα, περικαρδίτιδα, αορτικό ανεύρυσμα, αποβολή του εμβρύου	Εντερίτιδα, βακτηριαμία, μόνιμη λοίμωξη βηματοδότη, πυώδης πλευρίτιδα, ουρολοίμωξη	Ουλίτιδα, περιοδοντίτιδα, οισοφάγος του Barrett, κοινή γαστρεντερίτιδα, φλεγμονώδη νόσο του εντέρου (πχ Chron και ελκώδη κολίτιδα)

### **3. Βιοχημεία / Γενετική**

Ο διαχωρισμός των ειδών του *Campylobacter* έχει αξία στις επιδημιολογικές έρευνες, για τη διεξαγωγή στατιστικών δεδομένων, ωστόσο δεν έχει σημασία για τα κλινικά δεδομένα. Ο διαχωρισμός αυτός βασίζεται κυρίως σε θερμοκρασίες ανάπτυξης, εκλεκτικά χρωμογόνα άγαρ, βιοχημικές δοκιμές και πρότυπα αντοχής στα αντιβιοτικά. Οι βιοχημικές δοκιμές περιέχουν μια κατηγορία δοκιμών που ονομάζονται γρήγορα τεστ (rapid tests) και περιλαμβάνουν, την υδρόλυση ιππουρικού οξέος, την παραγωγή οξειδάσης, την παραγωγή καταλάσης και την παραγωγή H<sub>2</sub>S (Fennell, et al., 1984).

#### **3.1 Θερμοκρασίες ανάπτυξης**

Οι οργανισμοί του γένους *Campylobacter* έχουν περιορισμένο εύρος θερμοκρασιών ανάπτυξης καθώς δεν αναπτύσσονται κάτω των 25°C και άνω των 43°C (Palumbo, 1984). Όσον αφορά στο διαχωρισμό των ειδών με βάση την θερμοκρασία είναι ιδιαίτερα χρήσιμος για την αναγνώριση του *C. fetus*, διότι σε αντίθεση με τα υπόλοιπα είδη δεν μπορεί να αναπτυχθεί στους 43°C, ενώ είναι το μόνο είδος που μπορεί να αναπτυχθεί στους 25 με 30°C (Wang, Luechtefeld, Reller, & Blaser, 1980). Άλλος ένας λόγος που είναι χρήσιμη η θερμοκρασία ανάπτυξης στο διαχωρισμό είναι ότι το *C. upsaliensis* μπορεί να αναπτυχθεί μόνο σε θερμοκρασίες κοντά στους 35°C, με αποτέλεσμα να μην μπορεί να αντέξει σε περιβάλλον με ακραίες θερμοκρασίες, δηλαδή κάτω από 30°C ή πάνω από 40°C (Corry, Post, Colin, & Laisney, 1995). Όλα τα παραπάνω ισχύουν μόνο για μικροαερόβιες συνθήκες, καθώς ο μικροοργανισμός είναι ευαίσθητος στην παρουσία οξυγόνου. Ωστόσο, παρά την προσπάθεια εφαρμογής μεθόδων διαφοροποίησης των στελεχών *Campylobacter*, δεν είχαν ιδιαίτερη επιτυχία εξαιτίας του μεγάλου εύρους θερμοκρασιών ανάπτυξης του κάθε είδους. Αυτό αποδεικνύεται από ορισμένα στελέχη *C. fetus* που έχουν εντοπιστεί στους 42°C (Penner, 1988).

#### **3.2 Εκλεκτικά υποστρώματα**

Για την απομόνωση αποικιών του γένους *Campylobacter* είναι απαραίτητη η χρήση εκλεκτικών υποστρωμάτων, τα οποία τους προσφέρουν τα κατάλληλα θρεπτικά υλικά για την ανάπτυξή τους σε συνδυασμό με τις κατάλληλες συνθήκες ανάπτυξης (θερμοκρασία, απουσία οξυγόνου).

### 3.2.1 *Campylobacter* Selective Agar (PRESTON)

Αυτό το μέσο ήταν ειδικά διαμορφωμένο ώστε να είναι κατάλληλο για απομόνωση ειδών *Campylobacter* από όλους τους τύπους δειγμάτων (ανθρώπου, ζώου, πτηνού και περιβάλλοντος).

Για την απομόνωση του *Campylobacter* ακολουθούνται τα παρακάτω βήματα:

- Προετοιμασία του Preston *Campylobacter* Selective Agar σύμφωνα με τις οδηγίες.
- Γαλακτωματοποίηση του υπό δοκιμή δείγματος σε 2 ml 0,1% πεπτόνης νερού.
- Εμβολιασμός στο επιλεκτικό μέσο με μπατονέτες με άκρη βαμβακιού έτσι ώστε να σχηματιστούν μεμονωμένες απομονωμένες αποικίες.
- Επάση των πλακών σε ατμόσφαιρα που αποτελείται από περίπου 5-6% οξυγόνο, 10% διοξείδιο του άνθρακα και 84-85% άζωτο για 24-48 ώρες στους 42°C.
- Εξέταση των πλακών και επιβεβαίωση των τυπικών αποικιών ως *Campylobacter jejuni* ή *Campylobacter coli* με τις τυπικές μεθόδους (Thermo Fisher Scientific, a).



Εικόνα 6. Αποτελέσματα καλλιέργειας *Campylobacter* σε Preston Agar (<http3>)

### 3.2.2 CHROMagar™ *Campylobacter*

Το CHROMagar™ *Campylobacter* έχει γενικότερη χρήση στην ανίχνευση και τον διαχωρισμό των *Campylobacter spp.* από το χρώμα της αποικίας. Βασίζεται στο γεγονός, ότι οι πεπτόνες παρέχουν στο μέσο τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά. Ενώ, οι εκλεκτικοί παράγοντες αναστέλλουν την ανάπτυξη των κατά Gram (-) βακτηριδίων, των μυκήτων και των Gram (+) κόκκων. Τα υποστρώματα που περιέχουν χρώμα διασπώνται από ειδικά ένζυμα των μικροβίων που απελευθερώνουν αδιάλυτες

έγχρωμες ενώσεις. Συγκεκριμένα, το *Campylobacter* χρησιμοποιεί ένα συνδυασμό από τα χρωμογόνα, το οποίο διασπά με την παραγωγή ενζύμων και σχηματίζει αποικίες κόκκινου χρώματος με ροζ άλω. Αντίθετα, άλλα είδη βακτηρίων μπορεί να χρησιμοποιήσουν διαφορετικό συνδυασμό χρωμογόνων υποστρωμάτων και να παράγουν μπλε αποικίες. Εάν κανένα από τα χρωμογόνα υποστρώματα δεν χρησιμοποιηθεί, θα αναπτυχθούν άχρωμες ή λευκές αποικίες (Bioprepare microbiology, 2018).

Για την απομόνωση του *Campylobacter* ακολουθούνται τα παρακάτω βήματα:

- Εμβολιασμός του δείγματος (1/10ww) σε εμπλουτιστικό *Campylobacter* Broth.
- Επώαση: 37°C ± 1°C για 4 – 6 ώρες & 41,5°C ± 1°C σε μικροαερόβιες συνθήκες για 44 ± 4 ώρες.
- Εμβολιασμός με κρίκο (10μl Bolton) στην άκρη του τρυβλίου με ακόλουθη πραγματοποίηση διαδοχικών αραιώσεων με αποστειρωμένο κρίκο.
- Επώαση: 41,5°C ± 1°C για 44 ± 4 ώρες, σε μικροαερόβιες συνθήκες (5 – 6 % οξυγόνο, 10% CO<sub>2</sub> και 84-85% άζωτο) (Bioprepare microbiology, 2018).



Εικόνα 7. Αποτελέσματα καλλιέργειας *Campylobacter* σε CHROMagar™ *Campylobacter* (<http4>)

### 3.2.3 *Campylobacter* Blood-free Agar Base

Το συγκεκριμένο θρεπτικό υλικό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την απομόνωση *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* και *Campylobacter lari*. Η αποικιακή μορφολογία των *campylobacters* μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως κατευθυντήρια γραμμή για την αναγνώριση σε επίπεδο ειδών. Πιο συγκεκριμένα, τα στελέχη *Campylobacter jejuni* παράγουν γκριζες, υγρές επίπεδες αποικίες. Ωστόσο, μερικά στελέχη μπορεί να έχουν πράσινη απόχρωση ή ξηρή εμφάνιση, με ή χωρίς μεταλλική γυαλάδα. Τα στελέχη *Campylobacter coli* τείνουν να έχουν κρεμώδες γκρι χρώμα, να είναι υγρά,

ελαφρώς ανυψωμένα και συχνά παράγουν διακριτές αποικίες. Οι αποικίες τείνουν να συρρέουν όταν αρχικά απομονωθούν από κλινικά δείγματα (Thermo Fisher Scientific, b).

Για την απομόνωση του *Campylobacter* ακολουθούνται τα παρακάτω βήματα:

- Προετοιμασία του *Campylobacter* blood-free agar όπως περιγράφεται στις οδηγίες.
- Γαλακτωματοποίηση περίπου 0,5 g του δείγματος σε 5 ml αποστειρωμένου 0,1% νερού πεπτόνης για να σχηματιστεί περίπου 1:10 αραιώση.
- Εμβολιασμός στο επιλεκτικό μέσο με μπατονέτες με άκρη βαμβακιού έτσι ώστε να σχηματιστούν μεμονωμένες απομονωμένες αποικίες.
- Επάση των πλακών σε ατμόσφαιρα που αποτελείται από περίπου 5-6% οξυγόνο, 10% διοξείδιο του άνθρακα και 84-85% άζωτο για 48 ώρες στους 37°C (Thermo Fisher Scientific, b).



*Εικόνα 8. Αποτελέσματα καλλιέργειας Campylobacter σε Campylobacter blood-free agar (http5)*

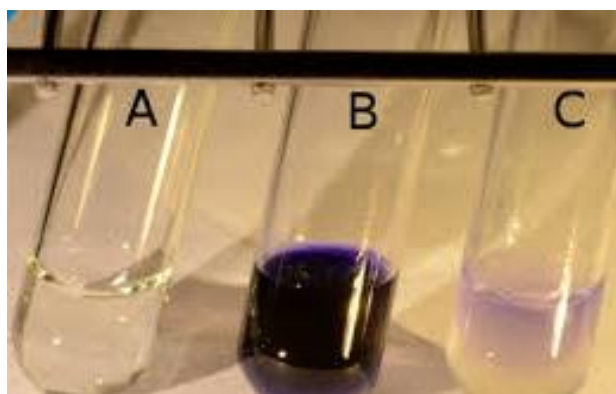
### **3.3 Βιοχημικές δοκιμές**

#### **3.3.1 Υδρόλυση ιππουρικού οξέος**

Η δοκιμή υδρόλυσης ιππουρικού οξέος χρησιμεύει στην ταυτοποίηση του *C. jejuni* καθώς είναι το μοναδικό είδος που μπορεί να την πραγματοποιήσει (Levin, 2007). Η δοκιμή βασίζεται στο ένζυμο της ιππουρικάσης το οποίο υδρολύει το ιππουρικό για την παραγωγή βενζοϊκού οξέος και γλυκίνης. Η γλυκίνη ανιχνεύεται με χρήση διαλύματος νινυδρίνης με δοκιμή σωλήνων. Το δεύτερο τελικό προϊόν, δηλαδή το βενζοϊκό οξύ, μπορεί επίσης να ανιχνευθεί, αλλά χρησιμοποιώντας μία πιο περίπλοκη διαδικασία

(Hwang & Ederer, 1975). Σε αρχικό στάδιο, το τεστ συνηθιζόταν να επιβεβαιώνει ότι απομονωμένα στα κόπρανα από ασθενείς με διάρροια ήταν θερμοφιλικά καμπυλοβακτηρίδια και όχι *C. fetus* που είναι αρνητικό σε αυτή τη δοκιμή (Harvey, 1980). Αυτός ο διαχωρισμός βοήθησε στο να γίνει κατανοητό σε αυτό το σημείο ότι το *C. fetus* δεν είναι ούτε ένα κοινό ανθρώπινο παθογόνο ούτε ανήκει στην φυσιολογική χλωρίδα του ανθρώπινου εντέρου. Το πιο σημαντικό, ωστόσο, ήταν η συνειδητοποίηση ότι το τεστ διαφοροποίησε το *C. jejuni*, το οποίο είναι θετικό στη δοκιμή, από το *C. coli*, το οποίο είναι αρνητικό (Roor, Smibert, & Krieg, 1984).

Αν και το τεστ ιππουρικού είναι σημαντικό, η χρήση του θα μπορούσε να οδηγήσει σε παραπλανητικά αποτελέσματα εάν ληφθούν υπόψη τα αποτελέσματα με αρνητικά στο ιππουρικό *C. jejuni* και θετικά στο ιππουρικό *C. coli*. Ωστόσο, ο βαθμός στον οποίο συμβαίνουν αυτά τα προϊόντα απομόνωσης μπορεί να προσδιοριστεί αξιόπιστα μόνο με δοκιμές σχετικότητας με το DNA, επειδή οι δοκιμές για διαφοροποίηση των δύο ειδών είναι λίγες και μπορεί να δώσουν διφορούμενα αποτελέσματα. Για αυτό μετά τη δοκιμή του ιππουρικού ακολουθεί δοκιμή PCR για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων (Penner, 1988).



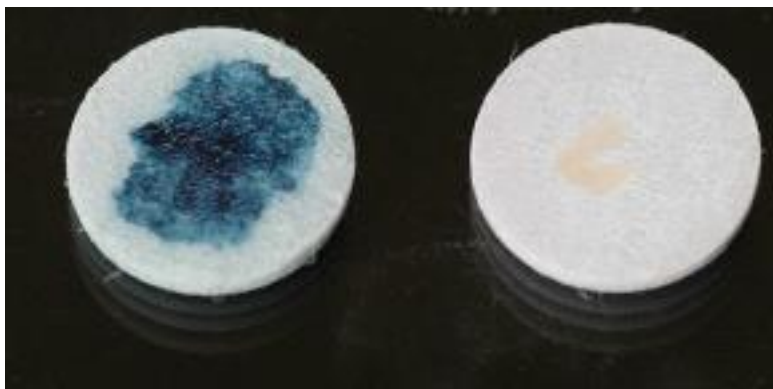
**Εικόνα 9.** Αποτελέσματα υδρόλυσης ιππουρικού οξέος. A: αρνητικό, B: θετικό, C: πιθανό θετικό (<http://>)

### 3.3.2 Υδρόλυση οξικού ινδοξυλίου

Η αυξανόμενη συνειδητοποίηση της σημασίας του *Campylobacter spp.* σε ανθρώπινες και ζωικές μολύνσεις προκάλεσε το γεγονός ότι οι εργαζόμενοι σε πολλά εργαστήρια να προσπαθούν να αναπτύξουν δοκιμές για τη γρήγορη και αξιόπιστη αναγνώριση του *Campylobacter spp.* και μέλη σχετικών γενών. Η ταυτοποίησή τους με συμβατικές βιοχημικές μεθόδους είναι δύσκολη επειδή είναι σχετικά βιοχημικά αδρανείς.

Το ινδοξύλιο είναι ένα προϊόν της σηπτικής αποσύνθεσης της τρυπτοφάνης στο ανθρώπινο έντερο μέσω δράσης βακτηριδίων. Οι βακτηριακές υδρολάσες απελευθερώνουν ινδοξύλιο από αυτές τις ενώσεις (Porovic-Uroic, Patton, Nicholson, & Kiehlbauch, 1990). Παρουσία αέρα (οξυγόνου), το ινδοξύλιο σχηματίζεται σε λουλακί λευκό και λουλακί χρώμα, ενώ η εμφάνιση σκούρου μπλε χρώματος δείχνει ότι η ένωση ινδοξυλίου μεταβολίστηκε (Dealler, Hawkey, & Millar, 1988). Η υδρόλυση του οξικού ινδοξυλίου ανιχνεύεται με δύο μεθόδους. Στη μία μέθοδο, αποικίες ενός είδους *Campylobacter* τοποθετούνται σε δισκίο και προστίθεται μια σταγόνα αποστειρωμένου απιονισμένου νερού. Εάν το οξικό ινδοξύλιο υδρολυθεί, εμφανίζεται χρωματική αλλαγή σε σκούρο μπλε σε 5 έως 10 λεπτά. Αν δεν παρατηρηθεί αλλαγή χρώματος σημαίνει ότι δεν πραγματοποιήθηκε υδρόλυση. Στην δεύτερη μέθοδο, οι αποικίες εναιωρούνται σε 0,3 ml αποστειρωμένου απιονισμένου νερού. Το δισκίο προστίθεται και, εάν είναι θετικό, το χρώμα αλλάζει σε μπλε σε διάστημα 10 έως 15 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου. Τα είδη που δίνουν θετική αντίδραση υδρόλυσης οξικού ινδοξυλίου είναι το *C. jejuni*, το *C. coli* και το *C. upsaliensis*. Αντίθετα τα *C. fetus* και *C. lari* είναι αρνητικά σε αυτή τη δοκιμή.

Συνεπώς, η χρησιμότητα του τεστ έγκειται στο γεγονός ότι είναι γρήγορη και επιλεκτική για περιορισμένο αριθμό ειδών *Campylobacter*. Το χαμηλό του κόστος το καθιστά επίσης οικονομικό για μια ρουτίνα εργαστηριακής χρήσης και ευεργετική για όσους ενδιαφέρονται για την ταυτοποίηση και ταξινόμηση *Campylobacter* (Mills & Gherna, 1987).



**Εικόνα 10.** Αποτελέσματα υδρόλυσης οξικού ινδοξυλίου. Μπλε: θετικό, Κίτρινο: αρνητικό (<http7>).

### 3.3.3 Υδρόλυση Ουρεάσης

Πριν από αρκετά χρόνια έρευνες στην Ολλανδία είχαν δείξει ότι τα *Campylobacters* μπορούσαν να υδρολύσουν ικανοποιητικές ποσότητες ουρεάσης όταν γινόταν δοκιμή

σε μέσο του Christensen χωρίς την προσθήκη άγαρ (Christensen, 1946). Μια θετική αντίδραση ουρεάσης με την συμβατική μέθοδο μπορεί κάλλιστα να μη γίνει, εάν το μέγεθος του εμβολίου είναι μικρό ή ο οργανισμός δεν αναπτύσσεται επαρκώς στο μέσο ουρίας. Επιπλέον, οι όξινες συνθήκες μιας μικροαερόφιλης ατμόσφαιρας θα μπορούσαν να καλύψουν την αλκαλική αλλαγή στο μέσο και για να αποφευχθεί αυτό το πρόβλημα ο σωλήνας πρέπει να αφεθεί στον αέρα για τουλάχιστον μία ώρα για να επιτρέψει στο διοξείδιο του άνθρακα τη διάχυση εκτός του μέσου πριν καταγραφεί το αποτέλεσμα. Εξαιτίας, λοιπόν, αυτών των παραγόντων που καθιστούσαν την παραδοσιακή μέθοδο αμφίβολη και αργή (αποτελέσματα σε 4 ημέρες), έγιναν ενέργειες για την ανακάλυψη μίας πιο γρήγορης και πιο ασφαλούς μεθόδου (Owen, Martin, & Borman, 1985).

Εν συντομία η νέα μέθοδος είναι η εξής. Η βάση άγαρ της ουρίας του Christensen διανέμεται σε ποσότητες 0,5 mL σε 13 x 100 mm σωλήνες. Η καλλιέργεια εναιωρείται στο μέσο έως ότου αποκτηθεί ορατή θολότητα. Η αλλαγή του χρώματος του μέσου από κίτρινο σε ροζ εντός πέντε λεπτών σε θερμοκρασία δωματίου θεωρείται ένδειξη υδρόλυσης ουρεάσης (Barrett, Patton, & Morris, 1988).

Επομένως, η τροποποιημένη δοκιμή ουρεάσης είναι μια χρήσιμη προσθήκη στις τρέχουσες διαθέσιμες βιοχημικές δοκιμές για τον προσδιορισμό των *Campylobacters*, ειδικά για τη διάκριση μεταξύ των γαστρικών στελεχών. Συγκεκριμένα, η δοκιμή ουρεάσης χρησιμεύει στον διαχωρισμό του *C. lari* που είναι θετικό, από τα *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* και *C. upsaliensis*, τα οποία είναι αρνητικά στην παραπάνω βιοχημική δοκιμή (Owen, Martin, & Borman, Rapid urea hydrolysis by gastric campylobacters, 1985).



**Εικόνα 11.** Αποτελέσματα υδρόλυσης ουρεάσης. Κίτρινο: αρνητικό, Πορτοκαλί: μη καλλιεργημένο άγαρ, Ροζ: θετικό. ([http8](http://8))

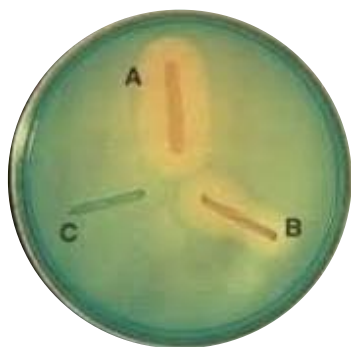
### 3.3.4 Υδρόλυση DNA

Η δεοξυριβονουκλεάση (DNase) είναι ένα ένζυμο που καταλύει την υδρολυτική διάσπαση των φωσφοδιεστερικών δεσμών στον σκελετό του DNA, υποβαθμίζοντας



έτσι το DNA. Οι δεοξυριβονουκλεάσες είναι ένας τύπος νουκλεάσης, ένας γενικός όρος για ένζυμα ικανά να υδρολύουν φωσφοδιεστερικούς δεσμούς που συνδέουν νουκλεοτίδια (Evans & Aguilera, 2003). Μία από τις δοκιμές που χρησιμοποιήθηκαν για τον διαχωρισμό του *Campylobacter jejuni* από τα *C. coli* και *C. lari* είναι η παραγωγή DNase, δηλαδή ο έλεγχος υδρόλυσης του DNA.

Για τον έλεγχο υδρόλυσης του DNA παρασκευάζεται ένα μέσο των 100 mL άγαρ δοκιμής DNase, σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, και αρχικά συμπληρωνόταν με 1,35 mL διάλυμα με 0,5% χλωροφόρμιο εκχυλισμένο με πράσινο του μεθυλίου (Smith, Hancock, & Rhoden, 1969). Ωστόσο, λόγω κάποιων προβλημάτων που εμφανίστηκαν λόγω της χρήσης αυτού του αντιδραστηρίου, όπως το γεγονός ότι ήταν τοξικό για τα βακτήρια, προτάθηκε η χρήση του δείκτη μπλε τολουιδίνης στη θέση του (Hänninen, 1989). Οι πλάκες με το άγαρ DNase ξηραίνονται καλά με τοποθέτηση σε επωαστήρα 36 ή 43°C, με τα καπάκια μερικώς αφαιρεμένα. Για τον εμβολιασμό κυκλικής επιφάνειας, διαμέτρου περίπου 1 cm, του μέσου DNase από μια καλά αποξηραμένη πλάκα, χρησιμοποιείται ένα μεγάλο μέρος αποικίας από μια καλλιέργεια που αναπτύχθηκε εντός 24 ωρών. Στη συνέχεια, έξι καλλιέργειες εμβολιάζονται σε καθεμία πλάκα, αντίστοιχα. Οι πλάκες επωάζονται για πέντε ημέρες και εξετάζονται καθημερινά (Barrett, Patton, & Morris, 1988), για την παρουσία μιας διαυγούς ροζ ζώνης που περιβάλλει την περιοχή της αποικίας. Η απουσία της διαυγούς ροζ ζώνης καθώς και η παρουσία μιας στενής και θολής άχρωμης ή ροζ ζώνης θεωρείται αρνητικό αποτέλεσμα δοκιμής (Hänninen, 1989). Μερικά στελέχη που εμφανίστηκαν ενδιάμεσα άχρωμες, καθαρές ζώνες σε επαναλαμβανόμενες δοκιμές θεωρήθηκαν ως αδύναμη θετική αντίδραση. Σε αυτή τη δοκιμή χρησιμοποιείται για μάρτυρας ένα στέλεχος με σίγουρη θετική αντίδραση δοκιμής (Lior, 1984). Τα μόνα είδη που σε μικρό ποσοστό είναι θετικά στην υδρόλυση DNA είναι το *C. jejuni* (33%) και το *C. coli* (15%), ενώ κανένα άλλο είδος δεν έχει τη δυνατότητα να πραγματοποιήσει αυτή την υδρόλυση (Barrett, Patton, & Morris, 1988).



**Εικόνα 12** Αποτελέσματα υδρόλυσης δεσοξυριβονουκλεάσης. A: θετικό, B: θετικό, C: αρνητικό (<http9>).

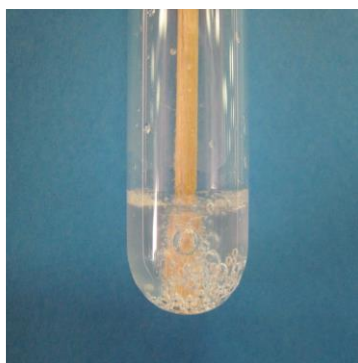
### 3.3.5 Παραγωγή καταλάσης

Για να επιβιώσουν, οι οργανισμοί πρέπει να βασίζονται σε αμυντικούς μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να επιδιορθώσουν ή να ξεφύγουν από την οξειδωτική βλάβη του υπεροξειδίου του υδρογόνου (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Μερικά βακτήρια παράγουν το ένζυμο καταλάση, το οποίο διευκολύνει την κυτταρική αποτοξίνωση. Η καταλάση εξουδετερώνει τις βακτηριοκτόνες επιδράσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου (Wheelis, 2007) και η συγκέντρωσή της στα βακτήρια έχει συσχετιστεί με την παθογένεια (Mahon, Lehman, & Manuselis, 2018).

Η δοκιμή καταλάσης διευκολύνει την ανίχνευση του ενζύμου καταλάση στα βακτήρια. Επίσης, είναι πολύτιμη για τον προσδιορισμό ορισμένων gram αρνητικών οργανισμών όπως το *Campylobacter fetus*, *C. jejuni*, *C. lari* και *C. coli*, τα οποία είναι όλα θετικά στη δοκιμή, από άλλα είδη *Campylobacter* που αποφαίνονται αρνητικά, όπως το *C. upsaliensis* (Bourke, Chan, & Sherman, 1998) και το *C. concisus* (Kaakoush & Mitchell, 2012). Το τεστ βασίζεται στην ικανότητα του ενζύμου καταλάσης να εξουδετερώνει τις βακτηριοκτόνες επιδράσεις του υπεροξειδίου του υδρογόνου (Wheelis, 2007). Η καταλάση επιταχύνει τη διάσπαση του H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> σε νερό και οξυγόνο σύμφωνα με την αντίδραση :  $2 \text{H}_2\text{O}_2 + \text{Catalase} \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$ . Αυτή η αντίδραση είναι εμφανής με τον γρήγορο σχηματισμό φυσαλίδων (Clarke & Cowan, 1952).

Υπάρχουν δύο πιο συνηθισμένες μέθοδοι για τον έλεγχο καταλάσης, η μέθοδος σωλήνα και η μέθοδος της σταγόνας. Στην πρώτη μέθοδο, προστίθενται 4 έως 5 σταγόνες H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3% σε δοκιμαστικό σωλήνα 12 x 75 mm. Χρησιμοποιώντας μία ξύλινη ράβδο εφαρμογής, συλλέγεται μια μικρή ποσότητα οργανισμού από μια καλά απομονωμένη αποικία 18 έως 24 ωρών και τοποθετείται στο δοκιμαστικό σωλήνα. Το σωληνάριο τοποθετείται σε σκούρο φόντο και παρατηρείται για άμεσο σχηματισμό φυσαλίδων (O<sub>2</sub> + νερό = φυσαλίδες) στο τέλος της ράβδου. Στη δεύτερη μέθοδο, τοποθετείται μια πλάκα μικροσκοπίου μέσα σε τρυβλίο Petri, κρατώντας σε ετοιμότητα το καπάκι του. Η χρήση ενός τρυβλίου Petri είναι προαιρετική, καθώς η αντίδραση καταλάσης μπορεί να λάβει χώρα και χωρίς αυτό. Ωστόσο, για τον περιορισμό των αερολυμάτων καταλάσης, τα οποία έχει αποδειχθεί ότι μεταφέρουν βιώσιμα βακτηριακά κύτταρα, η χρήση ενός τρυβλίου Petri συνιστάται ανεπιφύλακτα. Χρησιμοποιώντας αποστειρωμένο βρόχο εμβολιασμού ή ξύλινο απλικατέρ, μια μικρή ποσότητα οργανισμού συλλέγεται από μία καλά απομονωμένη αποικία 18 έως 24 ωρών και τοποθετείται πάνω στην πλάκα μικροσκοπίου. Χρησιμοποιώντας ένα σταγονόμετρο ή

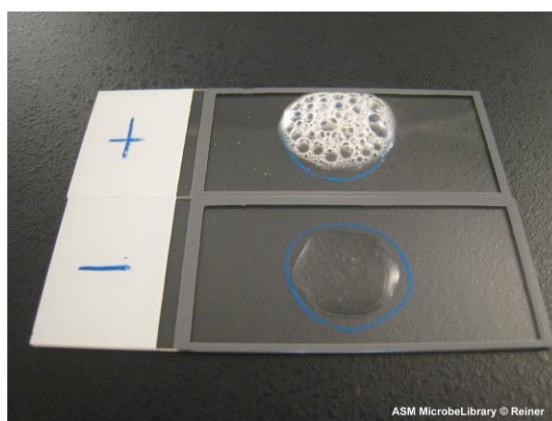
πιπέτα Pasteur, τοποθετήστε 1 σταγόνα 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> στον οργανισμό στην πλάκα μικροσκοπίου, χωρίς ανάδευση. Το τρυβλίο Petri καλύπτεται αμέσως με καπάκι για τον περιορισμό των αερολυμάτων και παρατηρείται ο άμεσος σχηματισμός φυσαλίδων. Το σκούρο φόντο κατά την παρατήρηση, και σε αυτή την περίπτωση βελτιώνει την ανάγνωση (Reiner, 2010).



**Εικόνα 13.** Θετικό αποτέλεσμα δοκιμής σωλήνα παραγωγής καταλάσης. (Reiner, 2010)



**Εικόνα 14.** Αρνητικό αποτέλεσμα δοκιμής σωλήνα παραγωγής καταλάσης (Reiner, 2010)



**Εικόνα 15.** Αποτελέσματα δοκιμής δίσκου παραγωγής καταλάσης. Πάνω: θετικό, Κάτω: αρνητικό. (Reiner, 2010)

Οι δύο αυτές μέθοδοι έχουν κάποια κοινά. Κατά την συλλογή της αποικίας, είναι σημαντικό να μην συλλεχθεί καθόλου άγαρ. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό εάν απομονωθεί αποικία που αναπτύχθηκε σε άγαρ που περιείχε ερυθρά αιμοσφαίρια, αυτό γιατί η μεταφορά ερυθρού αίματος κύτταρα στο τεστ μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς θετική αντίδραση. Ταυτόχρονα η ανάγνωση των αποτελεσμάτων γίνεται με τον ίδιο τρόπο. Δηλαδή, οι θετικές αντιδράσεις είναι εμφανείς με άμεσο αναβρασμό (σχηματισμός φυσαλίδων). Ενώ, σε μερικές περιπτώσεις είναι χρήσιμος ένας μεγεθυντικός φακός ή ένα μικροσκόπιο για να γίνουν αντιληπτές οι αδύναμες θετικές αντιδράσεις. Αντίθετα, η απουσία φυσαλίδων

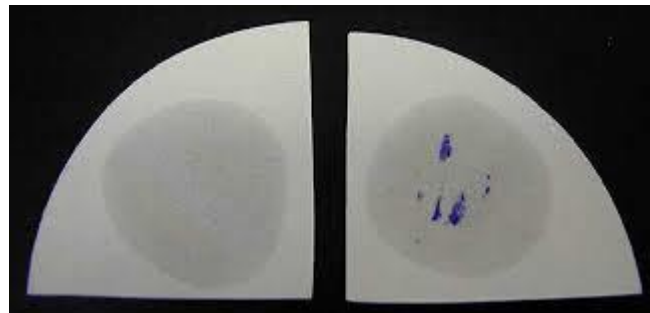
αντιπροσωπεύει μια αρνητική αντίδραση, καθώς δεν υπάρχει ένζυμο καταλάσης να υδρολύει την αντίδραση υπεροξειδίου του υδρογόνου (Clarke & Cowan, 1952).

Συνεπώς, ο παραπάνω ποιοτικός έλεγχος πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας οργανισμούς που είναι γνωστό ότι είναι θετικοί και αρνητικοί για την καταλάση, ώστε να είναι εύκολος ο διαχωρισμός μεταξύ δύο ειδών (Mahon, Lehman, & Manuselis, 2018).

### 3.3.6 Παραγωγή Οξειδάσης

Η δοκιμή παραγωγής οξειδάσης ανήκει στις γρήγορες δοκιμές (rapid tests) διαχωρισμού ειδών *Campylobacter* (Fennell, et al., 1984). Πιο συγκεκριμένα χρησιμεύει στον διαχωρισμό του *C. upsaliensis* το οποίο είναι θετικό στη δοκιμή από τα *C. jejuni*, *C. coli*, *C. fetus* και *C. lari* που είναι αρνητικά (Bourke, Chan, & Sherman, 1998).

Η παραγωγή κυτοχρώματος οξειδάσης ανιχνεύεται τοποθετώντας μια μικρή ποσότητα καλλιέργειας σε φίλτρο χαρτιού και πλημμυρίζοντας το φίλτρο με το αντιδραστήριο του Κονακ (διάλυμα διυδροχλωριδίου τετραμεθυλοπαραφαινολενοδιαμίνης 1%) (Konacs, 1956). Εάν αναπτυχθεί σκούρο μωβ χρώμα, εντός δέκα δευτερολέπτων, θεωρείται ότι η δοκιμή είναι θετική. Επίσης, ο αντιδραστήριο θα πρέπει να παρασκευάζεται κάθε δύο εβδομάδες και σε ένα σκοτεινό, γυάλινο μπουκάλι με σταγόνες στο ψυγείο (Barrett, Patton, & Morris, 1988).



Εικόνα 16. Αποτελέσματα παραγωγής οξειδάσης. Αριστερα: αρνητικό, Δεξιά: θετικό.(<http10>)

### 3.3.7 Παραγωγή H<sub>2</sub>S σε μέσο σιδήρου

Η δοκιμή παραγωγής H<sub>2</sub>S σε μέσο σιδήρου ανήκει επίσης στις γρήγορες δοκιμές για τον διαχωρισμό *Campylobacters*. Η συγκεκριμένη δοκιμή έχει υποστεί μια τροποποίηση σε σχέση με την πρώτη μέθοδο που αναπτύχθηκε, η οποία ακολουθούσε τα εξής βήματα. Ένα μεγάλο βρόχος ολονύκτιας καλλιέργειας, εμβολιάστηκε με θρεπτικό ζωμό (Οξειδίο Νο. 2) που περιέχει 0-12% άγαρ και 0,05% FeSO<sub>4</sub> και 7H<sub>2</sub>O αντίστοιχα, μεταδιθειώδες νάτριο και

πυροσταφυλικό νάτριο (Skirrow & Benjamin, Differentiation of enteropathogenic Campylobacter, 1980).

Σύμφωνα όμως με την τροποποιημένη μέθοδο, παρασκευάζεται ένα ημιστερεό άγαρ που περιέχει τα ακόλουθα: ζωμός *Brucella*, 2,9 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (άνυδρο), 0,118 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (άνυδρο), 0,023 g, άγαρ L28 (Οξείδιο), 0,2 g διαλυμένο σε 97 ml απεσταγμένο νερό. Το άγαρ κλείνεται για 15 λεπτά στις 15 lbs και ψύχεται στους 48°C. Παρασκευάζονται τα ακόλουθα ξεχωριστά σε 10% υδατικά διαλύματα, αποστειρώνονται με διήθηση και αναμιγνύονται ασηπτικά με την ακόλουθη σειρά: 1 ml του διαλύματος θεικού σιδήρου \* 7H<sub>2</sub>O προστίθεται σε 1 ml διαλύματος μεταδιθειώδους νατρίου, αναμειγνύεται καλά και στη συνέχεια προστίθεται σε 1 ml διαλύματος πυροσταφυλικού νατρίου, αναμειγνύεται ξανά και στη συνέχεια προστίθενται στο ψυκτικό μέσο βάσης. Το τελικό pH ρυθμίζεται με 1N NaOH, το οποίο τελικά, θα πρέπει να είναι περίπου 7,3. Ολόκληρο το μέσο αναμειγνύεται καλά, κατανέμεται σε ποσότητες 3 έως 4 ml αποστειρωμένα βιδωτά σωληνάκια (13 επί 100 mm) και αποθηκεύονται στους 4 ° C (Lior, 1984).

Εναιωρείται χωρίς ανάμειξη στο πάνω από το ένα τρίτο του μέσου FBP μεγάλο μέρος καλλιέργειας που δεν είναι πάνω από 24<sup>ωv</sup> ωρών. Το μέσο επώάζεται σε υδατόλουτρο στους 37°C για δύο ώρες και εξετάζεται για μαλάκωση του μέσου γύρω από την καλλιέργεια. Κάθε εμφάνιση μαυρίσματος γύρω από την βακτηριακή μάζα θεωρείται θετικό αποτέλεσμα της δοκιμής, σε αντίθεση με τις αρνητικές δοκιμές που δεν παρουσιάζουν μαύρισμα. Τα είδη που δίνουν θετική αντίδραση H<sub>2</sub>S είναι το *C. upsaliensis*, το *C. lari* και το *C. concisus*, ενώ τα υπόλοιπα είδη δεν παράγουν την συγκεκριμένη ένωση (Barrett, Patton, & Morris, 1988).



**Εικόνα 17.** Αποτελέσματα παραγωγής υδροθείου. Κίτρινο: αρνητικό, Μαύρο: θετικό (<http11>)

### 3.3.8 Αναγωγή νιτρικών αλάτων

Η διαδικασία του τεστ αναγωγής νιτρικών εκτελείται ως εξής. Το μέσο νιτρικού ζωμού εμβολιάζεται με 0,1 mL βακτηριακού ελαιωρήματος. Τυχόν στελέχη που δεν αναπτύχθηκαν σε θρεπτικό μέσο νιτρικού εμβολιάζονται σε ημιστερεό μέσο που περιέχει ζωμό Mueller-Hinton, 0,3% άγαρ και 0,2% νιτρικό κάλιο. Τα ημιστερεά μέσα εμβολιάζονται με μαχαιρώματα αρκετές φορές με καλλιέργεια από πλάκα HIA-RB. Η ανάπτυξη ερυθρής αντίδρασης μετά την προσθήκη των αντιδραστηρίων υποδεικνύει αναγωγή νιτρικών (Barrett, Patton, & Morris, 1988).

Επομένως, τα στελέχη των *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. fetus* και *C. lari* που είναι θετικά στη δοκιμή διαθέτουν ένα σύστημα μείωσης νιτρώδους που εξοικονομεί ενέργεια (Sellars, Hall, & Kelly, 2002).



Εικόνα 18. Αποτελέσματα αναγωγής νιτρικών αλάτων. Αριστερά: αρνητικό, Δεξιά: θετικό (<http12>).

### 3.3.9 Αναγωγή νιτρώδων αλάτων

Η δοκιμή αναγωγής του νιτρώδους άλατος είναι παρόμοια με την δοκιμή νιτρικού άλατος και αφορά όπως και το τελευταίο τον προσδιορισμό των ειδών *Campylobacter*. Τα πιο κοινά παθογόνα, συγκεκριμένα τα *C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. fetus* και *C. lari* ωστόσο είναι αρνητικά στην συγκεκριμένη δοκιμή (Morishita, et al., 2013). Σε αντίθεση με το *C. concisus* που είναι θετικό (Barrett, Patton, & Morris, 1988).

Η αναγωγή του νιτρώδους άλατος προσδιορίζεται με διαχωρισμό ενός ημιστερεού μέσου που περιέχει Mueller-Hinton ζωμό, 0,3% άγαρ και 0,05% νιτρώδες κάλιο αρκετές φορές με καλλιέργεια από πλάκα HIA-RB. Ύστερα, η δοκιμή νιτρώδων ακολουθεί τα βήματα της δοκιμής νιτρικών. Όσον αφορά στην επώαση και την δοκιμή των μέσων. Οποιαδήποτε ανάπτυξη ερυθρού χρώματος αποδεικνύει ότι το νιτρώδες δεν μειώθηκε, συνεπώς η δοκιμή θεωρείται αρνητική (Barrett, Patton, & Morris, 1988).

### 3.3.10 Δοκιμή ανάπτυξης παρουσία ΤΜΑΟ

Το *C. lari* έχει παρατηρηθεί να παρουσιάζει την δυνατότητα χρήσης του οξυγόνου της Ν-οξειδίου τριμεθυλαμίνης (ΤΜΑΟ), γεγονός που μπορεί να διευκολύνει την ανάπτυξη οργανισμών στο έντερο των ζώων που τρώνε θαλάσσια ψάρια, στα οποία η ένωση είναι συνήθως παρούσα ως προϊόν της ουρικής απέκκρισης. Δεδομένου ότι τα θαλάσσια ψάρια αποτελούν μέρος του διατροφής των γλάρων, μπορεί να εξηγηθεί η ιδιαίτερα υψηλή συχνότητα απομόνωσης του *C. lari* από το εντερικό τους περιεχόμενο (Benjamin, Leaper, Owen, & Skirrow, 1983).

Η ικανότητα αυτή των στελεχών του *C. lari* προσδιορίζεται προσθέτοντας ένα γραμμάριο ΤΜΑΟ σε 1 λίτρο θρεπτικού συστατικού ζωμού συμπληρωμένο με 1 g μαγιάς εκχύλισμα και 2 g άγαρ Νέας Ζηλανδίας. Το μέσο θερμαίνεται για να διαλυθεί το άγαρ. Στη συνέχεια, διανέμεται σε ποσότητες 4 mL σε σωλήνες 13 x 100 mm με βιδωτό πώμα και σε αυτόκλειστο. Τα στελέχη εμβολιάζονται στο άνω τρίτο του μέσου τρεις φορές με μια βελόνα εμβολιασμού που φέρει μια μικρή ποσότητα ανάπτυξης από ΗΙΑ-RB πλάκα. Οι σωλήνες στη συνέχεια επωάζονται σε αναερόβιο περιβάλλον και εξετάζεται περιοδικά, σε όλο το μέσο εκτός από την ανάπτυξη ακριβώς κάτω από την επιφάνεια, για επτά ημέρες (Lior, 1984). Μόνο οι σωλήνες δείχνουν την ανάπτυξη μακριά από την επιφάνεια ή τον εμβολιασμό μπορούν να θεωρηθούν θετικοί (Barrett, Patton, & Morris, 1988).

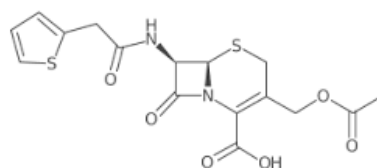
### 3.4 Αντοχή στα αντιβιοτικά

Τα αντιβιοτικά χρησιμοποιούνται εκτενώς στις ζωοτροφές ως αυξητικοί παράγοντες και για θεραπευτικούς σκοπούς. Οι εκτεταμένες χρήσεις αντιβιοτικών έχουν οδηγήσει στην εμφάνιση ανθεκτικών στα αντιβιοτικά στελεχών παθογόνων που μεταδίδονται από τα τρόφιμα, όπως είναι τα *Campylobacter* (Adzitey, Rusul, Huda, & Corry, 2012). Επίσης, λόγω αυτής της κατάστασης, δεν συνιστάται η θεραπεία λοιμώξεων από *Campylobacter* με αντιβιοτικά εκτός από σοβαρές περιπτώσεις, για τις οποίες συνήθως συνιστώνται φθοροκινολόνες με ερυθρομυκίνη ως εναλλακτικές λύσεις (Zhao, et al., 2010). Ωστόσο, η θεραπεία με αντιβιοτικά μπορεί να είναι δύσκολη λόγω της σταθερής αύξησης της αντοχής αυτού του παθογόνου σε κινολόνες, φθοροκινολόνες και άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες, που χρησιμοποιούνται για την θεραπεία καμπυλοβακτηριώσεων (Qin, et al., 2011).

Σημαντικά αντιβιοτικά που αφορούν τα *Campylobacters* είναι το ναλιδιξικό οξύ και η κεφαλοθίνη. Το ναλιδιξικό οξύ ανήκει στις κινολόνες πρώτης γενιάς και ο ενεργός της

μεταβολίτης, δηλαδή το υδροξυναλιδιζικό οξύ, συνδέεται ισχυρά, αλλά αντίστροφα, με το DNA, παρεμβαίνοντας με αυτό τον τρόπο στη σύνθεση του RNA και, κατά συνέπεια, στην πρωτεϊνική σύνθεση. Για αυτή του τη δράση είναι σημαντικό εργαλείο έναντι σε λοιμώξεις από Gram-αρνητικούς μικροοργανισμούς (Whalen, Finkel, & Panavelil, 2015). Παράλληλα, η κεφαλοθίνη είναι ένα ημισυνθετικό αντιβιοτικό της πρώτης γενιάς των κεφαλοσπορινών, που η βακτηριοκτόνος δράση της προκύπτει από την αναστολή της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος. Ενώ, γενικά, έχει μεγαλύτερη δραστηριότητα έναντι των θετικών κατά Gram από τους αρνητικούς κατά Gram οργανισμούς και ενδείκνυται κυρίως σε λοιμώξεις (Brumfitt, Kosmidis, Hamilton-Miller, & Gilchrist, 1974).

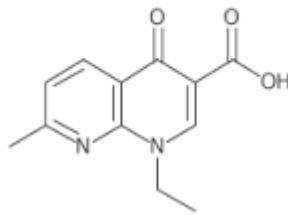
Αντιβιοτικά όπως τα προαναφερθέντα χρησιμοποιούνται συχνά για την απομόνωση εντερικών καμπυλοβακτηρίων. Ωστόσο, αρκετές μελέτες έχουν δείξει ότι τα θερμοφιλικά *Campylobacters* είναι ανθεκτικά στην κεφαλοθίνη. Αυτή η αντίσταση έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως ως βασικό διαγνωστικό χαρακτηριστικό για τη διαφοροποίηση *Campylobacter coli* και *Campylobacter jejuni* από *Campylobacter fetus* και το *Campylobacter concisus* (Brooks, et al., 1986). Ταυτόχρονα, η ανθεκτικότητα του *Campylobacter fetus* και του *Campylobacter concisus* στο ναλιδιζικό οξύ αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για τον διαχωρισμό του από το *Campylobacter upsaliensis* (Hébert, et al., 1982). Αυτή η ευαισθησία του τελευταίου στο ναλιδιζικό οξύ είναι και ένας από τους λόγους που είναι τόσο δύσκολο να προσδιορίσουμε με δεδομένα την συμβολή του στην καμπυλοβακτηρίωση (Walmsley & Karmali, 1989). Η δοκιμή ανθεκτικότητας στο ναλιδιζικό οξύ αποτελεί ακόμη την πιο ευδιάκριτη διαφορά δοκιμής μεταξύ του *C. laridis* και τα άλλα θερμοφιλα καμπυλοβακτηρίδια, δηλαδή τα *C. coli* και *C. jejuni*. Ωστόσο, ανθεκτικότητα σε αυτό το φάρμακο έχει βρεθεί σε μερικά στελέχη του *C. jejuni*, στελέχη δηλαδή που έχουν επίσης δείξει αντίσταση σε άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες. Αυτό το γεγονός υποδηλώνει ότι είναι μια ιδιότητα που είναι πιθανό να μεταβιβάζεται και συνεπώς να μην είναι καθόλου αξιόπιστη για σκοπούς αναγνώρισης (Benjamin, Leaper, Owen, & Skirrow, 1983). Στον αντίποδα, αυτό δεν ισχύει για τα εντεροβακτήρια στα οποία η αντοχή στο ναλιδιζικό οξύ δεν είναι ούτε συχνή ούτε μεταβιβάσιμη (Burman, 1977).



Εικόνα 19 Χημικός τύπος κεφαλοθίνης ([http13](http://13))



Για την πραγματοποίηση της δοκιμής αντοχής στα αντιβιοτικά ακολουθείται η παρακάτω διαδικασία. Δίσκοι των τριάντα μικρογραμμαρίων ναλιδιξικού οξέος και κεφαλοθίνης τοποθετούνται σε πλάκες άγαρ αίματος (BBL) που έχουν εμβολιαστεί επαναλαμβανόμενα με μικροοργανισμούς με ράβδο για να παράγει συρροή καλλιεργειών. Μετά από 48 με 72 ώρες επώασης στους 36°C (Li, Chiu, Wu, Huang, & Lin, 1998), οι ζώνες αναστολής μετριοούνται με παχύμετρο vernier. Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση της κεφαλοθίνης προσδιορίστηκε με αραιώση του άγαρ χρησιμοποιώντας διπλάσιες αραιώσεις κεφαλοθίνης νατρίου σε άγαρ αίματος. Μετά από 48 ώρες, η παρουσία ενός συμπαγούς κύκλου ανάπτυξης ή περισσότερων από τρεις μεμονωμένες αποικίες ταξινομήθηκαν ως θετικές. Αντίθετα, η παρουσία λιγότερων από τριών αποικιών ή μιας αόριστης ομίχλης χαρακτηρίστηκε ως αρνητική (Fennell, et al., 1984).



*Εικόνα 20. Χημικός τύπος ναλιδιξικού οξέος (http14)*

## 3.5 Γενετική

### 3.5.1 Προσδιορισμός G + C

Είναι γεγονός ότι η ανάγκη του διαχωρισμού στελεχών των *Campylobacters*, έχει οδηγήσει σε εναλλακτικούς τρόπους διερεύνησης. Εκτός, λοιπόν, από τις βιοχημικές δοκιμές και τις συνθήκες ανάπτυξης, εξίσου σημαντικός είναι και ο προσδιορισμός της σύνθεσης του DNA των καμπυλοβακτηρίων, εκφραζόμενη ως ποσοστό γουανίνης (G) και κυτοσίνης (C) (Owen, Legros, & Lapage, 1978).

Για να πραγματοποιηθεί ο προσδιορισμός πρέπει να πραγματοποιηθούν δύο βασικά στάδια, η απομόνωση του DNA και ο προσδιορισμός σύνθεσής του. Για την απομόνωση του DNA, βακτηριακά κύτταρα τα οποία είναι καλλιεργημένα σε κεκλιμένα άγαρ αίματος συλλέγονται σε 0,5 M σακχαρόζη, ώστε να μην διαλυθούν αμέσως. Στη συνέχεια υπόκεινται φυγοκέντριση και επαναιωρούνται σε 3 ml 0,15 M NaCl και 0,1 M EDTA

ρυθμιστικό διάλυμα σε pH 8,0. Το DNA απομονώνεται και καθαρίζεται με χρωματογραφία διήθησης με γέλη σε στήλη συσκευασμένη σε Sepharose 4B και εξισορροπημένη με 0,0168 M NaCl. Η στήλη εκλούεται με ρυθμό ροής περίπου 0,3 ml / min και 0,8 ml και συλλέγονται μόνο τα κορυφαία κλάσματα. Τα DNA θεωρούνται επαρκώς καθαρά εάν οι λόγοι απορρόφησής τους 230/260 και 280/260 ήταν περίπου 0,450 και 0,515, αντίστοιχα (Owen & Leaper, 1981). Η σύνθεση βάσεων DNA (mol% G + C) εκτιμάται από τη θερμοκρασία θερμικής μετουσίωσης (T<sub>m</sub>). Η θερμική μετουσίωση εκτελείται σε φασματοφωτόμετρο Pye Unicam SP1800 εξοπλισμένο με SP 876 σειράς 2 πρόγραμμα ελέγχου θερμοκρασίας και θερμαινόμενο μπλοκ κυττάρων. Η μέση σύνθεση βάσεων DNA, εκφραζόμενη ως ποσοστό γουανίνης και κυτοσίνης σε ολική περιεκτικότητα βάσης (mol% G + C), υπολογίζεται από το T<sub>m</sub>, προσδιορισμένο σε 0.33 x SSC ρυθμιστικό (SSC: 0,15 M NaCl ρυθμισμένο με 0,015 M κιτρικό τρινάτριο, pH=7,0), και εκφράστηκε σε σχέση με τη χημικώς προσδιορισμένη τιμή για το *Escherichia coli* NCTC 10537 (52 mol% G + C) χρησιμοποιώντας την εξίσωση: mol% G + C = 52,0 + (2,24 T<sub>m</sub> - 82,9) (Benjamin, Leaper, Owen, & Skirrow, 1983).

Επομένως, με την παραπάνω διαδικασία μπορεί να προσδιοριστεί ποια στελέχη παρουσιάζουν φυλογενετικές ομοιότητες. Πιο συγκεκριμένα, η περιεκτικότητα σε G + C του *C. upsaliensis* κυμαίνεται από 32,8 έως 35,8 mol%. Αυτό είναι κάπως μεγαλύτερο από το περιεχόμενο G + C των *C. jejuni* (30 έως 32,6 mol%) και *C. coli* (30,8 έως 32,5 mol%) αλλά είναι παρόμοιο με αυτό που περιγράφεται για άλλα είδη *Campylobacter*, συμπεριλαμβανομένου του *C. fetus* (33,3 έως 34,5 mol%), *C. lari* (33 έως 36 mol %) (Bourke, Chan, & Sherman, 1998) και *C. concisus* (34 έως 38 mol %) (Tanner, et al., 1981).

### 3.5.2 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)

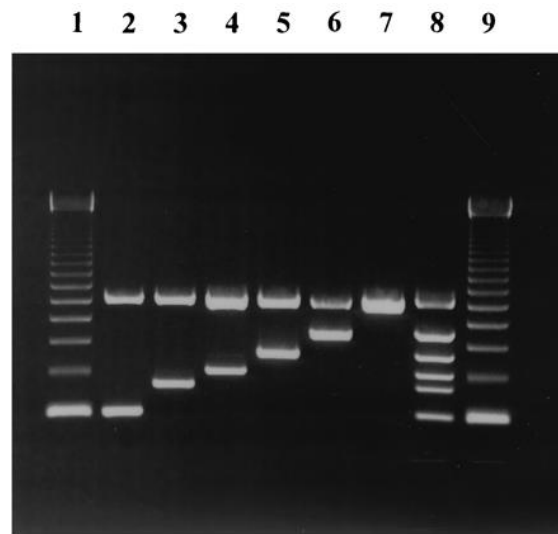
Οι συμβατικοί βιοχημικοί προσδιορισμοί για την αναγνώριση των ειδών *Campylobacter* είναι χρονοβόροι και επίπονοι λόγω των απαιτητικών απαιτήσεων ανάπτυξης αυτών των ειδών και της έλλειψης ενημερωτικών βιοχημικών χαρακτηριστικών. Αναζητήθηκε μια γρήγορη, απλή και πρακτική δοκιμασία για την ταυτοποίηση των ειδών *Campylobacter*. Για αυτό τον λόγο έχουν αναπτυχθεί αρκετές δοκιμασίες PCR που έχουν σχεδιαστεί χρησιμοποιώντας σύνολα ενός εκκινητή για την ταυτοποίηση των ειδών *Campylobacter* (Inglis & Kalischuk, 2003). Αν και οι προσδιορισμοί PCR παρέχουν ταχύτερη ταυτοποίηση αυτών των ειδών από τους συμβατικούς προσδιορισμούς, η διερεύνηση άγνωστων δειγμάτων απαιτεί τη χωριστή αναγνώριση κάθε είδους *Campylobacter*, την παράταση του

χρόνου αναγνώρισης και την αύξηση του κόστους αντιδραστηρίου (Yamazaki-Matsune, et al., 2007).

Στη μέθοδο PCR δύο συνθετικά ολιγονουκλεοτίδια κατασκευάζονται με σκοπό να είναι συμπληρωματικά με αλληλουχίες των δύο κλώνων του DNA-στόχου. Τα ολιγονουκλεοτίδια αποτελούν τους εκκινητές της αντιγραφής και υποκινούνται από την θερμοαμθεκτική DNA πολυμεράση. Οι συγκεκριμένοι εκκινητές σε συνδυασμό με άλλα απαραίτητα αντιδραστήρια κατευθύνουν τον θερμικό πολλαπλασιασμό της αλληλουχίας στόχου, μέσω επανειλημμένων γύρων αποδιάταξης, σύνδεσης με εκκινητές και επιμήκυνσης. Η αντίδραση απαρτίζεται από τρία στάδια και πραγματοποιείται στον θερμοκυκλοποιητή. Το πρώτο στάδιο είναι της αποδιάταξης, όπου επωάζεται το υπόστρωμα του DNA-στόχου σε υψηλές θερμοκρασίες, γεγονός που οδηγεί στην αποδιάταξη της διπλής έλικας του DNA. Στη συνέχεια, μειώνεται η θερμοκρασία και οι εκκινητές υβριδίζονται με τη συμπληρωματική αλληλουχία του μονού κλώνου του DNA-στόχου. Τέλος, πραγματοποιείται το στάδιο της επέκτασης του DNA, όπου σε θερμοκρασία, χαμηλότερη του σταδίου της αποδιάταξης, το τμήμα του DNA μεταξύ των εκκινητών συντίθεται βάσει των συμπληρωματικών αλληλουχιών του υποστρώματος από την *Taq* πολυμεράση. Τα παραπάνω στάδια αποτελούν έναν θερμικό κύκλο, ο πλήρης, ωστόσο, έλεγχος περιλαμβάνει 30-50 θερμικούς κύκλους (Nexon & Cox, 2011).

Αν σε μία αντίδραση PCR προστεθούν πολλαπλά ζεύγη εκκινητών, μπορούν να πολλαπλασιαστούν πάνω από ένα DNA-στόχος. Αυτό το είδος PCR ονομάζεται Multiplex PCR και η συχνότερη χρήση της είναι ως γρήγορος έλεγχος για την ανίχνευση παρουσίας μικροοργανισμών που περιέχονται σε φαγητό ή νερό, όπως και τα *Campylobacters* (Turner, McLennan, Bates, & White, 2007). Επομένως, στον έλεγχο για την παρουσία ειδών *Campylobacter* ακολουθείται η εξής διαδικασία. Κάθε σωλήνας πολλαπλής PCR περιέχει 200  $\mu$ M τριφωσφορικής δεοξυνουκλεοσίδης, 2,5  $\mu$ l του 10X ρυθμιστικού διαλύματος, (500 mM Tris-HCl [pH 8.3], 100 mM KCl, και 50 mM  $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$ ), 20 mM  $\text{MgCl}_2$  0,5  $\mu$ M C. jejuni και C. lari εκκινητές 1  $\mu$ M C. coli και C. fetus εκκινητές, 2  $\mu$ M C. upsaliensis εκκινητές, 0,2  $\mu$ M 23S rRNA εκκινητή, 1,25 U του FastStart TaqDNA πολυμεράση και 2,5  $\mu$ l DNA πλήρους κυττάρου. Στη συνέχεια, ακολουθούν 30 θερμικοί κύκλοι που περιλαμβάνουν τα παραπάνω στάδια. Τα έξι σύνολα εκκινητών αξιολογήθηκαν ξεχωριστά ως προς την ειδικότητα του εκκινητή. Η Εικόνα 1 απεικονίζει τα προϊόντα ενισχυμένα με PCR με τα στελέχη αναφοράς *Campylobacter* ως πρότυπα μετά από ηλεκτροφόρηση σε

πήκτωμα αραρόζης 1,5%. Στον προσδιορισμό, έξι ζώνες ανιχνεύθηκαν από ένα μείγμα DNA που περιείχε καθένα από τα πέντε *Campylobacter spp* (Wang, et al., 2002).



**Εικόνα 21.** Ανίχνευση και ανάγνωση Multiplex PCR (Wang, et al., 2002).

Όπως είναι εμφανές στην εικόνα τα πέντε καμπυλοβακτήρια έχουν διαφορετικό μέγεθος μορίων γενετικού υλικού. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα το μικρότερο σε μέγεθος μόριο DNA συναντά μικρότερη αντίσταση στους πόρους της πηκτής. Έτσι κινείται γρήγορα και εντοπίζεται προς το κάτω μέρος του πηκτώματος. Αντιθέτως, το μεγαλύτερο σε μέγεθος θραύσμα DNA κινείται με πιο αργό ρυθμό, εξαιτίας της αυξημένης αντίστασης που συναντάει μετακινούμενο διαμέσου των πόρων του πηκτώματος (Παλαιολόγου, 2015). Σύμφωνα με τα παραπάνω απεικονιζόμενα αποτελέσματα στις στήλες 1 και 9 απεικονίζεται η 123-bp (ζεύγη βάσεων που περιέχει το θραύσμα DNA που απεικονίζεται) σκάλα DNA. Συνακόλουθα, στην στήλη 2 παρατηρείται το *C. coli*, με θραύσμα γενετικού υλικού μεγέθους 126-bp, ενώ στην στήλη 3 το θραύσμα του *C. upsaliensis*, με μέγεθος 204-bp. Συνεχίζοντας, στην στήλη 4 απεικονίζεται το *C. lari* με θραύσμα DNA μεγέθους 251-bp, στην στήλη 5 το *C. jejuni*, με μέγεθος θραύσματος 323-bp και στην στήλη 6 το *C. fetus* με μέγεθος 435-bp. Στην στήλη 7, κλείνοντας, ανιχνεύεται θραύσμα του *C. sputorum biovar fecalis* με 650-bp του 23S rRNA, το οποίο εμφανίστηκε σε όλα τα καμπυλοβακτηρίδια, ενώ στην στήλη 8 φαίνεται ο θετικός για PCR μάρτυρας με μίγμα DNA (Wang, et al., 2002).

Στον παρακάτω πίνακα παρατίθενται συγκεντρωτικά τα βιοχημικά, εκλεκτικά και γενετικά χαρακτηριστικά των στελεχών *Campylobacter* που χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό των ειδών έξι πιο βασικών ειδών του.

<b>Πίνακας 2.</b>						
Βιοχημικά και γενετικά χαρακτηριστικά διαχωρισμού των ειδών <i>Campylobacter</i> (Bourke, Chan, & Sherman, 1998; Barrett, Patton, & Morris, 1988; Corry & Atabay, 2001)						
Είδος	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. concisus</i>
Θερμοκρασία ανάπτυξης (°C)						
25	-	-	-	+	-	-
35	+	+	+	+	+	+
43	+	+	-	-	+	-
Υδρόλυση						
Ιππουρικό οξύ	+	-	-	-	-	-
Οξικό ινδοξύλιο	+	+	+	-	-	-
Ουρεάσης	-	-	-	-	+	-
DNA	±	-	-	-	-	-
Παραγωγή						
Καταλάσης	+	+	-	+	+	-
Οξειδάση	-	-	+	-	+	+
H <sub>2</sub> S	-	-	-	-	-	+
Αναγωγή						
NO <sub>3</sub>	+	+	+	+	+	+
NO <sub>2</sub>	-	-	-	-	-	+

Είδος	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. upsaliensis</i>	<i>C. fetus</i>	<i>C. lari</i>	<i>C. concisus</i>
Ευαισθησία						
Ναλιδιξικό οξύ	E	E	E	A	A	A
Κεφαλοθίνη	A	A	E	E	A	E
Προσδιορισμός						
TMAO	-	-	-	-	+	-
Περιεκτικότητα σε C + G	30 έως 32,6 mol%	30,8 έως 32,5 mol%	32,8 έως 35,8 mol%	33,3 έως 34,5 mol%	33 έως 36 mol%	34 έως 38 mol%
Εκλεκτικά χρωμογόνα άγαρ						
Preston Campylobacter Selective Agar	+	+	+	+	+	+
CHROMagar™ Campylobacter	+	+	+	+	+	+
Campylobacter blood-free agar	+	+	-	-	+	-

*E: Ευαίσθητο A: Ανθεκτικό ±: Μικρό ποσοστό είναι θετικό στην αντίδραση*

## 4. Σημασία στα τρόφιμα

Τα καμπυλοβακτηρίδια είναι γνωστό ότι είναι η αιτία ασθενειών στα ζώα από το 1909, αλλά έχουν γενικά αναγνωριστεί ως αιτία ανθρώπινων ασθενειών, μόνο από περίπου το 1980. Είναι, ωστόσο, αναγνωρισμένο ως η κύρια αιτία της βακτηριακής διατροφικής νόσου που προκαλείται από τα τρόφιμα παγκοσμίως (Guerry, 2007).

### 4.1 Πηγές μόλυνσης

Το *Campylobacter spp.* είναι κοινοί οργανισμοί που απαντώνται συνήθως σε είδη βοοειδών, προβάτων, χοίρων και πτηνών. Τα είδη πτηνών είναι οι πιο συνηθισμένοι ξενιστές για το *Campylobacter spp.* πιθανώς λόγω της υψηλότερης θερμοκρασίας του σώματος τους (Skirrow, 1977). Αν και όλα τα εμπορικά είδη πουλερικών μπορούν να φέρουν *Campylobacter spp.*, ο κίνδυνος είναι μεγαλύτερος από το κοτόπουλο λόγω των μεγάλων ποσοτήτων που καταναλώνονται (Humphrey, O'Brien, & Madsen, 2007).

#### 4.1.1 *Campylobacter spp.* στο κοτόπουλο

Το κρέας κοτόπουλου αποτελεί σημαντική πηγή πρωτεΐνης υψηλής ποιότητας στις περισσότερες χώρες, καθώς επίσης, είναι πλούσιο σε απαραίτητα αμινοξέα, βιταμίνες και μέταλλα. Σημαντικό στοιχείο αποτελεί το γεγονός, ότι το άπαχο κοτόπουλο περιέχει περισσότερη πρωτεΐνη από την ίδια ποσότητα άπαχου ψημένου βοείου κρέατος, ενώ η τιμή του κρέατος κοτόπουλου είναι χαμηλότερη από αυτή του βοείου ή του χοιρινού κρέατος. Επιπλέον, τα υποπροϊόντα κοτόπουλου καταναλώνονται ευρέως λόγω της χαμηλής τιμής τους, της ιδιαίτερης γεύσης τους και του σύντομου χρόνου που απαιτείται για την προετοιμασία. Ωστόσο, η κατανάλωση κοτόπουλου και προϊόντων κοτόπουλου έχει εμπλακεί τα τελευταία χρόνια σε μεγάλο αριθμό εστιών οξείας καμπυλοβακτηρίωσης σε ανθρώπινους πληθυσμούς παγκοσμίως, τόσο στις βιομηχανικές όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες. Κοινωνικές ομάδες που αποτελούν πληθυσμούς ιδιαίτερα ευαίσθητους στη συγκεκριμένη λοίμωξη είναι τα παιδιά, οι ηλικιωμένοι και οι ανοσοκατασταλμένοι ασθενείς (Corry & Atabay, 2001). Οι περισσότερες περιπτώσεις λοίμωξης από *Campylobacter* σχετίζονται με τον χειρισμό ωμών πουλερικών, την κατανάλωση ωμού ή μαγειρεμένου κρέατος πουλερικών ή τη διασταυρούμενη μόλυνση ακατέργαστων σε μαγειρεμένα τρόφιμα (Nadeau, Messier, & Quessy, 2002).

Η εντερική οδός κοτόπουλου, ειδικά το τυφλό και το παχύ έντερο, μπορεί να φιλοξενήσει μεγάλο αριθμό *Campylobacter*. Κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας, η εντερική οδός μπορεί να τρυπήσει ή να σπάσει και τα περιεχόμενα να μεταφερθούν στο δέρμα του σφαγίου (Berrang, Buhr, Cason, & Dickens, 2001). Το *Campylobacter* παραμένει σε υγρή μεμβράνη στο δέρμα και εγκλωβίζεται στα θυλάκια και τα κανάλια του δέρματος (Chantarapanont, Berrang, & Frank, 2003), όπου του παρέχεται ένα ευνοϊκό περιβάλλον για διασταυρούμενη μόλυνση. Αυτό συμβαίνει διότι το δέρμα είναι ο κύριος τύπος μόλυνσης των σφαγίων πουλερικών κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας (McMeekin, Thomas, & Pennington, 1984). Η ανθεκτικότητα και η επιβίωση του μικροοργανισμού καλλιεργούνται από ένα κατάλληλο μικροπεριβάλλον του δέρματος (Chantarapanont, Berrang, & Frank, 2003) και ακόμη και σε παγωμένες συνθήκες ή αποθήκευση στους 4°C, το *Campylobacter* είναι σε θέση να παραμείνει στο σφάγιο (Simmons & Gibbs, 1979). Έχει, επίσης αποδειχτεί ότι η ανάπτυξη του βακτηρίου πάνω στο δέρμα σφαγίου, το οποίο είναι αποθηκευμένο σε θερμοκρασία δωματίου ακόμη και σε συσκευασία ελεγχόμενης ατμόσφαιρας, είναι δυνατή, αυξάνοντας, με αυτό τον τρόπο, τον κίνδυνο για τους καταναλωτές εάν το μολυσμένο κοτόπουλο δεν αποθηκευτεί ή χειριστεί επαρκώς (Lee, Smith, & Coloe, 1998).



*Εικόνα 22. Νωπό κοτόπουλο: κύρια πηγή  
Campylobacter (http15)*

Η θετική ένδειξη σε μία ομάδα κοτόπουλων ως προς το *Campylobacter* εξαρτάται από τον τύπο του συστήματος παραγωγής που χρησιμοποιείται. Συχνότερα, τα βιολογικά κοτόπουλα και τα κοτόπουλα ελεύθερης βοσκής εμφανίζονται μολυσμένα από το βακτήριο, σε αντίθεση με τα έντονα εκτρεφόμενα πτηνά. Αυτό είναι αποτέλεσμα, πιθανώς, της αυξημένης περιβαλλοντικής έκθεσης των πρώτων (Hendrixson & DiRita, 2004). Η μετάδοση από το περιβάλλον αποτελεί την κύρια πηγή του βακτηρίου στο κοτόπουλο, ενώ είναι γνωστό ότι η μετάδοση είναι γρήγορη από τη στιγμή που μολυνθούν μεμονωμένα πτηνά. Παράλληλα, η εξάλειψη είναι ιδιαίτερα δύσκολη. Ωστόσο, η τροφή



δεν έχει εμπλακεί στην εξάπλωση του *Campylobacter*. Επιπρόσθετα, η παρουσία του βακτηρίου σε ζώα, που χρησιμοποιούνται ως τρόφιμα, σημαίνει ότι τα ακατέργαστα συστατικά ζωοτροφών συχνά μολύνονται με αυτά τα βακτήρια. Ωστόσο, τα στελέχη του *Campylobacter* είναι πολύ ευαίσθητα στην ξηρασία και έχει αποδειχθεί ότι πεθαίνουν γρήγορα όταν υπάρχουν σε ζωοτροφές πουλερικών (Horrocks, Anderson, Nisbet, & Ricke, 2009).

#### 4.1.2 *Campylobacter* spp. σε άλλα τρόφιμα

Έχουν πραγματοποιηθεί έρευνες που αποδεικνύουν ότι το βακτήριο μπορεί να εντοπιστεί και σε ζώα που έχουν χρήση τροφίμων εκτός του κοτόπουλου, όπως είναι τα βοοειδή, το χοιρινό, οι αγελάδες γαλακτοπαραγωγής, οι γαλοπούλες, η πάπια ή το αρνί. Πιο συγκεκριμένα, η πεπτική οδός υγιών βοοειδών έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί σημαντική τοποθεσία εύρεσης ορισμένων ειδών *Campylobacter* (Atabay & Corry, 1998), με τον επιπολασμό του εντεροπαθογόνου στα βοοειδή να κυμαίνεται από 0-80%. Ενώ, ο επιπολασμός του *Campylobacter* στα πρόβατα, περίπου 20%, είναι γενικά χαμηλότερο από ό, τι σε άλλα ζώα (Zweifel, Zychowska, & Stephan, 2004).



**Εικόνα 23.** Βοοειδή: πηγή *Campylobacter*  
([http16](http://16))

Ο υψηλός επιπολασμός του *Campylobacter* σε χοίρους έχει αναφερθεί σε πολλές μελέτες και τα σφάγια χοίρων έχουν αποδειχθεί ότι είναι πιο συχνά μολυσμένα σε σχέση με τα βοοειδή ή τα πρόβατα (Nesbakken, Eckner, Høidal, & Røtterud, 2003). Αυτό πιθανότατα οφείλεται στο γεγονός ότι τα σφάγια χοίρων υφίστανται ένα κοινό στάδιο εγκαύματος στην αρχή της διαδικασίας σφαγής σε συνδυασμό με το γεγονός ότι το δέρμα παραμένει στο σφάγιο ακολουθώντας όλες τις διαδικασίες (Moore, et al., 2005).

Τα μολυσμένα οστρακοειδή έχουν επίσης εμπλακεί ως φορείς στη διάδοση της καμπυλοβακτηρίωσης. Η συγκομιδή οστρακοειδών από μολυσμένα νερά από *Campylobacter* φαίνεται να είναι η πιο πιθανή αιτία μόλυνσης (Wilson & Moore, 1996).

Ταυτόχρονα, η κατανάλωση ανεπεξέργαστου ή βρόχινου νερού έχει επίσης θεωρηθεί ως παράγοντας κινδύνου για την καμπυλοβακτηρίωση (Eberhart-Phillips, et al., 1997).



**Εικόνα 24.** Οστρακοειδή: πηγή *Campylobacter* ([http17](http://17))

Το νωπό γάλα έχει επίσης αναγνωριστεί ως φορέας ανθρώπινης γαστρεντερίτιδας που προκαλείται από το *Campylobacter*. Πιο συγκεκριμένα, το είδος *C. jejuni* μπορεί να υπάρχει στο γάλα λόγω διασταυρούμενης μόλυνσης κοπράνων κατά το άρμεγμα ή ως αποτέλεσμα μόλυνσης του μαστού (Orr, et al., 1995).

#### **4.1.3 *Campylobacter* spp. στο περιβάλλον**

Εκτός από τους κινδύνους από τα τρόφιμα, ιδίως τα πουλερικά και την κατανάλωση νερού, η επαφή με ζώα, είτε κατοικίδια ζώα είτε ζώα εκτροφής, παρουσιάζει μια άλλη οδό έκθεσης για ανθρώπινη μόλυνση. Αυτό οφείλεται κυρίως στην μόλυνση από το *C. upsaliensis*, ένα παθογόνο βακτήριο που μεταδίδεται από οικόσιτα ζώα (π.χ. γάτα, σκύλος), τα οποία μπορεί να είναι ασυμπτωματικά ή και να έχουν χρόνιες διάρροιες. Η μόλυνση του περιβάλλοντος από περιττώματα οικιακών ζώων αποτελεί επιπρόσθετο κίνδυνο για ανθρώπινη μόλυνση (Studahl & Andersson, 2000; Steinhäuserova, Fojtikova, & Klimes, 2000).



**Εικόνα 25.** Κατοικίδια ζώα: πηγή *Campylobacter* ([http18](http://18))

Η καμπυλοβακτηρίωση έχει παρουσιάσει πολυάριθμες φορές εποχιακό χαρακτήρα. Αυτό μπορεί σε ένα μεγάλο μέρος να οφείλεται στην εποχική αύξηση του πληθυσμού των μυγών κατά τους ζεστούς καλοκαιρινούς μήνες, η οποία πιστεύεται ότι οφείλεται στις υψηλές θερμοκρασίες που οδηγούν σε ταχεία ανάπτυξη μύγας από αυγά σε λίγες μόνο ημέρες. Η

επακόλουθη επαφή μύγας με ανθρώπινα και ζωικά κόπρανα είναι πιθανώς υπεύθυνη για τις παρατηρούμενες εποχικές εστιές που επικρατούν κατά τους ζεστούς καλοκαιρινούς μήνες. Πιο συγκεκριμένα, οι μύγες όπως και άλλα έντομα μεταφέρουν μηχανικά και να διασπείρουν τα βακτήρια σε πτηνοτροφεία, βουστάσια και χοιροστάσια, ακόμη και σε σπίτια ανθρώπων, προκαλώντας καμπυλοβακτηρίωση μέσω του φαγητού (Nichols, 2005; Ruble, 1986).

## 4.2 Παθογένεια

Η ασθένεια που προκαλεί το *Campylobacter* έχει συμπτώματα που ποικίλουν. Πιο συγκεκριμένα, μπορεί να κυμαίνονται από ήπιες έως σοβαρές λοιμώξεις των παιδιών και των ηλικιωμένων και μόνιμα νευρολογικά συμπτώματα. Δεν έχουν ακόμη διευκρινιστεί με σαφήνεια συγκεκριμένοι μηχανισμοί μολυσματικότητας για το *Campylobacter* πιθανώς λόγω της έλλειψης ομοιότητας παθογένεσης μεταξύ των *Campylobacters* και άλλων παθογόνων (Guerry, 2007). Ωστόσο, η μολυσματική δόση του παθογόνου είναι λιγότερη από 1000 κύτταρα (Κυριακού, 2014). Η κινητικότητα που προκαλείται από μαστίγια, η προσκόλληση βακτηρίων στον εντερικό βλεννογόνο, η επεμβατική ικανότητα και η ικανότητα παραγωγής τοξινών έχουν αναγνωριστεί ως παράγοντες μολυσματικότητας (Asakura, et al., 2007).

Παρά την περιορισμένη γνώση σχετικά με τις λειτουργίες του *Campylobacter* που το καθιστούν παθογόνο, είναι γνωστό ότι απαιτούνται μαστίγια για να διαπεράσει με σχετική ευκολία το παχύρρευστο στρώμα βλέννας που επαλείφει εσωτερικά τον εντερικό σωλήνα του λεπτού εντέρου και μετά από αυτό μετακινείται στο όργανο-στόχο, το οποίο είναι το παχύ έντερο, με σκοπό να εγκατασταθεί στα επιθηλιακά κύτταρα του εντερικού βλεννογόνου, στα οποία επιβιώνει και πολλαπλασιάζεται (Lee, O'ourke, & Barrington, 1986; Poly & Guerry, 2008). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα να παρατηρούνται αλλοιώσεις στο εντερικό επιθήλιο, οι οποίες πιθανότατα προκύπτουν από την παραγωγή κυτταροτοξινών και ακολουθούνται από τη μείωση της απορροφητικής ικανότητας του εντέρου, προκαλώντας διαρροϊκά αιμορραγικά κόπρανα στους ασθενείς από τα οποία αποβάλλονται μεγάλοι πληθυσμοί του βακτηριδίου (Blaser, Hardesty, Powers, & Wang, 1980; Van Deun, et al., 2007).

Η κινητικότητα, η οποία αυξάνεται υπό εξαιρετικά ιξώδεις συνθήκες, είναι απαραίτητη για τον αποικισμό του λεπτού εντέρου (Guerry, 2007). Γεγονός που επιτυγχάνεται με την παρουσία μαστιγίου στο βακτήριο, το οποίο εκτός από την κινητικότητά του, βοηθά στην

επιτυχή προσκόλληση του στα επιθηλιακά κύτταρα. Ταυτόχρονα, η χημειοταξία, που είναι η κίνηση ενός οργανισμού προς ή μακριά από ένα χημικό ερέθισμα, μπορεί να είναι σημαντικό παράγοντα στον αποικισμό του *C. jejuni*, επειδή ο οργανισμός είναι εξαιρετικά κινητικός με ένα μόνο πολικό μαστίγιο. Συνεπώς, η χημειοτακτική συμπεριφορά του *C. jejuni* έναντι της L-φουκόζης, ενός συστατικού τόσο της χολής όσο και της βλεννίνης, μπορεί να είναι ένας σημαντικός παράγοντας, που εξηγεί τη σχέση του οργανισμού τόσο με τη χοληδόχο κύστη όσο και με την εντερική οδό, το βασικό όργανο στόχο (Hugdahl, Beery, & Doyle, 1988).

Η σημασία των βακτηριακών τοξινών ως παράγοντες για την παθογένειας της μόλυνσης από *Campylobacter* είναι αδιαμφισβήτητη. Ειδικότερα, το *C. jejuni* μπορεί να παράγει μια εντεροτοξίνη παρόμοια με την τοξίνη της χολέρας, την κυτταροτοξική διασταλτική τοξίνη (Cytotolethal Distending Toxin-CDT). Ωστόσο, είναι άγνωστο πώς το CDT εκτίθεται στην επιφάνεια ή απελευθερώνεται από το βακτήριο στο περιβάλλον (Lindmark, et al., 2009). Η CDT, ακόμα, ανήκει σε μια οικογένεια τοξινών βακτηριακών πρωτεϊνών που επηρεάζει το επιθηλιακό κυτταρικό στρώμα και διακόπτει τη διαδικασία της κυτταρικής διαίρεσης με την επακόλουθη διακοπή του κυτταρικού κύκλου και τον κυτταρικό θάνατο (Cortes-Bratti, Chaves-Olarte, Lagergård, & Thelestam, 1999). Η διακοπή του κυτταρικού κύκλου των εντερικών επιθηλιακών κυττάρων αυξάνει τον χρόνο επαφής μεταξύ του ξενιστή και του παθογόνου. Η κυτταρική διαίρεση είναι το αποτέλεσμα μίας προσεκτικά ενορχηστρωμένης και πολύ ρυθμισμένης διαδικασίας εμπλέκοντας επίσης αρκετές κινάσες και φωσφατάσες ως διάφορες ρυθμιστικές πρωτεΐνες, δηλαδή είναι υπεύθυνα για το συντονισμό των γεγονότων του κυτταρικού κύκλου. Ο ίδιος ο κυτταρικός κύκλος περιλαμβάνει διακριτές φάσεις που έχουν ονομαστεί G0 (δεν διπλασιάζει το DNA και δεν διαιρείται), G1 (φάση ανάπτυξης), S (σύνθεση DNA), G2 (φάση της δεύτερης ανάπτυξης του κυττάρου) και M (μίτωση) (Lara-Tejero & Galán, 2002). Κλείνοντας, αξίζει να σημειωθεί ότι οι διαφορές στους τύπους τοξινών που παράγονται από τα στελέχη του *C. jejuni* αποτελούν τον λόγο εξαιτίας του οποίου παρατηρείται τα στελέχη να προκαλούν ποικιλία κλινικών συμπτωμάτων στους ασθενείς με καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα (Stern & Kazmi, 1989).

Οι εντεροτοξίνες, που παράγουν στο λεπτό έντερο τα στελέχη *C. jejuni*, δραστηριοποιούνται με τρόπο όμοιο με τη θανατηφόρο τοξίνη της *E. coli* (Lethal Toxin-LT) και την τοξίνη τύπου χολέρας (Cholera Toxin-CT) (Perez-Perez, et al., 1989). Οι εντεροτοξίνες αυτές είναι δομικά παρόμοιες και παράγονται από μια ποικίλη ομάδα βακτηρίων. Αποτελούν πρωτεΐνες με μοριακό βάρος  $M_r = 84.000$ , οι οποίες παράγονται

στον εντερικό αυλό από τα αντίστοιχα βακτήρια (Spangler, 1992). Το χαρακτηριστικό τους είναι, ότι είναι θερμοευαίσθητες και μετουσιώνονται σχετικά εύκολα όταν χρησιμοποιηθεί ο κατάλληλος συνδυασμός θερμοκρασίας-χρόνου. Πιο συγκεκριμένα γνωστά ζεύγη θερμοκρασίας-χρόνου είναι η θέρμανση στους 56°C για 1 ώρα ή στους 96°C για 10 λεπτά. Επίσης, η αποθήκευση στους 4°C για ένα μήνα ή στους -20°C για μία εβδομάδα βοηθά, με την πάροδο του χρόνου, να χαθεί η τοξική τους δράση (McCardell, Madden, & Lee, 1984). Η παραγωγή των τοξινών αρχίζει με την έναρξη του πολλαπλασιασμού του βακτηρίου. Το γεγονός αυτό με τη σειρά του προκαλεί την παραγωγή υγρών και ηλεκτρολυτών από τον επιθήλιο ιστό του εντέρου, ενώ ταυτόχρονα αυξάνονται οι περισταλτικές κινήσεις του και με αυτό τον τρόπο προκαλείται γαστρεντερίτιδα με σύμπτωμα τη διάρροια (Spangler, 1992).

### **4.3 Κλινική εικόνα λοίμωξης από *Campylobacter spp.***

Είναι γεγονός ότι νέα είδη και γένη παθογόνων οργανισμών συνεχώς ανακαλύπτονται, ενώ ο κατάλογος δε θα σταματήσει την αυξητική του τάση με την πάροδο του χρόνου. Ωστόσο, ο πιο σημαντικός από αυτούς τους αναγνωρισμένους σήμερα οργανισμούς στην ανθρώπινη νόσο είναι το *Campylobacter jejuni*.

Η συνήθης περίοδος επώασης μετά την είσοδο του *C. jejuni* στον οργανισμό υπολογίστηκε από έρευνες για την εμφάνιση εστίας, είναι 24-72 ώρες. Ωστόσο, οι περίοδοι επώασης περίπου μίας εβδομάδας ή και περισσότερο είναι πιθανό να συμβούν (Blaser & Smith, 1995) και μπορεί να είναι πιο συχνές όταν είναι χαμηλά τα ποσοστά εμβολιασμών. Τα πρώτα συμπτώματα συχνά δεν είναι συγκεκριμένα (π.χ. πονοκέφαλος, μυαλγίες, ρίγη και πυρετός) και μπορούν να διαρκέσουν περισσότερο από 24 ώρες. Η κύρια κλινική εκδήλωση, όμως, είναι η οξεία διάρροια, συχνά με οξείες κοιλιακές κράμπες και πυρετό. Η διάρροια μπορεί αρχικά να είναι υδαρή με συχνές κενώσεις του εντέρου (περισσότερες από οκτώ) τη χειρότερη ημέρα της ασθένειας και συχνά γίνεται αιματηρή. Ο κοιλιακός πόνος μπορεί να είναι τόσο σοβαρός ώστε να μιμείται τη σκωληκοειδίτιδα. Η αιχμή της νόσου διαρκεί συνήθως για 24-48 ώρες πριν υποχωρήσει σταδιακά για μια εβδομάδα, αλλά μπορεί να είναι πιο παρατεταμένη. Ελλείψει θεραπείας, είναι πιθανό να υποτροπιάσει ένα ποσοστό επί του 20% των προσβεβλημένων ατόμων (Blaser, 1997).

Η διάρροια που συνοδεύει τη μόλυνση από *C. jejuni* θεωρείται ως φλεγμονώδης λόγω της εμφανούς έκφρασης του πυρετού και των συμπτωμάτων που ακολουθούν και λόγω των κοπράνων, τα οποία συνήθως περιέχουν πολυμορφοπύρηνα λευκοκύτταρα και ακαθάριστο

ή μικροσκοπικό αίμα. Με τη βοήθεια της κολονοσκόπησης και της βιοψίας αποκαλύπτεται η διάχυτη φλεγμονώδη κολίτιδα, ενώ μπορεί επίσης να εμφανιστεί εντερίτιδα (Blaser, Reller, Luechtefeld, & Wang, 1982).

Συχνά μπορεί να εμφανιστεί εξωεντερική λοίμωξη η οποία είναι δυνατό να επηρεάσει γειτονικά όργανα, προκαλώντας με αυτό τον τρόπο χολοκυστίτιδα, παγκρεατίτιδα, κυστίτιδα ή σηπτική άμβλωση. Επίσης, δεν είναι απίθανο, να εμφανιστεί βακτηριαιμία, ειδικά σε ανοσοκατεσταλμένους ξενιστές, και μπορεί να οδηγήσει σε σπορά απομακρυσμένων οργάνων (Blaser, et al., 1986). Μη επιφανειακές εξωεντερικές επιπλοκές περιλαμβάνουν αντιδραστική αρθρίτιδα και GBS (Bremell, Bjelle, & Svedhem, 1991).

Η αντιδραστική αρθρίτιδα (ReA) χαρακτηρίζεται από αποστειρωμένη φλεγμονή στις αρθρώσεις. Συνήθως αναπτύσσεται εντός 4 εβδομάδων μετά από εντερική ή ουρογεννητική λοίμωξη με υποχρεωτικά ή προκλητικά ενδοκυτταρικά βακτήρια, όπως *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* και *Campylobacter*, και σε πολύ μικρότερο βαθμό *Escherichia coli* O157: H7 (Rees, et al., 2004). Τα συμπτώματα είναι κυρίως εμπλοκή των αρθρώσεων και των μυοσκελετικών, αλλά έχουν επίσης περιγραφεί δερματικά και βλεννογόνα, γαστρεντερικά, οφθαλμικά ακόμη και καρδιακά (Hannu, Sihto-Kauppi, Kotaniemi, & Kauppi, 2004). Τα συμπτώματα των αρθρώσεων ποικίλλουν από ήπια μονο- ή ολιγοαρθραλγία έως σοβαρή πολυαρθρίτιδα. Η αρθρίτιδα έχει προδιάθεση για αρθρώσεις του κάτω άκρου, ιδιαίτερα γόνατα και αστραγάλους, αλλά όχι απαραίτητα αξονική εμπλοκή. Μπορεί επίσης να περιλαμβάνει μικρές αρθρώσεις (πρήξιμο με ή χωρίς ερυθριματώδη αποχρωματισμό της άρθρωσης) ή μπορεί να εμφανιστεί ως τενοσινοβίτιδα. Η ReA πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στη διαφορική διάγνωση όσων παρουσιάζουν μονο- ή ολιγοαρθρίτιδα άγνωστης αιτιολογίας (Pope, Krizova, Garg, Thiessen-Philbrook, & Ouimet, 2007).

Επιπρόσθετα, η καμπυλοβακτηρίωση που προκαλείται από το *C. jejuni* ή το *C. upsaliensis* είναι άμεσα συνδεδεμένη με το σύνδρομο Guillain-Barré (GBS). Το GBS είναι μια αυτοάνοση διαταραχή του περιφερειακού νευρικού συστήματος και αποτελεί την πιο κοινή αιτία πρόκλησης οξείας χαλαρής παράλυσης (ΟΧΠ), που χαρακτηρίζεται από αδυναμία, συνήθως συμμετρική, εξελισσόμενη σε διάστημα αρκετών ημερών ή περισσότερο (Halpin, et al., 2018). Έχει παρατηρηθεί ότι, οι ασθενείς που παλαιότερα είχαν υποστεί μόλυνση από *C. jejuni* εκδήλωσαν μια σημαντικά πιο σοβαρή μορφή της νόσου (Kaldor & Speed, 1984) με τα συμπτώματα σε αυτή την περίπτωση πιθανότατα να είναι μη αναστρέψιμα (Allos, 1997). Αν και η κατανόηση της σχέσης μεταξύ της μόλυνσης από *C. jejuni* και του

GBS έχει βελτιωθεί ταχέως, δεν έχει μετρηθεί ο συνολικός κίνδυνος GBS μετά τη διάγνωση της μόλυνσης από *C. jejuni*. Ωστόσο έχουν γίνει μελέτες που παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ διαφορετικών ηλικιακών ομάδων. Όπως εξηγούν, σπάνια βρίσκονται περιπτώσεις σε παιδιά και εφήβους, σε ενήλικες 20-59 παρατηρούνται πιο πολλά περιστατικά, ενώ άτομα ηλικιών άνω των 59 σημειώθηκαν τα περισσότερα περιστατικά (McCarthy & Giesecke, 2001).

Τέλος, η καμπυλοβακτηρίωση του *C. concisus* φαίνεται να σχετίζεται με τη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και τον οισοφάγο του Barrett. Η πρώτη νόσος έχει δύο κύριες μορφές που διαφέρουν ολοκληρωτικά από παθολογική άποψη. Η μία μορφή είναι η νόσος του Chron, η οποία μπορεί να εμφανιστεί σε οποιαδήποτε θέση κατά μήκος της γαστρεντερικής οδού, με διαδερμικές βλάβες που μπορεί να εκτείνονται μέσω της επιφάνειας του βλεννογόνου και στον υποκείμενο ορό. Ένα ιστοπαθολογικό χαρακτηριστικό της νόσου είναι η παρουσία συμπαγών κοκκωμάτων, αποτελούμενων από μακροφάγα, γιγαντιαία κύτταρα και επιθηλιοειδή κύτταρα. Η δεύτερη μορφή είναι η ελκώδης κολίτιδα, η οποία χαρακτηρίζεται από συνεχή φλεγμονή του βλεννογόνου που εμφανίζεται μόνο στο κόλον. Τα εξέχοντα ιστολογικά χαρακτηριστικά της κολίτιδας περιλαμβάνουν την παρουσία αυξημένου αριθμού πολυμορφοκυτταρικών κυττάρων εντός του προπλάσματος ελάσματος καθώς και στις εντερικές κρύπτες, στις οποίες σχηματίζονται μικρά αποστήματα (Kaakoush & Mitchell, 2012). Αντίστοιχα, το *C. concisus* έχει εντοπιστεί ως χλωρίδα του οισοφάγου και έχει παρατηρηθεί να σχετίζεται με νόσο γαστροοισοφαγικής παλινδρόμησης και θεωρείται ότι συμβάλει στην ανάπτυξη του οισοφάγου του Barrett και του οισοφαγικού αδενοκαρκινώματος. Αυτό είναι αποτέλεσμα διαταραχών της σύνθεσης των μικροβίων, που αποτελούν την φυσιολογική χλωρίδα του συγκεκριμένου μέλους του σώματος, όπως ο ανώμαλος εμπλουτισμός ορισμένων Gram-αρνητικών βακτηρίων, όπως των *Campylobacter* (Liu, Ma, Wang, & Zhang, 2018). Ειδικότερα, ο οισοφάγος του Barrett αναφέρεται ως μία παθολογική μεταπλασία των επιθηλιακών κυττάρων του κατώτερου οισοφάγου (McDonald, Lavery, Wright, & Jansen, 2015).

#### **4.4 Μέθοδοι πρόληψης & αντιμετώπισης**

##### **4.4.1 Πρόληψη**

Αν και τα *Campylobacter* έχουν θεωρηθεί γενικά ως ευαίσθητα στο περιβάλλον έξω από τα ζώα, στην πραγματικότητα είναι πιο ανθεκτικά. Επίσης, έχουν τη δυνατότητα να επιτύχουν την κατάσταση του VBNC (Viable but nonculturable), που μπορεί να οδηγήσει

σε υποεκτίμηση ή μη ανίχνευση του οργανισμού με τεχνικές που βασίζονται σε καλλιέργεια, ωστόσο τα κύτταρα σε αυτήν την κατάσταση μπορούν ακόμη να μολύνουν ευαίσθητους ξενιστές. Ωστόσο, τα *Campylobacters* είναι ευαίσθητα στην ξήρανση ή ακόμα και στις χαμηλές υγρασίες, το πάγωμα και την απόψυξη, το οξυγόνο κ.λπ., οπότε ο έλεγχος, γενικά, θα πρέπει να επικεντρώνεται σε αυτές τις πτυχές όπου χρειάζεται. Δεδομένου ότι τα πουλερικά, ιδίως του κοτόπουλου ως μια ευρέως καταναλώσιμη και σχετικά φθηνή πηγή κρέατος, είναι η κύρια πηγή της ανθρώπινης καμυλοβακτηρίωσης, αυτός είναι ο κύριος στόχος των προσπαθειών μείωσης των ανθρώπινων ασθενειών (Crushell, Harty, Sharif, & Bourke, 2004).

Καθώς τα βακτήρια εμφανίζονται συχνά σε άγρια αλλά και κατοικίδια ζώα, σημαίνει ότι είναι πολύ πιθανό να εμφανιστούν και στο περιβάλλον. Το γεγονός αυτό εκφράζει την ανάγκη να ελαχιστοποιηθεί η μόλυνση των πτηνοτροφείων από τέτοιες πηγές. Πιο συγκεκριμένα, εγκατάσταση φραγμών υγιεινής μεταξύ του εξωτερικού και του εσωτερικού περιβάλλοντος, όπως ο έλεγχος της εισόδου του προσωπικού της φάρμας, οι αυστηρές ρουτίνες υγιεινής όπως το πλύσιμο και η απολύμανση των χεριών, η αλλαγή μποτών και ολόσωμων καλυμμάτων πριν από την είσοδο, έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά, αλλά αυτά τα εμπόδια συχνά θεωρείται ότι παραβιάζονται. Ταυτόχρονα, η εκτροφή κοτόπουλων σε σύστημα ελεύθερης βοσκής έχει πολύ μεγαλύτερο κίνδυνο μόλυνσης σε σύγκριση με τη συμβατική παραγωγή, συνεπώς ο έλεγχος παρουσιάζει αυξημένες δυσκολίες (Humphrey, O'Brien, & Madsen, 2007).

Η χρήση αντιβιοτικών στην εκτροφή ζώων που προορίζονται για τρόφιμα, δεν είναι η πλέον αποδεκτή προσέγγιση, καθώς αυτό έχει οδηγήσει σε ανθεκτικά στα αντιβιοτικά στελέχη, περιορίζοντας σοβαρά την αποτελεσματικότητα των αντιβιοτικών στη θεραπεία ανθρώπινων ασθενειών. Ωστόσο, η χρήση προ- και προβιοτικών, δηλαδή σύνθετων πολυσακχαριτών και στελεχών βακτηρίων γαλακτικού οξέος, έχει δείξει κάποια θετική εξέλιξη. Επιπλέον, ο ανταγωνιστικός αποκλεισμός (αρχή Nurmi), είναι γενικά επιτυχής για τον έλεγχο των σαλμονέλων, αλλά δεν ήταν πάντα επιτυχής για τον έλεγχο των καμυλοβακτηρίων. Δύο ακόμη προσπάθειες που παρουσίασαν θετικά αποτελέσματα είναι η εφαρμογή βακτηριδίων που παράγουν βακτηριοκίνη (π.χ. *Paenibacillus polymyxa*) ή βακτηριοκινών και η εφαρμογή βακτηριοφάγων λυτικών για το *C. jejuni* σε νεοσσούς (Crushell, Harty, Sharif, & Bourke, 2004).

Το *Campylobacter* είναι ευαίσθητο στη θερμότητα, σε οικιακές συνθήκες και σε χώρους εστίασης, δηλαδή οι θερμοκρασίες και οι χρόνοι μαγειρέματος επαρκούν για την εξάλειψη



των οργανισμών. Ωστόσο, αυτό προϋποθέτει τον αποκλεισμό μιας διασταυρούμενης μόλυνσης, απο επιφάνειες εργασίας ή σκεύη ανεπαρκώς καθαρισμένα. Για την αποφυγή μετάδοσης σε επιφάνειες συστήνεται μετά το άνοιγμα της συσκευασίας το κρέας να εισέρχεται απευθείας στον φούρνο αντί να πλένεται κάτω από τρεχούμενο νερό. Ενώ, οι επιφάνειες και τα σκεύη θα πρέπει να καθαρίζονται με χρήση ζεστού νερού με την προσθήκη υποχλωριώδους οξέος (κοινή χλωρίνη) (Cogan, Bloomfield, & Humphrey, 1999).

#### 4.4.2 Αντιμετώπιση

Η διατήρηση της ενυδάτωσης και της ισορροπίας των ηλεκτρολυτών είναι ο ακρογωνιαίος λίθος της θεραπείας για την εντερίτιδα του *Campylobacter*, και όχι η θεραπεία με αντιβιοτικά. Πράγματι, οι περισσότεροι ασθενείς με λοίμωξη από *Campylobacter* έχουν αυτοπεριοριζόμενη ασθένεια και δεν χρειάζονται καθόλου αντιβιοτικά. Ωστόσο, υπάρχουν συγκεκριμένες κλινικές περιστάσεις στις οποίες θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αντιβιοτικά. Αυτές περιλαμβάνουν υψηλούς πυρετούς, αιματηρά κόπρανα, παρατεταμένη ασθένεια (συμπτώματα που διαρκούν περισσότερο από 1 εβδομάδα), εγκυμοσύνη, λοίμωξη με HIV και άλλες ανοσοκατεσταλμένες καταστάσεις (Acheson & Allos, 2001).

Τα περισσότερα στελέχη του *C. jejuni* είναι επιρρεπείς στην ερυθρομυκίνη και εξαλείφει το *C. jejuni* από τα κόπρανα των ασθενών με εντερίτιδα. Σε μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί με σκοπό την σύγκριση της ερυθρομυκίνης με την τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη αποδείχτηκε ότι η ερυθρομυκίνη απέκλεισε γρήγορα το *C. jejuni* από τα κόπρανα, σε αντίθεση με την τριμεθοπρίμη-σουλφαμεθοξαζόλη που δεν τα κατάφερε (Williams, et al., 1989). Παρά τις δεκαετίες χρήσης, το ποσοστό αντοχής του *Campylobacter* στην ερυθρομυκίνη παραμένει αρκετά χαμηλό. Παράλληλα, άλλα πλεονεκτήματα της ερυθρομυκίνης περιλαμβάνουν το χαμηλό κόστος, την ασφάλεια, την ευκολία χορήγησης και το στενό φάσμα δραστηριότητας. Σε αντίθεση με τις φθοροκινολόνες και τις τετρακυκλίνες, η ερυθρομυκίνη μπορεί να χορηγηθεί με ασφάλεια σε παιδιά και έγκυες γυναίκες και είναι λιγότερο πιθανό από πολλούς παράγοντες να ασκήσουν ανασταλτική επίδραση σε άλλα χλωρίδια κοπράνων. Η στεατική ερυθρομυκίνη είναι ανθεκτική στα οξέα, είναι σταθερή και απορροφάται πλήρως. Επομένως, εκτός από τα συστηματικά του αποτελέσματα, μπορεί να είναι ικανό να ασκεί επίδραση όταν έρχεται σε επαφή με όλο το έντερο. Η συνιστώμενη δόση για ενήλικες είναι 500 mg χορηγούμενα

από το στόμα 2 φορές την ημέρα για 5 ημέρες. Για παιδιά, η συνιστώμενη δόση είναι 40 mg ανά kg ανά ημέρα σε 2 διαιρεμένες δόσεις για 5 ημέρες (Acheson & Allos, 2001).

Τα νεότερα μακρολίδια, αζιθρομυκίνη και κλαριθρομυκίνη, είναι επίσης αποτελεσματικά έναντι των λοιμώξεων από *C. jejuni*, αλλά είναι πιο ακριβά από την ερυθρομυκίνη και δεν παρέχουν κανένα κλινικό πλεονέκτημα. Ενώ, τα είδη *Campylobacter* είναι επίσης γενικά ευαίσθητα σε αμινογλυκοσίδες, χλωραμφενικόλη, κλινδαμυκίνη, νιτροφουράνια και ιμιπενέμη (Acheson & Allos, 2001).

## 5. Επιδημιολογικά δεδομένα

Η μόλυνση από *Campylobacter* είναι μία από τις πιο διαδεδομένες μολυσματικές ασθένειες του περασμένου αιώνα. Η συχνότητα και ο επιπολασμός της καμπυλοβακτηρίωσης έχουν αυξηθεί τόσο στις αναπτυγμένες όσο και στις αναπτυσσόμενες χώρες τα τελευταία χρόνια (Kaakoush, Castaño-Rodríguez, Mitchell, & Man, 2015).

### 5.1 Καμπυλοβακτηρίωση στους ανθρώπους

#### 5.1.1 Γεωγραφική Κατανομή

Η ειδοποίηση για την εμφάνιση καμπυλοβακτηρίωσης σε χώρες της ΕΕ είναι είτε υποχρεωτική (πχ Ισλανδία) είτε βασίζεται σε εθελοντικό σύστημα (πχ Γαλλία) ή σε άλλο σύστημα (Ηνωμένο Βασίλειο). Στις περισσότερες χώρες τα συστήματα παρακολούθησης για την καμπυλοβακτηρίωση καλύπτουν ολόκληρο τον πληθυσμό (ECDC, 2019b). Ωστόσο, στην Ελλάδα το νόσημα επιτηρείται μέσω του Συστήματος Εργαστηριακής Δήλωσης Νοσημάτων και τα επιδημιολογικά δεδομένα που έχουν δημοσιευτεί είναι περιορισμένα (ΚΕΕΛΠΝΟ, 2011). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα στους παρακάτω πίνακες να παρατίθενται στοιχεία μόνο για το έτος 2018.

Στον **Πίνακα 3** αποτυπώνεται ο αριθμός των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων της νόσου σε χώρες της ΕΕ από το έτος 2010 έως το 2018, τα οποία είναι τα πιο πρόσφατα στοιχεία που δημοσιεύσε το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων.

<b>Πίνακας 3.</b> Επιβεβαιωμένα κρούσματα Καμπυλοβακτηρίωσης σε χώρες της Ε.Ε. (ECDC, 2017a; ECDC, 2018a; ECDC, 2019a; ECDC, 2019b)									
Χώρα	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
	Επιβεβαιωμένα κρούσματα								
Αυστρία	4.404	5.129	4.710	5.731	6.514	6.258	7.083	7.204	7.999
Βέλγιο	6.047	7716	6.607	8.148	8.098	9.066	10.055	8.649	8.086

Χώρα	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
	Επιβεβαιωμένα κρούσματα								
Βουλγαρία	6	73	97	124	144	227	202	195	191
Κροατία	-	-	0	0	1.647	1.393	1.524	1.686	1.965
Κύπρος	55	62	68	56	40	29	21	20	26
Τσεχία	21.075	18.743	18.287	18.267	20.750	20.960	24.084	24.326	22.895
Δανία	4.037	4.060	3.720	3.772	3.773	4.327	4.712	4.255	4.559
Εσθονία	197	214	268	382	285	318	298	285	411
Φινλανδία	3.944	4.267	4.251	4.066	4.889	4.588	4.637	4.289	5.099
Γαλλία	4.324	5.538	5.079	5.198	5.958	6.074	6.698	6.579	7.491
Γερμανία	65.108	70.812	62.504	63.271	70.571	69.829	73.663	69.251	67.585
Ελλάδα	-	-	-	-	-	-	-	-	357
Ουγγαρία	7.180	6.121	6.367	7.247	8.444	8.342	8.556	7.807	7.117
Ιρλανδία	1.660	2.433	2.391	2.288	2.593	2.453	2.511	2.779	3.044
Ιταλία	457	468	774	1.178	1.252	1.014	1.057	1.060	1.356
Λετονία	1	7	8	9	37	74	90	59	87
Λιθουανία	1.095	1.124	9.17	1.139	1.184	1.186	1.225	990	919
Λουξεμβούργο	600	704	581	675	873	254	518	613	625
Μάλτα	204	220	220	246	288	248	212	231	333
Ολλανδία	4.322	4.408	4.248	3.702	4.159	3.778	3.383	2.890	3.091
Πολωνία	367	354	431	552	650	653	773	874	719
Πορτογαλία	-	-	-	-	-	271	359	596	610
Ρουμανία	175	149	92	218	256	311	517	467	573

Χώρα	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018
	Επιβεβαιωμένα κρούσματα								
Σλοβακία	4.476	4.565	5.704	5.845	6.744	6.949	7.623	6.946	8.339
Σλοβενία	1.022	998	983	1.027	1.184	1.328	1.642	1.408	1.305
Ισπανία	6.340	5.469	5.548	7.064	11.481	13.227	15.542	18.860	18.411
Σουηδία	8.001	8.214	7.901	8.114	8.288	9.180	11.021	10.608	8.132
Ηνωμένο Βασίλειο	70.298	72.150	72.560	66.465	66.716	59.797	58.911	63.267	65.246
<b>Σύνολο ΕΕ</b>	218.132	227.126	217.309	218.176	240.346	234.571	249.362	246.194	246.571

Όπως προκύπτει από τον ανωτέρω πίνακα, ο μεγαλύτερος αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων παρατηρείται στην Γερμανία, με μέσο όρο 68.066 κρούσματα το χρόνο, κατά τα έτη 2010-2018.

Στον **Πίνακα 4** παρατίθεται ο αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων Καμπυλοβακτηρίωσης ανά 100.000 άτομα σε χώρες της ΕΕ από το έτος 2014 έως το 2018.

<b>Πίνακας 4.</b>					
Επιβεβαιωμένα κρούσματα Καμπυλοβακτηρίωσης ανά 100.000 άτομα σε χώρες της Ε.Ε. (ECDC, 2019b)					
Χώρα	2014	2015	2016	2017	2018
	Κρούσματα/100.000 άτομα				
Αυστρία	76,6	72,9	81,4	82,1	90,7
Βέλγιο	-	80,7	88,9	76,2	70,9
Βουλγαρία	2	3,2	2,8	2,7	2,7
Κροατία	38,8	33	36,4	40,6	47,9
Κύπρος	4,7	3,4	2,5	2,3	3
Τσεχία	197,4	198,1	228,3	230,1	215,9

Χώρα	2014	2015	2016	2017	2018
	Κρούσματα/100.000 άτομα				
Δανία	67	76,5	82,6	74	78,9
Εσθονία	21,7	24,2	22,6	21,7	31,2
Φινλανδία	89,7	83,8	84,5	77,9	92,5
Γαλλία	45,2	45,7	50,3	49,2	56
Γερμανία	87,4	86,1	89,7	83,9	81,6
Ελλάδα	-	-	-	-	3,3
Ουγγαρία	85,5	84,6	87	79,7	72,8
Ιρλανδία	56,3	52,4	53,1	58,1	63
Ιταλία	-	-	-	-	-
Λετονία	1,8	3,7	4,6	3	4,5
Λιθουανία	40,2	40,6	42,4	34,8	32,7
Λουξεμβούργο	158,8	45,1	89,9	103,8	103,8
Μάλτα	67,7	56,4	47,1	50,2	70
Ολλανδία	47,5	43	38,3	32,5	34,6
Πολωνία	1,7	1,7	2	2,3	1,9
Πορτογαλία	-	2,6	3,5	5,8	5,9
Ρουμανία	1,3	1,6	2,6	2,4	2,9
Σλοβακία	124,5	128,2	140,5	127,8	153,2
Σλοβενία	57,4	64,4	79,5	68,2	63,1
Ισπανία	-	-	-	-	57,6
Σουηδία	85,9	94,2	111,9	106,1	80,4
Ηνωμένο Βασίλειο	103,7	92,2	90,1	96,1	98,4
<b>Σύνολο ΕΕ</b>	66,3	63	66,4	64,9	64,1

Όπως προκύπτει από τον ανωτέρω πίνακα, ο μεγαλύτερος αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων ανά 100.000 άτομα παρατηρείται στην Τσεχία, με μέσο όρο 213,96 κρούσματα ανά 100.000 άτομα, τα 5 έτη από το 2014 έως το 2018.

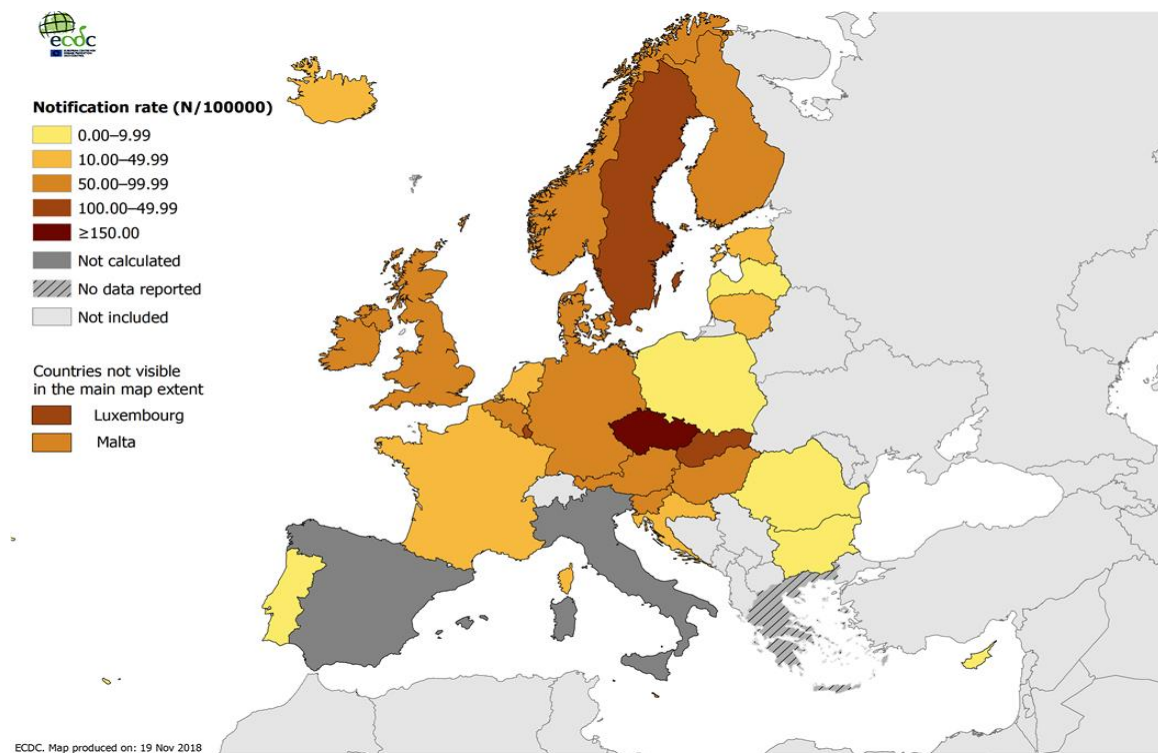
Παράλληλα στον **Πίνακα 5** παρατίθενται τα στοιχεία που περιγράφουν τη θνησιμότητα της καμπυλοβακτηρίωσης τα έτη 2015 έως 2018. Επίσης αναφέρονται οι περιπτώσεις που χρειάστηκαν νοσηλία σε σχέση με το σύνολο των επιβεβαιωμένων κρουσμάτων που εντοπίστηκαν στις χώρες της ΕΕ.

<b>Πίνακας 5.</b> Αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων, νοσηλευόμενων και θανάτων από καμπυλοβακτηρίωση στην ΕΕ (ECDC, 2016; ECDC, 2017b; ECDC, 2018b; ECDC, 2019b)			
Έτος	Αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων	Αριθμός νοσηλευόμενων	Αριθμός θανάτων
2015	229.213	19.302	59
2016	246.307	19.265	62
2017	246.158	20.810	45
2018	246.571	20.948	60

Τα στοιχεία του πίνακα δείχνουν ότι κατά μέσο όρο την συγκεκριμένη χρονική περίοδο αναφέρθηκαν 242.062 επιβεβαιωμένα κρούσματα, από τα οποία το 8,3% χρειάστηκε να νοσηλευτεί σε νοσοκομείο. Ενώ, το 0,3% των νοσηλευομένων κατέληξε. Αυτά τα δεδομένα επιβεβαιώνουν για την καμπυλοβακτηρίωση ότι η πλειονότητα των περιπτώσεων είναι αυτοπεριοριζόμενη και δεν χρήζει θεραπείας. Ωστόσο, δεν είναι απίθανο να χρειαστεί νοσηλεία του ασθενούς ή ακόμη και να οδηγηθεί στον θάνατο.

Η πιο πρόσφατη ετήσια αναφορά που έχει δημοσιευτεί ολοκληρωμένη αποκλειστικά για το βακτήριο από τον οργανισμό ECDC είναι για το έτος 2017. Βάσει αυτής της αναφοράς στην παρακάτω εικόνα παρουσιάζεται ο αριθμός των επιβεβαιωμένων περιπτώσεων καμπυλοβακτηρίωσης ανά 100.000 άτομα στις χώρες της Ευρώπης.

Το συνολικό ποσοστό αναφοράς των χωρών της ΕΕ 64.9 περιπτώσεων ανά πληθυσμό 100.000 ατόμων ήταν παρόμοιο με τα προηγούμενα έτη (ECDC, 2019a). Όπως είναι φανερό από τον χάρτη στην **Εικόνα 26** οι χώρες με τα υψηλότερα ποσοστά κοινοποίησης ήταν η Τσεχία, η μόνη που είχε αναφορά μεγαλύτερη των 150 ανα 100.000 άτομα, το Λουξεμβούργο, η Σουηδία και η Σλοβακία, οι οποίες παρουσίασαν 100-149,99 αναφορές ανα 100.000 άτομα. Αντίθετα, τα χαμηλότερα ποσοστά αναφέρθηκαν στη Βουλγαρία, την Κύπρο, την Πολωνία και τη Ρουμανία. Όλες οι τελευταίες χώρες άνηκαν στην ζώνη αναφοράς 0-9.99 ανά 100.000 άτομα. Σε σύγκριση με το 2016, τα ποσοστά ειδοποιήσεων αυξήθηκαν σε 10 χώρες και σημειώθηκε μείωση σε 17 χώρες. Οι χώρες που είναι σημειωμένες με γκρι χρώμα στην εικόνα δεν είχαν υπολογίσει το ποσοστό αναφοράς, αλλά είχαν υπολογίσει τα επιβεβαιωμένα κρούσματα που παρουσιάστηκαν το έτος 2017 (Ιταλία, Ισπανία). Σε αντίθεση με τις χώρες που είναι σημειωμένες με γκρι ρίγες οι οποίες δε υπέβαλαν αναφορά για τα κρούσματα που εμφανίστηκαν, όπως η Ελλάδα.

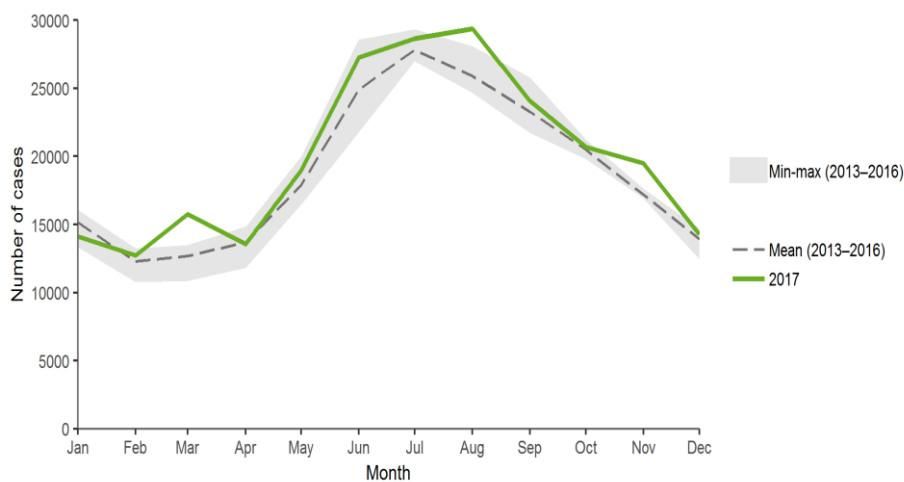


**Εικόνα 26.** Κατανομή αριθμού επιβεβαιωμένων κρουσμάτων Καμπυλοβακτηρίωσης ανα 100.000 στις χώρες της Ευρώπης (ECDC, 2019a)



### 5.1.2 Εποχιακή κατανομή

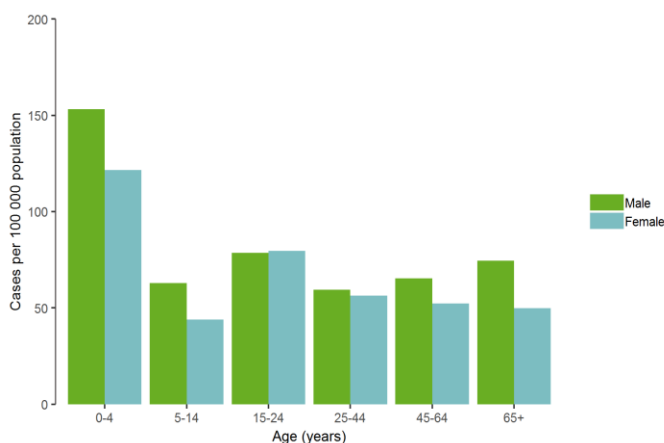
Τα αναφερόμενα περιστατικά καμπυλοβακτηρίωσης σε άνθρωπο ακολούθησαν, επίσης, μια σαφή εποχικότητα σύμφωνα με τα προηγούμενα χρόνια, με τις περισσότερες περιπτώσεις να αναφέρονται από τον Ιούνιο έως τον Αύγουστο. Επιπλέον, μικρές κορυφές κατα τον Ιανουάριο παρατηρήθηκαν το 2013-2016. Ένω, το 2017, η μικρή κορυφή σημειώθηκε τον Μάρτιο, όπως είναι φανερό και στο παρακάτω διάγραμμα.



*Εικόνα 27. Κατανομή Επιβεβαιωμένων Κρουσμάτων Καμπυλοβακτηρίωσης ανά μήνα την χρονική περίοδο 2013-2017. (ECDC, 2019a)*

### 5.1.3 Κατανομή με βάση την ηλικία και το φύλο

Εκτός, από εποχικότητα η νόσος φαίνεται να εμφανίζεται με διαφορετική συχνότητα τόσο ηλικιακά όσο και ανάμεσα στα δύο φύλα. Στα ευρωπαϊκά κράτη εμφανίζονται δύο κορυφές: η πρώτη είναι στην βρεφική-παιδική ηλικία, δηλαδή από 0 έως 4 ετών, ενώ η δεύτερη κατά την νεαρή ενήλική ζωή, δηλαδή από 15 έως 24 ετών. Το 2017, ωστόσο, φάνηκε μια επιπλέον κορυφή στις ηλικίες μεγαλύτερες των 65 ετών. Επιπρόσθετα, η λοίμωξη παρατηρείται πιο συχνά στα αρσενικά καθόλο την ηλικιακό εύρος.



**Εικόνα 28.** Κατανομή Επιβεβαιωμένων Κρουσμάτων Καμπυλοβακτηρίωσης ανά 100.000 ανά φύλο και ηλικία (2017). (ECDC, 2019a)

#### 5.1.4 Σύγκριση των *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria* και *Campylobacter*

Όπως αναφέρθηκε, το *Campylobacter* δεν αποτελούσε από την αρχή εντερικό βακτήριο άξιο παρακολούθησης, ωστόσο αργότερα παρατηρήθηκε ότι ταυτοποιούνταν 2 με 7 φορές συχνότερα από ότι η *Salmonella*, η *Shigella* ή η *Listeria*. Αυτό συμβαίνει διότι η καμπυλοβακτηρίωση τις περισσότερες φορές είναι αυτοπεριοριζόμενη.

Στον Πίνακα 6 παρατίθενται ο συνολικός αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων στην ΕΕ για τα έτη 2014-2018 των τα *Samlonella*, *Shigella*, *Listeria* και *Campylobacter*.

Πίνακας 6. Συνολικός αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων στην ΕΕ για τα <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Listeria</i> και <i>Campylobacter</i> (ECDC, 2019b; ECDC, 2020)					
Βακτήριο	2014	2015	2016	2017	2018
	Επιβεβαιωμένα Κρούσματα				
<i>Salmonella</i>	92.012	94.477	94.425	91.590	91.857
<i>Shigella</i>	6.531	6.723	5.632	6.337	-
<i>Listeria</i>	2.217	2.183	2.503	2.479	2.549
<i>Campylobacter</i>	240.346	234.571	249.362	246.194	246.571

Όπως είναι φανερό από τον παραπάνω πίνακα το καμπυλοβακτήριο έχει με συντριπτική διαφορά τα περισσότερα επιβεβαιωμένα κρούσματα στα πιο πρόσφατα δεδομένα που διατίθενται, την πενταετία 2014-2018. Ακολουθεί η *Salmonella* και η *Shigella* και τέλος η

*Listeria*. Τα τρία παραπάνω παθογόνα προκαλούν επίσης σημαντικές εντερικές παθήσεις, συγκρινόμενες όμως και το *Campylobacter* έχουν μικρότερη συχνότητα.

Αντίστοιχα στον **Πίνακα 7** αποτυπώνεται ο συνολικός αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων ανά 100.000 στην ΕΕ για τα *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria* και *Campylobacter* από το έτος 2014 έως το 2018.

<b>Πίνακας 7.</b> Συνολικός αριθμός επιβεβαιωμένων κρουσμάτων ανά 100.000 άτομα στην ΕΕ για τα <i>Salmonella</i> , <i>Shigella</i> , <i>Listeria</i> και <i>Campylobacter</i> (ECDC, 2019b; ECDC, 2020)					
Βακτήριο	2014	2015	2016	2017	2018
	Κρούσματα/100.000 άτομα				
<i>Salmonella</i>	21	21	21	20	20
<i>Shigella</i>	1,6	1,7	1,5	1,7	-
<i>Listeria</i>	0,46	0,43	0,47	0,48	0,47
<i>Campylobacter</i>	66,3	63	66,4	64,9	64,1

Δεδομένου του παραπάνω πίνακα, το *Campylobacter* έχει την τον μεγαλύτερο αριθμό αναφοράς επιβεβαιωμένων κρουσμάτων ανά πληθυσμό 100.000 ατόμων. Επίσης δεύτερη στην διάταξη βρίσκεται η *Salmonella*. Γεγονός που επιβεβαιώνει ότι τα δυο παθογόνα αποτελούν την κύρια αιτία οξείας γαστρεντερίτιδας στις χώρες της ΕΕ. Ωστόσο, ακολουθούν η *Shigella* και η *Listeria* με αριθμούς πολύ μικρότερους από αυτούς των πρώτων δύο, επομένως δεν παύουν να αποτελούν και αυτά σημαντικά παθογόνα βακτηρια.

## 5.2 Συχνότητα σε τρόφιμα

Τα είδη πτηνών είναι οι πιο συνηθισμένοι ξενιστές για το *Campylobacter* πιθανώς λόγω της υψηλότερης θερμοκρασίας του σώματος τους, με κύρια πηγή το κοτόπουλο. Ακολουθεί το χοιρινό με αρκετά μεγάλο επιπολασμό και τέλος το βοδινό κρεας. Ωστόσο μπορεί να βρίσκεται και σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης μετα απο επεξεργασία όπως είναι το γάλα και το τυρί (Atabay & Corry, 1998; Nesbakken, Eckner, Høidal, & Røtterud, 2003; Orr, et al., 1995). 6

Στον **Πίνακα 8** αποτυπώνονται οι εξεταζόμενες μονάδες τριών βασικών κατηγοριών τροφίμων που σχετίζονται με το *Campylobacter* από το έτος 2015 έως το 2018, τα οποία αποτελούν τα πιο πρόσφατα στοιχεία που έχει δημοσιεύσει το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Προληψης Νοσημάτων. Οι κατηγορίες που αναφέρονται είναι φρέσκο κρέας και προϊόντα κρέατος που αφορούν τα είδη ζώων που συνδέονται με το *Campylobacter*, δηλαδή τα πουλερικά, οι γαλοπούλες, τα βοοειδή και οι χοίροι. Ενώ, η τρίτη κατηγορία αφορά τα γαλακτοκομικά, δηλαδή το γάλα και το τυρί.

**Πίνακας 8.** Περίληψη των στατιστικών *Campylobacter* που σχετίζονται με κατηγορίες τροφίμων, που αναφέρθηκαν στην ΕΕ. (ECDC, 2016; ECDC, 2017b; ECDC, 2018b; ECDC, 2019b)

Τρόφιμο	2015		2016		2017		2018	
	Εξεταζόμενες μονάδες	% θετικών μονάδων	Εξεταζόμενες μονάδες	% θετικών μονάδων	Εξεταζόμενες μονάδες	% θετικών μονάδων	Εξεταζόμενες μονάδες	% θετικών μονάδων
<b>Φρέσκο Κρέας</b>								
Κοτόπουλο	6.707	46,7	11.495	36,7	13.445	37,4	7.441	37,5
Γαλοπούλα	293	15,7	1.505	11	1.028	31,5	1.115	28,2
Άλλα πουλερικά	1.403	8,7	-	-	1.425	27,7	302	23,8
Χοιρινό	2.077	3,4	554	2,9	843	6,9	516	5,8
Βοδινό	1.195	0,4	1.220	1	1.456	1,4	589	0,5
<b>Προϊόντα Κρέατος</b>								
Κοτόπουλο	202	10,9	54	1,9	101	0	99	0
Γαλοπούλα	40	2,5	16	0	11	0	25	0
Χοιρινό	111	0	44	0	178	1,1	99	0
Βοδινό	21	0	64	1,6	16	0	20	0
Άλλο	38	0	116	0,9	74	0	502	0,2

Τρόφιμο	2015		2016		2017		2018	
	Εξεταζόμενες μονάδες	% θετικών μονάδων	Εξεταζόμενες μονάδες	% θετικών μονάδων	Εξεταζόμενες μονάδες	% θετικών μονάδων	Εξεταζόμενες μονάδες	% θετικών μονάδων
<b>Γαλακτοκομικά</b>								
Γάλα	1.565	1	1.327	1,2	1.554	1,9	1.882	0,6
Τυρί	423	0	289	1	522	0,5	620	0

Όπως αποδεικνύει ο παραπάνω πίνακας μεγαλύτερο ποσοστό μολυσμένων τροφίμων κατά τη χρονική περίοδο 2015-2018 βρέθηκε να είναι σε φρέσκο κρέας το κοτόπουλο ακολουθώντας η γαλοπούλα και άλλα πουλερικά. Ενώ, σε σφάγια βοδινών ή χοιρινών παρατηρήθηκε πολύ μικρό ποσοστό θετικών. Επιπλέον, πολύ μικρό ποσοστό θετικών σε *Campylobacter* βρέθηκε σε επεξεργασμένα κρέατα, ενώ μικρό ήταν και το ποσοστό των μολυσμένων γαλακτοκομικών, καθώς πάρα την μεγάλη ποσότητα εξεταζόμενων μονάδων το ποσοστό ήταν πολύ μικρό.

Συγκριτικά κατά τα έτη, παρατηρείται ότι το κρέας κοτόπουλου έχει μια συνεχή αυξανόμενη πορεία τα έτη 2015-2017 ενώ το 2018 υπάρχει μια μικρή μείωση. Σε αντίθεση με τα υπόλοιπα σφάγια που φαίνεται να ακολουθούν μια σχεδόν σταθερή πορεία.

### 5.3 Συχνότητα σε ζώα

Όπως έχει αναφερθεί το βακτήριο εντοπίζεται κυρίως στο κοτόπουλο. Ωστόσο σημαντική πηγή μόλυνσης αποτελούν και οι χοίροι καθότι έχει αποδειχθεί ότι το *Campylobacter* απομονώνεται συχνότερα από χοίρους σε σχέση με τη συχνότητα που απομονώνεται από βοοειδή ή αιγο- πρόβατα (Nesbakken, Eckner, Høidal, & Røtterud, 2003). Ωστόσο, σοβαρό κίνδυνο αποτελούν τα κατοικίδια ζώα καθώς αποτελούν φορείς της νόσου ακόμα και όταν είναι υγιή. Συνεπώς, η μόλυνση του περιβάλλοντος από τα περιττώματα των ζώων αυτών αποτελεί σοβαρή πηγή μόλυνσης (Studahl & Andersson, 2000).

Στον **Πίνακα 9** αποτυπώνονται οι εξεταζόμενες μονάδες πέντε ειδών ζώων που σχετίζονται με το *Campylobacter* από το έτος 2015 έως το 2018, τα οποία αποτελούν τα πιο πρόσφατα στοιχεία που έχει δημοσιεύσει το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Προληψής Νοσημάτων.

Τα είδη ζώων που αναφέρονται είναι τα πουλερικά, οι γαλοπούλες, τα βοοειδή, οι χοίροι και οικόσιτα ζώα, όπως η γάτα και ο σκύλος.

**Πίνακας 9.** Περίληψη των στατιστικών *Campylobacter* που σχετίζονται με είδη ζώων, που αναφέρθηκαν στην ΕΕ. (ECDC, 2016; ECDC, 2017b; ECDC, 2018b; ECDC, 2019b)

Ζώο		Πουλερικά	Γαλοπούλες	Βοοειδή	Χοίροι	Οικόσιτα (Γάτες, σκύλοι)	Άλλα ζώα
2015	Εξεταζόμενες μονάδες	10.063	191	12.265	2.010	3.524	198
	% θετικών μονάδων	19,3	13,1	6,9	46,8	12,8	7,34
2016	Εξεταζόμενες μονάδες	13.558	2.894	6.469	50	1.196	1.031
	% θετικών μονάδων	27,3	65,3	1,1	0,7	5,5	12,4
2017	Εξεταζόμενες μονάδες	10.077	0	9.147	3.817	1.176	5.817
	% θετικών μονάδων	12,3	0,0	6,9	17,6	29,3	6,3
2018	Εξεταζόμενες μονάδες	13.636	1.174	2.481	4.220	861	4.495
	% θετικών μονάδων	26,0	71,6	2,0	3,2	38,1	13,9

Βάσει του παραπάνω πίνακα προκύπτει ότι την τετραετία μεταξύ 2015-2018, τα στατιστικά απομόνωσης του βακτηρίου συμπίπτουν με όσα έχουν δείξει προηγούμενες έρευνες. Όπως φαίνεται, μεγαλύτερος αριθμός αναφορών, συνεπώς και εξεταζόμενων μονάδων, γίνεται στα πουλερικά, με ένα μεγάλο ποσοστό να βρίσκονται θετικά. Σε

αντίθεση με τα βοοειδή τα οποία ελέγχονται σε μικρότερο αριθμό και το ποσοστό θετικών μονάδων είναι επίσης μικρό. Ταυτόχρονα, οι χοίροι το 2015 αποτελούσαν κίνδυνο, διότι ενώ ελέγχθηκε μικρή ποσότητα το ποσοστό θετικών ήταν σχεδόν στο 50%. Αντίθετα τα οικόσιτα ζώα όλη τη χρονική περίοδο αποτελούσαν μία μέτρια μορφή κινδύνου, καθώς ελεγχθηκαν μικρές ποσότητες και το ποσοστό θετικών μονάδων ήταν μικρό. Όσον αφορά στις γαλοπούλες παρατηρήθηκαν δύο κορυφές τα έτη 2016 και 2018, κατα τις οποίες υπήρχε μια αύξηση και στις εξεταζόμενες μονάδες αλλά και στο ποσοστό θετικών μονάδων. Ωστόσο τα έτη 2015 και 2017 ο κίνδυνος θεωρούνταν σχεδόν μηδενικός. Τέλος, από την κατηγορία «Άλλα ζώα» αποδεικνύεται ότι αυτά τα είδη ζώων είναι οι σημαντικότερες πηγές μόλυνσης, δεδομένου ότι ελέγχθηκαν σε μεγάλο αριθμό αλλά το ποσοστό θετικών μονάδων ήταν μικρό.

## 6. Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, το *Campylobacter* είναι μια σημαντική αιτία βακτηριακής ασθένειας που μεταδίδεται από τα τρόφιμα και ο επιπολασμός της ανταγωνίζεται ή μάλιστα ξεπερνά εκείνο των τροφιμογενών λοιμώξεων από *Salmonella* στον ανεπτυγμένο κόσμο. Ακόμη, τόσο τα εκτροφεία ζώων όσο και το περιβάλλον μπορεί να είναι υπεύθυνα για τη μόλυνση του ανθρώπου, αλλά τα κοτόπουλα είναι η κύρια πηγή σποραδικής ανθρώπινης μόλυνσης. Παρουσιάζει ποικιλία συμπτωμάτων για αυτό συχνά δεν είναι εύκολη η διάγνωση. Το βακτήριο είναι μικροαερόβιο και ευαίσθητο όχι μόνο στις πολύ χαμηλές αλλά και τις πολύ υψηλές θερμοκρασίες. Παρά τη σημασία του ως απειλή για την ανθρώπινη υγεία, οι παθογόνοι μηχανισμοί του έχουν διερευνηθεί ελάχιστα σε σύγκριση με εκείνους άλλων βακτηριακών παθογόνων. Ενώ, θέματα που περιορίζουν την πρόοδο αποτέλεσαν η έλλειψη ανιχνεύσιμων γενετικών εργαλείων καθώς και τα ακατάλληλα ή φτωχά ζωικά μοντέλα ασθενειών.

Ωστόσο, η βελτιωμένη ποιότητα πόσιμου νερού, οι τροποποιημένες πρακτικές υγιεινής της κουζίνας κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας και της προετοιμασίας των πουλερικών, τα τροποποιημένα πρότυπα επαφής με τα ζώα και ο μειωμένος επιπολασμός του *Campylobacter* στα πουλερικά προσφέρουν τη δυνατότητα ουσιαστικής μείωσης του της εμφάνισης καμπυλοβακτηρίωσης. Είναι γεγονός ότι εξαιτίας της συχνά αυτοπεριοριζόμενης φύσης της νόσου είναι δύσκολη η πραγματοποίηση σχετικής έρευνας. Για να γίνει κατανοητή, όμως, η περίπλοκη επιδημιολογία της καμπυλοβακτηρίωσης και η πρόληψη της, απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για να προσδιοριστούν οι αστοχίες στις πρακτικές υγιεινής της κουζίνας και τα πρότυπα επαφής με τα ζώα που επαρκούν για να προκαλέσουν την καμπυλοβακτηρίωση.

Επομένως, είναι απαραίτητη η μελέτη του ίδιου του βακτηρίου για την κατανόηση της παθογένειας του σε βάθος. Είναι φανερό ότι παρόλο που το *Campylobacter* έχει κάνει την εμφανισή του από τις αρχές του 20ού αιώνα, η μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί δεν είναι αρκετές για την πληρη κατανόηση του βακτηρίου σχετικά με τον τρόπο πρόκλησης νοσημάτων. Είναι αναγκαίο να εξεταστούν οι παράγοντες, στους οποίους οφείλεται η τόσο συχνή εμφάνισή του, η οποία πιθανόν σχετίζεται με την συνεχή εμφάνιση αναδυόμενων ειδών. Επιπλέον, χρήσιμη είναι η γενετική μελέτη του η οποία θα επεξηγήσει κάποια από τα παθογόνα χαρακτηριστικά του, με σκοπό τόσο τον περιορισμό όσο και την αντιμετώπιση της νόσου λαμβάνοντας τα κατάλληλα μέσα για την αδρανοποίηση των τοξίνων που παράγει, δεδομένου ότι αυτός είναι ο κύριος παράγοντας παθογένειας.



Κλείνοντας, η μελέτη πάνω στην επιβίωση του *Campylobacter* στο οικοσύστημα θα βοηθούσε στην καλύτερη οργάνωση για την πρόληψη μόλυνσης, τόσο των τροφίμων που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση όσο και ζωοτροφών.



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- ❖ Acheson, D., & Allos, B. M. (2001). Campylobacter jejuni infections: update on emerging issues and trends. *Clinical infectious diseases*, 1201-1206.
- ❖ Adzitey, F., Rusul, G., Huda, N. C., & Corry, J. (2012). Prevalence, antibiotic resistance and RAPD typing of Campylobacter species isolated from ducks, their rearing and processing environments in Penang, Malaysia. *International Journal of Food Microbiology*, σσ. 197-205.
- ❖ Allos, B. M. (1997). Association between Campylobacter infection and Guillain-Barré syndrome. *Journal of Infectious Diseases*, σσ. S125-S128.
- ❖ Allos, B. M. (2001). Campylobacter jejuni infections: Update on emerging issues and trends. *Clinical Infectious Diseases*, σσ. 1201-1206.
- ❖ Anstead, G. M., Jorgensen, J. H., Craig, F. E., Blaser, M. J., & Patterson, T. F. (2001). Thermophilic multidrug-resistant Campylobacter fetus infection with hypersplenism and histiocytic phagocytosis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Clinical Infectious Diseases*, σσ. 296-296.
- ❖ Asakura, M., Samosornsuk, W., Taguchi, M., Kobayashi, K., Misawa, N., Kusumoto, M., & Yamasaki, S. (2007). Comparative analysis of cytolethal distending toxin (cdt) genes among Campylobacter jejuni, C. coli and C. fetus strains. *Microbial pathogenesis*, σσ. 174-183.
- ❖ Aspinall, S. T., Wareing, D. R., Hayward, P. G., & Hutchinson, D. N. (1996). A comparison of a new campylobacter selective medium (CAT) with membrane filtration for the isolation of thermophilic campylobacters including Campylobacter upsaliensis. *Journal of Applied Bacteriology*, σσ. 645-650.
- ❖ Atabay, H. I., & Corry, J. E. (1998). The isolation and prevalence of campylobacters from dairy cattle using a variety of methods. *Journal of applied microbiology*, σσ. 733-740.
- ❖ Barrett, T. J., Patton, C. M., & Morris, G. K. (1988). Differentiation of Campylobacter species using phenotypic characterization. *Laboratory Medicine*, σσ. 96-102.

- ❖ Beery, J. T., Hugdahl, M. B., & Doyle, M. P. (1988). Colonization of gastrointestinal tracts of chicks by *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, σσ. 2365-2370.
- ❖ Benjamin, J. S., Leaper, S., Owen, R. J., & Skirrow, M. B. (1983). Description of *Campylobacter laridis*, a new species comprising the nalidixic acid resistant thermophilic *Campylobacter* (NARTC) group. *Current Microbiology*, σσ. 231-238.
- ❖ Berrang, M. E., Buhr, R. J., Cason, J. A., & Dickens, J. A. (2001). Broiler carcass contamination with *Campylobacter* from feces during defeathering. *Journal of Food Protection*, σσ. 2063-2066.
- ❖ Blaser, M. J. (1997). Epidemiologic and clinical features of *Campylobacter jejuni* infections. *Journal of Infectious Diseases*, S103-S105.
- ❖ Blaser, M. J. (1998). Editorial Response: *Campylobacter fetus*: Emerging Infection and Model System for Bacterial Pathogenesis at Mucosal Surfaces. . *Clinical Infectious Diseases*, σσ. 256-258.
- ❖ Blaser, M. J., & Smith, P. D. (1995). *Campylobacter jejuni*. Στο B. M.J., S. P.D., R. J.I., G. H.B., & G. R.L., *Infections of the gastrointestinal tract* (σσ. 1087-1088). New York: Raven Press.
- ❖ Blaser, M. J., BERKOWITZ, I. D., LaFORCE, F. M., CRAVENS, J., Reller, L. B., & WANG, W. L. (1979). *Campylobacter enteritis*: clinical and epidemiologic features. *Annals of Internal Medicine*, σσ. 179-185.
- ❖ Blaser, M. J., Hardesty, H. L., Powers, B., & Wang, W. L. (1980). Survival of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in biological milieus. *Journal of Clinical Microbiolog*, σσ. 309-313.
- ❖ Blaser, M. J., Newell, D. G., Thompson, S. A., & Zechner, E. L. (2008). Pathogenesis of *Campylobacter fetus*. Στο M. J. Blaser, D. G. Newell, S. A. Thompson, & E. L. Zechner, *Campylobacter, third edition* (σσ. 401-428). Washington, D.C: American Society for Microbiology.
- ❖ Blaser, M. J., Perez, G. P., Smith, P. F., Patton, C., Tenover, F. C., Lastovica, A. J., & Wang, W. I. (1986). Extraintestinal *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* infections: host factors and strain characteristics. *Journal of Infectious Diseases*, 552-559.

- ❖ Blaser, M. J., Reller, L. B., Luechtefeld, N. W., & Wang, W. L. (1982). Campylobacter enteritis in Denver. *Western Journal of Medicine*, 287.
- ❖ Bourke, B., Chan, V. L., & Sherman, P. (1998). Campylobacter upsaliensis: waiting in the wings. *Clinical Microbiology Reviews*, σσ. 440-449.
- ❖ Bremell, T., Bjelle, A., & Svedhem, A. (1991). Rheumatic symptoms following an outbreak of campylobacter enteritis: a five year follow up. *Annals of the rheumatic diseases*, 934-938.
- ❖ Brooks, B. W., Garcia, M. M., Fraser, D. E., Lior, H., Stewart, R. B., & Lammerding, A. M. (1986). Isolation and characterization of cephalothin-susceptible Campylobacter coli from slaughter cattle. *Journal of Clinical Microbiology* , σσ. 591-595.
- ❖ Brumfitt, W., Kosmidis, J., Hamilton-Miller, J. M., & Gilchrist, J. N. (1974). Cefoxitin and cephalothin: antimicrobial activity, human pharmacokinetics, and toxicology. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, σσ. 290-299.
- ❖ Burman, L. G. (1977). Apparent absence of transferable resistance to nalidixic acid in pathogenic Gram-negative bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, σσ. 509-516.
- ❖ Carrique-Mas, J., Andersson, Y., Hjertqvist, M., Svensson, Å., Torner, A., & Giesecke, J. (2005). Risk factors for domestic sporadic campylobacteriosis among young children in Sweden. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* , σσ. 101-110.
- ❖ Casanova, C., Schweiger, A., von Steiger, N., Droz, S., & Marschall, J. (2015). Campylobacter concisus pseudo-outbreak caused by improved culture conditions. *Journal of clinical microbiology*, 660-662.
- ❖ Chantarapanont, W., Berrang, M., & Frank, J. F. (2003). Direct microscopic observation and viability determination of Campylobacter jejuni on chicken skin. *Journal of food protection*, σσ. 2222-2230.
- ❖ Christensen, W. B. (1946). Urea decomposition as a means of differentiating Proteus and paracol cultures from each other and from Salmonella and Shigella types. *Journal of Bacteriology*, σ. 461.

- ❖ Clarke, P. H., & Cowan, S. T. (1952). . Biochemical methods for bacteriology. *Microbiology*, σσ. 187-197.
- ❖ Cogan, T. A., Bloomfield, S. F., & Humphrey, T. J. (1999). The effectiveness of hygiene procedures for prevention of cross-contamination from chicken carcasses in the domestic kitchen. *Letters in Applied Microbiology*, σσ. 354-358.
- ❖ Corry, J. E., & Atabay, H. I. (2001). Poultry as a source of Campylobacter and related organisms. *Journal of Applied Microbiology*, σσ. 96S-114S.
- ❖ Corry, J. E., Post, D. E., Colin, P., & Laisney, M. J. (1995). Culture media for the isolation of campylobacter. *In Progress in Industrial mMicrobiology* , σσ. 129-162.
- ❖ Cortes-Bratti, X., Chaves-Olarte, E., Lagergård, T., & Thelestam, M. (1999). The cytolethal distending toxin from the chancroid bacterium Haemophilus ducreyi induces cell-cycle arrest in the G2 phase. *The Journal of Clinical Investigation* , σσ. 107-115.
- ❖ Costa, D., & Iraola, G. (2019). Pathogenomics of emerging Campylobacter species. *Clinical microbiology reviews*.
- ❖ Couturier, B. A., Hale, D. C., & Couturier, M. R. (2012). Association of Campylobacter upsaliensis with persistent bloody diarrhea. *Journal of clinical microbiology*, 3792-3794.
- ❖ Crushell, E., Harty, S., Sharif, F., & Bourke, B. (2004). Enterical Campylobacter: purging its secrets? *Pediatric research*, 3-12.
- ❖ Dealler, S. F., Hawkey, P. M., & Millar, M. R. (1988). Enzymatic degradation of urinary indoxyl sulfate by Providencia stuartii and Klebsiella pneumoniae causes the purple urine bag syndrome. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 2152-2156.
- ❖ Debruyne, L., On, S. L., De Brandt, E., & Vandamme, P. (2009). 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. lari subsp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* , σσ. 1126-1132.
- ❖ Doyle, M. P., & Roman, D. J. (1982). Response of Campylobacter jejuni to sodium chloride. *Applied and Environmental Microbiology*, 561-565.

- ❖ Duma, J., Nothaft, H., Weaver, D., Fodor, C., Beadle, B., Linton, D., & Szymanski, C. M. (2020). Influence of Protein Glycosylation on *Campylobacter fetus* Physiology. *Frontiers in Microbiology*, σ. 1191.
- ❖ Eberhart-Phillips, J., Walker, N., Garrett, N., Bell, D., Sinclair, D., Rainger, W., & Bates, M. (1997). Campylobacteriosis in New Zealand: results of a case-control study. *Journal of Epidemiology & Community Health*, σσ. 686-691.
- ❖ ECDC. (2016). *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2015*. EFSA Journal.
- ❖ ECDC. (2017a). *Campylobacteriosis*. Ανάκτηση από European Centre for Disease Prevention and Control: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/campylobacteriosis-annual-epidemiological-report-2016-2014-data>
- ❖ ECDC. (2017b). *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016*. EFSA Journal.
- ❖ ECDC. (2018a). *Campylobacteriosis - Annual Epidemiological Report for 2015*. Ανάκτηση από European Centre for Disease Prevention and Control: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/campylobacteriosis-annual-epidemiological-report-2015>
- ❖ ECDC. (2018b). *The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in*. EFSA Journal.
- ❖ ECDC. (2019a). *Campylobacteriosis - Annual Epidemiological Report for 2017*. Ανάκτηση από European Centre for Disease Prevention and Control: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/campylobacteriosis-annual-epidemiological-report-2017>
- ❖ ECDC. (2019b). *The European Union One Health 2018 Zoonoses Report*. EFSA Journal.
- ❖ ECDC. (2020). Shigellosis. *EFSA journal*.
- ❖ Evans, C. J., & Aguilera, R. J. (2003). DNase II: genes, enzymes and function. *Gene*, σσ. 1-15.

- ❖ Fennell, C. L., Totten, P. A., Quinn, T. C., Patton, D. L., Holmes, K. K., & Stamm, W. E. (1984). Characterization of Campylobacter-Like Organisms Isolated from Homosexual Men. *Journal of Infectious Diseases*, pp. 58–66.
- ❖ Fitzgerald, C., & Nachamkin, I. (2015). Campylobacter and arcobacter . Στο C. Fitzgerald, & I. Nachamkin, *Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition* (σσ. 998-1012). Washington, D.C.: American Society of Microbiology.
- ❖ Fitzgerald, C., chao Tu, Z., Patrick, M., Stiles, T., Lawson, A. S., & Stroika, S. (2014). Campylobacter fetus subsp. testudinum subsp. nov., isolated from humans and reptiles. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, pp. 2944-2948.
- ❖ George, H. A., Hoffman, P. S., Smibert, R. M., & Krieg, N. R. (1978). Improved media for growth and aerotolerance of Campylobacter fetus. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 36-41.
- ❖ Gillespie, I. A., O'Brien, S. J., Frost, J. A., Adak, G. K., Horby, P., Swan, A. V., & Collaborators, C. S. (2002). A case-case comparison of Campylobacter coli and Campylobacter jejuni infection: a tool for generating hypotheses. *Emerging Infectious Diseases*, σ. 937.
- ❖ Goossens, H., Vlaes, L., De Boeck, M., Levy, J., De Mol, P., Butzler, J. P., & Vandamme, P. (1990). Is " Campylobacter upsaliensis" an unrecognised cause of human diarrhoea? *The Lancet*, σσ. 584-586.
- ❖ Guerry, P. (2007). Campylobacter flagella: not just for motility. *Trends in Microbiology* , σσ. 456-461.
- ❖ Gurgan, T., & Diker, K. S. (1994). Abortion associated with Campylobacter upsaliensis. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 3093-3094.
- ❖ Halpin, A. L., Gu, W., Wise, M. E., Sejvar, J. J., Hoekstra, R. M., & Mahon, B. E. (2018). Post-Campylobacter Guillain - Barré Syndrome in the USA: secondary analysis of surveillance data collected during the 2009–2010 novel Influenza A (H1N1) vaccination campaign. *Epidemiology and Infection*, pp. 1740-1745.
- ❖ Hänninen, M. L. (1989). Rapid method for the detection of DNase of campylobacters. *Journal of Clinical Microbiology* , σσ. 2118-2119.



- ❖ Hannu, T., Sihto-Kauppi, K., Kotaniemi, K., & Kauppi, M. (2004). Acute anterior uveitis in association with an outbreak of *Campylobacter jejuni* infection. *Scandinavian journal of rheumatology*, 55-57.
- ❖ Hardy Diagnostics. (n.d.). *INDOXYL ACETATE DISKS*. Ανάκτηση από IFU: [https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/content/hugo/IndoxylAcetateDisks.html](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/content/hugo/IndoxylAcetateDisks.html)
- ❖ Harvey, S. M. (1980). Hippurate hydrolysis by *Campylobacter fetus*. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 435-437.
- ❖ Hastings, D. (1978). *Campylobacter enteritis in pets*. *The Lancet*, σσ. 1249-1250.
- ❖ Hazeleger, W., Wouters, J., Rombuts, F., & Abee, T. (1998). Physiological activity of *Campylobacter jejuni* far below the minimal growth temperature. *Applied Environmental Microbiology*, σσ. 3917–3922.
- ❖ Hébert, G. A., Hollis, D. G., Weaver, R. E., Lambert, M. A., Blaser, M. J., & Moss, C. W. (1982). 30 years of campylobacters: biochemical characteristics and a biotyping proposal for *Campylobacter jejuni*. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 1065-1073.
- ❖ Hendrixson, D. R., & DiRita, V. J. (2004). Identification of *Campylobacter jejuni* genes involved in commensal colonization of the chick gastrointestinal tract. *Molecular microbiology*, σσ. 471-484.
- ❖ Hernandez, J., Owen, R. J., Costas, M., & Lastovica, A. (1991). DNA-DNA hybridization and analysis of restriction endonuclease and rRNA gene patterns of atypical (catalase-weak/negative) *Campylobacter jejuni* from paediatric blood and faecal cultures. *Journal of Applied Bacteriology*, σσ. 71-80.
- ❖ Horrocks, S. M., Anderson, R. C., Nisbet, D. J., & Ricke, S. C. (2009). Incidence and ecology of *Campylobacter jejuni* and coli in animals. *Anaerobe*, σσ. 18-25.
- ❖ Hugdahl, M. B., Beery, J. T., & Doyle, M. P. (1988). Chemotactic behavior of *Campylobacter jejuni*. *Infection and Immunity*, σσ. 1560-1566.
- ❖ Humphrey, T., O'Brien, S., & Madsen, M. (2007). Campylobacters as zoonotic pathogens: a food production perspective. *International Journal of Food Microbiology*, σσ. 237-257.

- ❖ Hwang, M. N., & Ederer, G. M. (1975). Rapid hippurate hydrolysis method for presumptive identification of group B streptococci. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 114-115.
- ❖ Inglis, G. D., & Kalischuk, L. D. (2003). Use of PCR for direct detection of *Campylobacter* species in bovine feces . *Applied and Environmental Microbiology*, σσ. 3435-3447.
- ❖ Kaakoush, N. O., & Mitchell, H. M. (2012). *Campylobacter concisus*—a new player in intestinal disease. *Frontiers in cellular and infection microbiology*.
- ❖ Kaakoush, N. O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H. M., & Man, S. M. (2015). Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clinical microbiology reviews*, 687-720.
- ❖ Kaldor, J., & Speed, B. R. (1984). Guillain-Barré syndrome and *Campylobacter jejuni*: a serological study. *British Medical Journal (Clinical Research Ed.)*, σσ. 1867-1870.
- ❖ Kiggins, E. M., & Plastringe, W. N. (1956). Effect of gaseous environment on growth and catalase content of *Vibrio fetus* cultures of bovine origin. *Journal of Bacteriology*, σ. 397.
- ❖ Klein, B. S., Vergeront, J. M., Blaser, M. J., Edmonds, P., Brenner, D. J., Janssen, D., & Davis, J. P. (1986). *Campylobacter* infection associated with raw milk: an outbreak of gastroenteritis due to *Campylobacter jejuni* and thermotolerant *Campylobacter fetus* subsp *fetus*. *Jama*, σσ. 361-364.
- ❖ Koenraad, P. M., Rombouts, F. M., & Notermans, S. H. (1997). Epidemiological aspects of thermophilic *Campylobacter* in water-related environments: a review. *Water environment research*, 52-63.
- ❖ Kovacs, N. (1956). Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature*, σσ. 703-703.
- ❖ Laboratory info. (2020). *What is Urease Test ? Principle, Composition, Interpretation of Results*. Ανάκτηση από Laboratory info: <https://laboratoryinfo.com/urease-test/>
- ❖ Lara-Tejero, M., & Galán, J. E. (2002). Cytolethal distending toxin: limited damage as a strategy to modulate cellular functions. *Trends in Microbiology*, σσ. 147-152.

- ❖ Lee, A., O'rourke, J. L., & Barrington, P. J. (1986). Mucus colonization as a determinant of pathogenicity in intestinal infection by *Campylobacter jejuni*: a mouse cecal model . *Infection and Immunity*, σσ. 536-546.
- ❖ Lee, A., Smith, S. C., & Coloe, P. J. (1998). Survival and growth of *Campylobacter jejuni* after artificial inoculation onto chicken skin as a function of temperature and packaging conditions. *Journal of Food Protection*, σσ. 1609-1614.
- ❖ Levin, R. E. (2007). *Campylobacter jejuni*: a review of its characteristics, pathogenicity, ecology, distribution, subspecies characterization and molecular methods of detection. *Food biotechnol*, 271-347.
- ❖ Li, C. C., Chiu, C. H., Wu, J. L., Huang, Y. C., & Lin, T. Y. (1998). Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* and *coli* by using E-test in Taiwan. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, σσ. 39-42.
- ❖ Lindmark, B., Rompikuntal, P. K., Vaitkevicius, K., Song, T., Mizunoe, Y., Uhlin, B. E., & Wai, S. N. (2009). Outer membrane vesicle-mediated release of cytolethal distending toxin (CDT) from *Campylobacter jejuni*. *BMC Microbiology*, σσ. 1-10.
- ❖ Lior, H. E. (1984). New, extended biotyping scheme for *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and" *Campylobacter laridis*". *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 636-640.
- ❖ Liu, F., Ma, R., Wang, Y., & Zhang, L. (2018). The clinical importance of *Campylobacter concisus* and other human hosted *Campylobacter* species. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 243.
- ❖ Mahon, C. R., Lehman, D. C., & Manuselis, G. -e.-b. (2018). Anaerobes of Clinical Importance. Στο C. R. Mahon, D. C. Lehman, & G. Manuselis, *Textbook of diagnostic microbiology, sixth edition* (σ. 504). Riverport Lane, St. Louis, Missouri : Elsevier Health Sciences.
- ❖ Martinot, M., Jaulhac, B., Moog, R., De Martino, S., Kehrli, P., Monteil, H., & Piemont, Y. (2001). *Campylobacter lari* bacteremia. *Clinical Microbiology and Infection*, σσ. 96-97.
- ❖ McCardell, B. A., Madden, J. M., & Lee, E. C. (1984). *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* production of a cytotoxic toxin immunologically similar to cholera toxin. *Journal of food protection*, σσ. 943-949.

- ❖ McCarthy, N., & Giesecke, J. (2001). Incidence of Guillain-Barré syndrome following infection with *Campylobacter jejuni*. *American Journal of Epidemiology*, σσ. 610-614.
- ❖ McMeekin, T. A., Thomas, C. J., & Pennington, P. I. (1984). Contamination and decontamination of poultry carcass neck tissue. *Journal of Food Safety*, σσ. 79-88.
- ❖ Mégraud, F., Chevrier, D., Desplaces, N., Sedallian, A., & Guesdon, J. L. (1988). Urease-positive thermophilic *Campylobacter* (*Campylobacter laridis* variant) isolated from an appendix and from human feces. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 1050-1051.
- ❖ Miller, W. G., Yee, E., Chapman, M. H., Smith, T. P., Bono, J. L., Huynh, S., & Korlach, J. (2014). Comparative genomics of the *Campylobacter lari* group. *Genome Biology and Evolution*, σσ. 3252-3266.
- ❖ Mills, C. K., & Gherna, R. L. (1987). Hydrolysis of indoxyl acetate by *Campylobacter* species. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 1560-1561.
- ❖ Moore, J. E., Corcoran, D., Dooley, J. S., Fanning, S., Lucey, B., Matsuda, M., . . . O’Riordan, L. (2005). *Campylobacter*. *Veterinary research*, σσ. 351-382.
- ❖ Morishita, S., Fujiwara, H., Murota, H., Maeda, Y., Hara, A., & Horii, T. (2013). Bloodstream infection caused by *Campylobacter lari*. *Journal of Infection and Chemotherapy*, σσ. 333-337.
- ❖ Nachamkin, I., Stowell, C., Skalinda, D., Jones, A. M., Hoop, R. M., & Smibert, R. M. (1984). *Campylobacter laridis* causing bacteremia in an immunosuppressed patient. *Annals of Internal Medicine*, σσ. 55-57.
- ❖ Nadeau, É., Messier, S., & Quessy, S. (2002). Prevalence and comparison of genetic profiles of *Campylobacter* strains isolated from poultry and sporadic cases of campylobacteriosis in humans. *Journal of Food Protection*, σσ. 73-78.
- ❖ Neal, K. R., & Slack, R. C. (1997). Diabetes mellitus, anti-secretory drugs and other risk factors for campylobacter gastro-enteritis in adults: a case-control study. *Epidemiology & Infection*, σσ. 307-311.
- ❖ Nesbakken, T., Eckner, K., H. H., & Røtterud, O. J. (2003). Occurrence of *Yersinia enterocolitica* and *Campylobacter* spp. in slaughter pigs and consequences for meat

inspection, slaughtering, and dressing procedures. *International journal of food microbiology*, σσ. 231-240.

- ❖ Neuzil, K. M., Wang, E., Haas, D. W., & Blaser, M. J. (1994). Persistence of *Campylobacter fetus* bacteremia associated with absence of opsonizing antibodies. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 1718-1720.
- ❖ Nexon, D. L., & Cox, M. M. (2011). Τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA και βιοπληροφορική. Στο D. L. Nexon, M. M. Cox, & Π. Α. (Επιμ.), *Lehninger Βασικές Αρχές Βιοχημείας* (σ. 291). Αθήνα: Εκδόσεις Π.Χ. Πασχαλίδης.
- ❖ Nichols, G. L. (2005). Fly transmission of *Campylobacter*. *Emerging infectious diseases*,, σ. 361.
- ❖ Orr, K. E., Lightfoot, N. F., Sisson, P. R., Harkis, B. A., Tweddle, J. L., Boyd, P., . . . Freeman, R. (1995). Direct milk excretion of *Campylobacter jejuni* in a dairy cow causing cases of human enteritis. *Epidemiology & Infection*, pp. 15-24.
- ❖ Owen, R. J., & Leaper, S. (1981). Base composition, size and nucleotide sequence similarities of genome deoxyribonucleic acids from species of the genus *Campylobacter*. *FEMS Microbiology Letters* , σσ. 395-400.
- ❖ Owen, R. J., Legros, R. M., & Lapage, S. P. (1978). Base composition, size and sequence similarities of genome deoxyribonucleic acids from clinical isolates of *Pseudomonas putrefaciens*. *Microbiology*, σσ. 127-138.
- ❖ Owen, R. J., Martin, S. R., & Borman, P. (1985). Rapid urea hydrolysis by gastric campylobacters. *The Lancet* , σ. 111.
- ❖ Palumbo, S. A. (1984). Heat injury and repair in *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology* , σσ. 477-480.
- ❖ Park, S. F. (2002). The physiology of *Campylobacter* species and its relevance to their role as foodborne pathogens. *International Journal of Food Microbiology*, 177-188.
- ❖ Penner, J. L. (1988). The genus *Campylobacter*: a decade of progress. *Clinical Microbiology Reviews*, σσ. 157-172.
- ❖ Perez-Perez, G. I., Cohn, D. L., Guerrant, R. L., Patton, C. M., Reller, L. B., & Blaser, M. J. (1989). Clinical and Immunologic Significance of Cholera-like Toxin

and Cytotoxin Production by Campylobacter Species in Patients with Acute Inflammatory Diarrhea in USA. *Journal of Infectious Diseases*, σσ. 460-468.

- ❖ Pickett, C. L., Auffenberg, T., Pesci, E. C., Sheen, V. L., & Jusuf, S. S. (1992). Iron acquisition and hemolysin production by Campylobacter jejuni. *Infection and Immunity*, σσ. 3872-3877.
- ❖ Poly, F., & Guerry, P. (2008). Pathogenesis of campylobacter. *Current Opinion in Gastroenterology*, σσ. 27-31.
- ❖ Pope, J. E., Krizova, A., Garg, A. X., Thiessen-Philbrook, H., & Ouimet, J. M. (2007). Campylobacter reactive arthritis: a systematic review. *Seminars in arthritis and rheumatism*, 48-55.
- ❖ Popovic-Uroic, T. A., Patton, C. M., Nicholson, M. A., & Kiehlbauch, J. A. (1990). Evaluation of the indoxyl acetate hydrolysis test for rapid differentiation of Campylobacter, Helicobacter, and Wolinella species. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 2335-2339.
- ❖ Qin, S. S., Wu, C. M., Wang, Y., Jeon, B., Shen, Z. Q., Wang, Y., & Shen, J. Z. (2011). Antimicrobial resistance in Campylobacter coli isolated from pigs in two provinces of China. *International Journal of Food Microbiology*, σσ. 94-98.
- ❖ Rautelin, H., Jusufovic, J., & Hänninen, M. L. (1999). Identification of hippurate-negative thermophilic campylobacters. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, σσ. 9-12.
- ❖ Ray, K. C., Tu, Z. C., Grogono-Thomas, R., Newell, D. G., Thompson, S. A., & Blaser, M. J. (2000). Campylobacter fetus sap inversion occurs in the absence of RecA function. *Infection and immunity*, σσ. 5663-5667.
- ❖ Rees, J. R., Pannier, M. A., McNees, A., Shallow, S., Angulo, F. J., & Vugia, D. J. (2004). Persistent diarrhea, arthritis, and other complications of enteric infections: a pilot survey based on California FoodNet surveillance, 1998–1999. *Clinical infectious Diseases*, S311-S317.
- ❖ Reiner, K. (2010). *Catalase test protocol*. Ανάκτηση από American Society for Microbiology : <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3226>

- ❖ Roop, R. M., Smibert, R. M., & Krieg, N. R. (1984). Improved biotyping schemes for *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli*. . *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 990-992.
- ❖ Ruble, R. (1986). Flies and *Campylobacter*. *American journal of public health*, σσ. 1457-1457.
- ❖ Sandstedt, K., & Ursing, J. (1991). Description of *Campylobacter upsaliensis* sp. nov. previously known as the CNW group. *Systematic and Applied Microbiology*, σσ. 39-45.
- ❖ Sandstedt, K., Ursing, J., & Walder, M. (1983). Thermotolerant *Campylobacter* with no or weak catalase activity isolated from dogs. *Current Microbiology*, σσ. 209-213.
- ❖ Sellars, M. J., Hall, S. J., & Kelly, D. J. (2002). Growth of *Campylobacter jejuni* supported by respiration of fumarate, nitrate, nitrite, trimethylamine-N-oxide, or dimethyl sulfoxide requires oxygen. *Journal of Bacteriology*, σσ. 4187-4196.
- ❖ Simmons, N. A., & Gibbs, F. J. (1979). *Campylobacter* spp. in oven-ready poultry. *Journal of Infection*, 159-162.
- ❖ Simor, A. E., & Wilcox, L. (1987). Enteritis associated with *Campylobacter laridis*. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 10-12.
- ❖ Skirrow, M. B. (1977). *Campylobacter* enteritis: a " new " disease. *British Medical Journal*, σσ. 9-11.
- ❖ Skirrow, M. B., & Benjamin, J. (1980). Differentiation of enteropathogenic *Campylobacter*. *Journal of Clinical Pathology*, σ. 1122.
- ❖ Smith, P. B., Hancock, G. A., & Rhoden, D. L. (1969). Improved medium for detecting deoxyribonuclease-producing bacteria. *Applied Microbiology*, σσ. 991-993.
- ❖ Snelling, W. J., Matsuda, M., Moore, J. E., & Dooley, J. S. (2005a). *Campylobacter jejuni*. *Letters in Applied Microbiology*, σσ. 297-302.
- ❖ Snelling, W. J., McKenna, J. P., Lecky, D. M., & Dooley, J. S. (2005b). Survival of *Campylobacter jejuni* in waterborne protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, σσ. 5560-5571.

- ❖ Sopwith, W., Ashton, M., Frost, J. A., Tocque, K., O'Brien, S., Regan, M., & Syed, Q. (2003). Enhanced surveillance of *Campylobacter* infection in the North West of England 1997–199. *Journal of Infection*, pp. 35-45.
- ❖ Spangler, B. D. (1992). Structure and function of cholera toxin and the related *Escherichia coli* heat-labile enterotoxin. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, σσ. 622-647.
- ❖ Stanley, J., Burnens, A. P., Linton, D., On, S. L., Costas, M., & Owen, R. J. (1992). *Campylobacter helveticus* sp. nov., a new thermophilic species from domestic animals: characterization, and cloning of a species-specific DNA probe. *Microbiology*, σσ. 2293-2303.
- ❖ Steele, T. W., & McDermott, S. N. (1984). The use of membrane filters applied directly to the surface of agar plates for the isolation of *Campylobacter jejuni* from feces. *Pathology*, σσ. 263-265.
- ❖ Steinhäuserová, I., Fojtiková, K., & Klimes, J. (2000). The incidence and PCR detection of *Campylobacter upsaliensis* in dogs and cats. *Letters in applied Microbiology*, σσ. 209-212.
- ❖ Stern, N. J., & Kazmi, S. U. (1989). *Campylobacter jejuni*. Στο *Foodborne bacterial pathogens* (σσ. 71-110). New York, USA : Marcel Dekker, INC.
- ❖ Stern, N. J., & Kotula, A. W. (1982). Survival of *Campylobacter jejuni* inoculated into ground beef. *Applied and Environmental Microbiology*, σσ. 1150–1153.
- ❖ Studahl, A., & Andersson, Y. (2000). Risk factors for indigenous campylobacter infection: a Swedish case-control study. *Epidemiology & Infection*, σσ. 269-275.
- ❖ Tankeshwar, A. (2014). *Deoxyribonuclease (DNase) Test: Principle, Procedure and results*. Ανάκτηση από Medical Microbiology Guide: <https://microbeonline.com/deoxyribonuclease-dnase-test-principle-procedure-results/>
- ❖ Tanner, A. C., Bagder, S., Lai, C. H., Listgarten, M. A., Visconti, R. A., & Socransky, S. S. (1981). *Wolinella* gen. nov., *Wolinella succinogenes* (*Vibrio succinogenes* Wolin et al.) comb. nov., and description of *Bacteroides gracilis* sp. nov., *Wolinella recta* sp. nov., *Campylobacter concisus* sp. nov., and *Eikenella*



corrodens from humans with periodontal di. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 432-445.

- ❖ Tauxe, R. V. (2002). Emerging foodborne pathogens. *International journal of food microbiology*, 31-41.
- ❖ Thomas, C., Gibson, H., Hill, D. J., & Mabey, M. (1998). Campylobacter epidemiology: an aquatic perspective. *Journal of Applied Microbiology*, σσ. 168S-177S.
- ❖ Tresierra-Ayala, A., & Bernuy, A. (1994). Chicken as potential contamination source of Campylobacter Lari In Iquitos, Peru . *Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo* , pp. 497-499.
- ❖ Turner, P., McLennan, A., Bates, A., & White, M. (2007). Analysis and uses of cloned DNA. Στο P. Turner, A. McLennan, A. Bates, & M. White, *BIOS Instant Notes in Molecular Biology* (Third Edition εκδ., σ. 171). Abingdon: Taylor & Francis Group.
- ❖ Van Deun, K., Haesebrouck, F., Heyndrickx, M., Favoreel, H., Dewulf, J., Ceelen, L., & Ducatelle, R. (2007). Virulence properties of Campylobacter jejuni isolates of poultry and human origin. *Journal of Medical Microbiology* , σσ. 1284-1289.
- ❖ VetBact. (2017). *Hippurate test*. Ανάκτηση από VetBact: Veterinary bacteriology: information about important bacteria: <http://www.vetbact.org/?displayextinfo=36>
- ❖ Von Graevenitz, A. (1990). Revised nomenclature of Campylobacter laridis, Enterobacter intermedium, and “Flavobacterium branchiophila. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, σσ. 211-211.
- ❖ Waldenström, J., Broman, T., Carlsson, I., Hasselquist, D., Achterberg, R. P., Wagenaar, J. A., & Olsen, B. (2002). Prevalence of Campylobacter jejuni, Campylobacter lari, and Campylobacter coli in different ecological guilds and taxa of migrating birds. *Applied and Environmental Microbiology*, σσ. 5911-5917.
- ❖ Walmsley, S. L., & Karmali, M. A. (1989). Direct isolation of atypical thermophilic Campylobacter species from human feces on selective agar medium. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 668-670.
- ❖ Wang, G., Clark, C. G., Taylor, T. M., Pucknell, C., Barton, C., Price, L., & Rodgers, F. G. (2002). Colony multiplex PCR assay for identification and

differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *Journal of Clinical Microbiology*, pp. 4744-4747.

- ❖ Wang, W. L., & Blaser, M. J. (1986). Detection of pathogenic *Campylobacter* species in blood culture systems. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 709-714.
- ❖ Wang, W. L., Luechtefeld, N. W., Reller, L. B., & Blaser, M. J. (1980). Enriched brucella medium for storage and transport of cultures of *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni*. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 479-480.
- ❖ Werno, A. M., Klena, J. D., Shaw, G. M., & Murdoch, D. R. (2002). Fatal case of *Campylobacter lari* prosthetic joint infection and bacteremia in an immunocompetent patient. *Journal of Clinical Microbiology*, σσ. 1053-1055.
- ❖ Whalen, K., Finkel, R., & Panavelil, T. (2015). Αναστολείς της σύνθεσης κυτταρικού τοιχώματος. Στο K. Whalen, R. Finkel, T. Panavelil, & A. Παπαπετρόπουλος (Επιμ.), *Lippincott Φαρμακολογία* (6η Έκδοση εκδ., σσ. 496-498). Αθήνα: Επιστημονικές Εκδόσεις Παρισιάνου.
- ❖ Wheelis, M. (2007). Microbial Growth. Στο M. Wheelis, *Principles of modern microbiology* (σσ. 206-207). Sudbury, Massachusetts: Jones & Bartlett Publishers.
- ❖ Williams, M. D., Schorling, J. B., Barrett, L. J., Dudley, S. M., Orgel, I., Koch, W. C., . . . Guerrant, R. L. (1989). Early treatment of *Campylobacter jejuni* enteritis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 248-250.
- ❖ Wilson, I. G., & Moore, J. E. (1996). Presence of *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. in shellfish. *Epidemiology & Infection*, σσ. 147-153.
- ❖ Yamazaki-Matsune, W., Taguchi, M., Seto, K., Kawahara, R., Kawatsu, K., Kumeda, Y., & Tsukamoto, T. (2007). Development of a multiplex PCR assay for identification of *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* and *Campylobacter upsaliensis*. *Journal of Medical Microbiology*, σσ. 1467-1473.
- ❖ Zhang, L., Lee, H., Grimm, M. C., Riordan, S. M., & Lemberg, D. A. (2014). *Campylobacter concisus* and inflammatory bowel disease. *World journal of gastroenterology: WJG*, 1259.
- ❖ Zhao, S., Young, S. R., Tong, E., Abbott, J. W., Womack, N., Friedman, S. L., & McDermott, P. F. (2010). Antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates from

retail meat in the United States between 2002 and 2007. *Applied and Environmental Microbiology*, σσ. 7949-7956.

- ❖ Zweifel, C., Zychowska, M. A., & Stephan, R. (2004). Prevalence and characteristics of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. isolated from slaughtered sheep in Switzerland. *International journal of food microbiology*, σσ. 45-53.
- ❖ ΚΕΕΛΠΝΟ. (2011). *ΚΑΜΠΥΛΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΩΣΗ - ΛΟΙΜΩΞΗ ΑΠΟ ΚΑΜΠΥΛΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΟ (ICD-10 B86): ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΝΟΣΗΜΑΤΟΣ*. Ανάκτηση από Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας: <https://eody.gov.gr/wp-content/uploads/2019/01/Kampulobaktiridiosi-Perigrafia.pdf>
- ❖ Κυριακού, Α. (2014). *Α. Μικροβιολογική ανάλυση τροφίμων*. Ανάκτηση από beta Ψηφιακή Βιβλιοθήκη: Επιχειρησιακό Πρόγραμμα "Εκπαίδευση & Διά Βίου Μάθηση": <http://repository.edulll.gr/2398>
- ❖ Παλαιολόγου, Δ. (2015). Διαχωρισμός μορίων DNA αναλογα με τη συγκέντρωση του πηκτώματος αγαρόζης. Στο Γ. Π. Παπανικολάου, *Εργαστηριακές ασκήσεις γενετικής του ανθρώπου* (σσ. 153-165). Αθήνα.: Εκδόσεις Κάλλιπος.

## ΠΗΓΕΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

- ❖ Εικόνα 1: http1 <https://www.microscopemaster.com/campylobacter.html>
- ❖ Εικόνα 2: <https://www.cdc.gov/campylobacter/index.html>
- ❖ Εικόνα 3: Couturier, B. A., Hale, D. C., & Couturier, M. R. (2012). Association of *Campylobacter upsaliensis* with persistent bloody diarrhea. *Journal of clinical microbiology*, 50(11), 3792-3794.
- ❖ Εικόνα 4: http2 <https://www.monemvasianews.gr> (2021)
- ❖ Εικόνα 5: Casanova, C., Schweiger, A., von Steiger, N., Droz, S., & Marschall, J. (2015). *Campylobacter concisus* pseudo-outbreak caused by improved culture conditions. *Journal of clinical microbiology*, 53(2), 660-662.
- ❖ Εικόνα 6: htt3 [https://www.researchgate.net/figure/colonies-of-Campylobacter-species-grown-on-Preston-Agar-showing-translucent\\_fig3\\_271214444](https://www.researchgate.net/figure/colonies-of-Campylobacter-species-grown-on-Preston-Agar-showing-translucent_fig3_271214444)
- ❖ Εικόνα 7: htt4 [http://www.chromagar.com/products-chromagar-campylobacter-focus-on-campylobacter-78.html#X\\_MsgNgzbIU](http://www.chromagar.com/products-chromagar-campylobacter-focus-on-campylobacter-78.html#X_MsgNgzbIU)
- ❖ Εικόνα 8: http5 <https://www.eolabs.com/product/pp0130-campylobacter-blood-free-ccda-agar/>
- ❖ Εικόνα 9: http6 <http://www.vetbact.org/?displayextinfo=36>
- ❖ Εικόνα 10: http7 [https://catalog.hardydiagnostics.com/cp\\_prod/content/hugo/IndoxyIAcetateDisks.html](https://catalog.hardydiagnostics.com/cp_prod/content/hugo/IndoxyIAcetateDisks.html)
- ❖ Εικόνα 11: http8 <https://laboratoryinfo.com/urease-test/>
- ❖ Εικόνα 12: http9 <https://microbeonline.com/deoxyribonuclease-dnase-test-principle-procedure-results/>
- ❖ Εικόνα 13: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3226>
- ❖ Εικόνα 14: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3226>
- ❖ Εικόνα 15: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3226>
- ❖ Εικόνα 16: http10 <https://microbiologyinfo.com/oxidase-test-principle-uses-procedure-types-result-interpretation-examples-and-limitations/>
- ❖ Εικόνα 17: http11 <https://microbiologyinfo.com/hydrogen-sulfide-test/>
- ❖ Εικόνα 18: http12 <https://microbenotes.com/nitrate-reduction-test-objectives-principle-procedure-and-results/>
- ❖ Εικόνα 19: http13 <https://www.galinos.gr/web/drugs/main/substances/cefalotin>
- ❖ Εικόνα 20: http14 <https://www.galinos.gr/web/drugs/main/substances/nalidixic>

- ❖ Εικόνα 21: Wang, G., Clark, C. G., Taylor, T. M., Pucknell, C., Barton, C., Price, L., & Rodgers, F. G. (2002). Colony multiplex PCR assay for identification and differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C. coli*, *C. lari*, *C. upsaliensis*, and *C. fetus* subsp. *fetus*. *Journal of Clinical Microbiology*, pp. 4744-4747.
- ❖ Εικόνα 22: http15 <https://amaltheiafoods.gr/shop/kotopoulo-olokliro-nopo-ioanninon-agrozoi-apokg-ke-ano-6temkivtimi-kilou/>
- ❖ Εικόνα 23: http16 <https://www.tovima.gr/2013/06/04/science/rypogona-ta-booeidi/> (2013)
- ❖ Εικόνα 24: http17 <https://www.agrocapital.gr/health/45784/ostrakoeidi> (2020)
- ❖ Εικόνα 25: http 18 <https://www.skai.gr/news/world/teleionoun-ta-katoikidia-pros-yiothesia-sti-nea-yorki> (2020)
- ❖ Εικόνα 26: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/campylobacteriosis-annual-epidemiological-report-2017>
- ❖ Εικόνα 27: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/campylobacteriosis-annual-epidemiological-report-2017>
- ❖ Εικόνα 28: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/campylobacteriosis-annual-epidemiological-report-2017>