

OBECNOŚĆ WYBRANYCH GENÓW ZJADLIWOŚCI W SZCZEPACH PAŁECZEK *CAMPYLOBACTER JEJUNI* I *CAMPYLOBACTER COLI* IZOLOWANYCH Z MATERIAŁU ŚRODOWISKOWEGO

PREVALENCE OF PATHOGENIC GENES OF *CAMPYLOBACTER JEJUNI* AND *CAMPYLOBACTER COLI* ISOLATED FROM ENVIRONMENTAL MATERIAL

Małgorzata Andrzejewska, Bernadeta Szczepańska, Dorota Śpica, Jacek J. Klawe

Katedra i Zakład Higieny i Epidemiologii

Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Kierownik: dr hab. n. med. Jacek J. Klawe, prof. UMK

Streszczenie

Wstęp: *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* stanowią dziś najczęściej rozpoznawaną na świecie przyczynę zakażeń pokarmowych. Głównym źródłem zakażenia dla człowieka są produkty spożywcze pochodzenia zwierzęcego, zwłaszcza drobiowego, oraz zanieczyszczona bakteriami woda. Do najważniejszych genów zjadliwości *Campylobacter* spp. zaliczono geny warunkujące: zdolność ruchu bakterii (*flaA*), adhezję (*cadF*), inwazyjność (sekwencja *iam*) i zdolność do produkcji toksyn (*cdtB*).

Materiał i metody: Materiał od badań stanowiły 63 szczepy pochodzące z mięsa drobiowego znajdującego się w sprzedaży detalicznej na terenie województwa kujawsko-pomorskiego (22 *C. jejuni*, 41 *C. coli*) i 37 szczepów wyizolowanych z wód powierzchniowych (stawy rekreacyjne, rzeka Brda) na terenie Bydgoszczy (17 *C. jejuni*, 20 *C. coli*).

Wykrywanie genów zjadliwości: *flaA*, *cdtB*, *cadF* oraz sekwencji *iam* zostało przeprowadzone za pomocą reakcji PCR przy użyciu starterów charakterystycznych dla danego genu zjadliwości.

Wyniki: Wszystkie szczepy izolowane z prób wody posiadały gen *cadF*. Szczepy *Campylobacter jejuni* izolowane z drobiu posiadały w 100% zarówno gen *cadF* jak i *flaA*. Wysoki odsetek izolacji otrzymano także dla genów *cdtB* oraz sekwencji *iam*, warunkujących odpowiednio zdolność do produkcji toksyn oraz inwazyjność. Ponad 80% szczepów izolowanych z drobiu posiadało powyższe geny. Nieco niższe wartości otrzymano dla prób wody (67,5% *cdtB*, 75,6% *iam*).

Wnioski:

1. Powyższe badania wykazały wysoką częstość występowania genów zjadliwości pałeczek *Campylobacter* w badanych szczepach środowiskowych i potwierdziły istotną rolę tych genów w powstawaniu zakażeń.
2. Tuszki drobiowe będące w sprzedaży detalicznej oraz woda ze stawów rekreacyjnych na terenie Bydgoszczy oraz rzeki Brdy są nośnikami patogennych dla człowieka szczepów *Campylobacter* spp. i stanowią zagrożenie kampylobakteriozą.

Słowa kluczowe: *Campylobacter* spp., geny zjadliwości, drób, woda

Nadesłano: 20.09.2010

Zatwierdzono do druku: 14.01.2010

Summary

Background: *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* are recognized as a leading bacterial cause of food-borne disease in developed countries. Among raw materials of animal origin poultry is the main carrier of *Campylobacter*. Other important source is untreated water. Recently, some genes have been recognized as responsible for the expression of pathogenicity: *flaA* gene (motility), *cadF* (adhesion), *cdtB* (toxin production), *iam* sequence (invasion).

Material and methods: The materials to investigate were 63 *Campylobacter* spp. strains isolated from chickens carcasses, obtained in supermarkets in Bydgoszcz (22 *C. jejuni*, 41 *C. coli*) and 37 *Campylobacter* spp. strains (17 *C. jejuni*, 20 *C. coli*) from surface water samples (ponds, Brda river).

The presence of the *flaA*, *cadF*, *cdtB* genes and *iam* sequence was determined with the PCR method with specific primers.

Results: All of the *Campylobacter* isolates from water samples carried the *cadF* gene. The *cadF* and *flaA* genes were detected in 100% of *C. jejuni* strains from poultry. The high prevalence of the *cdtB* gene and *iam* sequence, associated with invasion and toxin production were observed in this study. More than 80% of isolates from poultry possessed these genes.

Lower prevalence (67,5% *cdtB*, 75,6% *iam*) was observed in water samples isolates.

Conclusion:

1. High prevalence of *Campylobacter* pathogenic genes indicate an important for the pathogenesis process role of these genes.
2. Poultry and water from examine water basins are source of invasive and pathogenic *C. jejuni* and *C. coli* strains and could be a reason of campylobacteriosis in humans.

Key words: *Campylobacter* spp., pathogenic genes, poultry, water

Wstęp

Bakterie z rodzaju *Campylobacter* to aktualnie najczęściej izolowane ludzkie enteropatogeny w krajach rozwiniętych [1, 2]. Wyraźny wzrost liczby zachorowań notowany jest od lat 90. i odzwierciedla zmiany wzorców żywieniowych, m.in. zwiększoną popularność produktów drobiowych, które uważane są za główne źródło zakażeń człowieka [3]. Liczne badania prowadzone w kierunku obecności pałeczek *Campylobacter* spp. na powierzchni tuszek drobiowych wykazały znaczne ich zanieczyszczenie sięgające nawet 80%. Niebezpieczeństwo zakażenia niesie także kontakt ze zwierzętami domowymi i hodowlanymi oraz spożycie zanieczyszczonej bakteriami wody [4].

Infekcja u człowieka może mieć charakter bezobjawowy, może manifestować się łagodną biegunką lub prowadzić do ciężkiego zapalenia przewodu pokarmowego z groźnymi powikłaniami. Należą do nich zaburzenia neurologiczne takie jak: zespół Guillain-Barre lub zespół Millera-Fishera, odczynowe zapalenie stawów, bakteriemia, zapalenie opon mózgowo – rdzeniowych [5, 6]. Tak różnorodne spektrum obrazu klinicznego po części zależy od gospodarza, lecz przede wszystkim wiąże się z właściwościami patogenów. Po zakażeniu, w trakcie kolonizacji jelit, bakterie z rodzaju *Campylobacter* wytwarzają wiele czynników wirulencji [7].

W ostatnich latach zwrócono szczególną uwagę na udział molekularnych mechanizmów w powsta-

waniu zakażeń tym drobnoustrojem. Do najważniejszych genów zjadliwości *Campylobacter* spp. zaliczono geny warunkujące: zdolność ruchu bakterii (*flaA*), adherencję (*cadF*), inwazyjność (sekwencja *iam*) i zdolność do produkcji toksyn (*cdtA*, *cdtB*, *cdtC*) (8).

W literaturze polskiej, jak i zagranicznej, są tylko nieliczne prace poświęcone badaniu występowania genetycznych markerów zjadliwości w szczepach *Campylobacter* spp. pochodzących z drobiu [9, 10]. Powyższe badania mogą stanowić istotny element informacji epidemiologicznej i wykazać czy tusze drobiowe znajdujące się w sprzedaży detalicznej na terenie województwa kujawsko-pomorskiego są potencjalnym rezerwuarem inwazyjnych i patogennych dla człowieka szczepów *Campylobacter* spp.

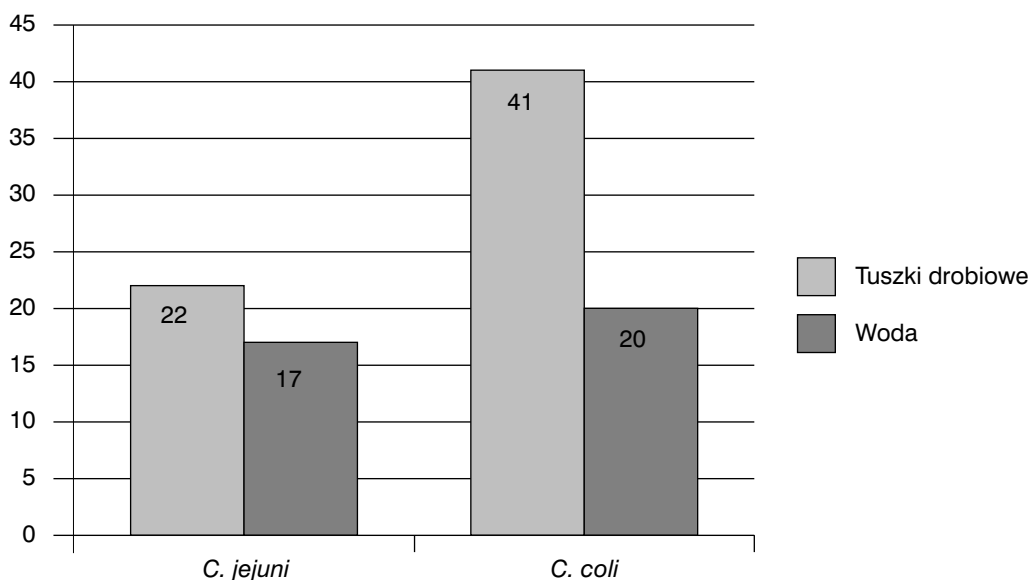
Wody otwartych zbiorników wodnych stanowią jeden z nośników odpowiedzialnych za rozprzestrzenianie się bakterii z rodzaju *Campylobacter* w środowisku oraz mogą być przyczyną zakażeń tymi pałeczkami u ludzi i zwierząt [11]. Rozpowrzczenie w wodzie szczepów *Campylobacter* spp. posiadających własności chorobotwórcze nie było dotychczas badane i mogłoby stanowić ważny element w ocenie zagrożenia kampylobakteriozą.

Z powyższych powodów podjęto badania mające na celu ocenę częstości występowania najważniejszych genów zjadliwości *Campylobacter* spp. w szczepach środowiskowych.

Materiał i metody

Materiał od badań stanowiły 63 szczepy pochodzące z mięsa drobiowego znajdującego się w sprzedaży detalicznej na terenie województwa kujawsko-pomorskiego (22 *C. jejuni*, 41 *C. coli*). Badaniem objęto także 37 szczepów wyizolowanych z wód po-

wierzchniowych (stawy rekreacyjne: Balaton, Myślicinek, Dolina Pięciu Stawów oraz rzeka Brda) na terenie Bydgoszczy. Do gatunku *C. jejuni* należało 17 wyizolowanych szczepów, *C. coli* stanowiło 20 szczepów. Przynależność gatunkową oraz pochodzenie szczepów przedstawia rycina 1.



Rycina 1. Pochodzenie oraz rozkład gatunkowy szczepów *Campylobacter*
Figure 1. Strains origin and isolated *Campylobacter* spp. species

Izolacja oraz identyfikacja gatunkowa *Campylobacter* spp.

W celu izolacji bakterii z rodzaju *Campylobacter* z mięsa drobiowego pobierano do badań fragmenty gotowych produktów takich jak: filety z piersi kurczaka, skrzydełka, podudzia, szyje drobiowe. Próbkę kurczaków umieszczano w 100 ml bulionu Boltona (Oxoid). Hodowlę inkubowano w temperaturze 42° C przez 48 godzin w atmosferze mikroaerofilnej (Generbox microaer – bioMerieux). Następnie przesiewano namnożone bakterie na podłoża wybiórcze CCDA lub Preston (Oxoid) i inkubowano przez 48 godzin w warunkach mikroaerofilnych. Izolację bakterii z żywności prowadzono zgodnie z normą ISO 10272.

W celu izolacji *Campylobacter* spp. z wody pobrane próbki sączone pod ciśnieniem przez filtry membranowe (Millipore 0,45). Filtry po przesączeniu przenoszono do 90 ml bulionu Boltona (Oxoid) i inkubowano w temperaturze 37° C przez 48 godzin w warunkach mikroaerofilnych. Po inkubacji wykonano przesiew namnożonych bakterii z bulionu na podłoża wybiórcze dla *Campylobacter* (CCDA lub Prestona) i inkubowano przez 48 godzin w warunkach mikroaerofilnych [12].

Uzyskane kolonie diagnozowano pod kątem przynależności do rodzaju *Campylobacter* poprzez ocenę morfologii komórek, wytwarzanie oksydazy oraz za pomocą reakcji PCR opisanej przez On i wsp. [13].

W celu izolacji materiału genetycznego kolonie zawieszano w roztworze TRIS z dodatkiem chelatującej żywicy Chelex – 100 (Bio-Rad) i inkubowano w temperaturze 100° C. Do reakcji amplifikacji pobierano odwirowany supernatant zawierający wyekstrahowane DNA.

Identyfikacja genów zjadliwości *Campylobacter* spp. za pomocą PCR

Fragmenty związanych z wirulencją genów *Campylobacter* spp.: *cadF*, *flaA*, *cdtB* oraz sekwencji *iam*, uzyskano w wyniku amplifikacji DNA techniką PCR stosując pary starterów opisane w tabeli I. Reakcje prowadzono w termocyklerze T-personal (Biometra), a profil termiczny reakcji amplifikacji był zgodny z przytoczonym piśmiennictwem. Uzyskane produkty analizowano metodą elektroforezy w 1,5% żelu agarozowym barwionym bromkiem etydyny.

Tabela I. Zestawy starterów używane do wykrywania genów zjadliwości *Campylobacter* spp.**Table I.** Starters used for detecting *Campylobacter* pathogenic genes

Rodzaj badania i nazwy starterów	Sekwencje starterów (5'→3')	Wielkość produktu (pz)	Piśmiennictwo
Identyfikacja genu cadF F2B R1B	TGGAGGGTAATTTAGATATG CTAATACCTAAAGTTGAAAC	400	Konkel i wsp. [14]
Identyfikacja genu flaA flaAF flaAR	GGATTTTCGTATTAACACAAATGGTGC CTGTAGTAATCTTAAAACATTTTG	1728	Nachamkin i wsp. [15]
Identyfikacja genu cdtB cdtBF cdtBR	GTTAAAATCCCCTGCTATCAACCA GTTGGCACTTGGAATTTGCAAGGC	495	Bang i wsp. [16]
Identyfikacja sekwencji iam 1,6 F 1,6 R	GCGCAAATATTATCACCC TTCACGACTACTATGCGG	518	Carvalho i wsp. [17]

Wyniki badań

W tabeli II przedstawiono częstość występowania badanych genów zjadliwości pałeczek *Campylobacter* spp.

W pierwszej badanej grupie szczepów pochodzących z tuszek drobiowych dla wszystkich szczepów *C. jejuni* potwierdzono obecność genu cadF oraz flaA, odpowiadających za adherencję i ruch komórki bakteryjnej.

W szczepach *C. coli* wyizolowanych z drobiu gen cadF występował z częstością 97,5%, a gen flaA 87,8%.

Badania wykazały podobną częstość występowania genu cdtB w szczepach *C. jejuni* i *C. coli* pochodzących z drobiu, odpowiednio 86,3% i 85,3%.

Zaobserwowano różnice w częstości występowania sekwencji iam pomiędzy analizowanymi gatun-

kami pochodzącymi z drobiu. Badaną sekwencję znaleziono w 92,6% szczepów *C. coli* i tylko w 63,6% szczepów *C. jejuni*.

W drugiej badanej grupie szczepów pochodzących z prób wody wszystkie szczepy *C. jejuni* i *C. coli* posiadały gen cadF.

Obecność genu flaA potwierdzono dla 88,2% szczepów *C. jejuni* i 90% szczepów *C. coli* z tego materiału.

Na uwagę zasługuje niska częstość występowania genu cdtB w szczepach *C. jejuni*. Tylko 47% szczepów z tego gatunku posiadało, odpowiadający za produkcję toksyn, gen cdtB. Dla gatunku *C. coli* częstość występowania cdtB wyniosła 85%.

Częstość występowania sekwencji iam – uznanej jako marker inwazyjności szczepów *Campylobacter* spp. – oceniono na 88,2% dla szczepów *C. jejuni* i 65% dla *C. coli* wyizolowanych z wody.

Tabela II. Częstość występowania genów zjadliwości w 39 szczepach *C. jejuni* i 61 szczepach *C. coli***Table II.** Frequency of pathogenic genes in 39 *C. jejuni* and 61 *C. coli* strains

Źródło/Gatunek	Liczba szczepów, w których stwierdzono obecność genu (%)			
	cadF	flaA	cdtB	iam
Drób/ <i>C. jejuni</i> (n = 22)	22 (100)	22 (100)	19 (86,3)	14 (63,6)
Drób/ <i>C. coli</i> (n = 41)	40 (97,5)	36 (87,8)	35 (85,3)	38 (92,6)
Drób/ Razem (n = 63)	62 (98,4)	58 (92)	54 (85,7)	52 (82,5)
Woda/ <i>C. jejuni</i> (n = 17)	17 (100)	15 (88,2)	8 (47)	15 (88,2)
Woda/ <i>C. coli</i> (n = 20)	20 (100)	18 (90)	17 (85)	13 (65)
Woda/ Razem (n = 37)	37 (100)	33 (86,4)	25 (67,5)	28 (75,6)

Dyskusja

W patogenezie kampylobakteriozy znaczenie mają takie mechanizmy jak: ruchliwość (zdolność do penetracji warstwy śluzu pokrywającej enterocyty jelit), zdolność do adhezji i wnikania do enterocytów (internalizacji), wewnątrz których komórka bakteryjna jest chroniona przed układem immunologicznym oraz działanie toksyn. Zróznicowany przebieg choroby może sugerować, że nie wszystkie szczepy *Campylobacter* spp. niosą geny kodujące czynniki wirulencji. Rozpowszechnienie w żywności i wodzie szczepów *C. jejuni* i *C. coli* posiadających właściwości chorobotwórcze stanowi więc ważny element oceny zagrożenia kampylobakteriozą [10, 18].

Badania wykazały w znacznym stopniu obecność genów zjadliwości *cadF*, *flaA*, *cdtB* oraz sekwencji *iam*, co potwierdziło ich rolę w patogenezie zakażeń *Campylobacter* spp. Uzyskane wyniki wykazały największą częstość występowania genu *cadF*. Produkt amplifikacji właściwy dla fragmentu genu *cadF* uzyskano dla wszystkich badanych szczepów pochodzących z wody oraz wszystkich szczepów *C. jejuni* izolowanych z drobiu. Białko kodowane przez gen *cadF* odpowiada za połączenie z fibronektyną enterocytów nabłonka jelit, umożliwiając proces internalizacji komórki bakteryjnej. Istotną dla procesu patogenezy rolę tej adhezyny potwierdzają badania Rożynek i wsp. [9] oraz Ripabelli i wsp. [19] którzy badany gen wykryli we wszystkich przebadanych szczepach pochodzących z drobiu.

Istotnym czynnikiem zjadliwości pałeczek *Campylobacter* spp. jest możliwość aktywnego ruchu, umożliwiającą pokonanie bariery śluzu oraz adhezję do komórek gospodarza. Zdolność ruchu warunkowana jest obecnością rzęsek, zbudowanych z flagelliny kodowanej przez gen *flaA*.

Niniejsze badania wykazały, że szczepy *Campylobacter jejuni* izolowane z drobiu posiadały w 100% gen *flaA*, natomiast obecność tego genu dla gatunku *C. coli* potwierdzono dla 87,7% szczepów. Podobne wartości otrzymano dla prób wody. Analizowany gen *flaA* posiadało 88,2% szczepów *C. jejuni* i 90% *C. coli* izolowanych z tego materiału. Otrzymane wyniki są zbliżone do prac innych autorów, choć notowany odsetek szczepów posiadających gen *flaA* jest wyższy i sięga 100% w badaniach Datta i wsp. [20] oraz Thorsnesscy i wsp. [21].

Wytwarzanie toksyn zaliczane jest do podstawowych czynników wirulencji bakterii. Najlepiej poznaną toksyną *Campylobacter* spp. jest toksyna *cdt* (*cytolethal distending toksyn*). Toksyna *cdt* to kompleks składający się z trzech wspólnie transkrybowanych genów *cdtA*, *cdtB*, *cdtC*. Składnikiem *cdt*

odpowiedzialnym za efekt toksyczny jest podjednostka *cdtB*, wykazująca aktywność DNA-zy. Produkt genu *cdtB* inicjuje kaskadę prowadzącą do zahamowania cyklu komórkowego.

Śród przebadanych szczepów pochodzących z drobiu odsetek szczepów posiadających gen *cdtB* wyniósł 86,3% dla gatunku *C. jejuni* i 85,3% dla *C. coli*. Natomiast toksyczność szczepów *C. jejuni* izolowanych z wody była znacznie niższa (47%).

W badaniach Rożynek i wsp. [9] omawiany gen został wykryty we wszystkich szczepach *C. jejuni* i u 97,4% szczepów *C. coli* pochodzących z drobiu. Podobne wyniki dla gatunku *C. jejuni* izolowanego z drobiu uzyskał Van Deun i wsp. [22], który analizowany gen stwierdził we wszystkich badanych szczepach.

Kolejnym czynnikiem wirulencji związanym z inwazyjnością jest sekwencja DNA zwana *iam* (*invasion – associated marker*) opisana po raz pierwszy przez Carvalho i wsp. [17]. W niniejszych badaniach wykazano, że 63,6% szczepów *C. jejuni* i 92,6% szczepów *C. coli* pochodzących z drobiu jest nosicielem sekwencji *iam*. Podobne wyniki uzyskała Korsak i wsp. [10] w badaniach obecności markera *iam* w szczepach izolowanych z tusz drobiowych.

W dostępnej literaturze brakuje doniesień na temat częstości występowania genów zjadliwości pałeczek *Campylobacter* spp. w szczepach izolowanych z wody. Powyższe badania po raz pierwszy prezentują charakterystykę molekularną szczepów pochodzących z tego właśnie materiału. Uzyskane wyniki sugerują, że zbiorniki wodne na terenie Bydgoszczy są potencjalnym źródłem patogennych bakterii z rodzaju *Campylobacter*. Badane szczepy pochodzące z wody wykazują jednak nieco mniejszą patogenność w porównaniu do szczepów izolowanych z drobiu, szczególnie w przypadku właściwości toksycznych i inwazyjności. Być może związane jest to z faktem, iż trafiając do środowiska wodnego, *Campylobacter* stosunkowo szybko traci zdolność namnażania, a tym samym zmniejszając się jego właściwości wirulentne.

Wnioski

1. Powyższe badania wykazały wysoką częstość występowania genów zjadliwości pałeczek *Campylobacter* w badanych szczepach środowiskowych i potwierdziły istotną rolę tych genów w powstawaniu zakażeń.
2. Tuszki drobiowe będące w sprzedaży detalicznej oraz woda ze stawów rekreacyjnych na terenie Bydgoszczy oraz rzeki Brdy są nośnikami patogennych dla człowieka szczepów *Campylobacter* spp. i stanowią zagrożenie kampylobakteriozą.

Wykaz piśmiennictwa

1. Moore J.E., Corcoran D., Dooley S.G. i wsp.: Campylobacter. *Vet. Res.* 2005; 36: 351-382.
2. Bereswill S., Kist M.: Recent developments in Campylobacter pathogenesis. *Current Opinion in Infectious Diseases* 2003; 16(5): 487-491.
3. Ketley J.M.: Pathogenesis of enteric infection by Campylobacter. *Microbiology* 1997; 143: 5-21.
4. Daczkowska-Kozon E.: Kamylobakterioza – możliwe źródła infekcji. *Folia Univ. Agric. Stetin. Scientia Alimentaria* 2004; 238(3): 21-28.
5. Grabowska A., Wysznińska, A., Jagusztyn-Krynicka E.: Powrót chorób infekcyjnych – nowy ludzki enteropatogeny. *Mikrob. Med.* 2004; (2), 8-15.
6. Van Dorn P.A.: What's new in Guillain – Barré syndrome in 2007-2008? *J. Peripher. Nerv. Syst.* 2009; 14(2): 72-4.
7. Carvalho A.C.T., Ruiz-Palacios G.M., Ramos-Cervantes P. i wsp.: Molecular characterization of invasive and noninvasive Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolates. *J Clin Microbiol.* 2001; 39(4): 1252-1359.
8. Wardak S., Szych J.: Występowanie wybranych genów zjadliwości w szczepach pałeczek Campylobacter jejuni izolowanych od ludzi na terenie Polski w latach 2003-2005. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 2006; 58: 217-222.
9. Rożynek E., Dzierżanowska-Fangrat K., Józwiak P.: Prevalence of potential virulence markers in Polish Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolates obtained from hospitalized children and from chicken carcasses. *J Med Microbiol.* 2005; 54: 615-619.
10. Korsak D., Dzierżanowska-Fangrat K., Popowski J., Rożynek E.: Występowanie markerów zjadliwości i am w szczepach Campylobacter jejuni i Campylobacter coli izolowanych z tusz drobiowych. *Roczn. PZH* 2004; 55(4): 307-312.
11. Daczkowska-Kozon E. 2002. Woda nośnik Campylobacter i przyczyna kamylobakterioz. *Przemysł Spożywczy* 2005; 12: 20-21.
12. Health Protection Agency 2007. Detection of Campylobacter species in water. National Standard Method W8 Issue 3. <http://www.hpa-standardmethods.org.uk/pdfsops.asp>.
13. On S.T.W., Jordan P.J.: Evaluation of 11 PCR assays for species – level identification of Campylobacter jejuni and Campylobacter coli. *Journal of clinical microbiology.* 2003; 41(1): 330-336.
14. Konkel M.E., Gray S.A., Kim B.J. i wsp.: Identification of enteropathogenes Campylobacter jejuni and Campylobacter coli based on the cadF virulence gene and its products. *J. Clin. Microbiol.* 1999; 24: 953 – 963.
15. Nachamkin I., Bohachick K., Patton C.H.M.: Flagellin gene typing of Campylobacter jejuni by Restriction Fragment length polymorphism analysis. *J. Clin. Microbiol.* 1993; 6: 1531-1536.
16. Bang D., Scheutz F. Ahrens P i wsp. : Prevalence of cytolethal distending toxin (cdt) genes and CDT production in Campylobacter spp. isolated from Danish broilers. *J. Med. Microbiol.* 2001; 50: 1087-1094.
17. Carvalho A.C.T, Ruiz-Palacios G.M., Ramos-Cervantes P. i wsp.: Molecular characterization of invasive and noninvasive Campylobacter jejuni and Campylobacter coli isolates. *J Clin Microbiol.* 2001, 39(4): 1353-1359.
18. Krutkiewicz A.: Kamylobakterioza u ludzi i zwierząt. *Życie weterynaryjne* 2008; 83(4): 285-288.
19. Ripabelli G., Tamburro M., Minelli F. i wsp.: Prevalence of virulence-associated genes and cytolethal distending toxin production in Campylobacter spp. isolated in Italy. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2009
20. Datta S., Niwa H., Itoh K.: Prevalence of 11 pathogenic genes of Campylobacter jejuni by PCR in strains isolated from humans, poultry meat and broiler and bovine faeces. *J Med. Microbiol.* 2003; 52(4): 345-348.
21. Thorsness J.L., Sherwood J.S., Danzeisen G.T. i wsp.: Baseline Campylobacter prevalence at a new turkey production facility in North Dakota. *J. Food Prot.* 2008; 72(11): 2295-2300.
22. Van Deun K., Haesebrouck F., Heydrickx M.: Virulence properties of Campylobacter jejuni isolates of poultry and human origin. *J. Med. Microbiol.* 2007; 56: 1284-1289.

Adres do korespondencji:

*mgr Małgorzata Andrzejewska
Katedra i Zakład Higieny i Epidemiologii
Collegium Medicum w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Curie- Skłodowskiej 9
85-094 Bydgoszcz
tel. 52-585-36-16
fax. 52-585-35-89
email: malgorzata.andrzejewska@interia.pl*