



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΥ ΤΩΝ**  
**ΚΑΜΠΥΛΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΩΝ ΣΤΑ ΠΟΥΛΕΡΙΚΑ**

**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΖΗΣΙΔΗΣ**  
**ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011**







**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ**  
**ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΚΛΙΝΙΚΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ**  
**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΜΙΚΡΟΒΙΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΟΥ ΕΠΙΠΟΛΑΣΜΟΥ ΤΩΝ**  
**ΚΑΜΠΥΛΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΩΝ ΣΤΑ ΠΟΥΛΕΡΙΚΑ**

**ΝΙΚΟΛΑΟΣ ΖΗΣΙΔΗΣ**  
**ΚΤΗΝΙΑΤΡΟΣ**

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**ΙΩΑΝΝΙΝΑ 2011**



«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από την Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα Ν. 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 (νομική κατοχύρωση του Ιατρικού Τμήματος)».



**Ημερομηνία αίτησης του κ. Ζησίδα Νικόλαο:** 23-9-1999

**Ημερομηνία ορισμού Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:** 393<sup>α</sup>/23-11-1999

**Μέλη Τριμελούς Συμβουλευτικής Επιτροπής:**

Επιβλέπουσα

Παπαδοπούλου Χρυσάνθη Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Μέλη

Λεβειδιώτου –Στεφάνου Σταματίνα Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων

Ηλιάδης Νικόλαος Αναπληρωτής Καθηγητής Μικροβιολογίας Κτηνιατρικής Σχολής Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

**Ημερομηνία ορισμού θέματος:** 9-2-2005

*«Μελέτη του επιπολασμού των καμπυλοβακτηριδίων στα πουλερικά»*

**ΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΕΠΤΑΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ :** 718<sup>α</sup>/12-7-2011

|  |   |
|--|---|
| <b>Ευαγγέλου Άγγελος</b>               | Καθηγητής Φυσιολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων                                      |
| <b>Ηλιάδης Νικόλαος</b>                | Ομότιμος Καθηγητής Κτηνιατρικής, Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης                           |
| <b>Μαυρίδης Ανέστης</b>                | Καθηγητής Μικροβιολογίας Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων                                    |
| <b>Λεβειδιώτου –Στεφάνου Σταματίνα</b> | Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων                                     |
| <b>Παπαδοπούλου Χρυσάνθη</b>           | Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων                     |
| <b>Βρυώνη Γεωργία</b>                  | Επίκουρη Καθηγήτρια Μικροβιολογίας, Ιατρικής Σχολής Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών |
| <b>Γκαρτζονίκα Κωνσταντίνα</b>         | Λέκτορα Μικροβιολογίας, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων                                     |

Έγκριση Διδακτορικής Διατριβής με βαθμό «ΑΡΙΣΤΑ» στις 12-7-2011

**ΠΡΟΕΔΡΟΣ ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ**

**Ιωάννης Γουδέβενος**

Καθηγητής Παθολογίας-Καρδιολογίας



**Η Γραμματέας της Σχολής**

**ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΣΒΕΝΤΖΟΥΡΗ -ΖΩΗ**





Στην οικογένειά μου



## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα καμπυλοβακτηρίδια και ειδικά το *campylobacter jejuni*, θεωρούνται, από την δεκαετία του 1970, ως μία από τις συχνότερες αιτίες τροφιμογενών λοιμώξεων παγκοσμίως. Είναι υπεύθυνα για διπλάσιες, περίπου, περιπτώσεις εντερίτιδας, σε σχέση με αυτές που οφείλονται στις σαλμονέλλες. Στην διάρκεια της δεκαετίας του 1980, τα καμπυλοβακτηρίδια αναγνωρίστηκαν ως το πιο διαδεδομένο αίτιο σποραδικών βακτηριακών τροφιμογενών λοιμώξεων στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής και χαρακτηρίστηκαν ως «παθογόνο αξιοσημείωτης σημασίας».

Αρχικά θεωρούταν ως ένας αβλαβής μικροοργανισμός μέλη της φυσιολογικής μικροβιακής χλωρίδας του εντέρου των ορνιθίων, αλλά και άλλων ζώων (παραγωγικά ζώα, ζώα συντροφιάς, άγρια ζώα), τα οποία όμως δεν νοσούν, σε αντίθεση με τον άνθρωπο όπου πάντοτε είναι παθογόνα και ενίοτε έχουν σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 20 ετών η συχνότητα της τροφικής δηλητηρίασης από *Campylobacter spp* έχει αυξηθεί σημαντικά στις αναπτυγμένες χώρες. Επίσης ουσιαστικές γνώσεις για την οικολογία, την ταξινόμηση, την παθογένεια και την περιβαλλοντική εξάπλωση του καμπυλοβακτηριδίου έχουν αποκτηθεί τις τελευταίες δεκαετίες.

Οι αρχές δημόσιας υγείας σε όλες σχεδόν τις χώρες προσπαθούν συνεχώς να περιορίσουν τις τροφιμογενείς λοιμώξεις που οφείλονται σε καμπυλοβακτηρίδια. Εκπονούνται διάφορα ερευνητικά προγράμματα παρακολούθησης και αποτίμησης

του κινδύνου για την Δημόσια Υγεία, των πηγών μόλυνσης του ανθρώπου, των περιβαλλοντικών συνθηκών που συντελούν στην επιβίωση τους, των μηχανισμών εισόδου και εγκατάστασης τους στον ανθρώπινο οργανισμό και της επίδρασης τους στα κύτταρα του. Πώς όμως, οι μικροοργανισμοί αυτοί, που είναι ευαίσθητοι στο οξυγόνο και που αναπτύσσονται σε σχετικές υψηλές θερμοκρασίες, επιβιώνουν στο περιβάλλον και αποτελούν σήμερα την συχνότερη αιτία τροφιμογενών δηλητηριάσεων στις ανεπτυγμένες και αναπτυσσόμενες χώρες είναι ένα ερώτημα που χρήζει απάντησης και το οποίο αναφέρεται ως το "αίνιγμα του καμπυλοβακτηριδίου" ("*Campylobacter conundrum*").

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η μελέτη του επιπολασμού των καμπυλοβακτηριδίων στα πουλερικά και η αξιολόγηση του πιθανού κινδύνου για την δημόσια υγεία.

Η διατριβή αυτή πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων υπό την επίβλεψη της Αναπληρώτριας καθηγήτριας κ. Χρυσάνθης Παπαδοπούλου, προς την οποία επιθυμώ να εκφράσω τις πιο θερμές ευχαριστίες μου, τόσο για την ανάθεση της συγκεκριμένης μελέτης, όσο και για τις σημαντικές υποδείξεις της, τη πολύτιμη καθοδήγηση και την αμέριστη βοήθειά της σε όλα τα στάδια εκπόνησης και συγγραφής της παρούσας διατριβής.

Τις ιδιαίτερες ευχαριστίες μου θέλω να εκφράσω προς τον ομότιμο Καθηγητή Μικροβιολογίας της Κτηνιατρικής Σχολής του ΑΠΘ κ. Νικόλαο Ηλιάδη, ο οποίος ως μέλος της 3μελούς επιτροπής επέδειξε ιδιαίτερο ενδιαφέρον για το θέμα της διατριβής μου και έκανε ιδιαίτερα χρήσιμες υποδείξεις κατά την εκπόνηση της διατριβής.

Επίσης θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στην Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Μικροβιολογίας κ. Σταματίνα Λεβειδιώτου-Στεφάνου για το ενδιαφέρον που επέδειξε σε όλη την διάρκεια εκπόνησης της διατριβής μου.

Επίσης θέλω να εκφράσω θερμές ευχαριστίες προς τα μέλη της 7μελούς εξεταστικής επιτροπής: τον καθηγητή Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Παν/μίου Ιωαννίνων κ. Α.Κ. Μαυρίδη, τον καθηγητή Φυσιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Παν/μίου Ιωαννίνων κ Α. Ευαγγέλου, την επίκουρη καθηγήτρια Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του ΕΚΠΑ κ. Γ. Βρυώνη και την λέκτορα του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας της Ιατρικής Σχολής του Παν/μίου Ιωαννίνων κ. Κ. Γκαρτζονίκα.

Στη σύζυγό μου Βασιλική και στα παιδιά μου Χρήστο, Στέφανο και Ορέστη εκφράζω τις πιο θερμές ευχαριστίες μου για την καθοιονδήποτε τρόπο συμπαράσταση τους, για την εμπύχωση και την αγάπη τους σε όλο το διάστημα εκπόνησης της διατριβής μου.

Τέλος θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε όλο το επιστημονικό και τεχνικό προσωπικό του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας και να ευχαριστήσω θερμά τους συναδέλφους μου, ήδη διδάκτορες κ.κ. Παναγιώτα Γούσια και Ευάγγελο Οικονόμου για την καλή και φιλική συνεργασία που είχαμε όλο το διάστημα εκπόνησης της διατριβής μου στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας.



# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|                                      |           |
|--------------------------------------|-----------|
| <b>ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>                  | <b>19</b> |
| <b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>                   | <b>21</b> |
| <b>2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ</b>        | <b>23</b> |
| <b>3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ</b>                 | <b>29</b> |
| <b>4. ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ – ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ</b> | <b>33</b> |
| 4.1. Μορφολογία                      | 33        |
| 4.2. Ιδιότητες                       | 34        |
| <b>5. ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ</b>              | <b>37</b> |
| 5.1. Άνθρωποι                        | 37        |
| 5.2. Παραγωγικά ζώα                  | 44        |
| 5.2.1. Πτηνά                         | 44        |
| 5.2.2. Βοοειδή                       | 49        |
| 5.2.3. Πρόβατα                       | 49        |
| 5.2.4. Χοίροι                        | 50        |
| 5.3. Μη παραγωγικά ζώα               | 51        |
| 5.3.1. Σκύλοι                        | 51        |
| 5.3.2. Γάτες                         | 52        |
| 5.3.3. Τρωκτικά                      | 52        |
| 5.3.4. Έντομα                        | 52        |
| 5.3.5. Άλλα ζώα                      | 52        |
| 5.4. Λοιπές δεξαμενές                | 53        |
| 5.4.1. Νερό                          | 53        |



|  |           |
|--|-----------|
| 5.4.2. Έδαφος  | 53        |
| 5.5. Απομονώσεις καμπυλοβακτηριδίων στην Ελλάδα  | 54        |
| 5.5.1. Άνθρωποι  | 54        |
| 5.5.2. Ζώα   | 56        |
| 5.5.2.1. Παραγωγικά ζώα  | 56        |
| 5.5.2.2. Ζώα συντροφιάς  | 56        |
| 5.5.3. Υδάτινο περιβάλλον  | 57        |
| 5.5.3.1. Επιφανειακά νερά  | 57        |
| 5.5.3.2. Πόσιμα νερά   | 57        |
| 5.5.4. Τρόφιμα   | 57        |
| <b>6. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ</b>   | <b>59</b> |
| 6.1. Από τα ζώα  | 59        |
| 6.2. Από άτομο σε άτομο  | 61        |
| 6.3. Μέσω των τροφίμων   | 62        |
| <b>7. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ</b>   | <b>65</b> |
| 7.1. Μηχανισμοί παθογένειας  | 65        |
| 7.2. Νόσοι στον άνθρωπο  | 66        |
| <b>8. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ-ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ</b>  | <b>69</b> |
| 8.1. Γενικά περί αντοχής των τροφιμογενών στελεχών βακτηρίων   | 69        |
| 8.2. Η αντοχή στα αντιβιοτικά των καμπυλοβακτηριδίων που απομονώνονται από κοτόπουλα και άλλα παραγωγικά ζώα | 70        |
| <b>9. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ</b>  | <b>73</b> |
| 9.1. Κλινικά δείγματα  | 73        |
| 9.2. Δείγματα τροφίμων   | 73        |

|   |           |
|---|-----------|
| 9.2.1. Κλασσική καλλιέργεια   | 74        |
| 9.2.1.1. Μέθοδος καταμέτρησης με επιφανειακή επίστρωση<br>μετά από εμπλουτισμό              | 74        |
| 9.2.2. Άλλες μέθοδοι ανίχνευσης καμπυλοβακτηριδίων<br>στα τρόφιμα                           | 76        |
| <b>10. ΠΡΟΛΗΨΗ-ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ</b>  | <b>77</b> |
| 10.1. Μέτρα πρόληψης και υγιεινής στις πτηνοτροφικές μονάδες                                | 77        |
| 10.2. Οδηγίες προς τους καταναλωτές   | 80        |
| 10.3. Εμβόλιο   | 80        |
| <b>ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ</b>   | <b>83</b> |
| <b>1. ΣΚΟΠΟΣ</b>  | <b>85</b> |
| <b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΣ</b>   | <b>85</b> |
| 2.1. ΥΛΙΚΑ  | 85        |
| 2.1.1. Συλλογή και είδος δειγμάτων  | 85        |
| 2.1.2. Καλλιεργητικά υλικά και αντιδραστήρια  | 86        |
| 2.1.3. Ειδικός εξοπλισμός   | 88        |
| 2.1.3.1. Αυτόματος Αναλυτής Ανίχνευσης Παθογόνων Μικροοργανισμών σε<br>Τρόφιμα - Mini VIDAS | 88        |
| 2.2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ  | 94        |
| 2.2.1. Εξέταση του δείγματος με mini-Vidas  | 94        |
| 2.2.2. Επιβεβαιωτική δοκιμασία  | 95        |
| <b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ</b>  | <b>97</b> |

|           |                     |            |
|-----------|---------------------|------------|
| <b>4.</b> | <b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>     | <b>101</b> |
| <b>5.</b> | <b>ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> | <b>107</b> |
|           | <b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b>     | <b>109</b> |
|           | <b>SUMMARY</b>      | <b>110</b> |
|           | <b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> | <b>113</b> |

## **ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα τελευταία χρόνια, τα τροφιμογενή νοσήματα και η ασφάλεια των τροφίμων που καταναλώνει ο κάτοικος –κυρίως- των πιο αναπτυγμένων χωρών, βρίσκονται στο επίκεντρο της επιστημονικής, αλλά και της κοινής γνώμης. Ένα γένος τροφιμογενών παθογόνων το οποίο εμφανίστηκε τις τελευταίες δεκαετίες, αλλά κατάφερε να ξεπεράσει σε συχνότητα τα γνωστότερα τροφιμογενή παθογόνα, τις σαλμονέλλες, είναι το γένος των καμπυλοβακτηρίδιων<sup>1</sup>.

Το καμπυλοβακτηρίδιο είναι μια από τις κύριες αιτίες σποραδικής βακτηριακής διαρροϊκής νόσου. Στις Η.Π.Α εκτιμάται ότι προκαλούν περίπου 2,4 εκατομύρια κρούσματα/έτος, τα οποία είναι περισσότερα από εκείνα που προκαλούν οι σαλμονέλλες και οι σιγέλλες μαζί (Πίνακας 1). Οποιοσδήποτε μπορεί να προσβληθεί από καμπυλοβακτηριδίαση, αλλά τα παιδιά κάτω των 5 ετών και νεαροί ενήλικες ηλικίας 15-29 ετών είναι οι ομάδες υψηλού κινδύνου<sup>2</sup>.

Πίνακας 1. Εκτιμώμενοι νόσοι, εισαγωγές σε νοσοκομεία και θάνατοι από τροφιμογενή παθογόνα στις Η.Π.Α (Law, 2004)

| Νόσος ή αίτιο                        | Νόσοι             |               |                                | Εισαγωγές σε νοσοκομεία |               |                                | Θάνατοι           |               |                                |
|--------------------------------------|-------------------|---------------|--------------------------------|-------------------------|---------------|--------------------------------|-------------------|---------------|--------------------------------|
|                                      | Συνολικός αριθμός | Τροφιμογενείς | % του συνόλου των τροφιμογενών | Συνολικός αριθμός       | Τροφιμογενείς | % του συνόλου των τροφιμογενών | Συνολικός αριθμός | Τροφιμογενείς | % του συνόλου των τροφιμογενών |
| <b>Bacterial</b>                     |                   |               |                                |                         |               |                                |                   |               |                                |
| <i>Bacillus cereus</i>               | 27,360            | 27,360        | 0.2                            | 8                       | 8             | 0.0                            | 0                 | 0             | 0.0                            |
| Botulism, foodborne                  | 58                | 58            | 0.0                            | 46                      | 46            | 0.1                            | 4                 | 4             | 0.2                            |
| <i>Brucella</i> spp.                 | 1,554             | 777           | 0.0                            | 122                     | 61            | 0.1                            | 11                | 6             | 0.3                            |
| <i>Campylobacter</i> spp.            | 2,453,926         | 1,963,141     | 14.2                           | 13,174                  | 10,539        | 17.3                           | 124               | 99            | 5.5                            |
| <i>Clostridium perfringens</i>       | 248,520           | 248,520       | 1.8                            | 41                      | 41            | 0.1                            | 7                 | 7             | 0.4                            |
| <i>Escherichia coli</i> O157:H7      | 73,480            | 62,458        | 0.5                            | 2,168                   | 1,843         | 3.0                            | 61                | 52            | 2.9                            |
| <i>E. coli</i> , non-O157 STEC       | 36,740            | 31,229        | 0.2                            | 1,084                   | 921           | 1.5                            | 30                | 26            | 1.4                            |
| <i>E. coli</i> , enterotoxigenic     | 79,420            | 55,594        | 0.4                            | 21                      | 15            | 0.0                            | 0                 | 0             | 0.0                            |
| <i>E. coli</i> , other diarrheogenic | 79,420            | 23,826        | 0.2                            | 21                      | 6             | 0.0                            | 0                 | 0             | 0.0                            |
| <i>Listeria monocytogenes</i>        | 2,518             | 2,493         | 0.0                            | 2,322                   | 2,298         | 3.8                            | 504               | 499           | 27.6                           |
| <i>Salmonella typhi</i>              | 824               | 659           | 0.0                            | 618                     | 494           | 0.8                            | 3                 | 3             | 0.1                            |
| <i>Salmonella</i> , nontyphoidal     | 1,412,498         | 1,341,873     | 9.7                            | 16,430                  | 15,608        | 25.6                           | 582               | 553           | 30.6                           |
| <i>Shigella</i> spp.                 | 448,240           | 89,648        | 0.6                            | 6,231                   | 1,246         | 2.0                            | 70                | 14            | 0.8                            |
| Staphylococcus food poisoning        | 185,060           | 185,060       | 1.3                            | 1,753                   | 1,753         | 2.9                            | 2                 | 2             | 0.1                            |
| Streptococcus, foodborne             | 50,920            | 50,920        | 0.4                            | 358                     | 358           | 0.6                            | 0                 | 0             | 0.0                            |
| <i>Vibrio cholerae</i> , toxigenic   | 54                | 49            | 0.0                            | 18                      | 17            | 0.0                            | 0                 | 0             | 0.0                            |
| <i>V. vulnificus</i>                 | 94                | 47            | 0.0                            | 86                      | 43            | 0.1                            | 37                | 18            | 1.0                            |
| <i>Vibrio</i> , other                | 7,880             | 5,122         | 0.0                            | 99                      | 65            | 0.1                            | 20                | 13            | 0.7                            |
| <i>Yersinia enterocolitica</i>       | 96,368            | 86,731        | 0.6                            | 1,228                   | 1,105         | 1.8                            | 3                 | 2             | 0.1                            |
| Υποσύνολο                            | 5,204,934         | 4,175,565     | 30.2                           | 45,826                  | 36,466        | 59.9                           | 1,458             | 1,297         | 71.7                           |

Τα περισσότερα περιστατικά καμπυλοβακτηριδιάσεων συσχετίζονται με χειρισμό ωμών και κατανάλωση ατελώς ψημένων πουλερικών (κοτόπουλων) καθώς και με επιμολύνσεις άλλων τροφίμων με μολυσμένα κοτόπουλα. Όμως υπάρχουν και άλλες πηγές καμπυλοβακτηριδίων που συσχετίζονται με τα ζώα (παραγωγικά ζώα, ζώα συντροφιάς, άγρια ζώα και πτηνά) και γιαυτό η καμπυλοβακτηριδίαση θεωρείται ζωνόσος, δηλαδή νόσος η οποία υπό φυσικές συνθήκες μπορεί να μεταδοθεί από τα ζώα στους ανθρώπους<sup>1,3</sup>.

Παρόλο που τα καμπυλοβακτηρίδια είναι τα πιο συχνά απομονούμενα βακτήρια από διαρροϊκά περιστατικά στους ανθρώπους (45%), την προσοχή (και τα φώτα της δημοσιότητας) συνήθως συγκεντρώνουν άλλα αίτια τροφιμογενών λοιμώξεων όπως η σαλμονέλλα, η σιγγέλα και η *E.coli* O157:H7, διότι τα τελευταία εκδηλώνονται συνήθως με επιδημική μορφή, ενώ η καμπυλοβακτηριδίαση είναι σποραδική νόσος.

## 2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

Οι μικροοργανισμοί που είναι σήμερα γνωστοί ως Καμπυλοβακτηρίδια (*Campylobacter* spp) αναγνωρίστηκαν ως παθογόνα αίτια στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα στα παραγωγικά ζώα (βοοειδή, πρόβατα, χοίροι). Συγκεκριμένα η πρώτη ταυτοποίηση του οργανισμού έγινε το 1909 κατά την διάρκεια μελέτης περιστατικού λοιμώδους αποβολής σε αγελάδα, όταν οι Βρετανοί κτηνίατροι, οι MacFadyean και Stockman, απομόνωσαν από το νεκρό έμβρυο και τον πλακούντα, καμπύλα βακτήρια, τα οποία περιέγραψαν και πρότειναν να ταξινομηθούν στο γένος των δονακίων (*Vibrio*)<sup>4,5</sup>.

Αμέσως μετά, αντίστοιχοι μικροοργανισμοί βρέθηκαν να προκαλούν μεταδοτικές αποβολές και σε πρόβατα. Το 1913, ο Theobald Smith, μελετώντας περιπτώσεις μολυσματικών αποβολών σε βοοειδή στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, απομόνωσε ένα βακτήριο, που το περιέγραψε σαν σπειρίλιο (spirillum)<sup>6</sup>. Μελετώντας τις εργασίες των McFadyean και Stockman, ο Smith κατάλαβε ότι πρόκειται για το ίδιο βακτήριο και πρότεινε αυτό το βακτήριο να ονομαστεί «*Vibrio fetus*»<sup>6,7</sup>. Το *V. fetus* είχε γίνει πλέον γνωστό ως η κύρια αιτία αποβολών σε πρόβατα και βοοειδή. Οι μικροοργανισμοί που απομονώνονταν τότε από αυτά τα περιστατικά ταξινομούνταν ως *V. fetus*, επειδή η μορφολογία τους ήταν παρόμοια με εκείνη των γνωστών ειδών *Vibrio*. Το είδος που αναφέρεται σήμερα ως *Campylobacter fetus* ήταν συνεπώς γνωστό στους κτηνιάτρους ως *V. fetus* πριν αρκετές δεκαετίες ως αιτία της λοιμώδους αποβολής των βοοειδών και των προβάτων.



Δύο δεκαετίες μετά την συσχέτισή τους με αποβολές στα ζώα, οι ίδιοι μικροοργανισμοί άρχισαν να απομονώνονται από βοοειδή και χοίρους με συμπτώματα εντερίτιδας, καθώς επίσης και από πτηνά<sup>8,9,10</sup>. Συγκεκριμένα το 1931 οι Jones και Little ενοχοποίησαν μικροαερόφιλα δονάκια, ως αίτιο της χειμερινής δυσεντερίας των αγελάδων, που συχνά ήταν θανατηφόρα. Η νόσος στις αγελάδες εκδηλώθηκε με βλενοαιματηρές κενώσεις, κοιλιακά άλγη και αναστολή της παραγωγής γάλακτος. Στη νεκροτομή βρέθηκαν φλεγμονώδεις αλλοιώσεις του βλεννογόνου του λεπτού εντέρου, από τις οποίες απομονώθηκαν μικροαερόφιλα δονάκια. Οι δύο ερευνητές παρατήρησαν μετάδοση της νόσου σε ολόκληρη την αγέλη και μπόρεσαν να προκαλέσουν πειραματικά την νόσο σε υγιή ζώα, χορηγώντας ζωντανή καλλιέργεια του μικροοργανισμού<sup>8,9</sup>.

Η πρώτη αναφορά του μικροοργανισμού ως αιτίου εντερίτιδας στα νεαρά ζώα πιστεύεται ιστορικά ότι έγινε το 1886 από τον Αυστριακό παιδίατρο Theodor Escherich, ο οποίος μελετούσε τις νεογνικές εντερίτιδες. Ο Escherich μελετώντας τα αίτια εντερίτιδων που επέφεραν τον θάνατο σε νεογέννητα αμνοερίφια και γατάκια παρατήρησε σε δείγματα κοπράνων και στον βλεννογόνο του παχέος εντέρου καμπύλα μη καλλιεργήσιμα βακτήρια. Παρόμοια όμως βακτήρια βρήκε και στα κόπρανα νεογέννητου παιδιού που πέθανε από νόσο την οποία ο ίδιος χαρακτήρισε ως “βρεφική χολέρα” (Cholera infantum)<sup>11,12,13</sup>.

Η συχνή απομόνωση του βακτηρίου από βοοειδή και πρόβατα συνετέλεσε ώστε η καμπυλοβακτηριδίαση, για περισσότερο από 40 χρόνια, να θεωρείται αποκλειστικά ως λοιμώδης νόσος των ζώων και να απασχολεί μόνον την κτηνιατρική.

Η πρώτη συσχέτιση μικροαερόφιλων δονακίων με διαρροϊκό σύνδρομο στον άνθρωπο ανακοινώθηκε από τον Levy το 1946, που περιέγραψε μια μεγάλη

επιδημία σε ίδρυμα του Illinois των ΗΠΑ<sup>14</sup>. Σε χρωματισμένα παρασκευάσματα κοπράνων, σε 20% των ασθενών, ο Levy παρατήρησε δονάκια, αλλά δεν μπόρεσε να τα καλλιεργήσει. Η απομόνωση μικροαερόφιλων δονακίων από το αίμα 13 από τους 39 ασθενείς ήταν μια σοβαρή ένδειξη ότι αυτά ήταν τα αίτια της διάρροιας. Στην επιδημία εκείνη ενοχοποιήθηκε το γάλα ως πιθανό αίτιο μετάδοσης της λοίμωξης. Ο Levy θεώρησε ότι πιθανόν τα μικροαερόφιλα αυτά δονάκια να ήταν τα ίδια με αυτά που συσχέτισαν οι Jones και συν., (1931) με τη χειμερινή δυσεντερία των αγελάδων.

Η πρώτη απομόνωση *V. fetus* από άνθρωπο έγινε το 1947. Συγκεκριμένα ο Vinzent απομόνωσε *V. fetus* από το αίμα τριών εγκύων γυναικών, που υπέφεραν από αγνώστου αιτιολογίας πυρετό. Η νόσος των τριών ασθενών του διήρκεσε περίπου τέσσερις εβδομάδες, ενώ δύο από τις τρεις εγκύους γυναίκες απέβαλαν. Στις εξετάσεις βρέθηκαν στον πλακούντα περιοχές φλεγμένους και νεκρωτικές<sup>15</sup>.

Την επόμενη τριακονταετία, καταγράφηκαν στην ιατρική βιβλιογραφία περιστασιακές αναφορές απομόνωσης αυτών των οργανισμών από το αίμα, το εγκεφαλονωτιαίο υγρό, τον ενδοαγγειακό ιστό και τις αποστηματικές κοιλότητες. Το *V. fetus* για πολλά χρόνια αποτελούσε μια σπάνια αιτία συστηματικών νόσων σε εξασθενημένους ασθενείς και θεωρούνταν “ευκαιριακό” παθογόνο.

Το 1957, η Elizabeth King παρατήρησε διαφορές ανάμεσα στα στελέχη των μικροαερόφιλων δονακίων σύμφωνα με τις οποίες διαχωρίζονταν σε δύο ευδιάκριτες ομάδες με βάση τη θερμοκρασία ανάπτυξής τους<sup>16</sup>. Η πρώτη ομάδα, ήταν εκείνη του γνωστού *V.fetus*, το οποίο αναπτυσσόταν σε θερμοκρασίες 25 °C και 37 °C, αλλά ποτέ στους 42 °C ενώ στη δεύτερη ομάδα περιλαμβάνονταν τα στελέχη που αναπτυσσόταν στους 37°C και ακόμη καλύτερα στους 42°C. Τα

στελέχη της δεύτερης ομάδας ήταν εκείνα που συσχετιζόνταν με διαρροϊκή νόσο, τα οποία η King χαρακτήρισε ως «συγγενή δονάκια» (Related vibrios). Εξαιτίας ωστόσο των απαιτητικών συνθηκών της *in vitro* καλλιέργειάς τους, δεν μπορούσαν με τα τότε τεχνικά μέσα να απομονωθούν από δείγματα κοπράνων για την περαιτέρω μελέτη τους.

Μέχρι το 1972 μόνον 12 περιστατικά λοίμωξης από «Συγγενή δονάκια» έγιναν γνωστές, και αφορούσαν επτά βρέφη, δύο παιδιά και τρεις ενήλικες. Ωστόσο, όπως πίστευε και η King, η λοίμωξη δεν ήταν τόσο σπάνια, και έπρεπε να βρεθεί μια μέθοδος, ώστε να μπορεί να απομονώνεται ο μικροοργανισμός από τα κόπρανα. Η μέθοδος όμως δεν επινοήθηκε όσο ζούσε η King.

Ο όρος «Καμπυλοβακτηρίδιο» (*Campylobacter*) προτάθηκε το 1963 από τους Sebald και Veron<sup>17</sup>, ως όνομα του γένους των μικροαερόφιλων δονακίων, με βάση τις σημαντικές διαφορές αυτών των ειδών δονακίων από τις κλασσικές ομάδες των αλόφιλων δονακίων και του δονακίου της χολέρας. Οι Sebald και Veron διαχώρισαν τους μικροοργανισμούς αυτούς γενετικά, βιοχημικά και ορολογικά από τα αληθινά δονάκια (*Vibrio*), όπως το *Vibrio cholerae* και το *Vibrio parahaemolyticus*<sup>18</sup>. Το νέο αυτό γένος (*Campylobacter*), είχε αντιπροσωπευτικό είδος το *Campylobacter fetus* που παλαιότερα λεγόταν *Vibrio fetus*.

Η πρώτη απομόνωση καμπυλοβακτηριδίου από κόπρανα ανθρώπου έγινε το 1971 από τους Cooper και Slee στην Αυστραλία<sup>19</sup>. Οι ερευνητές αυτοί παρατήρησαν ότι τα καμπυλοβακτηρίδια (*C. fetus*) που απομόνωσαν από αιματοκαλλιέργειες ασθενών με διάρροια ήταν ανθεκτικά στην κεφαλοθίνη και γι' αυτό ενοφθάλμισαν κόπρανα σε αιματούχο άγαρ με δίσκους κεφαλοθίνης. Μετά από επώαση σε μικροαερόφιλες συνθήκες αναπτύσσονταν αποικίες

καμπυλοβακτηριδίων στη ζώνη αναστολής των άλλων μικροβίων των κοπράνων από το δίσκο της κεφαλοθίνης.

Οι τεχνικές που αναπτύχθηκαν έδωσαν την ευκαιρία, το 1972 στους Dekeyser και συν., να απομονώσουν το καμπυλοβακτηρίδιο από διαρροϊκά κόπρανα μιας εικοσάχρονης γυναίκας που νοσούσε από εμπύρετη αιμορραγική εντερίτιδα, στηριζόμενοι στο γεγονός ότι οι μικροοργανισμοί αυτοί, εξαιτίας του μικρού τους μεγέθους, διηθούνται από φίλτρο που κατακρατεί τους άλλους μικροοργανισμούς των κοπράνων. Αν και η μέθοδος αυτή ήταν αρκετά επίπονη, αποτέλεσε σταθμό για την απομόνωση και μελέτη του καμπυλοβακτηριδίου από τα κόπρανα<sup>20</sup>.

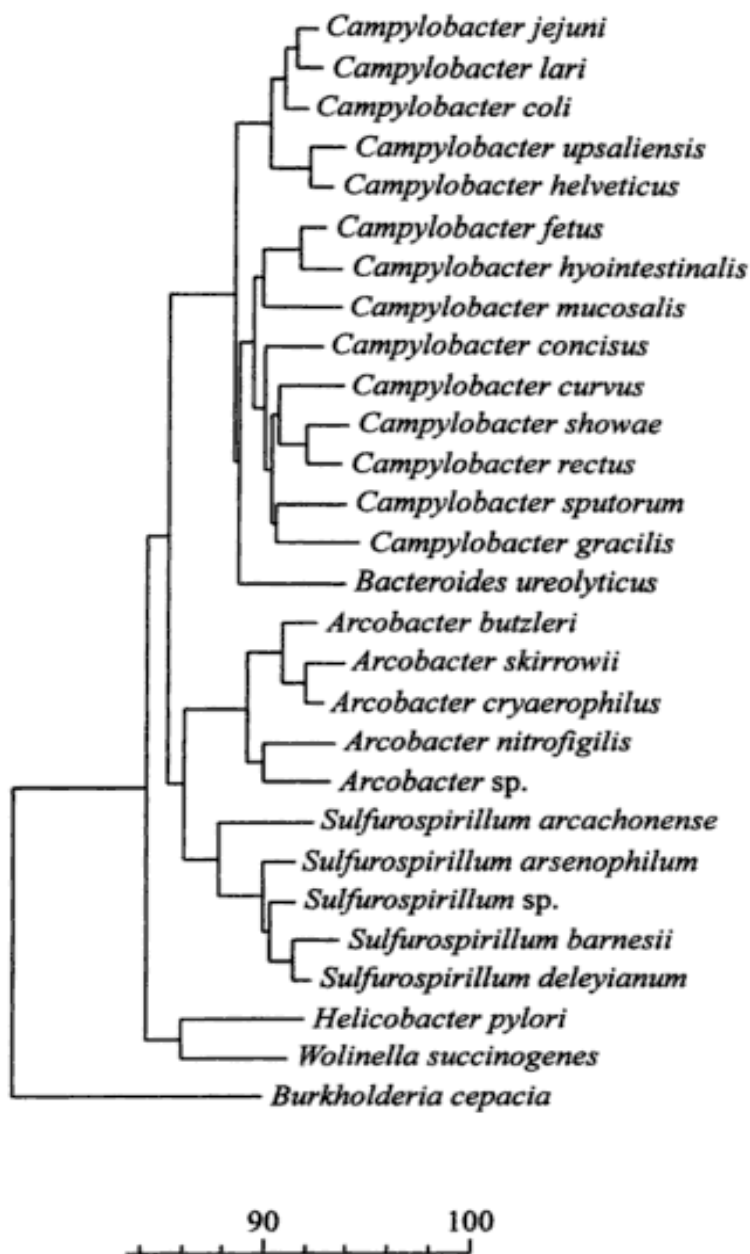
Το 1973, οι Veron και Chatlain αναγνώρισαν ότι το *C.fetus* και τα “συγγενή δονάκια” είχαν βιοχημικά χαρακτηριστικά διαφορετικά αυτών των *Vibrionaceae*, και μία νέα οικογένεια, η οικογένεια των καμπυλοβακτηριδίων (*Campylobacteriaceae*), προτάθηκε<sup>21</sup>. Στο νέο γένος συμπερίφθηκαν τα “Συγγενή *vibrios*” της Elizabeth King, που μετονομάστηκαν σε *C.jejuni* και *C.coli* και ο “ευκαιριακός” μικροοργανισμός *C.fetus*.

Το 1977 ο Skirrow απλοποίησε πάρα πολύ την τεχνική της κοπρανοκαλλιέργειας, παρακάπτοντας την διήθηση και προσθέτοντας ορισμένα αντιβιοτικά στο θρεπτικό υλικό<sup>17</sup>. Στα επόμενα χρόνια η ευκολότερη απομόνωση των καμπυλοβακτηριδίων προώθησε ακόμη περισσότερο την μελέτη της καμπυλοβακτηριδιακής λοίμωξης σε παγκόσμια κλίμακα



### 3. ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Η ταξινόμηση των καμπυλοβακτηριδίων και των συγγενών ειδών (*Helicobacter*) έχει υποστεί δραστικές αλλαγές στην διάρκεια των τελευταίων δύο δεκαετιών. Τούτο οφείλεται βασικά σε δύο λόγους: 1) στο αυξανόμενο ενδιαφέρον για τα καμπυλοβακτηρίδια στην διάρκεια της 10ετίας του '80, που οδήγησε σε απομόνωση και περιγραφή μιας ποικιλίας μικροοργανισμών που δεν μπορούσαν να ταξινομηθούν στα υπάρχοντα είδη και 2) στο γεγονός ότι η ταξινόμηση των βακτηρίων εξελίχθηκε δραστικά στην διάρκεια αυτών των δύο δεκαετιών χάρη στην πρόοδο της μοριακής βιολογίας, της βιοχημείας και άλλων σχετικών επιστημών, πράγμα που οδήγησε στην αλλαγή του τρόπου ταξινόμησης των βακτηρίων. Εκεί όπου προηγουμένως τα ταξονομικά συστήματα βασίζονταν κυρίως σε μορφολογικά και βιοχημικά κριτήρια, σήμερα οι ταξινομήσεις βασίζονται κυρίως σε φυλογενετικά κριτήρια και έτσι η ταξινόμηση βασίζεται πλέον στην πλήρη ακολουθία του γενώματος των μικροοργανισμών<sup>22</sup>.



Το φυλογενετικό δένδρο της οικογένειας *Campylobacteriaceae* και τα φυλογενετικά συγγενή γένη *Helicobacter* και *Wolinella* με βάση το ποσοστό ομοιότητας της 16S rRNA ακολουθίας γονιδίων. Η *Burkholderia cepacia* χρησιμοποιήθηκε ως οργανισμός εκτός της ομάδας. Η κλίμακα αντιπροσωπεύει μια 10% ανομοιογένεια της ακολουθίας<sup>22</sup>.

Τα περισσότερα είδη καμπυλοβακτηριδίων έχουν ως υπόδοχα στην φύση διάφορα ζώα (Πίνακας 2) και δρουν ως ευκαιριακά παθογόνα όντας μέρος της φυσιολογικής μικροχλωρίδας του εντέρου. Ωστόσο κάτω από ορισμένες συνθήκες,

όπως η εξασθένηση του οργανισμού, εξελίσσονται σε παθογόνα<sup>7</sup>. Τα παθογόνα για τον άνθρωπο είδη προκαλούν μια ποικιλία νόσων. Το *C.fetus* σχετίζεται με βακτηριαιμία, μηνιγγίτιδα, περιτονίτιδα κ.ά., το *C.upsaliensis* εμφανίζεται ως σημαντική αιτία διάρροιας και βακτηριαιμίας, ενώ το *C.lari* αναφέρεται σπάνια σε περιστατικά ουρολοιμώξεων και γαστρεντερίτιδας. Επιπλέον το *C.hyointestinalis* προκαλεί πρωκτίτιδα και διάρροια και το *C.sputorum* σχετίζεται με πνευμονικές λοιμώξεις. Τα υπόλοιπα είδη, έχουν περιστασιακά απομονωθεί από ποικίλες λοιμώξεις του ανθρώπου (Πίνακας 2 και 3)<sup>23,7</sup>.

**Πίνακας 2.** Τα κυριότερα είδη καμπυλοβακτηριδίων, τα υπόδοχα τους και οι νόσοι που προκαλούν.

| Είδη                              | Υπόδοχα                                 | Νόσος στον άνθρωπο   |
|-----------------------------------|---|--|
| <i>C.coli</i>                     | Χοίροι, πουλερικά, πρόβατα, πτηνά       | Γαστρεντερίτιδα, σηψαιμία  |
| <i>C.fetus</i>                    | Βοειδή, πρόβατα                         | Γαστρεντερίτιδα, σηψαιμία, αποβολές, μηνιγγίτιδα                         |
| <i>C.lari</i><br><i>C.cinaedi</i> | Πτηνά και άλλα ζώα                      | Διάρροια<br>Λοιμώξεις σε άτομα με ομοφυλοφιλική σεξουαλική δραστηριότητα |
| <i>C.jejuni</i>                   | Πουλερικά, χοίροι, σκύλοι, γάτες, πτηνά | Γαστρεντερίτιδα, σηψαιμία, πρωκτίτιδα, μηνιγγίτιδα                       |
| <i>C.upsaliensis</i>              | Σκύλοι, γάτες                           | Γαστρεντερίτιδα, σηψαιμία, αποστήματα                                    |
| <i>C.mucosalis</i>                | Χοίροι                                  | Άγνωστη προς το παρόν  |



**Πίνακας 3.** Συστηματική κατάταξη των καμπυλοβακτηριδίων<sup>25</sup>.

|            |   |
|------------|---|
| Βασίλειο   | Βακτήρια  |
| Φύλο       | Πρωτεοβακτήρια  |
| Ομοταξία   | <i>Epsilonproteobacteria</i>  |
| Τάξη       | <i>Campylobacterales</i>  |
| Οικογένεια | <i>Campylobacteraceae</i>   |
| Γένος      | <i>Campylobacter</i>  |
| Είδος      | <i>C. fetus</i>   |
| Υποείδος   | <i>C. fetus fetus</i>   |
|            | <i>C. fetus venerealis</i>  |
| Είδος      | <i>C. coli</i>  |
| Είδος      | <i>C. jejuni</i>  |
| Υποείδος   | <i>C. jejuni doylei</i>   |
| Είδος      | <i>C. hyointestinalis</i>   |
| Υποείδος   | <i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>hyointestinalis</i><br><i>C. hyointestinalis</i> subsp. <i>lawsonii</i> |
| Είδος      | <i>C. sputorum</i>  |
| Είδος      | <i>C. mucosalis</i>   |
| Είδος      | <i>C. concisus</i>  |
| Είδος      | <i>C. curvus</i>  |
| Είδος      | <i>C. rectus</i>  |
| Είδος      | <i>C. gracilis</i>  |
| Είδος      | <i>C. showae</i>  |
| Είδος      | <i>C. lari</i>  |
| Είδος      | <i>C. upsaliensis</i>   |
| Είδος      | <i>C. helveticus</i>  |

Από τα παραπάνω είδη καμπυλοβακτηριδίων το *C. jejuni* αποτελεί συχνό αίτιο τροφιμογενών λοιμώξεων. Το *C. jejuni* είναι το συνηθέστερο είδος καμπυλοβακτηριδίων στα παραγωγικά ζώα και στα πτηνά, πράγμα που εξηγεί τη συχνή παρουσία του στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης<sup>24</sup>.

#### 4.ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ - ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ

Το γένος των καμπυλοβακτηριδίων αποτελείται από μικροαερόφιλα Gram αρνητικά λεπτά, σπειροειδή βακτηρίδια, το οποία για να αναπτυχθούν χρειάζονται 3-6% οξυγόνο<sup>17,22,24</sup>.

##### 4.1 Μορφολογία

Βασικά χαρακτηριστικά των ειδών της οικογένειας των καμπυλοβακτηριοειδών αποτελούν: 1) η ελικοειδής μορφολογία με μία ή περισσότερες (ή καμία κατά περίπτωση) ελικοειδείς σπειροειδείς κάμψεις του σώματος, 2) η χαρακτηριστική κίνηση με βλεφαρίδες από τον ένα πόλο και 3) η μη παραγωγή ενδοσπορίων. Η μοναδική μορφή του κυττάρου με το χαρακτηριστικό κυρτό S ή σπιράλ σχήμα (Εικόνα 1), καθιστά την διαδικασία μικροσκοπικής ταυτοποίησής τους εύκολη.

Το πάχος τους κυμαίνεται μεταξύ 0,2 και 0,5μm και το μήκος τους από 1,5 έως 5μm<sup>17,22</sup>.

**Εικόνα 1.** Επίχρισμα από αποικία 18ωρης καλλιέργειας καμπυλοβακτηριδίου (Χρώση Carbol fuchsin stain x 1700)<sup>17</sup>.



## 4.2 Ιδιότητες

Πρόκειται για μη σπορογόνα, Gram-αρνητικά, οξειδάση-θετικά και ινδόλη-αρνητικά βακτηρίδια, που δεν διασπούν την γλυκόζη και άλλα σάκχαρα. Η επιβίωση και ο πολλαπλασιασμός τους προϋποθέτουν χαμηλά επίπεδα οξυγόνου, δεδομένου ότι είναι μικροαερόφιλοι μικροοργανισμοί, οι οποίοι για να αναπτυχθούν χρειάζονται 3-6% οξυγόνο. Χαρακτηριστική είναι η ιδιαίτερα μειωμένη αντοχή τους στην ξηρασία ( $a_w > 0,987$ ) (Πίνακας 4). Τα καμπυλοβακτηρίδια χρησιμοποιούν αμινοξέα ως κύρια πηγή ενέργειας<sup>17,22,25</sup>.

**Πίνακας 4** Συνθήκες ανάπτυξης και επιβίωσης του *Campylobacter*

| Παράμετρος       | Εύρος Τιμών          | Βέλτιστη Τιμή                           |
|------------------|----------------------|---|
| Θερμοκρασία      | 32°-45°C             | 42°-43°C                                |
| pH               | 4,9-9,0              | 6,5-7,5                                 |
| NaCl             | 0-1,5 %              | 0,5%                                    |
| Ενεργότητα νερού | >0,987               | 0,997                                   |
| Ατμόσφαιρα       | 3- 6% O <sub>2</sub> | 5% O <sub>2</sub> + 10% CO <sub>2</sub> |

Μερικά είδη είναι καταλάση-θετικά και άλλα είδη είναι καταλάση-αρνητικά, και ως εκτούτου μπορούν να διαχωρισθούν σε δύο ομάδες, στα καταλάση-αρνητικά και στα καταλάση-θετικά καμπυλοβακτηρίδια. Ο διαχωρισμός αυτός, με βάση την καταλάση, πρωτοεφαρμόστηκε το 1955 από τους Bryner και Frank (Πίνακας 5).

**Πίνακας 5.** Διαχωρισμός των *Campylobacter* με βάση την καταλάση

| <b>Καταλάση-θετικά</b>                   | <b>Καταλάση-αρνητικά</b>                 |
|--|--|
| <i>C. fetus</i> subsp <i>fetus</i>       | <i>C. sputorum</i> subsp <i>sputorum</i> |
| <i>C. fetus</i> subsp <i>venerealis</i>  | <i>C. sputorum</i> subsp <i>bubulus</i>  |
| <i>C. jejuni</i>                         | <i>C.sputorum</i> subsp <i>mucosalis</i> |
| <i>C. coli</i>                           | <i>C.conciscus</i>                       |
| <i>C. fecalis</i>                        |  |
| Aerotolerant <i>Campylobacter</i> spp    |  |
| Nitrogen-fixing <i>Campylobacter</i> spp |  |
| Free-living <i>Campylobacter</i> spp     |  |

Κατά καιρούς έχουν διατυπωθεί διάφορες προσεγγίσεις όσον αφορά την ταυτοποίηση των καμπυλοβακτηριδίων σε επίπεδο είδους. Γενικά η βιοχημική ταυτοποίηση τους είναι δύσκολη δεδομένου ότι η διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών ή των υποειδών μπορεί να βασίζεται σε ένα μόνον διαφοροποιητικό χαρακτηριστικό όπως η παρουσία ιππουρικής ή η δράση της ουρεάσης.

Συνήθως στην ρουτίνα η διαφοροποίηση βασίζεται σε συγκεκριμένες βασικές βιοχημικές δοκιμασίες (Πίνακας 6).

**Πίνακας 6.** Διαφοροποιητικά χαρακτηριστικά των καμπυλοβακτηριδίων ((Vandamme 2000).

| Είδος  | Α-αιμόλυση | Καταλάση | Υδρόλυση ιππουρικού | Ουρεάση | Αναγωγή νιτρικών | Αναγωγή σεληνίτη | H <sub>2</sub> S/TSI | Indoxyl Acetate υδρόλυση | Ανάπτυξη |       |          |              |           |              | Αντοχή σε      |             |
|--|------------|----------|---------------------|---------|------------------|------------------|----------------------|--------------------------|----------|-------|----------|--------------|-----------|--------------|----------------|-------------|
|  |            |          |                     |         |                  |                  |                      |                          | 25°C     | 42 °C | McConkey | Glycine (1%) | NaCl (4%) | Cefoperazone | Nalidixic acid | Cephalothin |
| <i>C. coli</i>   | V          | +        | -                   | -       | +                | +                | V                    | +                        | -        | +     | V        | +            | -         | +            | -              | +           |
| <i>C. concisus</i>   | V          | -        | -                   | -       | V                | V                | -                    | -                        | -        | V     | -        | V            | -         | -            | V              | -           |
| <i>C. curvus</i>   | V          | -        | V                   | -       | +                | -                | -                    | V                        | -        | V     | V        | +            | -         | V            | +              | -           |
| <i>C. fetus</i><br><i>subsp. fetus</i>                     | -          | +        | -                   | -       | +                | V                | -                    | -                        | +        | V     | V        | +            | -         | +            | +              | -           |
| <i>C. fetus</i><br><i>subsp. venerealis</i>                | V          | V        | -                   | -       | +                | -                | -                    | -                        | +        | -     | V        | -            | -         | -            | V              | -           |
| <i>C. gracilis</i>   | -          | V        | -                   | -       | V                | -                | -                    | V                        | -        | V     | V        | +            | -         | -            | V              | -           |
| <i>C. helveticus</i>                                       | +          | -        | -                   | -       | +                | -                | -                    | +                        | -        | +     | -        | V            | -         | V            | -              | -           |
| <i>C. hyointestinalis</i><br><i>subsp. hyointestinalis</i> | V          | +        | -                   | -       | +                | +                | +                    | -                        | V        | +     | V        | +            | -         | V            | +              | V           |
| <i>C. hyointestinalis</i><br><i>subsp. lawsonii</i>        | V          | +        | -                   | +       | +                | +                | +                    | -                        | -        | +     | V        | V            | -         | -            | +              | -           |
| <i>C. jejuni</i>   | +          | +        | +                   | -       | +                | V                | -                    | +                        | -        | +     | -        | +            | -         | +            | -              | +           |
| <i>C. jejuni doylei</i>                                    | +          | V        | +                   | -       | -                | -                | -                    | +                        | -        | -     | -        | V            | -         | -            | -              | -           |
| <i>C. lari</i>   | V          | +        | -                   | V       | +                | -                | -                    | -                        | -        | +     | -        | +            | -         | +            | V              | +           |
| <i>C. mucosalis</i>  | -          | -        | -                   | -       | -                | -                | +                    | -                        | -        | +     | V        | V            | -         | V            | V              | -           |
| <i>C. rectus</i>   | +          | V        | -                   | -       | +                | -                | -                    | +                        | -        | V     | -        | +            | -         | -            | V              | -           |
| <i>C. showae</i>   | +          | +        | -                   | -       | +                | -                | V                    | V                        | -        | V     | +        | V            | -         | -            | -              | -           |
| <i>C. sputorum</i>   | +          | V        | -                   | V       | +                | V                | +                    | -                        | -        | +     | V        | +            | V         | -            | V              | -           |
| <i>C. upsaliensis</i>                                      | +          | -        | -                   | -       | +                | +                | -                    | +                        | -        | V     | -        | +            | -         | V            | -              | V           |

V η αντίδραση εξαρτάται από το στέλεχος, + το χαρακτηριστικό υπάρχει σε >90% των στελεχών, - το χαρακτηριστικό απουσιάζει σε <11% των στελεχών

## 5 ΕΠΙΔΗΜΙΟΛΟΓΙΑ

Τα εντεροπαθογόνα είδη καμπυλοβακτηριδίων προέρχονται από τα παραγωγικά ζώα και μεταδίδονται στον άνθρωπο με τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Υπάρχει η άποψη ότι η δεξαμενή των καμπυλοβακτηριδίων στην φύση είναι τα τρωκτικά, τα οποία μολύνουν το περιβάλλον και τα παραγωγικά ζώα. Καμπυλοβακτηρίδια έχουν απομονωθεί και από επιφανειακά νερά, όπως ποταμοί, λίμνες, από πόσιμα αλλά και θαλασσινά νερά.

### 5.1 ΑΝΘΡΩΠΟΙ

Το καμπυλοβακτηρίδιο, μαζί με τη σαλμονέλλα, είναι τα συχνότερα παθογόνα, που απομονώνονται σε ασθενείς με γαστροεντερίτιδες <sup>26</sup>. Το *C. jejuni* είναι το είδος που απομονώνεται συχνότερα στις ανεπτυγμένες χώρες από περιστατικά τροφιμογενών λοιμώξεων, με κύριο σύμπτωμα την διάρροια.

Το Κέντρο Παρακολούθησης Μεταδοτικών Ασθενειών της Αγγλίας <sup>27</sup> το 1980 κατέγραψε 9.500 απομονώσεις *Campylobacter* spp, 3800 απομονώσεις *Shigella* spp και 10.500 απομονώσεις *Salmonella* spp. Κάνοντας μία αναγωγή στον πληθυσμό σε ετήσια βάση οι απομονώσεις των *Campylobacter* ήταν περίπου 21/100.000 πληθυσμού. Το 1981 το ίδιο κέντρο κατέγραψε 12.500 περιστατικά από *Campylobacter* spp, (αναλογία 28/100.000 πληθυσμού). Ερευνώντας όμως όλα τα στοιχεία της ίδιας χρονιάς (1981) των εντερίτιδων που καταγράφηκαν οι Kentall και Tanner ανέβασαν τα περιστατικά των καμπυλοβακτηριδιακών λοιμώξεων σε 1100/100.000 κατοίκους<sup>28</sup>. Αυτό δείχνει ότι οι εντερίτιδες δεν ερευνήθηκαν όλες ή και ότι οι περισσότερες ούτε καν αναφέρθηκαν.

Σε έρευνα που αφορούσε εξετάσεις κοπράνων υγιών ανθρώπων σε αναπτυσσόμενες χώρες το ποσοστό απομόνωσης καμπυλοβακτηριδίων ήταν κάτω του 1% <sup>29</sup>. Έτσι φαίνεται ότι στις ανεπτυγμένες χώρες, οι άνθρωποι φορείς του μικροοργανισμού έχουν δευτερεύοντα ρόλο στην μετάδοση της λοίμωξης. Αντιθέτως, στις υπό ανάπτυξη χώρες, παίζουν μεγαλύτερο ρόλο, ιδιαίτερα στα παιδιά, οι καμπυλοβακτηριδιακές λοιμώξεις είναι πολύ συχνές, στα πέντε πρώτα χρόνια της ζωής τους και κυρίως τα δύο πρώτα χρόνια, εξαιτίας κατανάλωσης μολυσμένων τροφίμων ή νερού <sup>30,31</sup>.

Παρόλα αυτά, τα διεθνή προγράμματα παρακολούθησης και ελέγχου των καμπυλοβακτηριδιασίων δεν λειτουργούν στις περισσότερες αναπτυσσόμενες χώρες παρά την σημαντική εξάπλωση της ασθένειας. Τα υπάρχοντα δεδομένα που αφορούν την καμπυλοβακτηριδιακή λοίμωξη σ' αυτές τις χώρες έχουν συλλεχθεί ως αποτέλεσμα της στήριξης της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας (WHO) <sup>30,31,32</sup>.

Οι περισσότερες εκτιμήσεις των περιστατικών στις υπό ανάπτυξη χώρες προέρχονται από επιδημιολογικές μελέτες που αφορούν γενικά παθογόνους μικροοργανισμούς υπεύθυνους για διάρροιες. Η απομόνωση καμπυλοβακτηριδίων κυμαίνεται μεταξύ 5% και 20% των απομονώσεων που σχετίζονται με εντερίτιδες<sup>30</sup>.

**Πίνακας 7.** Ποσοστά απομόνωσης καμπυλοβακτηριδίων από ασθενείς με διάρροια ηλικίας < 5 ετών <sup>30</sup>.

| Χώρα       | Ποσοστά απομόνωσης σε διάφορες χώρες (%) |
|------------|--|
| Αλγερία    | 17,7                                     |
| Καμερούν   | 7,7                                      |
| Αιθιοπία   | 13,8                                     |
| Νιγηρία    | 16,5                                     |
| Τανζανία   | 18,0                                     |
| Ζιμπάμπουε | 9,3                                      |
| Βραζιλία   | 9,9                                      |
| Γουατεμάλα | 12,1                                     |
| Αίγυπτος   | 9,0                                      |
| Ιορδανία   | 5,5                                      |
| Μπαγκλατέζ | 17,4                                     |
| Ταϊλάνδη   | 13,0                                     |
| Λάος       | 12,1                                     |

Παρά την έλλειψη δεδομένων από τις υπό ανάπτυξη χώρες, επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι 40% έως 60% αφορούν παιδιά μικρής ηλικίας < 5 ετών <sup>30,31</sup>. Αντίθετα, τα αντίστοιχα καταγεγραμμένα περιστατικά για τις αναπτυγμένες χώρες ανέρχονται σε 30%<sup>33</sup>. Αυτό ενισχύει την εκτίμηση πως η καμπυλοβακτηριδίαση αποτελεί συχνή παιδιατρική νόσο και ότι δεν παρουσιάζεται σε σημαντικά ποσοστά στους ενήλικες.

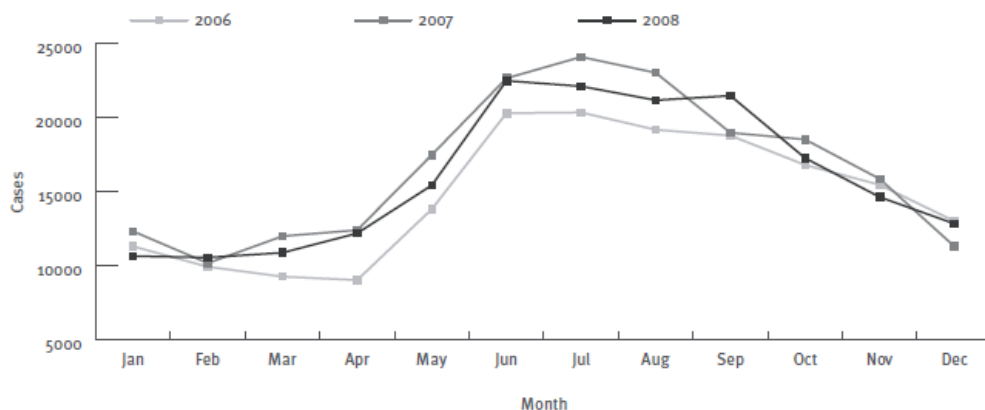
Η διαφορά αυτή ίσως να οφείλεται στην υψηλή συχνότητα έκθεσης στο καμπυλοβακτηρίδιο από πολύ μικρή ηλικία, με αποτέλεσμα την βαθμιαία ανάπτυξη προστατευτικής ανοσίας στις μεγαλύτερες ηλικίες. Εντούτοις, μία ευρεία μελέτη που έλαβε χώρα στην Ινδία έδειξε πως η λοίμωξη μπορεί να είναι ανεξάρτητη της ηλικίας <sup>34</sup>.



Στις αναπτυσσόμενες χώρες οι καμπυλοβακτηριδιακές εντερίτιδες αυξάνονται κατακόρυφα στην διάρκεια των θερμών μηνών του έτους<sup>35</sup>. Στην Ελλάδα τα περισσότερα περιστατικά έχουν παρατηρηθεί την άνοιξη (31,4%) και το καλοκαίρι (28,5%)<sup>36</sup>. Να σημειωθεί ότι ο αριθμός των απομονώσεων ανά εποχή ποικίλλει από μία χώρα σε άλλη<sup>34,37,38</sup>. Επίσης όπως προηγουμένως έχει αποδειχθεί<sup>39,40,41</sup>, υπάρχει ένα αξιοσημείωτο εποχικό πρότυπο (Σχήμα 1) της ασθένειας σε όλες τις εύκρατες περιοχές, με ευκρινείς κορυφές κατά την περίοδο του καλοκαιριού<sup>42</sup>.

**Σχήμα 1.** Εποχιακή κατανομή των περιστατικών κρυπτοσποριδίασης σε ΕΕ χώρες<sup>42</sup>

Figure 2.3.6. Seasonal distribution of campylobacteriosis cases in the EU and EEA/EFTA, 2006–08



Source: Country reports: Austria, Belgium, Bulgaria, Cyprus, Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Italy, Latvia, Lithuania, Luxembourg, Malta, Netherlands, Poland, Portugal, Romania, Slovakia, Slovenia, Spain, Sweden and United Kingdom.

Η καμπυλοβακτηριδιακή λοίμωξη είναι πολύ συχνή σε ταξιδιώτες που επιστρέφουν από αναπτυσσόμενες χώρες, με οξεία συμπτώματα διάρροιας<sup>43,44</sup>. Περίπου 80 εκατομμύρια άτομα από βιομηχανικές χώρες ταξιδεύουν κάθε χρόνο σε χώρες της Αφρικής, της Ασίας, της Λατινικής Αμερικής, στα νησιά του

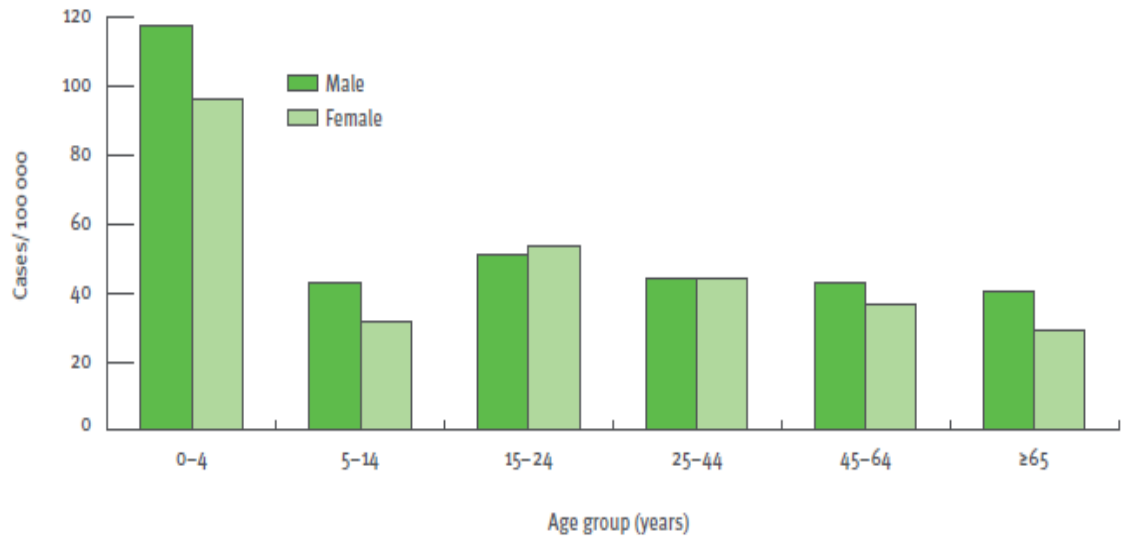
Ειρηνικού Ωκεανού και σε απομακρυσμένες περιοχές της Ανατολικής Ευρώπης. Το 25-50% των ταξιδιωτών υποφέρουν από την λεγόμενη «διάρροια των ταξιδιωτών»<sup>45,46</sup> με το 80% των περιστατικών να έχουν βακτηριακή αιτία, και τα καμπυλοβακτηρίδια να κατέχουν κυρίαρχη θέση μαζί με την *Escherichia coli* και *Salmonella* spp<sup>47,48</sup>.

Ο μεγαλύτερος αριθμός περιστατικών αφορά νεαρούς ενήλικες και παιδιά. Εκτιμάται πως το υψηλό ποσοστό που συναντάται σε νεαρούς ενήλικες οφείλεται στον περιπετειώδη τρόπο ζωής τους και ιδιαίτερα στις διατροφικές τους συνήθειες. Σύμφωνα με επιδημιολογικές μελέτες ο αριθμός των συμβάντων που λαμβάνουν χώρα σε τροπικούς και υποτροπικούς προορισμούς ταξιδιωτών, είναι ανεξάρτητος του φύλου<sup>49</sup>. Σε ανάλογη επιδημιολογική μελέτη στην Ελλάδα (2001-2010) από τα 898 στελέχη καμπυλοβακτηριδίου τα 521 (58%) απομονώθηκαν από άρρενες και τα 377 (42%) από θήλεις<sup>36</sup>.

Σύμφωνα με τα πρόσφατα συγκεντρωτικά αποτελέσματα<sup>42</sup> της επιτήρησης των λοιμωδών νοσημάτων στις χώρες της ΕΕ, η καμπυλοβακτηριδιακές λοιμώξεις του ανθρώπου έχουν ανοδική τάση, με αναλογία 44,1 περιστατικά/100.000 κατοίκους, με πλέον ευαίσθητη ηλικιακή ομάδα εκείνη των 0-4 ετών (Ιστόγραμμα 1 και Πίνακας 8).

**Ιστόγραμμα 1.** Περιστατικά καμπυλοβακτηριδίασης σε ΕΕ χώρες ανά ηλικία και φύλο<sup>42</sup>

**Figure 2.3.5.** Notification rates of campylobacteriosis cases in EU and EEA/EFTA countries, by age and gender, 2008  
(n = 191258)



Source: Country reports: Austria, Belgium, Cyprus, Czech Republic, Denmark, Estonia, Finland, France, Germany, Hungary, Ireland, Italy, Lithuania, Luxembourg, Malta, Poland, Romania, Slovakia, Slovenia, Sweden, United Kingdom, Iceland, Liechtenstein, Norway. Latvia reported zero cases.

**Πίνακας 8.** Αριθμός και συχνότητα περιστατικών καμπυλοβακτηριδίασης σε ΕΕ χώρες την περίοδο 2006-2008 <sup>42</sup>.

**Table 2.3.3.** Number and notification rate of reported cases of campylobacteriosis in the EU and EEA/EFTA, 2006–08

| Country                    | Report type* | 2008           |                 |  | 2007                                  |                            | 2006                                  |                            |
|----------------------------|--------------|----------------|-----------------|--|---------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
|                            |              | Total cases    | Confirmed cases | Notification rate per 100 000 population | Confirmed cases and notification rate |                            | Confirmed cases and notification rate |                            |
|                            |              |                |                 |  | Cases                                 | Rate                       | Cases                                 | Rate                       |
| Austria                    | C            | 4 301          | 4 280           | 51                                       | 5 822                                 | 70                         | 5 020                                 | 61                         |
| Belgium                    | C            | 5 111          | 5 111           | 48                                       | 5 895                                 | 56                         | 5 771                                 | 55                         |
| Bulgaria                   | A            | 19             | 19              | 0.25                                     | 38                                    | 0.49                       | 75                                    | 0.97                       |
| Cyprus                     | C            | 23             | 23              | 2.9                                      | 17                                    | 2.2                        | 2                                     | 0.26                       |
| Czech Republic             | C            | 20 174         | 20 067          | 193                                      | 24 137                                | 235                        | 22 571                                | 220                        |
| Denmark                    | C            | 3 470          | 3 470           | 63                                       | 3 868                                 | 71                         | 3 239                                 | 60                         |
| Estonia                    | C            | 154            | 154             | 11                                       | 114                                   | 8.5                        | 124                                   | 9.2                        |
| Finland                    | C            | 4 453          | 4 453           | 84                                       | 4 107                                 | 78                         | 3 439                                 | 65                         |
| France                     | C            | 3 424          | 3 424           | 5.4                                      | 3 058                                 | 4.8                        | 2 675                                 | 4.2                        |
| Germany                    | C            | 64 731         | 64 731          | 79                                       | 66 107                                | 80                         | 52 035                                | 63                         |
| Greece                     | —            | —              | —               | —  | —                                     | —                          | —                                     | —                          |
| Hungary                    | C            | 5 563          | 5 516           | 55                                       | 5 809                                 | 58                         | 6 807                                 | 68                         |
| Ireland                    | C            | 1 752          | 1 752           | 40                                       | 1 885                                 | 44                         | 1 812                                 | 43                         |
| Italy                      | C            | 265            | 265             | 0.44                                     | 676                                   | 1.1                        | 801                                   | 1.4                        |
| Latvia                     | C            | 0              | 0               | 0.00                                     | 0                                     | 0.00                       | 0                                     | 0.00                       |
| Lithuania                  | C            | 762            | 762             | 23                                       | 564                                   | 17                         | 0                                     | 0.00                       |
| Luxembourg                 | C            | 439            | 439             | 91                                       | 345                                   | 72                         | 285                                   | 61                         |
| Malta                      | C            | 77             | 77              | 19                                       | 91                                    | 22                         | 54                                    | 13                         |
| Netherlands <sup>(a)</sup> | C            | 3 341          | 3 341           | —  | 3 289                                 | —                          | 3 186                                 | —                          |
| Poland                     | C            | 270            | 270             | 0.71                                     | 192                                   | 0.50                       | 156                                   | 0.41                       |
| Portugal                   | —            | —              | —               | —  | —                                     | —                          | —                                     | —                          |
| Romania                    | C            | 2              | 2               | < 0.1                                    | 0                                     | 0.00                       | —                                     | —                          |
| Slovakia                   | C            | 3 143          | 3 064           | 57                                       | 3 380                                 | 63                         | 2 728                                 | 51                         |
| Slovenia                   | C            | 898            | 898             | 45                                       | 1 127                                 | 56                         | 944                                   | 47                         |
| Spain <sup>(b)</sup>       | C            | 5 160          | 5 160           | —  | 5 331                                 | —                          | 5 883                                 | —                          |
| Sweden                     | C            | 7 692          | 7 692           | 84                                       | 7 106                                 | 78                         | 6 078                                 | 67                         |
| United Kingdom             | C            | 55 609         | 55 609          | 91                                       | 57 849                                | 95                         | 52 543                                | 87                         |
| <b>EU total</b>            |              | <b>190 833</b> | <b>190 579</b>  | <b>43.97<sup>(c)</sup></b>               | <b>200 807</b>                        | <b>46.57<sup>(c)</sup></b> | <b>176 228</b>                        | <b>42.88<sup>(c)</sup></b> |
| Iceland                    | C            | 98             | 98              | 31                                       | 93                                    | 30                         | 117                                   | 39                         |
| Liechtenstein              | C            | 8              | 2               | 5.7                                      | 0.00                                  | 40                         | 0.00                                  | —                          |
| Norway                     | C            | 2 875          | 2 875           | 61                                       | 2 836                                 | 61                         | 2 588                                 | 56                         |
| <b>Total</b>               |              | <b>193 814</b> | <b>193 554</b>  | <b>44.14<sup>(c)</sup></b>               | <b>203 736</b>                        | <b>46.71<sup>(c)</sup></b> | <b>178 933</b>                        | <b>43.03<sup>(c)</sup></b> |

Source: Country reports. \*A: Aggregated data report; C: Case-based report; —: No report; U: Unspecified.

(a) Coverage by the Dutch sentinel system is estimated at about 51 %.

(b) Surveillance system currently estimated to cover 25 % of the total population.

(c) Rates calculated excluding the Dutch and Spanish data.

## 5.2. ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΖΩΑ

### 5.2.1. Πτηνά

Η επιδημιολογία και ο έλεγχος των μολύνσεων στα κοτόπουλα έχει ενδιαφέρον, επειδή η κατανάλωση ορνιθείου κρέατος και ο χειρισμός των σφάγιων θεωρούνται πηγές μόλυνσης του ανθρώπου. Δεν υπάρχει κλινικό σύνδρομο σε σμήνη πτηνών, προκαλούμενο από μόλυνση με καμπυλοβακτηρίδια<sup>50</sup>.

Η King πρώτη συσχέτισε τα κοτόπουλα με την καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα του ανθρώπου και βρήκε ότι τα στελέχη μικροαεροφίλων δονακίων, που απομόνωσε από κοτόπουλα, δεν διέφεραν από τα στελέχη *C. jejuni* που απομόνωσε από ανθρώπους. Η ίδια ανακοίνωσε περίπτωση θανατηφόρου καμπυλοβακτηριδιακής εντερίτιδας σε πτηνοτρόφο και θεώρησε ότι ήταν αποτέλεσμα της επαγγελματικής έκθεσης του στον μικροοργανισμό<sup>16</sup>.

Ο Smibert, που απομόνωσε *C. jejuni* από διάφορα πουλιά (περιστέρια, σπουργίτια, κόρακες, ψαρώνια κ.τ.λ.), τα οποία συνήθως βρίσκονται στα αγροκτήματα, πιστεύει ότι τα πουλιά αυτά, με τα περιττώματά τους μολύνουν το νερό και το περιβάλλον, οπότε πιθανόν να διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην διασπορά του μικροοργανισμού<sup>51</sup>. Τα ποσοστά επιπολασμού που βρέθηκαν ήταν στα περιστέρια 17% και στα πτηνά των ζωολογικών κήπων 10%<sup>52</sup>.

Μεγάλος αριθμός καμπυλοβακτηριδίων μπορεί να υπάρχουν στον εντερικό σωλήνα των πτηνών, χωρίς καμιά εμφανή παθολογική εκδήλωση<sup>53</sup>.

Οι Bruce και συν. απομόνωσαν *C. jejuni* από 62% σφάγιων κοτόπουλων και από το 68% δειγμάτων κοπράνων, από φαινομενικά υγιή κοτόπουλα<sup>54</sup>, ενώ ο Ribeiro αναφέρει ότι απομόνωσε *C. jejuni* από περιττώματα πουλερικών σε αναλογία

91%<sup>55</sup>. Οι Βασιλειάδης και συν. απομόνωσαν *C. jejuni* από τα περιττώματα 11,4% πουλερικών και από επιφάνειες 3,1% σφάγιων έτοιμων προς πώληση<sup>56</sup>.

Σε μία μελέτη για ανεύρεση και απομόνωση *Campylobacter*, *Salmonella*, *Listeria* και Shiga toxin-producing *E. coli* σε 60 σμήνη παχυνομένων πτηνών ελευθέρως βοσκής, που αφορούσε 34 μονάδες στη χώρα των Βάσκων, στη Βόρεια Ισπανία, *Campylobacter* απομονώθηκαν σε 24 μονάδες (ποσοστό 70,6%), ενώ *L. monocytogenes* απομονώθηκε σε 9 μονάδες (26,5%), *Salmonella* σε 1 μονάδα (2,94%) και δεν απομονώθηκε *E. Coli* 0157 (Πίνακας 9). Από τις 24 θετικές μονάδες έγιναν 91 απομονώσεις *Campylobacter* (36 *C. jejuni* και 55 *C. coli*)<sup>57</sup>.

**Πίνακας 9** Συχνότητα απομόνωσης τροφιμογενών παθογόνων βακτηρίων σε σμήνη και μονάδες ελευθέρως βοσκής πουλερικών<sup>57</sup>.

|   | Μονάδες ( 34 )      | Σμήνη ( 60 )        |
|---|---------------------|---------------------|
|   | Αριθμός θετικών (%) | Αριθμός θετικών (%) |
| <i>Campylobacter spp.</i>               | 24 (70,6)           | 46 (76,7)           |
| <i>L. monocytogenes</i>                 | 9 (26,5)            | 16 (26,7)           |
| <i>Salmonella</i><br><i>Enteritidis</i> | 1 (2,94)            | 1 (1,7)             |
| <i>E. Coli</i> O157                     | 0 (0)               | 0 (0)               |

Τα αποτελέσματα αυτά ήταν παρόμοια με τα αποτελέσματα αντίστοιχης μελέτης στην Ελβετία<sup>58</sup>. Στην Δανία, σε μελέτη που έγινε το 2001 βρέθηκαν θετικά ως προς το *Campylobacter* το 100% των σμηνών πουλερικών ελευθέρως βοσκής και το 36,7% των συμβατικών<sup>59</sup>.

Στις περισσότερες μελέτες, η συχνότητα των *Campylobacter* spp είναι μεγαλύτερη στα βιολογικά κοτόπουλα από ό,τι στα συμβατικά, ενώ το αντίθετο συμβαίνει με τις σαλμονέλλες<sup>59,60</sup>.

Το 2003 η ένωση καταναλωτών της Ολλανδίας διενήργησε μία έρευνα για το επίπεδο ασφάλειας του κρέατος πουλερικών από διάφορα σημεία πώλησης. Όμως δεν βρήκε στατιστικά σημαντικές διαφορές στο κρέας των βιολογικών και των συμβατικών πουλερικών (απομονώθηκε *Salmonella* 4% στα βιολογικά και 8% στα συμβατικά, και *Campylobacter* 49% στα βιολογικά και 43% στα συμβατικά)<sup>61</sup>.

Σε μία άλλη μελέτη για *Salmonella* και *Campylobacter* στην Ολλανδία, που έγινε το 2003, σε 31 μονάδες βιολογικών πουλερικών, είχαμε 13% θετικά για την *Salmonella* και 35% θετικά για το *Campylobacter*<sup>62</sup>.

Τα κρεοπαραγωγά ορνίθια μολύνονται τις πρώτες εβδομάδες της ζωής τους, συνήθως την τρίτη εβδομάδα, χωρίς να εμφανίσουν κλινικά συμπτώματα και παραμένουν φορείς μέχρι την σφαγή τους. Από την στιγμή που το πρώτο ορνίθιο μολυνθεί με καμπυλοβακτηριδίο με την κατάποση μολυσμένων κοπράνων η εξάπλωση είναι ταχεία και το 100% του σμήνους μπορεί να γίνει θετικό, εντός ολίγων ημερών.

Οι συνθήκες εκτροφής των πτηνών σε περιορισμένο χώρο (15-18 ορνίθια ανά τετραγωνικό μέτρο) και η κοπροφαγία μπορούν εν μέρει να εξηγήσουν την ταχεία μετάδοση της μόλυνσης μέσα στα σμήνη. Εντός 72 ωρών η μόλυνση εξαπλώνεται στο σύνολο του σμήνους<sup>63</sup>. Πάντως τα παραγωγικά στοιχεία των μολυσμένων πτηνών, όπως θνησιμότητα και μέσο βάρος ζώντος ζώου δεν διαφέρουν σε αξιοσημείωτο βαθμό, συγκρινόμενα με τα μη μολυσμένα πτηνά.

Η Λειροκυάνωση των Ινδιάνων (Bluecomb disease of turkeys) και η Δονακιακή Ηπατίτιδα των πτηνών (Avian vibriotic hepatitis) συνοδεύονται από

καμπυλοβακτηριδιακή μόλυνση, με το καμπυλοβακτηρίδιο να απομονώνεται από το ήπαρ, το έντερο, την χοληδόχο κύστη και το τυφλό έντερο των μολυσμένων πτηνών<sup>51</sup>.

Κάθετη μετάδοση της μόλυνσης των νεοσσών από πατρογονικά σμήνη δεν συμβαίνει. Πειραματικά έχει αποδειχθεί ότι το *C. jejuni* δεν διαπερνά εύκολα το κέλυφος του αυγού<sup>50</sup>. Το *C. jejuni* είναι το συχνότερο είδος καμπυλοβακτηριδίων, που απομονώνεται από πτηνά. Τα σμήνη όμως μπορεί να είναι μολυσμένα με περισσότερα από ένα είδος καμπυλοβακτηριδίων.

Η διασπορά της μόλυνσης πατρογονικών σμηγών κρεοπαραγωγών πτηνών έχει βρεθεί έως και 80%<sup>50</sup>.



## **Επιβίωση του *Campylobacter jejuni* σε δέρμα και κρέας πουλερικών σε διάφορες θερμοκρασίες.**

Έρευνες έδειξαν ότι η επιβίωση του καμπυλοβακτηριδίου είναι μεγαλύτερη στο δέρμα των πουλερικών απ' ό,τι στο κρέας του. Δέρμα και κρέας ακτινοβολήθηκαν για να καταστραφεί το μικροβιακό τους φορτίο και έγινε πειραματική μόλυνση με *Campylobacter jejuni* ( $\sim 5 \times 10^5$  cfu/mL). Τα δείγματα δέρματος και κρέατος πουλερικών αποθηκεύτηκαν στις ακόλουθες συνθήκες:

- 1) 4°C για 11 ημέρες
- 2) 4°C για 1 ημέρα και μετά -3°C για 10 ημέρες
- 3) 4°C για 1 ημέρα και -3°C για 1 ημέρα
- 4) 4°C για 1 ημέρα, -3°C για 1 ημέρα, 20°C για 1 ώρα και 4°C για 9 ημέρες.

Ο πειραματισμός επαναλήφθηκε τρεις φορές. Σε κάθε πειραματισμό, ο πληθυσμός των καμπυλοβακτηριδίων που επιβίωναν δεν επηρεάστηκε από τις συνθήκες αποθήκευσης ( $P \geq 0.05$ ) και δεν υπήρξε αλληλεπίδραση μεταξύ θερμοκρασίας και τύπου δείγματος. Ο πληθυσμός όμως των καμπυλοβακτηριδίων που επιβίωναν, επηρεάστηκε ( $P \leq 0.05$ ) από τον τύπο του δείγματος (δέρμα ή κρέας). Το καμπυλοβακτηρίδιο, σε συνθήκες που απουσίαζε η ανταγωνιστική χλωρίδα, επιβίωνε πολύ καλά στις διάφορες θερμοκρασίες του πειράματος. Σε όλους τους πειραματισμούς, μεγαλύτερος πληθυσμός καμπυλοβακτηριδίου εγκαθίστατο σε πειραματικά μολυσμένο δέρμα πουλερικού, απ' ό,τι σε κρέας. Η δομή του δέρματος πουλερικών μπορεί να θεωρηθεί ότι παίζει κάποιο ρόλο σ' αυτόν τον μεγαλύτερο αποικισμό των καμπυλοβακτηριδίων στο δέρμα<sup>64</sup>.

### 5.2.2. Βοοειδή

Το *C. jejuni*, *C. fetus fetus* και το *C. faecalis* είναι τα πιο συχνά απομονούμενα καμπυλοβακτηρίδια στα βοοειδή με εντερίτιδα ή χωρίς συμπτώματα εντερίτιδος. Τα ποσοστά απομόνωσης καμπυλοβακτηριδίου από κόπρανα βοοειδών είναι υψηλά κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, αλλά είναι χαμηλά κατά τους χειμερινούς μήνες. Μερικές αγελάδες μπορεί να αποβάλλουν τον ίδιο ορότυπο για πολλούς μήνες, αν όχι και για ολόκληρη την ζωή τους<sup>65</sup>. Μετάδοση της ασθένειας μπορεί να συμβεί στα νεογέννητα μοσχάρια, αλλά όχι και στις μεγαλύτερες αγελάδες. Διάφοροι ορότυποι μπορούν να απομονωθούν σε μία αγέλη<sup>66</sup>.

Η μόλυνση των ζωντανών ζώων με περιεχόμενο εντέρου, μπορεί να προκαλέσει μαστίτιδα και την είσοδο του καμπυλοβακτηριδίου στο γάλα ενώ τα σφάγια των βοοειδών μπορούν να μολυνθούν από το περιεχόμενο του εντέρου. Η παστερίωση είναι η πιο αποτελεσματική μέθοδος απομάκρυνσης του καμπυλοβακτηριδίου από το γάλα<sup>67</sup>.

### 5.2.3. Πρόβατα

Το *C.jejuni* είναι ένα από τα κύρια αίτια ενζωτικής αποβολής στα πρόβατα<sup>51</sup>.

Οι Duffel και Skirrow (1978), περιέγραψαν καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα σε βοσκό, ο οποίος δύο ημέρες προηγουμένως είχε βοηθήσει στον τοκετό των προβάτων του. Τα αρνάκια είχαν γεννηθεί νεκρά και απομονώθηκε *C.jejuni* τόσο από τα νεκρά αρνάκια, όσο και από τα κόπρανα του βοσκού.

**Πίνακας 10.** Απομόνωση καμπυλοβακτηριδίων από περιεχόμενο εντέρου από υγιή ζώα προς σφαγή (εκτός πουλερικών)

| Είδος ζώου |            | Είδος δείγματος      | Αριθμός δειγμάτων<br>v | Θετικά % | Συγγραφέας            |
|------------|------------|----------------------|------------------------|----------|-----------------------|
| Βοοειδή    | Μονάδα     | Περιπτώματα          | 202                    | 3        | Prescott-1981         |
|            | Σφαγείο    | Χολή                 | 525                    | 12       | Bryner-1972           |
|            |            | Εντερικό περιεχόμενο | 130                    | 43       | Luechtefeld-1982      |
|            |            | Περιπτώματα          | 90                     | 19       | Svedhem-1981          |
|            |            | Περιπτώματα          | 31                     | 0        | Stern-1981            |
|            |            | Σφάγια               | 58                     | 2        | Stern-1981            |
|            |            | Σφάγια               | 100                    | 0        | Hudson-1982           |
| Πρόβατα    | Από φάρμες | Περιπτώματα          | 35                     | 23       | Luechtefeld-1982      |
|            | Σφαγεία    | Χολή                 | 186                    | 9        | Hudson-1982           |
|            |            | Περιπτώματα          | 15                     | 73       | Stern-1981            |
|            |            | Σφάγια               | 54                     | 24       | Stern-1981            |
| Χοιρινά    | Από φάρμες | Περιπτώματα          | 71                     | 66       | Luechtefeld-1982      |
|            | Σφαγεία    | Εντερικό περιεχόμενο | 300                    | 61       | Osterom-1980          |
|            |            | Περιπτώματα          | 116                    | 66       | Stichtgroh-1982       |
|            |            | Περιπτώματα          | 38                     | 87       | Stern-1981            |
|            |            | Σφάγια               | 58                     | 22       | Stern-1981            |
|            |            | Σφάγια               | 100                    | 59       | Hudson-1982           |
|            |            | Σφάγια- υγρή ψύξη    | 50                     | 26       | Hudson-1982           |
|            |            | Σφάγια- ξηρή ψύξη    | 50                     | 2        | Hudson-1982           |
|            |            | Σφάγια               | 57                     | 66,7     | Daczkowska Kozon-1999 |
| Σφάγια     | 316        | 34                   | Steinhauserova- 2005   |          |                       |

#### 5.2.4. Χοίροι

Στον εντερικό σωλήνα των χοίρων συνήθως παρασιτεί το *C. coli*, ενώ ευκαιριακά το *C. jejuni*<sup>68,69,70</sup>. Μελέτες στην Ολλανδία, Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και Γερμανία έδειξαν ότι περισσότερα από τα μισά ανατρεφόμενα εμπορικά ζώα αποβάλλουν τον μικροοργανισμό<sup>71</sup>. Η επιμόλυνση του σφάγιου των χοιρινών είναι πολύ πιο συχνή απ' ό,τι στα σφάγια προβάτων και βοοειδών, και γίνεται από το περιεχόμενο του εντέρου κατά την σφαγή.

### 5.3. ΜΗ ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΑ ΖΩΑ

#### 5.3.1. Σκύλοι

Η πρώτη συσχέτιση της καμπυλοβακτηριδιακής εντερίτιδας με τα σκυλιά έγινε από τους Wheeler και Borchers<sup>72</sup>, οι οποίοι περιέγραψαν περίπτωση γαστρεντερίτιδας με αιματηρές κενώσεις σε βρέφος ηλικίας εννέα εβδομάδων, από το αίμα του οποίου απομόνωσαν το *C.jejuni*. Το βρέφος είχε στενή επαφή με το σκυλάκι της οικογένειας, που και αυτό είχε διαρροϊκές κενώσεις με προσμίξεις αίματος. Σε χρωματισμένα παρασκευάσματα από τα κόπρανα του σκύλου παρατηρήθηκαν δονάκια, τα οποία οι ερευνητές δεν μπόρεσαν να καλλιεργήσουν.

Ο παράγοντας της επαφής με σκυλιά στην αιτιολογία της καμπυλοβακτηριδιακής εντερίτιδας συσχετίστηκε επίσης από τους Skirrow<sup>17</sup>, Lindquist<sup>73</sup> και Blaser και συν<sup>74</sup>, οι οποίοι απομόνωσαν το *C. jejuni* από σκυλιά με γαστρεντερίτιδα, που ανήκαν σε ασθενείς με καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα. Οι Peel και McIntosh<sup>75</sup> περιέγραψαν καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα σε νοσοκόμα και στο σκυλάκι της. Επίσης ο Hastings<sup>76</sup> σε μελέτη του σε Κτηνιατρική κλινική, αναφέρει υψηλή συχνότητα διάρροιας από καμπυλοβακτηρίδιο στα σκυλιά της κλινικής.

Γενικά το *C. jejuni* μπορεί να απομονωθεί από κόπρανα υγιών και ασθενών (με διαρροϊκά συμπτώματα) ζώων. Στα νεαρά ζώα (κουτάβια) τα ποσοστά απομόνωσης είναι μεγαλύτερα απ' ό,τι στα ενήλικα<sup>74</sup>. Ομοίως μεγαλύτερα ποσοστά απομόνωσης εμφανίζονται σε ζώα που διαμένουν σε καταφύγια σκύλων, απ' αυτά που διαμένουν σε κάποιο σπίτι<sup>74,77,78</sup>.

### **5.3.2. Γάτες**

Το *C. jejuni* έχει απομονωθεί από γάτες<sup>79</sup> και μάλιστα πιο συχνά από νεαρά γατάκια από ό,τι στα ενήλικα ζώα. Ομοίως μεγαλύτερα ποσοστά απομόνωσης αναφέρονται σε γάτες που διαμένουν σε καταφύγια ζώων<sup>80</sup>.

### **5.3.3. Τρωκτικά**

Το *C. jejuni* έχει απομονωθεί από αρουραίους<sup>81</sup>. Τόσο τα τρωκτικά που ζουν σε εργαστήρια (hamsters), όσο και τα άγρια τρωκτικά αποβάλλουν με τα περιττώματά τους *C. jejuni*, *C. coli* και *C. faecalis*<sup>81</sup>.

### **5.3.4. Έντομα**

Έντομα του είδους Alphitobius (αρθρόποδα π.χ. σκαθάρια, κατσαρίδες) μπορεί να είναι φορείς του *C. jejuni*<sup>50</sup> και μπορούν να μεταφέρουν τα καμπυλοβακτηρίδια από την μια εκτροφή στην άλλη ή σε κατοικίες<sup>82</sup>.

### **5.3.5. Άλλα ζώα**

Το *C. jejuni* δεν έχει απομονωθεί από ερπετά και άλλα ποικιλόθερμα ζώα. Αντιθέτως καμπυλοβακτηρίδια έχουν απομονωθεί από ζώα ζωολογικών κήπων και μάλιστα οι ορότυποι των καμπυλοβακτηριδίων που απομονώθηκαν, ήταν ίδιοι με αυτούς που απομονώνονται από τους ανθρώπους<sup>52</sup>.

Συμπερασματικά μπορούμε να πούμε ότι τα ζώα, με τα οποία ο άνθρωπος είναι πολύ κοντά (αυτά που εκτρέφει για παραγωγή τροφίμων και τα ζώα συντροφιάς) είναι οι πιο συχνές δεξαμενές των καμπυλοβακτηριδίων.

## 5.4. ΛΟΙΠΕΣ ΔΕΞΑΜΕΝΕΣ

### 5.4.1. Νερό

Γενικά τα καμπυλοβακτηρίδια επιβιώνουν στα κρύα νερά. Όσο η θερμοκρασία του νερού ανεβαίνει, τόσο η επιβίωση του καμπυλοβακτηριδίου μειώνεται<sup>83</sup>. Πειραματικά, τα καμπυλοβακτηρίδια επιβίωσαν περισσότερο από τέσσερις εβδομάδες, όταν η θερμοκρασία του νερού ήταν κοντά στους 4° C. Πηγή των καμπυλοβακτηριδίων που απομονώνονται από το νερό είναι, πιθανόν, τα μολυσμένα κόπρανα άγριων και οικόσιτων ζώων. Το πόσιμο νερό μπορεί να λειτουργήσει σαν όχημα μόλυνσης των ζώων. Όμως η χλωρίωση του νερού μειώνει τον επιπολασμό του καμπυλοβακτηριδίου.

Σε μελέτες νερού ποταμών στο Southamton της Αγγλίας απομονώθηκε καμπυλοβακτηρίδιο σε ποσοστό 50,4%<sup>84</sup>. Στις περισσότερες περιπτώσεις θετικών δειγμάτων, υπήρχε και παρουσία *Escherichia coli*. *C. jejuni* έχει απομονωθεί από νερά ποταμών<sup>84</sup>, από υγρά απόβλητα σφαγείων<sup>85</sup> και από δείγματα θαλασσινού νερού<sup>86</sup>. Μετά από μεγάλες βροχοπτώσεις τα ποσοστά απομονώσεων μειώνονται. Μειωμένα είναι τα ποσοστά και σε δείγματα γλυφών νερών. Αντιθέτως τα ποσοστά είναι υψηλότερα σε νερά χαμηλής ροής<sup>84</sup>.

### 5.4.2. Έδαφος

Πειραματικά το καμπυλοβακτηρίδιο επιβιώνει τουλάχιστον 10 ημέρες στο έδαφος σε κανονικές συνθήκες, και περίπου 20 ημέρες όταν η θερμοκρασία του περιβάλλοντος είναι περίπου στους 6° C<sup>87</sup>. Ομοίως το *C. jejuni* επιβίωσε για τρεις εβδομάδες σε κόπρανα από μολυσμένους ανθρώπους και σκύλους, όταν αυτά αποθηκεύτηκαν στους 4°C<sup>70</sup>.

## 5.5. ΑΠΟΜΟΝΩΣΕΙΣ ΚΑΜΠΥΛΟΒΑΚΤΗΡΙΔΙΩΝ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

### 5.5.1. Άνθρωποι

Στην διάρκεια μεγάλης επιδημιολογικής μελέτης, η οποία έγινε στην Κρήτη την περίοδο 1992-1994 και αφορούσε 3600 διαρροϊκούς ασθενείς καμπυλοβακτηρίδιο απομονώθηκε σε ποσοστό 4,7%. Από τα 169 στελέχη που απομονώθηκαν τα 144 (85,2%) ήταν *C. jejuni* και τα 25 (14,8%) ήταν *C. coli* ενώ το 20% του συνόλου των στελεχών καμπυλοβακτηριδίων που απομονώθηκαν ήταν ανθεκτικά στην ερυθρομυκίνη. Η καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα καταγράφηκε σε όλη την διάρκεια του έτους με μεγαλύτερη όμως συχνότητα στην διάρκεια των θερινών μηνών<sup>88</sup>. Σε μεταγενέστερη 5ετή επιδημιολογική μελέτη της ίδιας ερευνητικής ομάδας, η οποία έγινε την περίοδο 1995-1999, καμπυλοβακτηρίδιο απομονώθηκε σε ποσοστό 4,2%, ενώ παρατηρήθηκαν υψηλά ποσοστά αντοχής στις κινολόνες (44,5% στην norfloxacin, και 40.5% στην ciprofloxacin)<sup>89</sup>.

Στην διάρκεια τριετούς επιδημιολογικής μελέτης, η οποία έγινε στην Αθήνα (Λαϊκό Νοσοκομείο) και αφορούσε δείγματα κοπράνων από 3289 διαρροϊκούς ασθενείς, καμπυλοβακτηρίδια απομονώθηκαν από 155 δείγματα<sup>90</sup>.

Το 1999 μελετήθηκε η επιδημιολογία και η αιτιολογία της οξείας διάρροιας σε παιδιά που προσήλθαν αποκλειστικά στα εξωτερικά ιατρεία του Νοσοκομείου «Α.Κυριακού» των Αθηνών. Από τα 132 παιδιά (μέσος όρος ηλικίας τα 2 έτη) καμπυλοβακτηρίδιο απομονώθηκε σε δείγμα κοπράνων από 10 παιδιά (7,57%)<sup>91</sup>.

Στην διάρκεια εξαετούς επιδημιολογικής μελέτης (2000-2006) του Μικροβιολογικού εργαστηρίου της Ιατρικής Σχολής Ιωαννίνων, που αφορούσε δείγματα κοπράνων 4604 νοσοκομειακών παιδιών από την περιοχή της Ηπείρου, με οξεία γαστροεντερίτιδα το *C. jejuni* απομονώθηκε σε 118 περιπτώσεις (2,6%)<sup>92</sup>.

Σε μελέτη που αφορούσε την μελέτη της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά στελεχών *C. jejuni* που απομονώθηκαν από νοσοκομειακούς παιδιατρικούς ασθενείς με γαστρεντερίτιδα στην διάρκεια δύο διαφορετικών χρονικών περιόδων 1987-1988 και 1998-2000, παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της αντοχής στις κινολόνες στα στελέχη της δεύτερης περιόδου (0% την πρώτη περίοδο και 30% αντοχή την δεύτερη περίοδο)<sup>93</sup>. Σε μεταγενέστερη μελέτη της ίδιας ερευνητικής ομάδας απομονώθηκαν 129 στελέχη *C. jejuni* από παιδιά που νοσηλεύτηκαν στο νοσοκομείο με συμπτώματα γαστρεντερίτιδας. Στην διάρκεια της μελέτης τους απομονώθηκαν διάφοροι ορότυποι *C. jejuni* με κυριότερους κατά σειρά τους HS:2, HS:4 και HS:1,44, ενώ απομονώθηκαν και ορότυποι σχετιζόμενοι με το σύνδρομο Guillain-Barré, όπως ο HS:19<sup>94</sup>.

Σε μελέτη που αφορούσε την ευαισθησία στα αντιβιοτικά 170 στελεχών *C. jejuni* που απομονώθηκαν την 2ετία 2004-2005, από ασθενείς ηλικίας 3 μηνών έως 14 ετών, του Παιδιατρικού Νοσοκομείου Πεντέλης, το 30% ήταν ανθεκτικά στην ciprofloxacin (MIC  $\geq$  4  $\mu\text{g/ml}$ ), 55% στην tetracycline (MIC  $>$  8  $\mu\text{g/ml}$ ), 13% στην clindamycin (MIC  $\geq$  8  $\mu\text{g/ml}$ ), 4% στην ampicillin (MIC  $>$  16  $\mu\text{g/ml}$ ), 6% στην erythromycin (MIC  $\geq$  8  $\mu\text{g/ml}$ ) και 4% στην coamoxiclav (MIC  $\geq$  16/8  $\mu\text{g/ml}$ )<sup>95</sup>.

Σε μεγάλη επιδημιολογική μελέτη του Μικροβιολογικού Εργαστηρίου του Νοσοκομείου Ειδικών Παθήσεων Θεσσαλονίκης, που αφορούσε τις απομονώσεις καμπυλοβακτηριδίων κατά την δεκαετία 2001 – 2010, από τα 898 στελέχη καμπυλοβακτηριδίου, από ισάριθμους ασθενείς με γαστρεντερίτιδα τα 846 ( 94,2% ) ήταν *C. jejuni* και τα 52 (5,8%) *C.coli*, Στην προαναφερόμενη μελέτη από τα 898 στελέχη καμπυλοβακτηριδίου τα 704 στελέχη (78,4%) απομονώθηκαν από παιδιά (47,4% ηλικίας κάτω των 2 ετών) και τα 194 (21,6%) από ενήλικες<sup>36</sup>.



Επίσης έχει αναφερθεί ένα περιστατικό συνδρόμου Guillain-Barré σε παιδί μετά από λοίμωξη με *C. jejuni* O:19<sup>96</sup> καθώς και ένα περιστατικό βακτηραιμίας από *C. fetus* σε ανοσολογικά υγιή ενήλικα ασθενή<sup>97</sup>. Το 2009 καταγράφηκε υδατογενής επιδημία από *C. jejuni* στην Κρήτη όπου ως πιθανή πηγή της μόλυνσης αναφέρεται το πόσιμο νερό<sup>98</sup>.

### 5.5.2. Ζώα

Τα υπάρχοντα δεδομένα σχετικά με τον επιπολασμό των καμπυλοβακτηριδίων στα παραγωγικά ζώα και στα ζώα συντροφιάς στην Ελλάδα είναι πολύ περιορισμένα.

#### 5.5.2.1. Παραγωγικά ζώα

Στην περιοχή της Θεσσαλίας διερευνήθηκε ο επιπολασμός των *C. jejuni* και *C. coli* σε περιεχόμενο εντέρου 120 βοοειδών και 230 χοίρων. Καμπυλοβακτηρίδια απομονώθηκαν σε ποσοστό 19,2 % από τα βοοειδή και 61,3% από τους χοίρους<sup>99</sup>.

*C. jejuni* έχει απομονωθεί από τα περιττώματα πουλερικών (11,4%) και από επιφάνειες σφάγιων έτοιμων προς πώληση (3,1%)<sup>56</sup>.

#### 5.5.2.2. Ζώα συντροφιάς

Σε επιδημιολογική μελέτη του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας του Νοσοκομείου Ειδικών Παθήσεων Θεσσαλονίκης, η οποία αφορούσε τον επιπολασμό των καμπυλοβακτηριδίων σε σκύλους της ευρύτερης περιοχής Θεσσαλονίκης, απομονώθηκαν από κόπρανα 518 κλινικά υγιών σκύλων 33 (6,4%) στελέχη καμπυλοβακτηριδίων από τα οποία τα 32 ήταν *C. jejuni* και το ένα *C. coli* και

ανήκαν σε βιότυπους που συχνότερα ανευρίσκονται στις περιπτώσεις γαστρεντερίτιδων του ανθρώπου<sup>100</sup>.

### **5.5.3. Υδάτινο περιβάλλον**

#### **5.5.3.1. Επιφανειακά νερά**

Σε μελέτη που αφορούσε την παρουσία καμπυλοβακτηριδίων και γερσινιών σε 241 δείγματα από θαλασσινά νερά και νερά ποταμών στην Β. Ελλάδα Καμπυλοβακτηρίδιο απομονώθηκε συνολικά σε 11 δείγματα (4,6%), [σε 4 (2%) δείγματα θαλασσινού νερού και 7 (17,1%) νερού ποταμών] και η ταυτοποίηση των στελεχών έδειξε ότι όλα ήταν *C. jejuni*<sup>101</sup>.

#### **5.5.3.2. Πόσιμα νερά**

Σε μελέτη που αφορούσε 364 δείγματα πόσιμου νερού από 226 δίκτυα ύδρευσης και 138 γεωτρήσεις στην Β. Ελλάδα, απομονώθηκαν 5 (1,4%) στελέχη *C. jejuni*<sup>102</sup>

### **5.5.4. Τρόφιμα**

Στην περιοχή της Θεσσαλίας διερευνήθηκε η συχνότητα μόλυνσης με καμπυλοβακτηρίδια νωπών κρεάτων (βοδινά, χοιρινά), νωπών αλλαντικών και μαγειρευμένων φαγητών, καθώς και χώρων κρεοπωλείων, αλλαντοποιείων και εστιατορίων. Από τα βοδινά και χοιρινά κρέατα καμπυλοβακτηρίδια απομονώθηκαν σε ποσοστά 8,2% και 24,5%, ενώ στους χώρους των αλλαντοποιείων κυμαίνονταν από 6,6 % έως 20%, στα κρεοπωλεία από 2,7% (μηχανές κιμά) έως 19,1% (κούτσουρα κοπής κρέατος) και στα εστιατόρια ήταν 5% (πάγκοι κουζίνας-ράφια). Στα μαγειρευμένα φαγητά ήταν 0%<sup>99</sup>.

Στην περιοχή της Ηπείρου σε μελέτη που αφορούσε δείγματα διαφόρων ειδών κρέατος (βοδινό, χοιρινό, αρνί, κοτόπουλο), αλλαντικών και μαγειρευμένων

φαγητών, καμπυλοβακτηρίδια (*C. jejuni*) απομονώθηκαν από τα νωπά κοτόπουλα σε ποσοστό 0,7%<sup>103</sup>.

## 6. ΤΡΟΠΟΙ ΜΕΤΑΔΟΣΗΣ

Δύο κύριοι τρόποι μετάδοσης του *Campylobacter* έχουν προσδιορισθεί:

- Μετάδοση μέσω άμεσης επαφής με ζώο-υπόδοχο: είναι ένα σχετικά σπάνιο γεγονός, το οποίο επηρεάζει κυρίως τους αγρότες, τους κτηνιάτρους και τους εργαζόμενους στα σφαγεία (επαγγελματική νόσος). Παρ' όλα αυτά, δεν πρέπει να παραμεληθεί η μετάδοση μέσω της επαφής με κατοικίδια ζώα, μολυσμένα ύδατα κολύμβησης ή (σπάνια) με ασθενείς, που αποβάλλουν βακτήρια.
- Έμμεση μετάδοση συνήθως περιλαμβάνει την κατανάλωση των μολυσμένων τροφίμων και αυτός ο τρόπος είναι υπεύθυνος για τουλάχιστον το 80% των περιπτώσεων της καμπυλοβακτηριδίασης, δηλαδή η μετάδοση του καμπυλοβακτηριδίου είναι κατά κύριο λόγο τροφιμογενής.

Τα εντεροπαθογόνα είδη καμπυλοβακτηριδίων προέρχονται από τα παραγωγικά ζώα και μεταδίδονται στον άνθρωπο με τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης.

### 6.1. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΑΠΟ ΤΑ ΖΩΑ

Η μετάδοση μπορεί να γίνει με απ' ευθείας επαφή με μολυσμένα ζώα ή με σφάγια ζώων. Καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα έχει αναφερθεί σε παιδιά και εφήβους, που πριν αρρωστήσουν είχαν πολύ στενή επαφή με μολυσμένα νεαρά σκυλάκια. Σε μερικές περιπτώσεις ίδιοι ορότυποι καμπυλοβακτηριδίου απομονώθηκαν και από τα σκυλάκια και από τους ανθρώπους<sup>104</sup>. Καμπυλοβακτηρίδια έχουν απομονωθεί και από κόπρανα ενήλικων σκύλων, αλλά δεν συσχετίστηκαν με διάρροια των ανθρώπων<sup>105,69</sup>. Εκτιμάται ότι η διάρροια των νεαρών κουταβιών παίζει σημαντικό ρόλο στην μετάδοση των καμπυλοβακτηριδίων στον άνθρωπο<sup>105</sup>.

Οι γάτες μπορούν να μεταδώσουν καμπυλοβακτηρίδια σε ανθρώπους, αν και σπανιότερα από τους σκύλους<sup>106</sup>. Στην Αγγλία το 1980 μόνον τρεις περιπτώσεις καμπυλοβακτηριδιακής εντερίτιδας αποδόθηκαν σε μόλυνση από γάτες και 97 περιπτώσεις σε μόλυνση από σκύλους. Στις τρεις αυτές περιπτώσεις η μόλυνση αφορούσε νεαρά άτομα που είχαν πολύ στενή επαφή με νεαρά γατάκια. Οι ορότυποι που απομονώθηκαν ήταν οι ίδιοι στα νεαρά άτομα και στα νεαρά γατάκια<sup>107</sup>.

Η απ' ευθείας επαφή με οικόσιτα ζώα ή με τα περιττώματά τους μπορεί να παίξει ρόλο στην μετάδοση της μόλυνσης στον άνθρωπο. Επί παραδείγματι αναφέρθηκε μία περίπτωση, κατά την οποία ένας νεαρός άνδρας παρουσίασε καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα μόλις άρχισε να εργάζεται σε μονάδα πάχυνσης μοσχαριών<sup>105</sup>.

Στα πρόβατα το *C. jejuni* προκαλεί ασυμπτωματική εντερική μόλυνση, και συνεπώς όσοι χειρίζονται μολυσμένα πρόβατα έχουν αυξημένο κίνδυνο να μολυνθούν<sup>108</sup>.

Γενικά, άτομα που έχουν συχνότερη επαφή με ζώα ή σφάγια ζώων, έχουν μεγαλύτερο τίτλο αντισωμάτων στα καμπυλοβακτηρίδια. Στην Αγγλία, αντισώματα για καμπυλοβακτηρίδια εντοπίστηκαν στο 2% των ανθρώπων που ζουν σε αστικές περιοχές, στο 5% των ανθρώπων που ζουν σε αγροτικές περιοχές, στο 18% σε βοηθούς κτηνιάτρων, και σε 27 έως 60% σε ανθρώπους που εργάζονται σε πτηνοσφαγεία ή εργαστήρια τεμαχισμού και τυποποίησης κρέατος πουλερικών<sup>109</sup>.

Ζώα ζωολογικών κήπων και ζώα εργαστηρίων μπορούν να αποτελέσουν πηγή μόλυνσης για τους ανθρώπους που τα περιποιούνται. Σε μία μελέτη, που έγινε όταν σταυλήτες που χειρίστηκαν νεοεισερχόμενα θηλαστικά παρουσίασαν

καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα, βρέθηκε καμπυλοβακτηρίδιο στο 18% των υγιών και στο 60% των ασθενών πιθήκων<sup>110</sup>.

## 6.2. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΑΠΟ ΑΤΟΜΟ ΣΕ ΑΤΟΜΟ

Μετάδοση από άτομο σε άτομο δεν έχει αναφερθεί. Το *Campylobacter jejuni* έχει αναφερθεί ως αίτιο νεογνικής γαστροεντερίτιδας και ως αίτιο σηπτικής αποβολής. Συνήθως, όταν εμφανίζεται νεογνική γαστροεντερίτιδα, υπάρχει ιστορικό διάρροιας της μητέρας<sup>111</sup>. Αυτό υποδηλώνει ότι η μητρική μόλυνση μπορεί να συμβεί από την πεπτική οδό και να μεταδοθεί στο έμβρυο μέσω του πλακούντα, μετά από σηψαιμία της μητέρας.

Σεξουαλική μετάδοση του *Campylobacter* από άντρα σε γυναίκα δεν έχει αναφερθεί. Ωστόσο έχουν αναφερθεί δύο περιπτώσεις καμπυλοβακτηριδιακής πρωκτίτιδας, σε ομοφυλόφιλους άνδρες<sup>112,113</sup>. *Campylobacter jejuni* δεν έχει απομονωθεί από ομοφυλόφιλους, χωρίς γαστροεντερικά συμπτώματα<sup>74</sup>.

Αν και οι περισσότερες μολύνσεις από *Campylobacter jejuni* συνοδεύονται από μία τουλάχιστον ήπια εντερίτιδα, η βακτηριαιμία σε μία εγκυμονούσα γυναίκα μπορεί να συνοδεύεται από σοβαρή μόλυνση του εμβρύου. Μία 24χρονη Καναδή γυναίκα, έγκυος στη 18 εβδομάδα εγκυμοσύνης, παρουσίασε εμπύρετο νόσημα, χωρίς διάρροια. Το έμβρυο πέθανε κατά την διάρκεια της λοίμωξης της μητέρας. Το *Campylobacter jejuni* απομονώθηκε από υλικό της μητέρας (αίμα, πλακούντας) και του εμβρύου (σπλήνας)<sup>114</sup>.

Στην Αγγλία, ένα νεογέννητο με καισαρική, παρουσίασε διάρροια τρεις ημέρες μετά τον τοκετό. Από περιπτώματα της μητέρας και του μωρού απομονώθηκε *Campylobacter jejuni*. Η καλλιέργεια αίματος του νεογνού έδειξε μόλυνση από *C. jejuni*, που θεωρήθηκε ότι μολύνθηκε ενδομητρίως<sup>115</sup>.

Σε μία μεγάλη επιδημία, που προήλθε από κατανάλωση γάλακτος, σε 2500 παιδιά ηλικίας 2 έως 7 ετών, παρουσιάστηκε δευτερογενής μετάδοση σε άλλα παιδιά ή ενήλικους στο σπίτι στο 20% των περιπτώσεων<sup>116</sup>. Αντιθέτως, σε μία άλλη επιδημία στην Ιαπωνία, σε παιδιά 6 έως 12 ετών, που φοιτούσαν στο ίδιο σχολείο τον Μάιο του 1980, 800 από τα 2500 παιδιά παρουσίασαν τα ίδια συμπτώματα διάρροιας και πυρετού για 2 έως 3 ημέρες, αλλά δεν παρουσιάστηκαν δευτερογενείς μεταδόσεις της λοίμωξης σε άλλα άτομα της οικογένειάς τους<sup>117</sup>.

### **6.3. ΜΕΤΑΔΟΣΗ ΜΕΣΩ ΤΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

Η μετάδοση των *Campylobacter* spp στον άνθρωπο είναι κυρίως τροφιμογενής. Η παρουσία του *C. jejuni* στα διάφορα τρόφιμα, ακόμη και σε πολύ μικρούς αριθμούς, προκαλεί τροφιμογενή νόσο. Έτσι τα τρόφιμα αποτελούν το «όχημα», με το οποίο γίνεται η μόλυνση του ανθρώπου και μάλιστα με παρόμοιο τρόπο, όπως και για την *Salmonella*.

Ωμά ή μη σωστά ψημένα κρέατα, μη παστεριωμένο γάλα, ωμά οστρακοειδή, άλλα τρόφιμα ή και θερμικά επεξεργασμένα τρόφιμα που επιμολύνονται εξαιτίας επαφής τους με ωμά τρόφιμα ζωικής προέλευσης ή με μολυσμένες επιφάνειες τεμαχισμού και επεξεργασίας ωμών κρεάτων αποτελούν την κυριότερη πηγή μόλυνσης του ανθρώπου.

Η πρώτη καταγεγραμμένη επιδημία τροφιμογενούς προέλευσης, με *Campylobacter* ήταν το 1938 σε μία φυλακή του Illinois των ΗΠΑ, όπου ενοχοποιήθηκε το γάλα ως πιθανό αίτιο μετάδοσης. Σε χρωματισμένα παρασκευάσματα κοπράνων, στο 20% των ασθενών, παρατηρήθηκαν δονάκια. Η απομόνωση μικροαεροφίλων δονακίων από το αίμα 13 από τους 39 ασθενείς, ήταν σοβαρή ένδειξη ότι αυτά ήταν τα αίτια της διάρροιας<sup>14</sup>.

Αργότερα, όταν η απομόνωση του *C. jejuni* από τα κόπρανα έγινε πιο εύκολη, αναφέρθηκαν διάφορες επιδημίες, όπως στην Καλιφόρνια το 1977<sup>118</sup>, Κολοράντο το 1978<sup>119</sup>, Νέο Μεξικό το 1979 και στο Όρεγκον<sup>120</sup>, Κάνσας<sup>115</sup>, Αριζόνα<sup>66</sup>, Τζόρτζια<sup>121</sup> και Μιννεσότα το 1981<sup>120</sup>.

Στην Αγγλία και στην Ουαλία το μη παστεριωμένο γάλα θεωρείται η πιο συχνή αιτία μετάδοσης *Campylobacter* στον άνθρωπο. Ο Robinson και οι συνεργάτες του περιέγραψαν 13 επιδημικές εξάρσεις, που κατ' εκτίμηση αφορούσαν 4500 άτομα, σε μία περίοδο από το 1978 έως το 1980<sup>122,123,116</sup>. Σε μία άλλη επιδημία στην Αγγλία το *C. jejuni* απομονώθηκε από υλικό που πάρθηκε από την αγέλη των ζώων και από τα φίλτρα, που χρησιμοποιήθηκαν κατά την επεξεργασία του γάλακτος<sup>122</sup>.

Το τρόφιμο όμως που συχνότερα αποτελεί το όχημα για την τροφιμογενή καμπυλοβακτηριδιακή εντερίτιδα είναι το πλημμελώς ψημένο κρέας, ιδιαίτερα των πουλερικών, αλλά και χοιρινό, βοδινό, αρνίσο, κ.τ.λ.<sup>124</sup>. Οι Hayek και Cruickshank<sup>125</sup> περιέγραψαν τροφική δηλητηρίαση από *C. jejuni* σε άτομα, που παραβρέθηκαν σε γεύμα και για την οποία ενοχοποιήθηκαν μολυσμένα κοτόπουλα. Οι ίδιοι συγγραφείς επισήμαναν ότι το καμπυλοβακτηρίδιο θα πρέπει να αναζητείται ως πιθανό αίτιο σε κάθε περίπτωση τροφικής δηλητηρίασης.

Ανεπαρκώς ψημένο κρέας πουλερικών, που καταναλώθηκε από νεοσύλλεκτους φαντάρους, κατά την διάρκεια ασκήσεών τους, ήταν αιτία για μια μεγάλη επιδημία στην Ολλανδία<sup>126</sup>. Αιτία άλλης μιας μεγάλης επιδημίας στην Ολλανδία το 1996 ήταν η κατανάλωση μολυσμένων οστρακοειδών<sup>127</sup>.

Μεγάλες επιδημίες καμπυλοβακτηριδίασης, που αποδόθηκαν στην κατανάλωση μολυσμένων τροφίμων έχουν αναφερθεί στην Γερμανία<sup>128</sup>, στην Ουγγαρία<sup>129</sup> και στις Η.Π.Α.<sup>130</sup>.



Σε μία μεγάλη έρευνα, που έγινε το 2007 στην Αυστρία, αναφέρθηκαν συνολικά 438 τροφιμογενείς επιδημικές εξάρσεις, που αφορούσαν 1715 ανθρώπους εκ των οποίων οι 286 χρειάστηκε να νοσηλευτούν σε νοσοκομείο και υπήρξε ένας θάνατος. *Salmonella* spp. και *Campylobacter* spp. βρέθηκαν στο 95% των περιπτώσεων. Από τις τροφιμογενείς επιδημικές εξάρσεις που καταγράφηκαν στην Αυστρία, οι 376 ήταν βακτηριακής προέλευσης, οι 11 ιογενούς προέλευσης, οι 2 οφειλόταν σε τοξίνες (εντεροτοξίνες *Staphylococcus aureus*) και μία ήταν αγνώστου αιτιολογίας. Από τις βακτηριακές μολύνσεις 264 (70,21%) οφειλόταν σε Σαλμονέλλες, 104 (27,66%) σε καμπυλοβακτηρίδια, 6 (1,6%) σε *E. coli* και 2 (0,53%) σε *Shigella* spp. Στις επιδημίες που η πηγή της μόλυνσης ήταν γνωστή, σε 49% ενοχοποιήθηκαν τα αυγά, σε 44% διάφορα προϊόντα κρέατος, κυρίως πουλερικών και σε 2% τα ψάρια<sup>131</sup>.

Σε 163 δείγματα από μονάδες επεξεργασίας κρέατος πουλερικών στη Νέα Ζηλανδία, που συλλέχθηκαν τον Δεκέμβριο του 2008, απομονώθηκαν καμπυλοβακτηρίδια από 73 (44,80%) δείγματα. Όσον αφορά τον αριθμό των καμπυλοβακτηριδίων υπολογίστηκε από 400 CFU το λιγότερο έως 600.000 CFU το περισσότερο ανά ολόκληρο σφάγιο πουλερικού. Γενικά υπολογίστηκε, στα θετικά για καμπυλοβακτηρίδιο ολόκληρα σφάγια πουλερικών, ο αριθμός τους ήταν 3,6 log CFU ανά σφάγιο<sup>132</sup>.

## 7. ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ

Ο μηχανισμός με τον οποίο το *C.jejuni* προκαλεί ασθένεια δεν είναι αρκετά γνωστός. Είναι πιθανό οι τύποι παθογένειας να είναι τόσο διαφορετικοί όσο παρουσιάζονται και στην *E. coli*. Η ποικιλομορφία αυτή μπορεί μερικώς να ερμηνεύσει τα διαφορετικά συμπτώματα της ασθένειας που προκαλεί το βακτήριο. Εν τούτοις από έρευνες περιστατικών και μελέτες είναι γνωστό πως η αλληλεπίδραση μεταξύ ξενιστή και βακτηρίου καθορίζει σε σημαντικό βαθμό την έκβαση της μόλυνσης<sup>133,22</sup>. Η μολυσματική δόση του καμπυλοβακτηρίου που είναι ικανή να προκαλέσει τροφική δηλητηρίαση είναι πολύ μικρή ( $5 \times 10^2$  βακτηριακά κύτταρα) σε σύγκριση με τα χιλιάδες βακτηριακά κύτταρα που απαιτούνται από άλλους παθογόνους οργανισμούς όπως π.χ. η σαλμονέλλα.

Λόγω της υψηλής παθογένειας του βακτηρίου είναι εύλογα αναμενόμενο ότι ο συγκεκριμένος μικροοργανισμός μπορεί να μεταδοθεί εύκολα από άνθρωπο σε άνθρωπο. Πρέπει να σημειωθεί ότι το καμπυλοβακτηρίδιο δεν επιβιώνει για μεγάλο χρονικό διάστημα εκτός σώματος (ανθρώπου ή ζώου).

### 7.1. Μηχανισμοί Παθογένειας

Τρεις μηχανισμοί παθογένειας έχουν διατυπωθεί με βάση τα κλινικά σύνδρομα:

- i. **Προσκόλληση και παραγωγή εντεροτοξινών προκαλώντας διάρροια.** Έχει αναφερθεί η παραγωγή εντεροτοξίνης με ιδιότητες ίδιες με εκείνες της θερμοανθεκτικής εντεροτοξίνης της *E.coli*, χωρίς όμως να υπάρχει ερευνητική απόδειξη για αυτό<sup>22</sup>.
- ii. **Διείσδυση και πολλαπλασιασμός μέσα στο εντερικό επιθήλιο.** Η παθογόνος δράση οφείλεται στην εντεροδιεισδυτική ικανότητα των καμπυλοβακτηριδίων που

δρουν προκαλώντας καταστροφή των κυττάρων και φλεγμονώδη απόκριση, κλινικά εκδηλούμενη ως δυσεντερία και φλεγμονώδης διάρροια με λευκοκύτταρα. Από το σύνολο των ενδεχόμενων παραγόντων μολυσματικότητας που συνδέονται με το *C.jejuni* επαρκέστερα μελετημένος είναι ο μηχανισμός των μαστιγίων. Τα πολικά μαστίγια που φέρουν τα στελέχη παίζουν ενεργητικό ρόλο στην διείσδυση όπου και απαιτείται στενή επαφή των κυττάρων<sup>22</sup>.

iii. **Κινητικότητα**, κατά την οποία ο οργανισμός διαπερνά τον εντερικό βλεννογόνο, προκαλώντας ελάχιστη καταστροφή και εξαπλώνεται στον επιθηλιακό ιστό και στον μεσεντερικό λεμφαδένα, με περαιτέρω εξωεντερικές επιπτώσεις όπως μηνιγγίτιδα. Η εξωεντερική εντόπιση των στελεχών εξαρτάται από την ικανότητά τους να αντιμετωπίσουν τους αμυντικούς μηχανισμούς, οι οποίοι καθορίζονται από το βακτήριο και από τον ξενιστή<sup>23</sup>.

## 7.2. Νόσοι στον άνθρωπο

1) Εντερίτιδα: Η νόσος εκδηλώνεται απότομα μετά από επώαση 1-6 ημερών. Τα περισσότερα άτομα που νοσούν από καμπυλοβακτηριδίαση παρουσιάζουν συμπτώματα όπως διάρροια, σπασμούς, κοιλιακούς πόνους και πυρετό για 2-5 ημέρες μετά την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων. Οι κενώσεις περιέχουν λευκά αιμοσφαίρια και αίμα, ενώ συχνά συνοδεύονται από ναυτία και έμετο. Η ασθένεια διαρκεί τυπικά μία εβδομάδα. Υπάρχουν βέβαια περιπτώσεις όπου προσβεβλημένα από το βακτήριο άτομα δεν εμφανίζουν συμπτώματα.

2) Σηψαιμία –Μικροβαιμία: Εμφανίζεται με γενικά συμπτώματα. Είναι συχνότερη σε άτομα με προδιαθεσικούς παράγοντες όπως η μεσογειακή αναιμία, η ανοσοκαταστολή, ο αλκοολισμός, η εγκυμοσύνη, η ιδιοπαθής θρομβοπενική πορφύρα. Η θνητότητα στις περιπτώσεις αυτές είναι υψηλή.

3) Εξωεντερικές λοιμώξεις, εμφανιζόμενες ιδιαίτερα στην παιδική ηλικία (ομάδα υψηλής ευπάθειας) όπως μηνιγγίτιδα, εγκεφαλίτιδα, σηπτική αρθρίτιδα, απόστημα λεμφαδένων κ.ά. Οι συγκεκριμένες εκδηλώσεις παρατηρούνται κυρίως σε ασθενείς με σύνδρομο επίκτητης ανοσο-ανεπάρκειας (AIDS).

Πρόσφατα, αναγνωρίστηκαν επιπλοκές που ακολουθούν την πρωτογενή λοίμωξη, όπως η αρθρίτιδα και το σύνδρομο Guillain-Barré<sup>23</sup>.



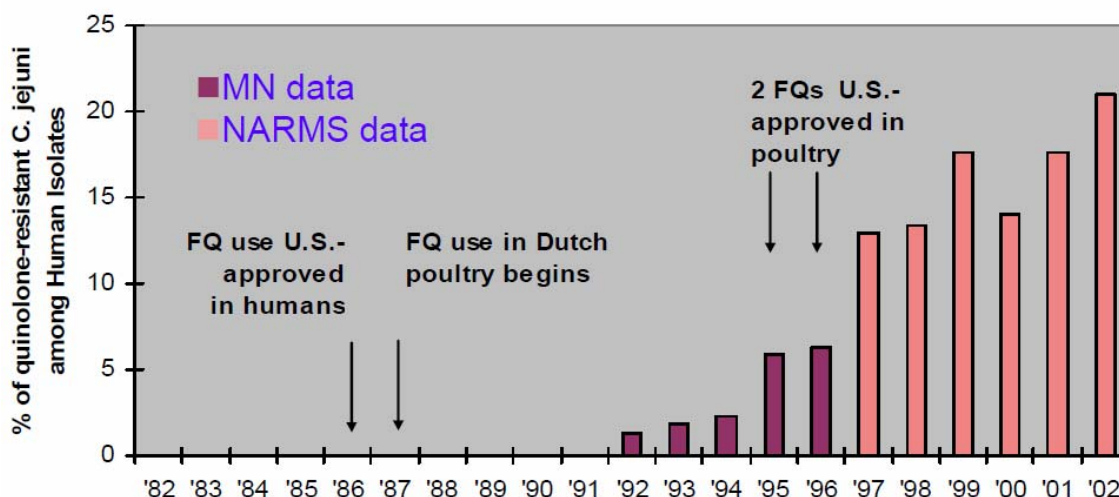
## 8. ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ – ΑΝΤΟΧΗ ΣΤΑ ΑΝΤΙΒΙΟΤΙΚΑ

### 8.1. Γενικά περί αντοχής των τροφιμογενών στελεχών βακτηρίων

Η παρουσία παθογόνων βακτηρίων στα τρόφιμα είναι αρκετά συχνή. Η μεταφορά αντοχής από βακτήρια ζωικής προέλευσης σε άλλα βακτήρια της ανθρώπινης χλωρίδας, αν και λιγότερο συχνή, είναι αποδεδειγμένη. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η μικροβιακή αντοχή παρουσιάζει διακυμάνσεις από πληθυσμό σε πληθυσμό, από εκτροφή σε εκτροφή, καθώς και από χώρα σε χώρα, καθώς εξαρτάται από την χρήση και από την συχνότητα έκθεσης σε συγκεκριμένα αντιβιοτικά.

Επιδημιολογικές μελέτες έδειξαν ότι η συχνότητα απομόνωσης ανθεκτικών στα αντιβιοτικά στελεχών *E. coli* και *Campylobacter* spp στον άνθρωπο, αυξάνεται με την αύξηση χρήσης των αντιβιοτικών στα ζώα (Ιστόγραμμα 2)<sup>134</sup>.

**Ιστόγραμμα 2.** Η εμφάνιση της αντιβιοαντοχής του *Campylobacter* στις κινολόνες μετά την άδεια χρήσης στην κτηνιατρική πράξη<sup>134</sup>.



Μελέτες που περιλαμβάνουν μοριακή υποτυποποίηση έχουν αποδείξει την μεταφορά των ανθεκτικών βακτηρίων από τα τρόφιμα στον άνθρωπο. Οι μελέτες αυτές απέδειξαν ότι ανθεκτικά στα αντιβιοτικά στελέχη *Salmonella* spp. και

*Campylobacter* spp μεταφέρονται μέσω της τροφικής αλυσίδας, από τα ζώα στον άνθρωπο, μετά από κατανάλωση ή χειρισμό μολυσμένου κρέατος. Τα ανθεκτικά στελέχη που απομονώθηκαν από ασθενείς ήταν πανομοιότυπα με εκείνα που βρέθηκαν στα ζώα, οπότε οι μελετητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα ζώα αποτέλεσαν την πηγή της μόλυνσης. Ιδιαίτερη ανησυχία προκαλεί το γεγονός ότι η χρήση αντιβιοτικών στα παραγωγικά ζώα οδηγεί στην επιλογή των εντερικών βακτηρίων που εμφανίζουν αντοχή σε συγκεκριμένους αντιμικροβιακούς παράγοντες.

Σύμφωνα με νεότερα δεδομένα, υπάρχει η δυνατότητα μεταφοράς γονιδίων αντοχής από ανθεκτικά τροφιμογενή βακτήρια, σε ευαίσθητα στελέχη της εντερικής χλωρίδας του ανθρώπου, με αποτέλεσμα ο τελευταίος να κινδυνεύει εφενός λόγω αποτυχίας της θεραπευτικής αγωγής και αφετέρου εξ αιτίας της ανάπτυξης μικροβιακής αντοχής<sup>135</sup>.

## **8.2. Η αντοχή στα αντιβιοτικά των καμπυλοβακτηριδίων που απομονώνονται από κοτόπουλα και άλλα παραγωγικά ζώα**

Το κρέας των πουλερικών είναι η συχνότερη πηγή τροφιμογενούς μόλυνσης από καμπυλοβακτηρίδιο. Επειδή όλα τα αντιβιοτικά που συνιστώνται για την θεραπεία της καμπυλοβακτηριδίασης στον άνθρωπο χρησιμοποιούνται και στην κτηνιατρική, από την άποψη της ασφάλειας τροφίμων, η εμφάνιση αντοχής στα αντιβιοτικά στελεχών καμπυλοβακτηριδίων, που απομονώθηκαν από κρέας πουλερικών, αποκτά ιδιαίτερο ενδιαφέρον. Δείγματα κρέατος πουλερικών συγκεντρώθηκαν από σημεία λιανικής πώλησης στην Ελβετία και στο Λιχενενστάϊν και εξετάστηκαν για καμπυλοβακτηρίδιο. Ένα στέλεχος από κάθε θετικό για καμπυλοβακτηρίδιο

δείγμα εξετάσθηκε για ευαισθησία στα αντιβιοτικά, με δίσκους ευαισθησίας και E-test. Συνολικά από 415 δείγματα κρέατος πουλερικών απομονώθηκαν 91 στελέχη (ποσοστό 21,93%) καμπυλοβακτηριδίου *spp*. Πενήντα ένα (56%) στελέχη ήταν ευαίσθητα σε όλα τα αντιβιοτικά που χρησιμοποιήθηκαν. Δέκα εννέα στελέχη (21%) ήταν ανθεκτικά σε ένα αντιβιοτικό, εννέα στελέχη (10%) σε δύο αντιβιοτικά και οχτώ στελέχη (8,8%) σε τρία αντιβιοτικά. Η ανθεκτικότητα αφορούσε συχνότερα τα ciprofloxacin (28,7%), tetracycline (12,6%), sulphonamides (11,8%), ampicillin (10,3%). Υπήρξε ένα πολυανθεκτικό στέλεχος σε πέντε αντιβιοτικά, συμπεριλαμβανομένων των ciprofloxacin, tetracycline και erythromycin, που είναι τα κύρια αντιβιοτικά που χρησιμοποιούνται για την καμπυλοβακτηριδίαση του ανθρώπου<sup>136</sup>.

Σε παρόμοια μελέτη, που έγινε την περίοδο Δεκέμβριος 2002 – Οκτώβριος 2003, στην περιοχή Afyon της Τουρκίας, έγινε προσδιορισμός της ευαισθησίας στα αντιβιοτικά του *Campylobacter spp*, με χρήση δίσκων ευαισθησίας ampicillin (10μg), peniciline (10 IU), amoxicillin (30 μg), tetracycline (30 μg), erythromycin (15 μg), gentamicin (15 μg), streptomycin (10 μg) και trimethoprim – sulfamethoxazole (25 μg). Τα καμπυλοβακτηρίδια που απομονώθηκαν από ήπαρ πουλερικών ήταν ευαίσθητα στα περισσότερα αντιβιοτικά, εκτός των peniciline και trimethoprim – sulfamethoxazole, για τα οποία είχαν αναπτύξει ανοχή<sup>137</sup>.

Σε μία άλλη μελέτη που έγινε το 2009 στην Ισπανία μελετήθηκε η ανθεκτικότητα 72 στελεχών *Campylobacter jejuni*, σε 13 αντιμικροβιακούς παράγοντες. Τα 23 στελέχη (31,9%) ήταν ευαίσθητα σε erythromycin, chloramphenicol, streptomycin, gentamicin, sulfamethoxazole, και meropenem, και ένα στην kanamycin. Η μεγαλύτερη ανθεκτικότητα παρατηρήθηκε στις κινολόνες (52,8%) και ήταν παρόμοια στα πτηνά, στις γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες και στα πρόβατα, αλλά



ήταν χαμηλότερη στους παχυνόμενους μόσχους. Ανθεκτικότητα στις τετρακυκλίνες (48,6%) παρατηρήθηκε στις γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες και στις β-lactams (26,4%) στα πουλερικά. Πολυανθεκτικότητα παρατηρήθηκε στις γαλακτοπαραγωγικές αγελάδες (28,6%) και στα πουλερικά (21,0%)<sup>138</sup>.

Τέλος σε μελέτη ευαισθησίας των στελεχών καμπυλοβακτηριδίου που απομονώθηκαν από ανθρώπους και η οποία έγινε στην Ελλάδα, από το 2001 έως το 2011, προέκυψε ανθεκτικότητα στην κοτριμοξαζόλη (47,7%) και στις κινολόνες (ναλιδιξικό οξύ 23,9%, σιπροφλοξασίνη 12%). Αντίθετα, η ανθεκτικότητα στις αμινογλυκοσίδες και στην ερυθρομυκίνη βρέθηκε πολύ χαμηλή<sup>36</sup>.

## **9. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΔΙΑΓΝΩΣΗ**

### **9.1. Κλινικά δείγματα**

Το δείγμα για την αναζήτηση καμπυλοβακτηρίων είναι συνήθως κόπρανα, αλλά μπορεί να αναζητηθούν και στο αίμα και σε άλλα παθολογικά υλικά ως αποτέλεσμα τοπικών φλεγμονών. Οι τεχνικές που εφαρμόζονται στο εξεταστέο υλικό είναι οι εξής:

- 1) Καλλιέργεια (συνήθως κοπράνων ή αίματος)
- 2) Άμεση μικροσκοπική αναζήτηση σπειροειδώς κινούμενων βακτηριδίων στα κόπρανα σε υγρό παρασκεύασμα.
- 3) Άμεση μικροσκοπική αναζήτηση σε χρωματισμένα κατά Gram παρασκευάσματα.
- 4) Ορολογική διάγνωση με αναζήτηση ειδικών αντισωμάτων στο ορό του αίματος (IFA, EIA)
- 5) Μοριακές τεχνικές (PCR, Real Time PCR, Reverse Transcriptase –PCR, DNA sequence)

### **9.2. Δείγματα τροφίμων**

Όσον αφορά τα τρόφιμα ο μικροβιολογικός έλεγχος για καμπυλοβακτηρίδια είναι ποιοτικός. Τα δείγματα των τροφίμων που είναι ύποπτα για μόλυνση με καμπυλοβακτηρίδια συνήθως έχουν υποστεί επεξεργασίες που καταπονούν τους μικροοργανισμούς (θέρμανση, κατάψυξη) και για αυτό είναι καλό να γίνεται αναζωογόνησή τους πρώτα με μέθοδο εμπλουτισμού και μετά να γίνεται η προσπάθεια απομόνωσης τους. Οι τεχνικές που εφαρμόζονται στα τρόφιμα είναι οι εξής:

## **9.2.1. Κλασική Καλλιέργεια**

### **9.2.1.1. Μέθοδος καταμέτρησης με επιφανειακή επίστρωση μετά από εμπλουτισμό**

Προηγείται εμπλουτισμός του δείγματος σε ένα εμπλουτιστικό ζωμό (Exeter broth, Preston broth, Bolton broth) και στην συνέχεια γίνεται επιφανειακή επίστρωση σε στερεό εκλεκτικό υπόστρωμα (Exeter agar, Skirrow agar, Preston agar, Bolton agar κ.ά)

**Εμπλουτιστικός ζωμός:** Exeter Broth (EB) που είναι κοινός θρεπτικός ζωμός (NB) με προσθήκη αιμολυμένου αίματος ίππου (50 ml/1000 ml ζωμού NB), συμπληρώματος FBP (ferrous sulphate, sodium metabisulphite, sodium pyruvate, 250 mg από το καθένα σε 1000 ml ζωμού NB) και μίγματος αντιβιοτικών (10 mg trimethoprim, 10 mg rifampicin, 15 mg cefoperazone, 4 mg polymyxin, 2 mg amphoteroicin, οι ποσότητες αυτές των αντιβιοτικών αντιστοιχούν σε 1000 ml ζωμού NB).

**Στερεά εκλεκτικά υποστρώματα:** Exeter Agar (EA) ή τροποποιημένο CCDA χωρίς αίμα, ή υπόστρωμα Skirrow ή Preston ή Bolton άγαρ.

#### **Διαδικασία εξέτασης του δείγματος**

- 1.** Ομοιογενοποίηση 25g του τροφίμου σε 225 ml ζωμού EB.

2. Μεταφορά του ομοιογενοποιημένου δείγματος σε αποστειρωμένο γυάλινο φιαλίδιο με βιδωτό πώμα, το οποίο γεμίζουμε σχεδόν μέχρι επάνω και το βιδώνουμε σφιχτά.
3. Επώαση στους 37°C για 18 - 48 ώρες (κατά προτίμηση σε κλίβανο με ανεμιστήρα).
4. Ανακαλλιέργεια σε κατάλληλο εκλεκτικό άγαρ EA ή τροποποιημένο CCDA, ή Skirrow ή Preston.
5. Επώαση σε τρυβλία στους 42°C για 24 - 48 ώρες τουλάχιστον, σε μικροαερόφιλο περιβάλλον (ατμόσφαιρα υδρογόνου ή αζώτου με 5 -10% διοξείδιο του άνθρακα και 5 - 10% οξυγόνο). Αν δεν αναπτυχθούν αποικίες στις 48 ώρες τα αφήνουμε στην επώαση μέχρι και 72 ώρες.
6. Επισκόπηση των αποικιών κάθε ημέρα για την ανάπτυξη ύποπτων αποικιών.
7. Οι αποικίες των *C. jejuni* και *C. lari* είναι επίπεδες, γυαλιστερές, με τάση να διαχέονται κατά μήκος της γραμμής επίστρωσης στο άγαρ. Όσες αποικίες είναι μεμονωμένες μοιάζουν με σταγόνες υγρού. Με την πάροδο του χρόνου επώασης γίνονται κυρτές, θολές και σταδιακά εμφανίζουν μία μεταλλική λάμψη.
8. Οι αποικίες του *C. coli* είναι κυρτές, αλλά πιο φουσκωτές, η επιφάνεια τους παραμένει γυαλιστερή και έχουν μικρότερη τάση διάχυσης.
9. Η ταυτοποίηση από τις ύποπτες αποικίες γίνεται με τη δοκιμή της οξειδάσης (τα καμπυλοβακτηρίδια είναι οξειδάση θετικά), με βάση τις βιοχημικές ιδιότητές τους, την ανάπτυξή τους σε αιματούχο άγαρ, που επωάζεται σε μικροαερόφιλο περιβάλλον στους 42 °C για 24 - 48 ώρες και με μικροσκόπηση. Τα καμπυλοβακτηρίδια είναι Gram αρνητικά βακτήρια. Εάν το παρασκεύασμα γίνει

αμέσως μετά την έξοδο της καλλιέργειας από τον κλίβανο έχουν σχήμα S ή σπιράλ, ενώ εάν παραμείνει στο περιβάλλον παίρνουν την μορφή κόκκων εξαιτίας της έκθεσης σε οξυγόνο.

**10.** Η τυποποίηση μπορεί να γίνει με χρήση ειδικών αντιορών ή να σταλεί το στέλεχος που απομονώθηκε σε Κέντρο Αναφοράς.

### **9.2.2. Άλλες μέθοδοι ανίχνευσης καμπυλοβακτηριδίων σε τρόφιμα**

Ανοσοενζυμικές (EIA, ELISA, ELFA)

Ανοσομαγνητικός διαχωρισμός (IMS)

Μοριακές τεχνικές (PCR, Real Time PCR, Reverse Transcriptase –PCR, multiplex PCR, DNA probes, DNA hybridization, DNA sequence).

## **10. ΠΡΟΛΗΨΗ-ΠΡΟΦΥΛΑΞΗ**

Για την αποφυγή μετάδοσης του καμπυλοβακτηριδίου στον άνθρωπο είναι απαραίτητο να τηρούνται κάποιοι βασικοί κανόνες υγιεινής, τόσο από τους κτηνοτρόφους που ασχολούνται με τα ζώα, όσο και από τους καταναλωτές τροφίμων ζωικής προέλευσης.

### **10.1. Μέτρα πρόληψης και υγιεινής στις πτηνοτροφικές μονάδες**

Ειδικότερα στην μονάδες πάχυνσης πουλερικών, που περισσότερο μας ενδιαφέρει στην διατριβή αυτή, πρέπει να τηρούνται σχολαστικά οι κανόνες βιοασφάλειας. Με τον όρο ΒΙΟΑΣΦΑΛΕΙΑ εννοούμε το σύνολο των μέτρων που λαμβάνουμε και των ενεργειών που κάνουμε, με σκοπό την εξάλειψη, ει δυνατόν, εντός του ζωικού πληθυσμού, των παθογόνων μικροοργανισμών ή την διατήρησή τους στο χαμηλότερο δυνατόν επίπεδο και την αποτροπή εισόδου ή εξόδου αυτών από τους πτηνοθαλάμους.

Επιτυγχάνεται με:

- Ένα πρόγραμμα σωστών απολυμάνσεων των κτιρίων και του περιβάλλοντος χώρου, τόσο πριν την άφιξη του ζωικού κεφαλαίου (τελική απολύμανση), όσο και κατά την διάρκεια της εκτροφής (τακτική απολύμανση).
- Κατάλληλο πρόγραμμα εμβολιασμών κατά των ασθενειών που συνήθως εμφανίζονται στην κάθε περιοχή.
- Λήψη μέτρων απομόνωσης και παρεμπόδισης εισόδου ή εξόδου πιθανών μολυσματικών παραγόντων.

Η εκλογή του κατάλληλου απολυμαντικού είναι πολύ βασικός παράγοντας για την επιτυχία της απολύμανσης και εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, κυριότεροι των οποίων είναι:

- Η φύση των νοσημάτων που είχαν εκδηλωθεί και η επιζωοτολογική κατάσταση που επικρατεί στην περιοχή.
- Το αντιμικροβιακό φάσμα (εί δυνατόν να είναι ιοκτόνο, βακτηριοκτόνο, μυκητοκτόνο).
- Ο τρόπος δράσης (να είναι δραστικό σε κάθε θερμοκρασία και σκληρότητα νερού).
- Η ασφάλεια για τον άνθρωπο που το χειρίζεται.
- Το εάν είναι ή όχι βιοαποικοδομήσιμο.
- Οι πιθανές ή όχι διαβρωτικές ιδιότητες.
- Η διάρκεια της δράσης του, που προλαμβάνει την πρόωρη επαναμόλυνση.
- Ο τρόπος εφαρμογής του να μην είναι δύσκολος και να μπορεί να εφαρμόζεται εύκολα με πολλούς τρόπους (ψεκασμό, αφρισμό, υποκαπνισμό).
- Το κόστος του τελικού διαλύματος.

Παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητα των απολυμάνσεων είναι η σύνθεση του απολυμαντικού

- Οι συνθήκες αποθήκευσής του
- Ο τρόπος χορήγησής του
- Η θερμοκρασία χώρου στον οποίο γίνεται η απολύμανση (π. χ. για να χρησιμοποιηθεί η φορμαλδεΰδη απαιτείται θερμοκρασία μεγαλύτερη των 20° C)
- Η σχετική υγρασία του χώρου (π. χ. η χρήση φορμαλδεΰδης απαιτεί σχετική υγρασία μεγαλύτερη του 70%)

- Η ποσότητα του διαλύματος ανά τετραγωνικό μέτρο (περί τα 500 ml)
- Ο χρόνος δράσης του απολυμαντικού
- Η απορροφητικότητα της προς απολύμανση επιφάνειας
- Η ποσότητα της οργανικής ύλης που πιθανόν να παρέμεινε μετά τον καθαρισμό
- Η αντίσταση των μικροοργανισμών
- Η ποιότητα του νερού

Τέλος πρέπει να τονίσουμε ότι το προσωπικό που πραγματοποιεί τις απολυμάνσεις πρέπει να είναι έμπειρο και εφοδιασμένο με ειδικές προστατευτικές φόρμες εργασίας, με κάλυμμα κεφαλής, προστατευτικά γυαλιά, μάσκα, γάντια και αντιολισθητικές μπότες. Για καθαρά λόγους ασφαλείας να εργάζονται μαζί δύο τουλάχιστον άτομα. Επίσης θα πρέπει να τηρούνται και τα ακόλουθα γενικά μέτρα πρόληψης των λοιμωδών νοσημάτων στις μονάδες:

- Να περιορισθεί ο αριθμός των επισκεπτών στους απολύτως απαραίτητους
- Οι επισκέπτες να πλένουν τα χέρια τους και να φορούν ειδικές στολές (φόρμες) μιας χρήσης με κάλυμμα κεφαλής και μπότες, πριν την είσοδο στην μονάδα.
- Κατά την έξοδο να πλένουν και πάλι τα χέρια τους και να βγάζουν τις φόρμες που φορούσαν. Ο χώρος αλλαγής των ρούχων βρίσκεται στην είσοδο της μονάδος.
- Στην είσοδο της μονάδος, αλλά και στην είσοδο των κτιρίων, υπάρχει λουτρό απολύμανσης των υποδημάτων.
- Τα εισερχόμενα αυτοκίνητα να οδηγούνται να περάσουν από ειδικά διαμορφωμένους χώρους με απολυμαντικό (λουτρό για τους τροχούς) ή μέσω



συστήματος αυτόματης απολύμανσης. Η επί τοις εκατό συγκέντρωση του απολυμαντικού να παραμένει σταθερή.

- Τέλος πρέπει να τηρείται **βιβλίο επισκεπτών**, με καταγραφή κάθε λεπτομέρειας (ονοματεπώνυμο και ιδιότητα του επισκέπτη, ώρα και ημέρα επίσκεψης, σκοπός της επίσκεψης, προηγούμενες επισκέψεις κ. λ. π.), που πιθανόν να είναι χρήσιμες σε μία μελλοντική επιζωοτολογική έρευνα.

### **10.2. Οδηγίες προς τους καταναλωτές**

Οι καταναλωτές πρέπει να διατηρούν, στις σωστές θερμοκρασίες συντήρησης, χωριστά τα μαγειρευμένα πουλερικά από τα ωμά πουλερικά και να χρησιμοποιούν διαφορετικά σκεύη (μαχαίρια, σανίδες κοπής κ.τ.λ..) για τα ωμά από τα μαγειρευμένα. Να κάνουν επαρκή θερμική επεξεργασία των κρεάτων, πριν την κατανάλωσή τους και να κάνουν σχολαστικό καθάρισμα των σκευών, των εργαλείων, των επιφανειών κοπής των κρεάτων, απορρυπαντικό και ζεστό νερό.

### **10.3. Εμβόλιο κατά του καμπυλοβακτηριδίου**

Η καμπυλοβακτηριδίαση είναι ένα σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας, με παγκόσμια εξάπλωση. Η ταχεία αύξηση της αντίστασης του καμπυλοβακτηριδίου στα αντιβιοτικά, επιβάλλει αλλαγή στρατηγικής και έρευνα για πιο αποτελεσματικές μεθόδους προστασίας του ανθρώπου. Η αύξηση των μολύνσεων του ανθρώπου από καμπυλοβακτηρίδιο, στις ανεπτυγμένες χώρες, συμβαίνει σποραδικά, κυρίως από τη βρώση μη καλώς ψημένου κρέατος μολυσμένου πουλερικού.

Η πιο αποτελεσματική στρατηγική μείωσης του αριθμού των μολύνσεων του ανθρώπου από καμπυλοβακτηρίδιο, είναι η εφαρμογή προληπτικού εμβολιασμού

για τους ανθρώπους ή και για τα κοτόπουλα. Δυστυχώς, παρά τις έρευνες, για περίπου δέκα χρόνια, δεν έχει ακόμη παραχθεί ένα αποτελεσματικό εμβόλιο για την καμπυλοβακτηριδίαση. Η δημιουργία ανοσίας στα πουλερικά, με την χρήση ενός εμβολίου, μέσω της πεπτικής οδού, αποδεικνύεται αρκετά δύσκολη. Το εμβόλιο πρέπει να υπερνικήσει την αντίδραση των μητρικών αντισωμάτων, σε λιγότερο από 2-3 εβδομάδες. Οι ερευνητές πρέπει να κατανοήσουν καλύτερα το ανοσοποιητικό σύστημα των πουλερικών.

Σήμερα η περισσότερο υποσχόμενη προσπάθεια που γίνεται για την κατασκευή εμβολίου, αφορά αυτήν κατά την οποία το εμβόλιο κατά του καμπυλοβακτηριδίου, χρησιμοποιεί σαν " όχημα"(vector) το εμβόλιο κατά της σαλμονέλλωσης<sup>139</sup>. Ακόμη γίνονται μελέτες για την δημιουργία ενός εμβολίου, που θα μπορεί να χορηγείται με ενέσιμο τρόπο, κατά την διάρκεια της επώασης των γονιμοποιημένων αυγών στο εκκολαπτήριο (in ovo), με γενετικά ανασυνδυασμένο μικροοργανισμό. Πειραματικά αποτελέσματα δείχνουν ότι ο ενοφθαλμισμός του ανασυνδυασμένου εμβολίου στα εμβρυοφόρα αυγά, κατά την διάρκεια της επώασης, στα εκκολαπτήρια πιθανόν, διεγείρει την ανοσολογική αντίδραση των εμβρύων<sup>140,141</sup> χωρίς να έχει επιβλαβή επίδραση στο νεοσσό.



## **ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## **1. ΣΚΟΠΟΣ**

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η διερεύνηση του επιπολασμού των Καμπυλοβακτηριδίων στα κοτόπουλα και η αξιολόγηση του πιθανού κινδύνου για την δημόσια υγεία.

## **2. ΥΛΙΚΑ και ΜΕΘΟΔΟΣ**

### **2.1. ΥΛΙΚΑ**

#### **2.1.1. Συλλογή και είδος δειγμάτων**

Εξετάσθηκαν συνολικά 369 δείγματα νωπού κρέατος (στήθος ή μπούτι) πουλερικών (κοτόπουλα), τα οποία συλλέχθηκαν από πτηνοσφαγεία της περιοχής της Ηπείρου, από διάφορα σημεία πώλησης (κρεοπωλεία, σούπερ-μάρκετ) στην πόλη των Ιωαννίνων, καθώς και από τα εστιατόρια ιδρυμάτων (φοιτητικό εστιατόριο, εστιατόρια νοσοκομείων).

Στα δείγματα συμπεριλαμβάνονται και 60 δείγματα νωπού κρέατος πουλερικών (κοτόπουλα) επιλεγμένης εκτροφής. συγκεκριμένα επιλέχθηκαν δείγματα από κοτόπουλα που ανέγραφαν στην συσκευασία τους ότι ήταν προϊόντα ελεύθερης εκτροφής.

Τα δείγματα μεταφέρονταν στο εργαστήριο σε διάστημα περίπου μιας ώρας από την λήψη τους, μέσα σε αποστειρωμένους περιέκτες μιας χρήσης, με φορητό ψυγείο (θερμοκρασία 4-5°C), και ο μικροβιολογικός έλεγχος άρχιζε αμέσως μετά την άφιξή τους.

## 2.1.2. Καλλιεργητικά υλικά και αντιδραστήρια

### Ζυμός BOLTON BROTH blood- free (CM0983 Oxoid, UK)

Προεμπλουτιστικό υπόστρωμα για απομόνωση καμπυλοβακτηριδίων από τρόφιμα, το οποίο έχει την παρακάτω σύσταση (g/L):

|                         |      |
|-------------------------|------|
| Meat peptone            | 10.0 |
| Lactalbumin hydrolysate | 5.0  |
| Yeast Extract           | 5.0  |
| Sodium chloride         | 5.0  |
| Alpha-ketoglutaric acid | 1.0  |
| Sodium pyruvate         | 0.5  |
| Sodium metabisulphite   | 0.5  |
| Sodium carbonate        | 0.6  |
| Haemin                  | 0.01 |

pH 7.4 ± 0.2 στους 25°C

### BOLTON BROTH SELECTIVE SUPPLEMENT (SR0183 Oxoid, UK)

Συμπλήρωμα αντιβιοτικών ουσιών που προστίθεται στον ζυμό BB.

Χρησιμοποιείται 1 φιαλίδιο ανά 500 ml ζυμού και έχει την παρακάτω σύσταση:

|               |       |
|---------------|-------|
| Cefoperazone  | 20 mg |
| Vancomycin    | 20 mg |
| Trimethoprim  | 20 mg |
| Cycloheximide | 50 mg |

### **CAMPYFOOD ID AGAR (43471 bioMérieux S.A., 69280 Marcy l'Etoile, France)**

Έτοιμο προς χρήση χρωμογόνο εκλεκτικό υπόστρωμα για την απομόνωση καμπυλοβακτηριδίων από τρόφιμα, το οποίο διατίθεται σε συσκευασία των 20 τρυβλίων (διαμέτρου 90 mm). Περιέχει ορό ίππου που ευνοεί την ανάπτυξη των καμπυλοβακτηριδίων, ειδικούς εξουδετερωτικούς παράγοντες που αναστέλλουν την τοξική δράση του οξυγόνου, ειδικό συνδυασμό έγχρωμου δείκτη και αντιβιοτικών που υποβοηθούν την ανάπτυξη των καμπυλοβακτηριδίων γενικά και ειδικά των ειδών *C. jejuni* και *C. coli*.

Η ανάπτυξη καμπυλοβακτηριδίων χαρακτηρίζεται από την εμφάνιση ερυθρών (βαθύ κόκκινο) έως πορτοκαλλί αποικιών μετά από επώαση σε μικροαερόφιλες συνθήκες. Χρησιμοποιήθηκε για τα δείγματα που εξετάστηκαν από το 2006 και μετά, σύμφωνα με την προτεινόμενη από την ευρωπαϊκή νομοθεσία μεθοδολογία (ISO 10272-1:2006). Για τα δείγματα του 2005 χρησιμοποιήθηκε το Bolton άγαρ (Preston Agar).

### **VIDAS CAMPYLOBACTER (VIDAS CAM 30111 bioMérieux S.A., 69280 Marcy l'Etoile, France)**

Το VIDAS-CAM είναι ένα kit που χρησιμοποιείται στο *mini VIDAS* για την ανίχνευση καμπυλοβακτηριδίων στα τρόφιμα. Αποτελείται από μια ταινία (strip) που περιέχει έτοιμα όλα τα απαραίτητα αντιδραστήρια και ένα υποδοχέα στερεάς φάσης (SPR=Solid Phase Receptacle) επικαλυμένο με ειδικά αντισώματα. Με το VIDAS-CAM μπορούν να γίνουν 30 δοκιμές (τεστ). Η διάρκεια του τεστ είναι 70 min και για πλήρη επιβεβαίωση (με API CAMPY) απαιτούνται περίπου 48 ώρες.



## **API CAMPY (20800 bioMérieux S.A., 69280 Marcy l’Etoile, France)**

Πλήρες έτοιμο σύστημα βιοχημικής ταυτοποίησης καμπυλοβακτηριδίων (περιέχει 12 ταινίες βιοχημικών δοκιμασιών και τα σχετικά αντιδραστήρια για ισάριθμες δοκιμές).

### **2.1.3. Ειδικός Εξοπλισμός**

#### **2.1.3.1. Αυτόματος Αναλυτής Ανίχνευσης Παθογόνων Μικροοργανισμών σε Τρόφιμα - Mini VIDAS (mVIDAS- bioMérieux S.A., 69280 Marcy l’Etoile, France)**

Το Mini-VIDAS είναι ένας συνεπτυγμένος πολυπαραμετρικός αυτοματοποιημένος ανοσολογικός αναλυτής.

##### **- Αυτοματοποιημένος ανοσολογικός αναλυτής**

Αφού διανεμηθούν τα δείγματα από τον χρήστη, το mini VIDAS εκτελεί αυτόματα τα διάφορα στάδια της ανάλυσης, συμπεριλαμβανομένης της εκτύπωσης των αναφορών.

##### **- Συνεπτυγμένος**

Το mini VIDAS είναι απόλυτα ανεξάρτητη μονάδα που περιλαμβάνει μία αναλυτική μονάδα, με 12 θέσεις εξέτασης και εξοπλισμό επεξεργασίας δεδομένων, με οθόνη, πληκτρολόγιο και εκτυπωτή.

##### **- Πολυπαραμετρικός**

Επιτρέπει την ταυτόχρονη χρήση 10 διαφορετικών αναλύσεων και την παραγωγή μέχρι 30 αποτελεσμάτων ανά ώρα.

##### **- Ανοσολογικές αναλύσεις**

Το mini VIDAS χρησιμοποιείται με τις συνοδές συσκευασίες (kit) ανάλυσης VIDAS που καλύπτουν σημαντικά πεδία βιομηχανικής μικροβιολογίας.

Οι σχετιζόμενες με την Βιομηχανία Τροφίμων, αναλύσεις που εκτελούνται από το VIDAS είναι οι ακόλουθες

1. **Σαλμονέλλα** (τελικό αποτέλεσμα σε 48 ώρες)
2. Αυτόματος ανοσοεμπλουτισμός για **Σαλμονέλλα** (αντικαθιστά τον προεμπλουτισμό, αποτέλεσμα σε 24 ώρες αν χρησιμοποιηθεί σε συνδιασμό με την παραπάνω ανάλυση)
3. **Λιστέρια** (αποτέλεσμα σε 24 ώρες)
4. **Listeria monocytogenes** (αποτέλεσμα σε 48 ώρες)
5. **E. coli 0157** (αποτέλεσμα σε 12 ώρες)
6. Αυτόματος ανοσοεμπλουτισμός για επιβεβαίωση θετικών δειγμάτων για **E. coli 0157**
7. **Σταφυλοκοκκικές τοξίνες** (άμεσο αποτέλεσμα)
8. **Campylobacter** (αποτέλεσμα σε 48 ώρες)

### **Αρχή λειτουργίας**

Η αρχή λειτουργίας του αναλυτή βασίζεται στην μέθοδο ELFA που συνδυάζει την μέθοδο ELISA με την χρήση φθορισμού στα 450 nm. Το γεγονός αυτό προσδίδει την μέγιστη ευαισθησία στην μέθοδο, ακρίβεια και επαναληψιμότητα στις μετρήσεις.

### **Έναρξη λειτουργίας**

Εκκίνηση του mini VIDAS

- Αφήνουμε το **mini VIDAS** να ζεσταθεί για **45 λεπτά**. Κατά τη μετάβαση στην αρχική κατάσταση, το οπτικό σύστημα βαθμονομείται αυτόματα έναντι πρότυπης ουσίας που αντιδρά στη θερμοκρασία.

- Γυρίζουμε το διακόπτη λειτουργίας ON/OFF της αναλυτικής μονάδας στη θέση "OFF".
- Περιμένουμε 1 λεπτό και γυρίζουμε το διακόπτη πάλι στη θέση "ON".

Η λειτουργία αυτή επιτρέπει την απομνημόνευση της τιμής της πρότυπης ουσίας μετά την σταθεροποίηση της θερμοκρασίας.

Η διαδικασία αυτή περιλαμβάνει τα ακόλουθα:

- Αυτοτέστ και διαγνωστική του λογισμικού.

Αυτό το τμήμα της ακολουθίας δεν γίνεται αντιληπτό.

- Αυτοτέστ εξοπλισμού.

Το **mini VIDAS** εξετάζει όλα τα μοτέρ του

- Ακολουθία εκκίνησης λογισμικού.

Η ακολουθία εκκίνησης είναι ένα πρόγραμμα που φορτώνει το λογισμικό του **mini VIDAS** στη μνήμη του.

Το **mini VIDAS** μπορεί να παραμένει ενεργοποιημένο 24 ώρες την ημέρα για τρεις λόγους:

- για την αποφυγή προβλημάτων κατά την ενεργοποίησή του,

- για την αποφυγή λανθασμένης αυτό-βαθμονόμησης,

- για να επιτρέπεται να παραμένει σταθερή η θερμοκρασία των ηλεκτρικών εξαρτημάτων.

Συνεπώς, το **mini VIDAS** μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποτεδήποτε κατά τη διάρκεια της ημέρας.

## Τμήματα του mini VIDAS

### Ο μηχανικός εξοπλισμός του *mini VIDAS*

Το *mini VIDAS* είναι μια απόλυτα ανεξάρτητη μονάδα που προορίζεται για χρήση με τις συνοδές συσκευασίες ανάλυσης **VIDAS**.

\* Ο μηχανικός εξοπλισμός υλικό περιέχει τα παρακάτω στοιχεία:

- Χώρο για την εισαγωγή μέχρι 12 απλών ή 6 διπλών ταινιών αντιδραστηρίου.
- Ένα οπτικό σύστημα φθορισμού.
- Ένα μηχανικό σύστημα που επεξεργάζεται τις εξετάσεις.
- Ένα σύστημα επώασης που διατηρεί όλα τα εξαρτήματα στις απαιτούμενες θερμοκρασίες.
- Μια κεντρική μονάδα επεξεργασίας που ελέγχει ολόκληρο το όργανο ***mini VIDAS***.
- Ένα πληκτρολόγιο και οθόνη.
- Ένα θερμικό εκτυπωτή.
- Μια συσκευή ανάγνωσης γραμμokώδικα για την ανάγνωση κωδικοποιημένων πληροφοριών από την ετικέτα της ταινίας αντιδραστηρίου και των Καρτών με τα Πρότυπα Δεδομένα Παρτίδας.

### Τμήματα

Το αναλυτικό μέρος του ***mini VIDAS*** περιέχει δύο θαλάμους που ονομάζονται “Τμήματα.” Τα τμήματα επισημαίνονται ως Α και Β και λειτουργούν ανεξάρτητα, επιτρέποντας την ταυτόχρονη εκτέλεση διαφορετικών εξετάσεων στο ***mini VIDAS***.

### **Δίσκος ταινίας αντιδραστηρίου**

Στο κάτω μέρος του κάθε τμήματος υπάρχει ένα πλαστικό κάλυμμα προστασίας έναντι της σκόνης το οποίο ανασηκώνεται και αποκαλύπτει το δίσκο ταινιών αντιδραστηρίου. Ο δίσκος, αποτελείται από έξι διαύλους μέσα στους οποίους τοποθετείται η ταινία αντιδραστηρίου. Κάθε ένας από τους έξι διαύλους αποτελεί μια θέση στο τμήμα.

Μπορεί να εισαχθούν μέχρι έξι απλές ή τρεις διπλές ταινίες αντιδραστηρίου για συνολική χωρητικότητα μέχρι 12 εξετάσεων. Κατά την επεξεργασία, ο δίσκος εισέρχεται στο όργανο.

### **Θάλαμος SPR® (Υποδοχέων Στερεάς Φάσης)**

Το άνω μέρος ενός τμήματος διαθέτει μια θύρα κεκλιμένη η οποία αποκαλύπτει το θάλαμο SPR. Το κύριο χαρακτηριστικό αυτού του θαλάμου είναι η μονάδα SPR έξι θέσεων, που χρησιμοποιείται για την υποδοχή των SPR. Οι έξι θέσεις της μονάδας αντιστοιχούν στις έξι θέσεις του δίσκου ταινιών αντιδραστηρίου. Κατά την επεξεργασία, η μονάδα SPR και ο SPR σχηματίζουν ένα σύστημα αναρρόφησης που χρησιμοποιείται στα διάφορα στάδια της διεργασίας της ανάλυσης.

### **Λυχνία κατάστασης λειτουργίας**

Μια μικρή λυχνία επάνω από την θύρα του θαλάμου SPR υποδεικνύει την κατάσταση λειτουργίας του κάθε τμήματος. Όταν το τμήμα εκτελεί μια εξέταση, η λυχνία είναι αναμμένη, ενώ όταν είναι σβηστή το τμήμα αδρανεί. Η λυχνία που αναβοσβήνει υποδεικνύει ότι έχουν ολοκληρωθεί οι εξετάσεις σε εκείνο το τμήμα και ότι θα πρέπει να αφαιρεθούν οι ταινίες αντιδραστηρίου και οι SPR.

### **Μικροεπεξεργαστής**

Εκτός από την κεντρική μονάδα επεξεργασίας, κάθε τμήμα του **mini VIDAS** διαθέτει ένα μικροεπεξεργαστή. Η μονάδα ευθύνεται για την αποθήκευση και λειτουργία πρωτοκόλλων ανάλυσης. Ένα πρωτόκολλο είναι μια σειρά εντολών που περιλαμβάνουν την ανάμειξη των αντιδραστηρίων, τα στάδια έκπλυσης και τις οπτικές μετρήσεις. Επιτρέπει στο **mini VIDAS** να εκτελεί μια απόλυτα αυτοματοποιημένη ανάλυση.

### **Συσκευές επώασης**

Οι αναλύσεις που χρησιμοποιούνται στο **mini VIDAS** απαιτούν έλεγχο θερμοκρασίας. Δύο συστήματα ελέγχουν τη θερμοκρασία, ένα στο δίσκο ταινίας αντιδραστηρίου και το δεύτερο στη μονάδα SPR.

### **Σύστημα Ανίχνευσης**

Το **mini VIDAS** χρησιμοποιεί ένα φθορισμομετρικό σαρωτή ως σύστημα ανίχνευσης. Ο σαρωτής είναι τοποθετημένος σε μια μηχανική συσκευή που επιτρέπει τη χρήση του και από τα δύο τμήματα. Το **mini VIDAS** ανιχνεύει χημικές αλλαγές στην ειδική οπτική κυβέττα που βρίσκεται στο τέλος κάθε ταινίας αντιδραστηρίου.

### **Κεντρική μονάδα επεξεργασίας**

Η κεντρική μονάδα επεξεργασίας ελέγχει κάθε άποψη των λειτουργιών του οργάνου **mini VIDAS**, όπως την ανάλυση δεδομένων και τον έλεγχο των μηχανικών και οπτικών συστημάτων.

### **Πληκτρολόγιο και οθόνη**

Τα πλήκτρα στην κονσόλα του **mini VIDAS** είναι σχεδόν απόλυτα επίπεδα.

Χρησιμοποιούνται για την εισαγωγή πληροφοριών που λαμβάνονται απευθείας υπόψη όταν είναι πατημένο το πλήκτρο. Η οθόνη είναι τύπου υγρών κρυστάλλων.

Μεταφέρει όλες τις επικοινωνίες από τον υπολογιστή. Αμέσως δεξιά της οθόνης βρίσκονται πέντε πλήκτρα αφής που χρησιμοποιούνται για την επιλογή στοιχείων που εμφανίζονται στην οθόνη.

## **2.2. ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ**

### **2.2.1. Εξέταση του δείγματος με το mini Vidas**

Για την εξέταση των δειγμάτων μας και την ανίχνευση Καμπυλοβακτηριδίων στα δείγματα νωπού κοτόπουλου εφαρμόστηκε η μέθοδος ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay) με χρήση του αυτοματοποιημένου συστήματος *mini VIDAS* (bioMérieux S.A., 69280 Marcy l'Etoile, France) και των συνοδών αντιδραστηρίων (kit) Vidas CAM (bioMérieux S.A., 69280 Marcy l'Etoile, France).

Τα δείγματα κρέατος πουλερικών, ποσότητας 25 γραμμαρίων το καθένα λαμβάνονταν με αποστειρωμένα εργαλεία και μεταφέρονταν, υπό άσηπτες συνθήκες, σε αποστειρωμένο πλαστικό περιέκτη κατάλληλο για ομογενοποιητή (stomacher) και στην συνέχεια προσθέτονταν 225 ml αποστειρωμένου ζωμού Bolton.

Ο περιέκτης τοποθετούνταν στον ομογενοποιητή (Bag Mixer-Interscience) και ακολουθούσε ομοιογενοποίηση του δείγματος για 1,5 min.

Στην συνέχεια 25 ml του ομοιογενοποιημένου δείγματος μεταφέρονταν σε αποστειρωμένα δοχεία με βιδωτό πώμα που περιείχαν ζωμό Bolton (Bolton blood-free με αντιβιοτικά) και επώαζονταν στους 42° C για 48 ώρες σε μικροαερόφιλες συνθήκες (5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, και 85% N<sub>2</sub>).

Κατόπιν 1-2 ml από κάθε δείγμα τοποθετούνταν σε δοκιμαστικό σωλήνα και εμβαπτιζόνταν σε υδατόλουτρο, με θερμοκρασία νερού 95° C έως 100° C, για 15 min.

Μετά την περιγραφείσα προετοιμασία των δειγμάτων ποσότητα 500 µl από κάθε δείγμα τοποθετούνταν στις θέσεις των ειδικών ταινιών (strips) του VIDAS-CAM και στην συνέχεια αφού σφραγιζόταν το κάλυμμα της ταινίας αντιδραστηρίου και τοποθετούνταν στο μηχάνημα (mini Vidas) άρχισε η εκτέλεση των αναλύσεων. Σε 70 λεπτά είχαμε τα αποτελέσματα (δείγμα θετικό ή αρνητικό για καμπυλοβακτηρίδιο), η εκτύπωση των οποίων γίνεται αυτόματα.

### **2.2.2. Επιβεβαιωτική δοκιμασία**

Παράλληλα γινόταν και η επιβεβαιωτική δοκιμασία παρουσίας καμπυλοβακτηριδίων στο δείγμα μας ως εξής:

Από τον αρχικό προεμπλουτιστικό ζωμό Bolton (πριν τον θερμάνουμε) λαμβάνονταν με κρικοφόρο στυλεό ποσότητα 10ml του αρχικού εναιωρήματος και ενοφθαλμιζόταν σε CampyFood άγαρ.

Ακολουθούσε επώαση στους 41.5°C - 42°C για 24-48 ώρες και στην συνέχεια γινόταν βιοχημική ταυτοποίηση των ύποπτων αποικιών με API Campy. Η διαδικασία της μεθοδολογίας που ακολουθήθηκε παρουσιάζεται σχηματικά παρακάτω (Εικόνα 1):

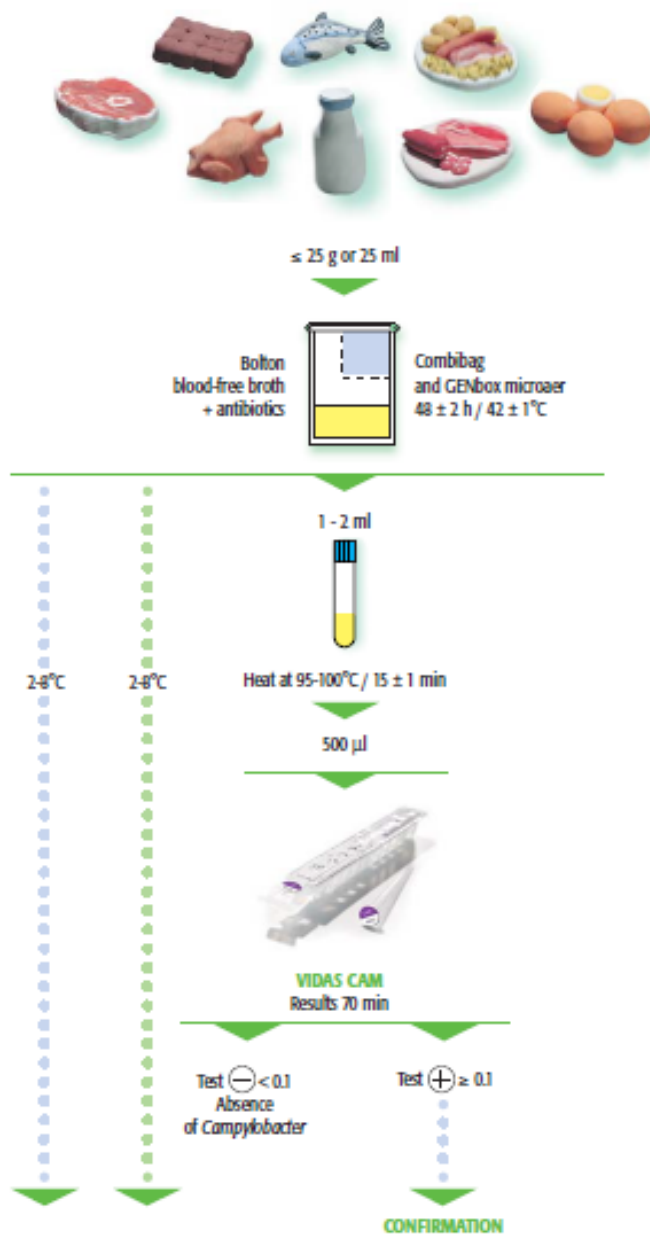


**Εικόνα 1.** Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας ανίχνευσης και ταυτοποίησης *Campylobacter* σε τρόφιμα με το Vidas CAM

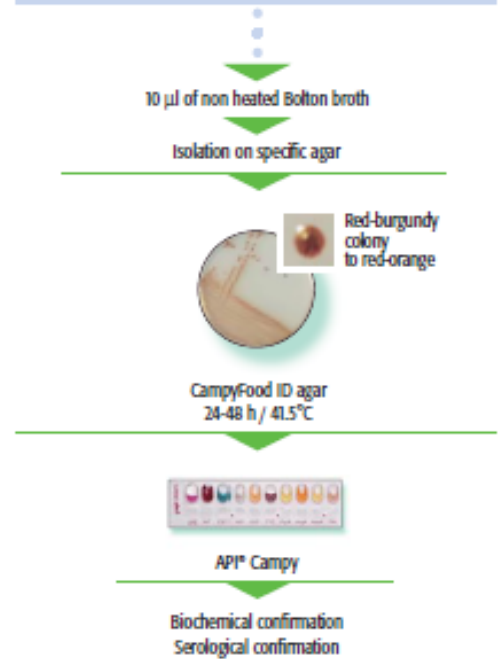
## VIDAS® CAM

## Detection and confirmation of *Campylobacter* in food products

### 1 detection using VIDAS CAM



### 2 confirmation



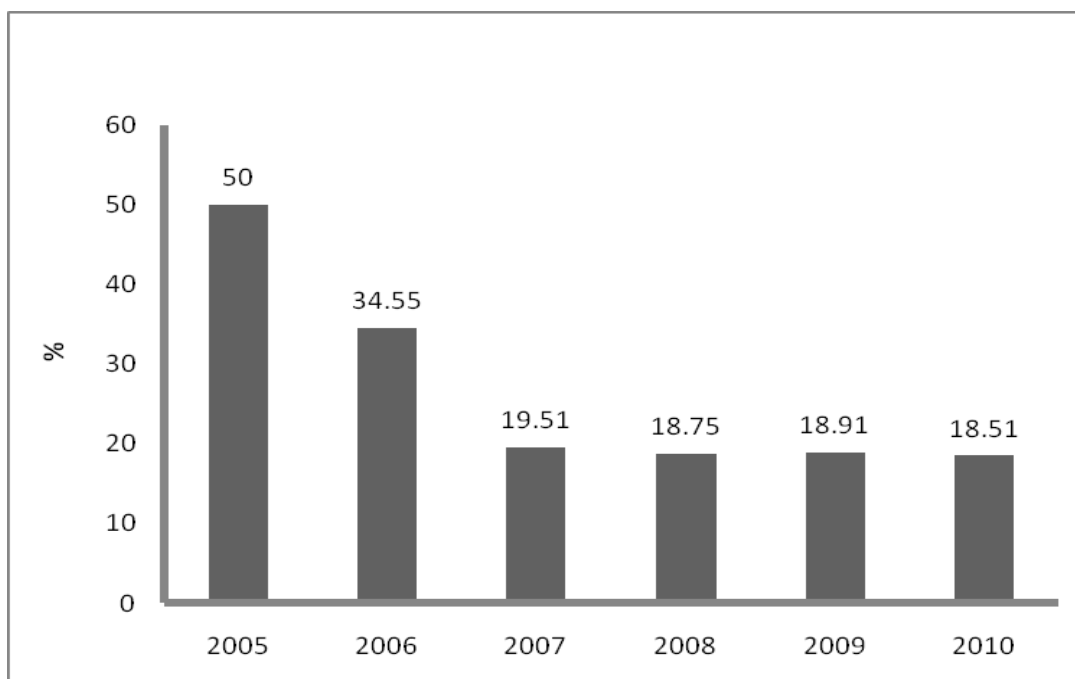
### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 1 και στο ιστόγραμμα 1. Από τα 369 δείγματα νωπού κρέατος πουλερικών, που συλλέχθηκαν από διάφορα σφαγεία και σημεία πώλησης της Ηπείρου και εξετάστηκαν, για *Campylobacter* spp., βρέθηκαν θετικά τα 106 δείγματα (ποσοστό 28,7% ).

**Πίνακας 1.** Θετικά δείγματα για καμπυλοβακτηρίδια ανά έτος μελέτης

| Έτος δειγματοληψίας | Θετικά Δείγματα (%)    |
|---------------------|------------------------|
| 2005                | 44/88 (50,0%)          |
| 2006                | 19/55 (34,6%)          |
| 2007                | 16/82 (19,5%)          |
| 2008                | 15/80 (18,8%)          |
| 2009                | 7/37 (18,9%)           |
| 2010                | 5/27 (18,5%)           |
| <b>ΣΥΝΟΛΟ</b>       | <b>106/369 (28,7%)</b> |

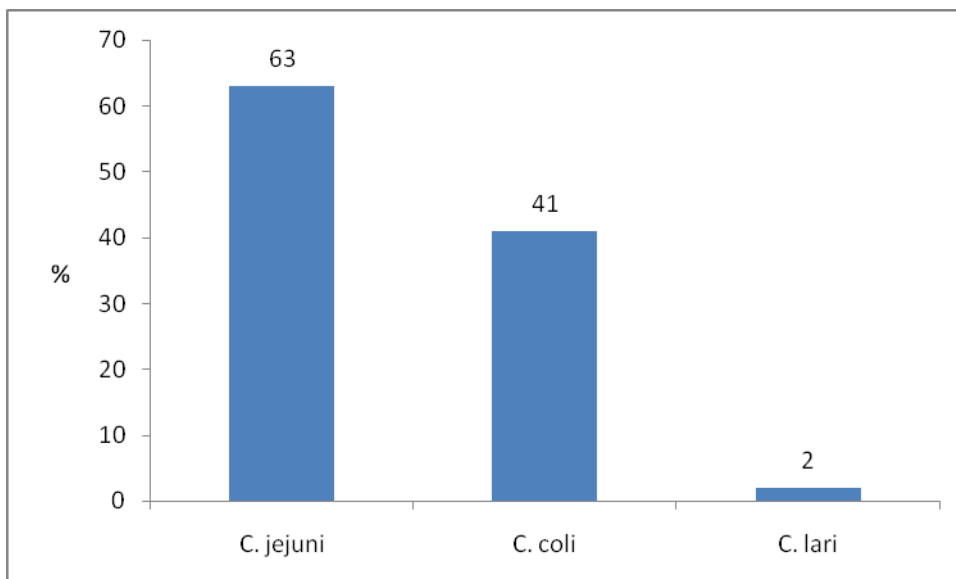
**Ιστόγραμμα 1.** Διακύμανση της συχνότητας απομόνωσης καμπυλοβακτηριδίων στην διάρκεια των έξι ετών της μελέτης



Παρατηρώντας τα αποτελέσματα στον Πίνακα 1 και στο ιστόγραμμα 1 παρατηρούμε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p < 0.05$ ) μεταξύ των αποτελεσμάτων της περιόδου 2005 και των υπολοίπων ετών της μελέτης μας, δηλαδή υπάρχει αξιοσημείωτη πτωτική τάση των θετικών σε *Campylobacter* spp δειγμάτων νωπού κρέατος πουλερικών, από το 50% του 2005 στο 18,5% του 2010.

Από τα 106 θετικά για καμπυλοβακτηρίδια δείγματα τα 63 (59,5%) ταυτοποιήθηκαν ως *C. jejuni*, τα 41 (38,7%) ταυτοποιήθηκαν ως *C. coli* και τα 2 (1,8%) ταυτοποιήθηκαν *C. lari* (Ιστόγραμμα 2).

**Ιστόγραμμα 2.** Συχνότητα απομόνωσης ειδών καμπυλοβακτηριδίων που ταυτοποιήθηκαν στην διάρκεια της παρούσας μελέτης

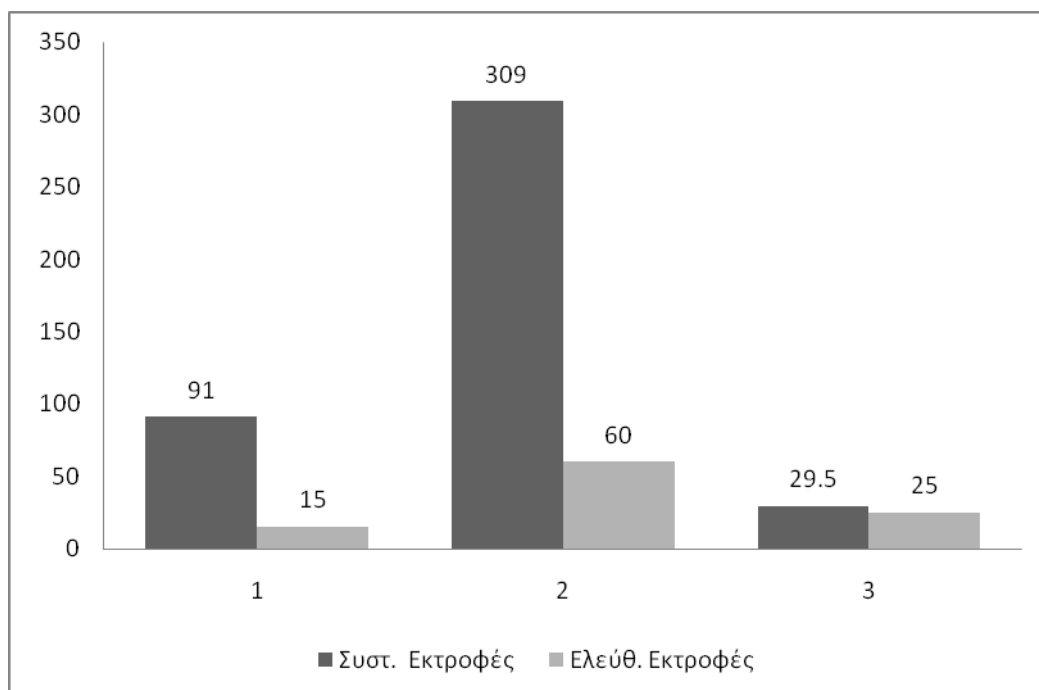


Όσον αφορά τον επιπολασμό των καμπυλοβακτηριδίων στα κοτόπουλα συστηματικών εκτροφών και σε εκείνα ελεύθερης εκτροφής δεν παρατηρήθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά ( $p > 0.05$ ) μεταξύ των θετικών απομονώσεων (29,5% και 25% αντίστοιχα) (Πίνακας 2).

**Πίνακας 2.** Απομονώσεις καμπυλοβακτηριδίων από κοτόπουλα συστηματικών εκτροφών και από κοτόπουλα ελεύθερης εκτροφής

| Είδος εκτροφής        | Θετικά δείγματα (%) |         |
|-----------------------|---------------------|---------|
| Συστηματικές εκτροφές | 91/309              | (29,5%) |
| Ελεύθερες εκτροφές    | 15/60               | (25%)   |
| Σύνολο                | 106/369             | (28,7%) |

**Ιστόγραμμα 3.** Απομονώσεις καμπυλοβακτηριδίων από κοτόπουλα συστηματικών εκτροφών και από κοτόπουλα ελεύθερης εκτροφής.





#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής δείχνουν καθαρά την παρουσία καμπυλοβακτηριδίων στα κρεοπαραγωγά ορνίθια και κυρίως στο τελικό προϊόν που φθάνει στον καταναλωτή, υποδεικνύοντας τον πιθανό κίνδυνο για την δημόσια υγεία. Η συχνότητα απομόνωσης καμπυλοβακτηριδίων στην διάρκεια της παρούσας μελέτης κυμάνθηκε από 18,5% έως 50%.

Αντίστοιχες μελέτες που έχουν γίνει σε άλλες χώρες αναφέρουν πολύ υψηλότερα ποσοστά που κυμαίνονται από 80-100%<sup>59,142,143,144,145,146,147,148,149</sup>.

Βάσει της υπάρχουσας διεθνούς και ελληνικής βιβλιογραφίας αντίστοιχες μελέτες που να αφορούν στην Ελλάδα δεν υπάρχουν. Η παρούσα μελέτη είναι η πρώτη που δίνει στοιχεία σχετικά με τον επιπολασμό των καμπυλοβακτηριδίων στο κρέας κοτόπουλου στην χώρα μας.

Στις Ηνωμένες Πολιτείες, ο επιπολασμός του *Campylobacter* spp. στα κοτόπουλα πάχυνσης κυμαίνεται από 20% σε σχεδόν 90%<sup>149,150,151,152,153</sup>.

Ο επιπολασμός του μικροοργανισμού σε άλλες χώρες στη Βόρεια και στη Νότια Αμερική είναι περίπου 45% έως 48% και 20% έως 96%, αντίστοιχα<sup>149,150,152,154</sup>.

Στην Ευρώπη, το ποσοστό των κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής που βρέθηκαν να αποικίζονται με *Campylobacter* spp. κυμαίνεται από 2,9% σε περισσότερο από 92%<sup>59,142,144,145,146,150,151,152,154,155,156,157,158,159</sup> με την μικρότερη συχνότητα (2,9%) να καταγράφεται στην Φινλανδία<sup>157</sup>.

Ομοίως, διακυμάνσεις του επιπολασμού των καμπυλοβακτηριδίων στα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής παρατηρήθηκαν και σε άλλες περιοχές, όπου τα ποσοστά κυμαίνονται από 13,6% έως 87% στην Αφρική,<sup>150,160,161,162</sup> 24 - 54% στην Ασία<sup>154</sup> και περίπου 42% στην Αυστραλία<sup>151,163</sup>.

Μελέτες ίδιες με την δική μας, που αφορούν το τελικό προϊόν που φθάνει στον καταναλωτή (ολόκληρο ή τεμάχια νωπού κοτόπουλου) έχουν δείξει επίσης παρόμοιες διακυμάνσεις της συχνότητας των καμπυλοβακτηριδίων. Αρκετές μελέτες στις Ηνωμένες Πολιτείες αναφέρουν ότι το 22% έως 98% της λιανικής πώλησης κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής που πωλούνται στις ΗΠΑ είναι μολυσμένα με *Campylobacter* spp.<sup>151,152,164,165</sup>.

Επίσης το 38% των σφάγιων κοτόπουλων που πωλούνται στον Καναδά και το 79% έως 84% της λιανικής πώλησης κοτόπουλων κρεατοπαραγωγής που πωλούνται στη Νότια Αμερική είναι μολυσμένα με αυτόν τον μικροοργανισμό<sup>149,150,152</sup>.

Στην Ασία, ο επιπολασμός του *Campylobacter* spp. σχετικά με το λιανικής πώλησης κρέας κοτόπουλου που πωλείται στην Ιαπωνία, τη Μαλαισία, την Ινδία και την Ταϊβάν κυμαίνεται από 46% έως 100%<sup>149,151,152,166</sup>, ενώ το 45% και 77% των σφάγιων κοτόπουλων που πωλούνται στην Αυστραλία και την Αφρική είναι μολυσμένα με *Campylobacter* spp. Αντίστοιχα<sup>149,163,166</sup>.

Ομοίως, ο επιπολασμός του *Campylobacter* spp. στα σφάγια κοτόπουλου που πωλούνται σε διάφορες ευρωπαϊκές χώρες κυμαίνονταν από 14% έως 88% με τα χαμηλότερα ποσοστά (14%), στη Νορβηγία και τα υψηλότερα ποσοστά (88%) στο Ηνωμένο Βασίλειο<sup>147,149,150,152,155</sup>.

Σύμφωνα με τα δεδομένα της EFSA στις ΕΕ χώρες το 2007 το 26% των δειγμάτων κρέατος πουλερικών ήταν θετικά για καμπυλοβακτηρίδιο, ενώ το 2008 ήταν το 30,1%<sup>3,167,168</sup>.

Τέλος σύμφωνα με τα συγκεντρωτικά πρόσφατα στοιχεία της EFSA<sup>167,168</sup> από τις 26 χώρες μέλη της ΕΕ και δύο χώρες μη μέλη (Ελβετία, Νορβηγία) η συχνότητα αποικισμού των κοτόπουλων με καμπυλοβακτηρίδιο κυμαίνεται από 4,9% έως

100% και περίπου τα 2/3 των απομονώσεων αφορούσαν σε *C. jejuni* και το μόνον το 1/3 αφορούσε *C. coli*. Στην μελέτη αυτή η Ελλάδα δεν συμμετείχε (Χάρτης 1 και Πίνακας 3) και δεν υπάρχουν σχετικά δεδομένα για την χώρα.

**Χάρτης 1.** Επιπολασμός καμπυλοβακτηριδίων σε κρεοπαραγωγά ορνίθια σε χώρες της ΕΕ, 2008<sup>167,168</sup>.

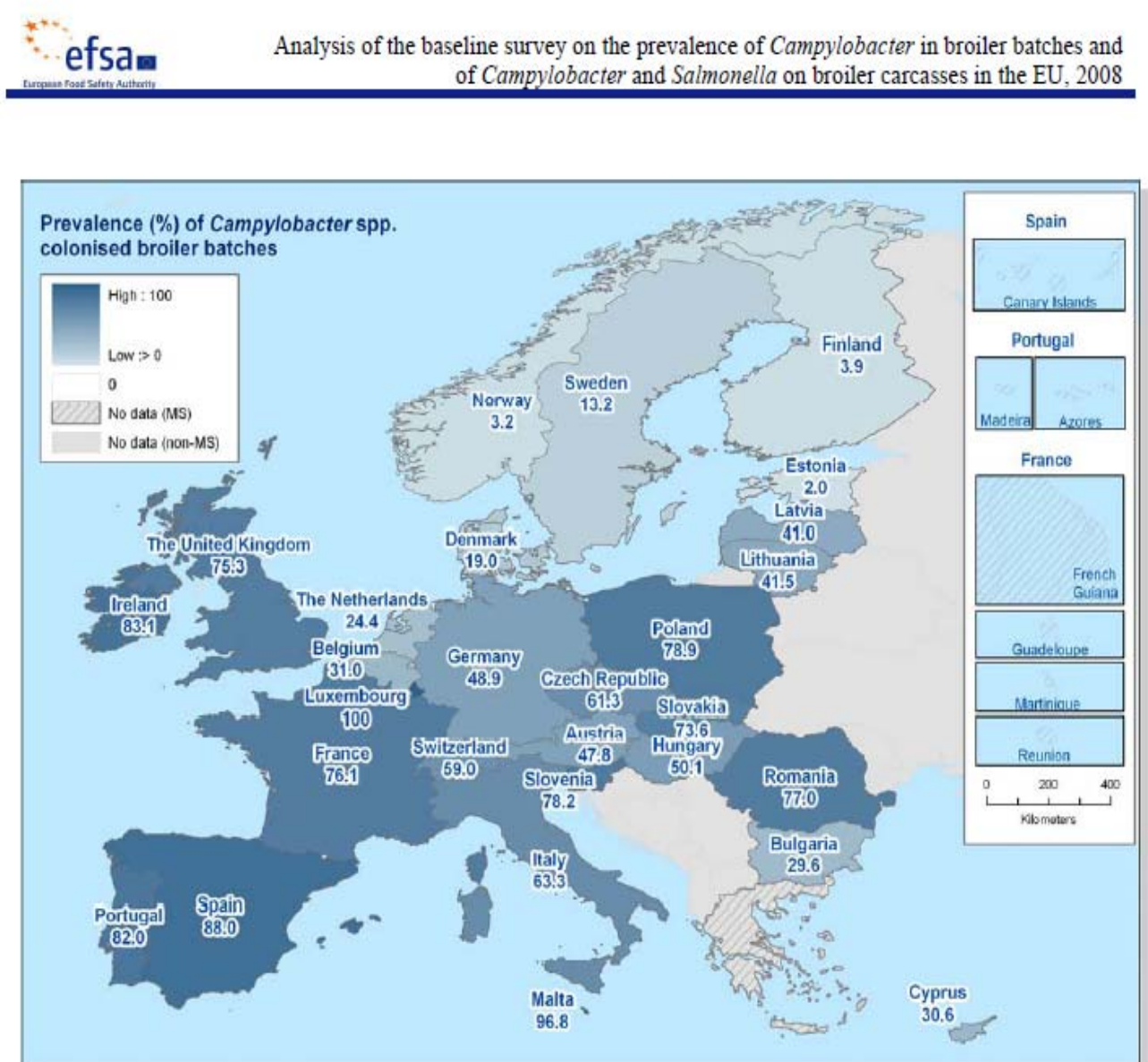


Figure 3. Prevalence of *Campylobacter*-colonised broiler batches in the EU\*, 2008

\* Greece did not participate in the baseline survey and two non-MSs, Norway and Switzerland, participated.



**Πίνακας 3.** Αριθμός σφαγείων και δειγμάτων κρεοπαραγωγών ορνιθίων που εξετάστηκαν για *Campylobacter* spp. και *Salmonella* spp. σε χώρες της ΕΕ το 2008<sup>167,168</sup>.



Table 2. Overview of the validated dataset, number of slaughterhouses and samples analysed for *Campylobacter* in broiler batches and *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses baseline survey in the EU<sup>+</sup>, 2008

| Country             | Total               |                     | <i>Campylobacter</i> spp. broiler batches |                           | <i>Campylobacter</i> spp. carcasses |                     | <i>Salmonella</i> spp. carcasses |                     |
|---------------------|---------------------|---------------------|---|---------------------------|-------------------------------------|---------------------|----------------------------------|---------------------|
|                     | Slaughterhouses (N) | Broiler batches (N) | Slaughterhouses (N)                       | Pooled caecal samples (N) | Slaughterhouses (N)                 | Carcass samples (N) | Slaughterhouses (N)              | Carcass samples (N) |
| Austria             | 5                   | 408                 | 5   | 408                       | 5                                   | 408                 | 5                                | 408                 |
| Belgium             | 9                   | 393                 | 9   | 337                       | 9                                   | 380                 | 9                                | 380                 |
| Bulgaria            | 16                  | 316                 | 15  | 275                       | 15                                  | 280                 | 16                               | 316                 |
| Cyprus              | 25                  | 375                 | 25  | 375                       | 25                                  | 357                 | 25                               | 357                 |
| Czech Republic      | 12                  | 422                 | 12  | 422                       | 12                                  | 422                 | 12                               | 422                 |
| Denmark             | 4                   | 396                 | 4   | 396                       | 4                                   | 396                 | 4                                | 396                 |
| Estonia             | 1                   | 102                 | 1   | 102                       | 1                                   | 102                 | 1                                | 102                 |
| Finland             | 3                   | 411                 | 3   | 411                       | 3                                   | 369                 | 3                                | 369                 |
| France              | 58                  | 422                 | 58  | 422                       | 58                                  | 422                 | 58                               | 422                 |
| Germany             | 21                  | 432                 | 21  | 432                       | 21                                  | 432                 | 21                               | 432                 |
| Hungary             | 44                  | 321                 | 44  | 321                       | 44                                  | 321                 | 44                               | 321                 |
| Ireland             | 4                   | 394                 | 4   | 394                       | 4                                   | 394                 | 4                                | 394                 |
| Italy               | 48                  | 393                 | 48  | 393                       | 48                                  | 393                 | 48                               | 393                 |
| Latvia              | 2                   | 122                 | 2   | 122                       | 2                                   | 122                 | 2                                | 122                 |
| Lithuania           | 6                   | 374                 | 6   | 374                       | 6                                   | 374                 | 6                                | 374                 |
| Luxembourg          | 4                   | 15                  | 3   | 12                        | 4                                   | 13                  | 4                                | 13                  |
| Malta               | 4                   | 367                 | 4   | 367                       | 4                                   | 367                 | 4                                | 367                 |
| Poland              | 157                 | 419                 | 157                                       | 419                       | 157                                 | 419                 | 157                              | 419                 |
| Portugal            | 15                  | 421                 | 15  | 421                       | 15                                  | 421                 | 15                               | 421                 |
| Romania             | 16                  | 357                 | 16  | 357                       | 16                                  | 357                 | 16                               | 357                 |
| Slovakia            | 7                   | 422                 | 7   | 422                       | 7                                   | 422                 | 7                                | 422                 |
| Slovenia            | 3                   | 413                 | 3   | 413                       | 3                                   | 413                 | 3                                | 413                 |
| Spain               | 38                  | 389                 | 38  | 389                       | 38                                  | 389                 | 38                               | 389                 |
| Sweden              | 7                   | 410                 | 7   | 410                       | 7                                   | 410                 | 7                                | 410                 |
| Netherlands         | 17                  | 429                 | 17  | 429                       | 17                                  | 429                 | 17                               | 429                 |
| United Kingdom      | 25                  | 401                 | 25  | 401                       | 25                                  | 401                 | 25                               | 401                 |
| <b>EU (26 MS) *</b> | <b>551</b>          | <b>9,324</b>        | <b>549</b>                                | <b>9,224</b>              | <b>550</b>                          | <b>9,213</b>        | <b>551</b>                       | <b>9,249</b>        |
| Norway              | 5                   | 396                 | 5   | 396                       | 5                                   | 396                 | 5                                | 396                 |
| Switzerland         | 5                   | 412                 | 5   | 296                       | 5                                   | 408                 | 5                                | 390                 |

\* Greece did not participate in the baseline survey and two non-MSs, Norway and Switzerland, participated.

Όσον αφορά τις απομονώσεις καμπυλοβακτηριδίων από κοτόπουλα συστηματικών εκτροφών και κοτόπουλα ελεύθερων εκτροφών δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ τους (Πίνακας 2 και Ιστόγραμμα 3) . Ίδια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και από άλλους ερευνητές<sup>149</sup>.

Όσον αφορά τα είδη των καμπυλοβακτηριδίων στην παρούσα μελέτη οι περισσότερες απομονώσεις αφορούσαν το *C. jejuni* (59,43%) και ακολουθούσαν σε μικρότερα ποσοστά τα *C. coli* και *C.lari* (Ιστόγραμμα 2). Σύμφωνα με την υπάρχουσα διεθνή βιβλιογραφία το *C. jejuni* είναι το κατεξοχήν είδος καμπυλοβακτηριδίων που απομονώνεται από πουλερικά, ενώ το αμέσως επόμενο απομονούμενο είδος είναι το *C. coli*. Σε πρόσφατη μελέτη που έγινε στην Γαλλία αναφέρεται ότι το ποσοστό απομονώσεων του *C. jejuni* σε σφάγια ορνίθων κρεοπαραγωγής ήταν 57,1% και του *C. coli* ήταν 42,5%<sup>169</sup>. Σε αντίστοιχη μελέτη που έγινε στην Πολωνία το ποσοστό μόλυνσης με καμπυλοβακτηρίδια ήταν 51,7% στα δείγματα φιλέτου (στήθος) και 47,3% στα δείγματα από μπούτι<sup>170</sup>.

Σε μεγάλη έρευνα που έγινε στις ΗΠΑ, η οποία αφορούσε 1256 δείγματα σφάγιων κοτόπουλων που συλλέχθηκαν από τα σημεία πώλησης, βρέθηκε ότι το 59,6% των δειγμάτων ήταν μολυσμένα με καμπυλοβακτηρίδια και από αυτά το 9% ήταν *C. coli*, το 1% ήταν *C. lari* και το 90% ήταν *C. jejuni*<sup>171</sup>. Σε αντίστοιχη μελέτη που έγινε στην Ιρλανδία σε 652 δείγματα νωπού κοτόπουλου που συλλέχθηκαν από τα σημεία πώλησης το ποσοστό μόλυνσής τους με καμπυλοβακτηρίδια ήταν 91% και τα ποσοστά απομόνωσης ήταν 64,6% για το *C. jejuni*, 27,4% για το *C. coli* και 1% για το *C. lari*<sup>172</sup>.

Σε μεγάλη έρευνα που έγινε το 2008 σε 26 χώρες της ΕΕ (στην οποία δεν συμμετείχε η Ελλάδα) και 2 χώρες μη μέλη (Ελβετία, Νορβηγία), η οποία αφορούσε 3193 δείγματα κρέατος κοτόπουλων, *C. jejuni* απομονώθηκε σε ποσοστό 60,8%, *C. coli* απομονώθηκε σε ποσοστό 41,5% και *C. lari* απομονώθηκε σε ποσοστό 0,2%<sup>167,168</sup>.

Δεδομένου ότι τα *C. jejuni* και *C. coli* είναι τα κατεξοχήν είδη καμπυλοβακτηριδίων που απομονώνονται από περιστατικά ή επιδημικές εξάρσεις

καμπυλοβακτηριδίασης στους ανθρώπους, τα υψηλά ποσοστά απομόνωσής τους από τα κοτόπουλα κρεοπαραγωγής τόσο στην δική μας μελέτη, όσο και διεθνώς καταδεικνύει το σοβαρό πρόβλημα δημόσιας υγείας όσον αφορά την μετάδοσή τους μέσω της τροφικής αλυσίδας.

## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

- Τα πουλερικά αποτελούν την πιο σημαντική δεξαμενή τροφιμογενώς μεταδιδόμενων καμπυλοβακτηριδίων.
- Οι υπάρχουσες πληροφορίες σχετικά με τον επιπολασμό των καμπυλοβακτηριδίων στα πουλερικά στην Ελλάδα είναι σπάνιες.
- Η μελέτη του επιπολασμού των καμπυλοβακτηριδίων σε 369 δείγματα τελικού προϊόντος (κοτόπουλο στήθος ή μπούτι), στην διάρκεια των έξι ετών της παρούσας διατριβής (2005-2010), έδειξε συχνή επιμόλυνση των σφάγιων πουλερικών (κοτόπουλα) με το συγκεκριμένο παθογόνο.
- Η συχνότητα απομόνωσης καμπυλοβακτηριδίων στην διάρκεια της παρούσας μελέτης κυμάνθηκε από 18,5% έως 50%.
- Τα ποσοστά απομόνωσης δείχνουν ότι το *C. jejuni* και *C. coli* είναι τα προέχοντα είδη καμπυλοβακτηριδίων που αποικίζουν τα σφάγια των κοτόπουλων και είναι αυτά τα είδη που απομονώνονται από περιστατικά καμπυλοβακτηριδίασης στον άνθρωπο στην Ελλάδα.
- Στην διάρκεια της παρούσας βετούς έρευνας παρατηρήθηκε σταδιακή μείωση της συχνότητας απομόνωσης καμπυλοβακτηριδίων από κρεοπαραγωγά κοτόπουλα.
- Σχετικά με την παρατηρούμενη σταδιακή μείωση του επιπολασμού των καμπυλοβακτηριδίων στα δείγματα μας, αυτή αποδίδεται στην εφαρμογή προγράμματος εκρίζωσης των σαλμονελλών που επιβάλλει πλέον συγκεκριμένα μέτρα και ελέγχους στις εκτροφές των πουλερικών

- Δεν βρέθηκε στατιστικά σημαντική διαφορά μεταξύ κοτόπουλων συστηματικών εκτροφών και κοτόπουλων ελεύθερων εκτροφών όσον αφορά τις απομονώσεις καμπυλοβακτηριδίων.
- Τα αποτελέσματα δείχνουν την παρουσία καμπυλοβακτηριδίων στα κοτόπουλα που διακινούνται στην ελληνική αγορά, το οποίο είναι ένα θέμα που πρέπει να έχουν υπόψη οι υγειονομικές αρχές της χώρας, ιδίως σε περιπτώσεις επιδημικών εξάρσεων τροφιμογενών λοιμώξεων.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Τα καμπυλοβακτηρίδια, ιδιαίτερα το *C. jejuni*, έχουν αναγνωριστεί ως μία από τις σημαντικότερες αιτίες τροφιμογενούς βακτηριακής διάρροιας στους ανθρώπους σε όλο τον κόσμο. Δεδομένου ότι τα πουλερικά θεωρούνται η πιο σημαντική δεξαμενή αυτού του τροφιμογενούς παθογόνου, η συχνότητα παρουσίας του και η μικροβιακή αντοχή του στα κρεοπαραγωγά κοτόπουλα αποτελούν ένα σημαντικό θέμα δημόσιας υγείας. Ωστόσο, είναι σχετικά πολύ λίγες οι πληροφορίες σχετικά με τον επιπολασμό των καμπυλοβακτηριδίων στα πουλερικά στην Ελλάδα. Στην διάρκεια της παρούσας διατριβής μελετήθηκε ο επιπολασμός των καμπυλοβακτηριδίων σε σύνολο 369 δειγμάτων τελικού προϊόντος (κοτόπουλο στήθος ή μπούτι) που φθάνει στο πιάτο του καταναλωτή σε βάθος χρόνου έξι ετών (2005-2010). Αν και η συχνότητα απομόνωσης καμπυλοβακτηριδίων στα εξεταζόμενα δείγματα ήταν αρχικά μεγάλη (50%), στην διάρκεια της εξαετούς μελέτης μειώθηκε σταδιακά σημαντικά, φθάνοντας στο τέλος της έρευνας αυτής στο 18,5%. Τα συχνότερα απομονούμενα είδη καμπυλοβακτηριδίων ήταν το *C. jejuni* (59,5%) και το *C. coli* (38,7%), ενώ σπάνια απομονώθηκε το *C. lari* (1,8%). Η παρούσα μελέτη περαιτέρω τονίζει την ανάγκη για λήψη κατάλληλων μέτρων για την πρόληψη της εμφάνισης και της μετάδοσης των καμπυλοβακτηριδίων από τα πουλερικά στον άνθρωπο μέσω της τροφικής αλυσίδας.

# **Surveillance study on *Campylobacter* infestation in poultry**

**Nikolaos Zisidis**

**PhD Thesis**

**Microbiology Department, Medical School, University of Ioannina, Greece**

## **SUMMARY**

*Campylobacter* spp. particularly *C. jejuni* has been recognized as one of the most important causes of foodborne bacterial diarrhea in humans worldwide. Since poultry are considered the major reservoir of this foodborne pathogen, the prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry operations is a matter of concern. However, relatively little information on the prevalence of *Campylobacter* in poultry in Greece is available. Hence, a six year (2005-2010) surveillance study on 369 samples of end-product (chicken breast or leg) was conducted to determine the prevalence of *Campylobacter* isolates from locally produced poultry.

The analysis of the chicken meat samples was performed using an Enzyme Linked Fluorescence Assay and the mini-VIDAS automated system (BioMerieux). Following homogenization in stomacher, enrichment in Bolton Broth and incubation in microaerophilic environment the samples were tested for the presence of *Campylobacter* using the Vidas CAM strips and reagents. Confirmation and identification to the species level was performed by plating onto CampyFood Agar, incubation at 41.5°C - 42°C for 24-48 hrs and biochemical identification by API Campy.

Although *Campylobacter* in the examined poultry samples was initially highly prevalent (50%) by the end of this survey decreased to 18.51%. The most prevalent species were *C. jejuni* (59,5%) and *C. coli* (38,7%), while *C. lari*

prevalence was very low (1,8%). This study further highlights the need for prudent measures to prevent the occurrence and transmission of *Campylobacter* from the contaminated poultry reservoir to humans through the food-chain.





## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Anonymous. Trends and Sources of Zoonotic Agents in Animals, Feedstuffs, Food and Man in the European Union and Norway in 2003. 2005; SANCO/339/2005 European Commission, Brussels.
2. Law B. Deadly Diseases and Epidemics: Campylobacteriosis. Chelsea House Publishers, 2004; Philadelphia, USA.
3. EFSA. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007, The EFSA journal, 2009; 223
4. McFadyean F, Stockman S. Report of the Departmental Committee appointed by the Board of Agriculture and Fisheries to Enquire into Epizootic abortion 1909; vol 3 London HMSO.
5. Butzler JP. *Campylobacter* infection in man and animals, CRC Press, 1984; 3-20. Inc., Boca Raton, FL, US .
6. Smith T, Taylor MS. (1919). Some morphological and Biological characters of spirilla ( *Vibrio fetus* n. Sp.) associated of the fetal membranes in cattle. *J. Exp. Med.* 1919; 30:299 .
7. Moore JE, Corcoran D, Dooley JSG, Fanning S, Lucey B., Matsuda M, et al . *Campylobacter. Vet. Res* 2005; 36:351-382).
8. Jones FS and Little RB. The etiology of infectious diarrhea (winter scours) in cattle *J. Exp. Med.* 1931a; 53:835 .
9. Jones FS and Little RB. Vibrionic enteritis in calves. *J Exp Med* 1931b; 53(6):845-851.

10. Jones FS, Orcutt M, Little RB. Vibrios associated with intestinal disorders of cows and calves. *J Exp Med* 1931; 53 (6):853-863.
11. Kist M. Who discovered *Campylobacter jejuni/coli*? A review of hitherto disregarded literature. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg.* 1986; 261 (2):177-186.
12. Skirrow MB and Butzler JP. Foreward in *Campylobacter* .pp. xvii-xxiii. Washington, DC: ASM Press. 2000.
13. Nachamkin I. *Campylobacter* enteritis and the Guillain-Barré Syndrome. *Current Status Disease Reports.* 2001; 3:116-122.
14. Levy AJ. Gastro-enteritis outbreak probably due to a bovine strain of vibrio. *Yale J. Biol. Med.* 1946; 18:243.
15. Vinzet R, Dumas J and Picard N. Septicemie grave au cours de la grossesse, due a un vibrian. Avortement consecutive. *Bull. Acad. Nat. Med.* 1949; 131:90.
16. King EO. Human infections with vibrio fetus and a closely related vibrio. *J. Infec. Dis.* 1957; 101:119 .
17. Skirrow MB. *Campylobacter enteritis* , a 'new" disease. *Br. Med. J.* 1977; 2:9.
18. SebaLld M., Veron M. Teneuw en bases de l" AND et classification des vibrios. *Ann. Inst. Pasteur.* 1963 ; 105:897.
19. Cooper IA and Slee KJ. Human infection by *Vibrio fetus*. *Med. J. Australia* 1971; 1:1263.
20. Dekeyser P, Gossuin-Detrain M, Butzler JP, Sternon J. Acute enteritis due to related vibrio: First positive stool cultures, *J. Infec. Dis.*1972; 125:390.

21. Veron MR, Chatlain R. Taxonomic study of the genus *Campylobacter* (Sebald and Veron) and designation of the neotype strain for the type species, *Campylobacter fetus*. *Int. J. Syst. Bact.*1973; 23:122.
22. Vandamme P. Microbiology of *Campylobacter* infections: taxonomy of the family *Campylobacteraceae*. *M.J.* 2000; pp.3-26 .
23. Nachamkin I, Blazer M, Tompkins L.. *Campylobacter jejuni*, Current Status and Trends.1998.
24. Παπαδοπούλου Χρ. Μικροβιολογία και Υγιεινή Τροφίμων, Ιωάννινα 2006.
25. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Taxonomic outline of Prokaryotes Release 5.0. 2<sup>nd</sup> Ed. G. M. Garrity, J.A. Bell and T.G. Lilburn editors. *Bergey's Manual Trust*, Springer N.York-Berlin-Heidelberg.DOI 10.1007/bergeysoutline 2004;05.
26. Van Pelt W, Wit MA De, Wannet WJ, Ligtoet E J, Widdowson MA and Van Duynhoven YT. Laboratory Surveillance of bacterial gastroenteric pathogen in the Netherlands 1991 – 2001. *Epidemiology and Infection* 2003;130 : 431- 441.
27. Anonymous. CDSC : Review of *Campylobacter* reports to CDSC 1977 - 1980 CDR 81/12, 1981a; Communicable Disease Surveillance Center, London.
28. Kentall EJC and Tanner EI. *Campylobacter enteritis* in general practice, *J. Hyg.*1982; 88, 155.
29. Butzler JP, Dekeyser P, Detrain M, and Dehaen F. Related vibrio in stools. *J. Pediatr.*1973; 82:493-495 .

30. Oberhelman RA, Taylor DN. *Campylobacter* infections in developing countries. In: Nachamkin I, Blaser MJ, editors. *Campylobacter*, 2<sup>nd</sup> edition. Washington: *American Society for Microbiology*, 2000; 139-53.
31. Taylor DN. *Campylobacter* infections in developing countries. In: Nachamkin I, Blaser MJ, Tompkins LS, editors. *Campylobacter jejuni: Current status and future trends* Washington: *American Society for Microbiology*, 1992; 20-30.
32. Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, Amisu KO. International collaboration on campylobacters: Experience from Lagos, Nigeria. [Abstract S- 05]. In: Hacker J, editor. Abstracts of scientific presentations of the 11<sup>th</sup> International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and related Organisms, Freiburg, Germany,. *Int J Med Microbiol* 2001; 291 (Suppl 31):168.
33. Tauxe RV. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrialized nations. In: Nachamkin I, Blaser MJ, Tompkins LS, editors. *Campylobacter jejuni: Current and future trends*. Washington: *American Society for Microbiology*, 1992; 9-12.
34. Bhadra RK, Lior H, Misra SK, Pal SC, Nair GB. Serotypes & biotypes of *Campylobacter jejuni* & *C. Coli* from diverse sources in Calcutta. *India J Med Res* 1989; 89:225-8.
35. Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, Fagbenro-Beyioku AF, Omilabu SA. Zoonotic infections in Nigeria: overview from a medical perspective. *Acta Trop*, 2000; 76:59-63.
36. Μπακάλη Ε, Σιάσιος Π, Βαμβακά Ε, Δήμα Ε, Γκατζήμα Μ, Κανσουζίδου Α. Μικροβιολογικό Εργαστήριο, Νοσοκομείο Ειδικών Παθήσεων

- Θεσσαλονίκης, Μελέτη στελεχών καμπυλοβακτηριδίου κατά το χρονικό διάστημα 2001-2010. 5<sup>ο</sup> Εθνικό συνέδριο κλινικής μικροβιολογίας και νοσοκομειακών λοιμώξεων,2011; P 26<sup>A</sup>. σ.89.
37. Nath G, Shukla BN, Reddy DC, Sanyal SC. A community study on the aetiology of childhood diarrhoea with special reference to *Campylobacter jejuni* in a semiurban slum of Varanasi, India. *J Diarrhoeal Dis Res*, 1993; 11:165-8147.
38. Altekruze SF, Stern NJ, Fields PI, Swerdlow DL. *Campylobacter jejuni*—an emerging foodborne pathogen. *Emerg Infect Dis* , 1999; 5:28-35.
39. Wassenaar TM and Newell DG. Genotyping of *Campylobacter* spp. *Appl Environ Microbiol* 2000; 66, 1–9. 22.
40. Schonberg-Norio D, Takkinen J, Hanninen ML, Katila ML, Kaukoranta S.S., Mattila L., Rautelin H. Swimming and *Campylobacter* infection. *Emerg Infect Dis*. 2004; 10:1474-7.
41. Samuel MC, Vugia DJ, Shallow S, Marcus R, Segler S, Mc Givern T. et al. Emerging Infections Program Food Net. Working Group: Epidemiology of sporadic *Campylobacter* infection in the United States and declining trend in incidence, FoodNet 1996–1999 *Clin Infect Dis* 2004; 38(Suppl 3):S165-S174.
42. ECDC. Annual epidemiological report on communicable diseases in Europe. Surveillance report 2010.
43. Svedhem A. and Kaijser B. *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni*: A common cause of diarrhea in Sweden, *J. Infect. Dis*. 1980; 142, 353
44. Svedhem A. and Norkrams G. *Campylobacter enteritis* transmitted from cat to man, *Lancet*. 1980; 1. 713.

45. Peltola H, Gorbach S.L: Travelers' diarrhea epidemiology and clinical aspects. In In: *Textbook of Travel Medicine and Health* Edited by: DuPont HL, Steffen R. Hamilton, Ontario: 1997; BC Decker Inc,.
46. Ericsson C.D. Travellers' diarrhoea. *Int J Antimicrob Agents* 2003; 21:116-24.
47. Okhuysen P.C, Ericsson C.D: (1992). Travelers' diarrhea. Prevention and treatment. *Med Clin North Am*, 76:1357-73.
48. Sonnenburg FV, Tornieporth N, Waiyaki P, Lowe B, Peruski LF. Jr, DuPont HL et al. Risk and aetiology of diarrhoea at various tourist destinations. *Lancet*, 2000; 356:133-4.
49. Blaser MJ. Campylobacter and related species In: *Principles and practice of infectious diseases* 4<sup>th</sup> edition. Edited by: Mandell, Bennett JE, Dolin. New York: Churchill Livingstone.1995.
50. Γεωργοπούλου Ι. Παθολογία πτηνών, Θεσσαλονίκη 2009.
51. Smibert RM. The genus *Campylobacter*, *Ann. Rev. Microbiol.*, 1978; 32, 674.
52. Luechtefeld NW, Cambre RC and Wang WL.L.. Isolation of *campylobacter-fetus* subsp. *Jejuni* from zoo animals, *J. Am. Vet Med. Assoc.* 1980; 179, 119.
53. Fenlon DR, Reid TMS, and Porter IA. Birds as a source of campylobacter infections, in *Campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry*,1982; Newell, D.G. Ed., MTP Press, Lancaster, U.K. 261.
54. Bruce D, Zochowski W, Ferguson IR. (1977), *Campylobacter enteritis*, *Br. Med. J.* 1977; 2:1219 .
55. Ribeiro C. *Campylobacter enteritis*, *Lancet*, 1978; 11:270.

56. Βασιλειάδης Π, Καλαποθάκη Β, Μασσανιώτης Ν, Τριχόπουλος Δ. Serie Ch. Καμπυλοβακτηριδίαση, μια συχνή εντερίτις : Πρώτη διαπίστωση της νόσου εν Ελλάδι. *Ανακοίνωσις Ελληνικής Παιδιατρικής Εταιρείας Αθηνών*, 1979.
57. Esteban J, Oporto B, Gorka A, Juste R A and Hurtado A. A survey of food-born pathogens in free-range poultry farms. *International Journal of Food Microbiology*, 2008; 123, Issues 1-2, 177 – 182 .
58. Wittwer M, Keller J, Wassenaar TM, Stephan R, Howald D, Regula G, et al. Genetic Diversity and antibiotic resistance patterns in a *Campylobacter* population isolated from poultry farms in Switzerland. *Applied and Environmental Microbiology* 2005; 71:2840 – 2847.
59. Heuer OE, Pedersen K, Andersen JS, Madsen M. Prevalence and antimicrobial susceptibility of thermophilic *Campylobacter* in organic and conventional broiler flocks. *Letters in Applied Microbiology* 2001; 33, 269 – 274.
60. Wolf-Reuter M, Matthes S, and Ellendorff F. *Salmonella* and *Campylobacter* prevalence in intensive free range and organic production system. *Archiv für Geflügelkunde* 2002; 66:158.
61. Kramer JM. Integral comparison of conventional and organics poultry meat. *Dutch Consumers Association*, The Hage, 2003; 73pp.
62. Rodenbury TB, Van Der Hulst MC, Van Arkel, Kwakkel RP. (2004) *Salmonella* and *Campylobacter* contamination in organic broiler production system in Valicini, *Book of abstracts of the 12<sup>th</sup> World's Poultry Congress*, 2004; 930, Istanbul.
63. Friedman CR, Neimann J, Wegener HE. and Tauxe RV. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* in U.S.A., *oie manual*. 2000.



64. Davis MA, Conner DE. Department of Poultry Science, Texas A&M University, College Station TX 77843, USA. *Poult. Sci.* 2007; 86(4):765-7
65. Robinson DA. *Campylobacter* infection in milking herds, in *campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis, and Biochemistry*, Newell. D. G. Ed. MTP Press, 1982; Lancaster, U.K. 274.
66. Taylor DN, Porter BW, Williams CA., Miller HE, Bopp CA, and Blake PB. (1982) A large outbreak of *campylobacter* enteritis traced to commercially produced raw milk, *West. J. Med.* 1982; 137, 365.
67. Doyle MP and Roman DJ. Growth and survival of *campylobacter-fetus* subsp. *Jejuni* as a function of temperature and ph, *J.Food Prot.*1981; 44, 596.
68. Osterom J. The presence of *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni* in normal slaughtered pigs, *Tijdschr. Diergeneesk*, 1980; 105, 49 .
69. Svedhem A. and Kaijser B. Isolation of *campylobacter jejuni* from domestic animals and pets: Probable origin of human infection, *J. Infect.*1981; 3, 37.
70. Luechtefeld NW and Wang WLL. Animal reservoirs of *Campylobacter jejuni.*, in *Campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis, and Biochemistry*, Newell, D. G., Ed., MTP Press.1982; Lancaster, U.K..
71. Stichtgroh V. (1982). *Campylobacter* in healthy slaughter pigs: A possible source of infection for man, *Vet. Rec.*,1982; 110, 104.
72. Wheeler W. E. and Borchers J. Vibrionic enteritis in infants , *Amer. J. Dis. Child.*, 1967; 101:60.
73. Lindquist B., Kjellander J., Kosunen, T. (1978). *Campylobacter* enteritis in Sweden, *Br. Med. J.*1978; 1:303 .

74. Blaser MJ, Parsons RB and Wang WL.L.. Acute colitis caused by *Campylobacter fetus* ss. *Jejuni*, *Gastroenterology*,1980; 78, 448.
75. Peel RN, McIntosh A.W. The dog it was that died, *Lancet*. 1978; 11:1212 .
76. Hastings DM. *Campylobacter* enteritis in pets,*Lancet*, 1978; 11:1249.
77. Hald B and Madsen M. Healthy puppies and kittens as carriers of *Campylobacter* spp., with special reference to *Campylobacter upsaliensis*. *J. Clin. Microbiol.*1997; 35:3351-3352.
78. Hald B, Pedersen K, Waino M, Jorgensen JC and Madsen M. Longitudinal study of the excretion patterns of thermophilic *Campylobacter* spp. in young pet dogs in Denmark. *J. Clin. Microbiol.* 2004a; 42:2003-2012.
79. Blaser M J, Berkowitz ID, LaForce FM, Cravens J, Reller LB,, Wang WL.. *Campylobacter enteritis*: Clinical and epidemiological features, *Ann. Intern., Med.*,1979; 91:179.
80. Bruce D, Zochowski W and Fleming GA. *Campylobacter* infections in cats and dogs, *Vet. Rec.*. 1980; 107, 200.
81. Fernie DS, Park RWA. The isolation and nature of campylobacters ( microaerophilic vibrios ) from laboratory and wild rodents, *J. Med. Microbiol.* 1977; 10:325 .
82. Hald B, Skovgard H, Bang DD, Pedersen K., Dybdahl J, Jespersen JB et al. Flies and *Campylobacter* infection of broiler flocks. *Emerg. Infect. Dis.* 2004b; 10:1490-1492.
83. Blaser MJ, Hardesty HL, Powers B. and Wang WL.. Survival of *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni* in biological milieus, *j.Clin. Microbiol.*, 1980; 11 : 309 – 13.

84. Knill MJ, Suckling WG, Pearson A D. Campylobacters from water, in *Campylobacter: Epidemiology, Pathogenesis and Biochemistry*, Newell, D. G. Ed., MTP Press, 1982; Lancaster, U.K. 281.
85. Luechtefeld NW and Wang WL L. *Campylobacter fetus* subspecies *jejuni* in a turkey processing plant, *J. Clin. Microbiol.*, 1981; 13, 266.
86. Knill MJ, Suckling WG, Pearson AD. Environmental isolation of heat-tolerant Campylobacter in Southampton area, *Lancet*, 1978; 2, 1002
87. Lindenstruth RW and Ward BO. Viability of *Vibrio fetus* in hay, soil and manure, *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1948; 113, 163.
88. Samonis G, Maraki S, Christidou A, Georgiladakis A, Tselentis Y. Bacterial pathogens associated with diarrhea on the island of Crete. *European J Epidemiol* 1997; 13:831-836.
89. Maraki S, Georgiladakis A, Tselentis Y, Samonis G. A 5-year study of the bacterial pathogens associated with acute diarrhoea on the island of Crete, Greece, and their resistance to antibiotics. *European J Epidemiol* 2003; 18 (1): 85-90
90. Δεμερτζή Ε, Δαλαδήμου Ε, Ζώγια Π, Στεφάνου Ι, Αβλάμη Α. Αποτελέσματα της ανάλυσης καλλιεργειών κοπράνων στην διάρκεια της τριετίας 1996-1998, σε ένα μεγάλο Γενικό Νοσοκομείο. *ΔΕΜΕ* 1999; 44(2):135-142.
91. Maltezou HC, Zafiropoulou A, Mavriku M, Bozavoutoglou E, Liapi G, Foustoukou M, Kafetzis DA. Acute diarrhea in children treated in an outpatient setting in Athens, Greece. *Journal of Infection* 2001; 43(2):122-127.

92. Levidiotou S, Gartzonika C, Papaventsis D, Cristaki C, Priavali E, Zotos N et al. Viral agents of acute gastroenteritis in Hospitalized children in Greece. *Clinical Microbiology and Infection*, 2009; Vol 15.6: 596-598.
93. Chatzipanagiotou S, Papavasileiou E, Lakumenta A, Makri A., Nicolaou C, Chantzis K et al. Antimicrobial susceptibility patterns of *Campylobacter jejuni* strains isolated from hospitalized children in Athens, Greece. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49 (5):803-805.
94. Chatzipanagiotou S, Papavasileiou E, Lakumenta A, Makri A., Nicolaou C, Chantzis K.et al.. Heat-stable antigen serotyping of *Campylobacter jejuni* strains isolated from hospitalized children in Athens, Greece. *Eur J Epidemiol* 2003a; 18 (11):1097-1100
95. Papavasileiou E, Voyatzi A, Papavasileiou K, Makri A, Andrianopoulou I, Chatzipanagiotou S. Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter jejuni* isolates from hospitalized children in Athens, Greece, collected during 2004-2005. *Eur J Epidemiol* 2007; 22(1): 77-78.
96. Chatzipanagiotou S, Kilidireas K, Trimis G, Nicolaou C, Anagnostouli M, Athanassaki C et al. *Campylobacter jejuni* O:19 serotype-associated Guillain-Barré syndrome in a child: The first case reported from Greece. *CMI* 2003b; 9 (1): 69-72
97. Zonios DI, Panayiotakopoulos GD, Kabletsas EO, Tzima EL., Stefanou I, Archimandritis AJ. *Campylobacter fetus* bacteraemia in a healthy individual: Clinical and therapeutical implications. *Journal of Infection* 2005; 51 (4): 329-332.

98. Karagiannis I, Sideroglou T, Gkolfinopoulou K, Tsouri A, Lampousaki D, Velonakis EN et al. A waterborne *Campylobacter jejuni* outbreak on a Greek island. *Epidemiology and Infection* 2010; 138 (12): 1726-1734.
99. Γρηγοριάδης Σ, Κοϊδης Π, Σαγρής Θ, Γουλάς Π, Καμπαμανώλη-Δήμου Α. Απομόνωση *Campylobacter jejuni* και *C. coli* από κόπρωνα και κρέατα βοοειδών και χοίρων της περιοχής Θεσσαλίας. *ΔΕΜΕ* 1992; 47:90-100.
100. Κανσουζίδου Α, Λίτκε Ο, Γκατζόφλια Β, Λαμπροπούλου Μ, Νούσης Σ, Δανιηλίδης Β. Συχνότητα ανεύρεσης Υερσινιών και Καμπυλοβακτηριδίων σε υγιείς σκύλους περιοχής Θεσσαλονίκης. *ΔΕΜΕ* 1987; 32: 399-409.
101. Arvanitidou M, Constantinidis TC, Katsouyannopoulos V.. A survey on *Campylobacter* and *Yersinia* spp. Occurrence in sea and river waters in Northern Greece. *The Science of Total Environment* 1995; 171:101-106.
102. Αρβανιτίδου-Βαγιωνά Μ, Σταθόπουλος Α. Απομόνωση καμπυλοβακτηριδίων από πόσιμα νερά. *ΔΕΜΕ* 1991; 36: 173-178.
103. Gousia P, Economou V, Sakkas H, Leveidiotou S, Papadopoulou C. Antimicrobial resistance of major foodborne pathogens from major meat products. *Foodborne Pathogens and Disease* 2011; 8 (1): 27-38.
104. Blaser M J, Penner J L and Wells JG. Diversity of serotypes involved in outbreaks of *Campylobacter enteritis*, *J. Infect.* 1982; Dis146, 826.
105. Blaser MJ, LaForce FM, Wilson NA and Wang WL.L Reservoirs for human campylobacteriosis, *J. Infect. Dis* 1980; 141, 665.
106. Gruffydd-jones TJ, Marston M and White E. *Campylobacter jejuni enteritis* from cats, *Lancet* 1980; 2, 366 .

107. Skirrow MB, Turnbull GL, Walker RE and Young SE. (1980). *Campylobacter jejuni enteritis* transmitted from cat to man, *Lancet*, 1980; 2, 1188 .
108. Duffell SJ and Skirrow MB. Shepherd's scours and bovine campylobacter abortion- a 'new' zoonosis? *Vet. Rec.* 1978; 103, 144.
109. Jones DM and Robinson DA. Occupational exposure to *Campylobacter jejuni* infection, *Lancet*, 1981; 1, 440.
110. Tribe GW, MacKenzie PS and Fleming MP. Incidence of thermophilic *Campylobacter species* in newly imported simian primates with enteritis, *Vet. Rec.*1979; 105, 333.
111. Anonymous. Centers for Disease Control, Outbreak of *Campylobacter enteritis* associated with raw milk, Kansas, *MMWR* 1981b; 30, 218.
112. Quinn TC, Corey L., Chaffee RG, Schuffler MD and Holmes KK. *Campylobacter proctitis* in a homosexual man, *Ann. Intern. Med.*1980; 93, 458.
113. Carey PB. and Wrigth EP. *Campylobacter jejuni* in a male homosexual. *Br. J. Vener. Dis.* 1979; 55, 381.
114. Gribble MJ, Salitl E, Isaac-Renton J. and Chow AW.. (1981). *Campylobacter* infections in pregnancy, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 1981; 140, 423.
115. Anonymous *Campylobacter* in a mother and baby, CDR 79/17, Communicable Disease Surveillance Center, London. 1981c.
116. Jones PH, Willis AT, Robinson DA, Skirrow MB and Josephs DS. *Campylobacter enteritis* associated with the consumption of free school milk, *J. Hyg.( Cambridge)*, 1981; 87, 155.

117. Yanagisawa S. Large outbreak of campylobacter enteritis among schoolchildren, *Lancet*, 1980; 2, 153.
118. Taylor PR, Weinstein WM and Bryner JH. *Campylobacter fetus* infection in human subjects: Association with raw milk, *Am. J. Med.* 1979; 68, 779.
119. Blaser MJ, Cravens J, Powers BW, LaForce FM and Wang WL *Campylobacter enteritis* associated with unpasteurized milk, *Am. J. Med.* 1979; 67, 715.
120. Anonymous. Centers for Disease Control, Raw-milk-associated illness, Oregon, *MMWR*. 1981d; 30, 90.
121. Potter ME, Blaser MJ, Sikes RK, Kaufmann AF and Wells JG.(1983). Human campylobacteriosis associated with certified raw milk. *Am. J. Epidemiol.*, 1983; 117, 475.
122. Porter IA and Reid TMS. A milk-borne outbreak of *Campylobacter* infection, *J. Hyg (Cambridge)* 1980; 84, 415.
123. Robinson DA and Jones DM. Milk-borne campylobacter infection, *Br. Med. J.*, 1981; 282, 1374.
124. Simmons NA and Gibbs EJ. *Campylobacter spp* in oven-ready poultry, *J. Infect.*, 1979; 1, 159.
125. Hayek LJ, Cruickshank JG. Campylobacter enteritis *Br. Med J* 1977; 2 :1219.
126. Brouwer R, Mertens MJA, Siem TH and Katchaki J. An explosive outbreak of *Campylobacter enteritis* in soldiers *Antonie Van Leeuwenhoek J.* 1979; 45, 517.
127. Anonymous. *RIVM Report 28450001. RIVM Report management*, Bilthoven, the Netherlan 1996.

128. Reintjes. Ein Ausbruch von Campylobacter-Enteritis in Nordrhein-Westfalen. *Epidemiologisches Bulletin* 1999; 43, 317-320.
129. Kálmán M. Milkborne campylobacter infection in Hungary *Journal of Food Protection*,2000; 63, 1426-1429.
130. Anonymous. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)* 2002; 51(25), 548-549.
131. Much P, Pichler J, Kasper SS, Allerberger F. Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), Vienna, Austria) 2007.
132. Crystal ND, Hargraves SJ, Boa AC and Iroside CJ. Poultry Industry Association of New Zealand. *J. Food Prot.* 2008; 71 (12):2526-32.
133. Ketley JM. Pathogenesis of enteric infection by Campylobacter, *Microbiology* 1997; 143, 5–21.
134. Gupta N, Aparna, Saini S, Arora DR. High level resistance in gram negative bacilli, *Indian J Pathol Microbiol.* 2004; 47(4):594-5.
135. Παπαδοπούλου Χρ. Πρακτικά -Κοινό συνέδριο ΕΦΕΤ –EFSA για την ασφάλεια των τροφίμων και τη διατροφή, Αθήνα, 2009.
136. Ledergerber U, Regula G, Stephan R, Danuser J, Bissig B, Stärk KD. Swiss Federal Veterinary Office, Bern, Switzerland . *BMC Public Health* 2003; 9:3:39.
137. Beytullah K, Levent A, Osman Yavuz B. Determination of Antibiotic Sensivity and search for thermotolerant campylobacter specie in Afyon Region, 14<sup>th</sup> World Veterinary Poultry Congress, Istanbul – Turkey, 2005.
138. Oporto B, Juste RA, and Hurtado A. Phenotypic and Genotypic Antimicrobial Resistance Profiles of Campylobacter jejuni Isolated from



- Cattle, Sheep, and Free-Range Poultry Faeces, *International Journal of Microbiology* 2009; Article ID 456573, 8 pages.
139. Franchini A and Cesare AD. 2<sup>nd</sup> Mediterranean Summit of W.P.S.A., Antalya, Turkey, 2009.
  140. Francois A, Eteradossi N, Delmas, Payet B V and Langlois P. Construction of avian adenovirus Celo recombinant in cosmids, *Virology* 2001; 75:5288-5301.
  141. Rauw F, Lambrecht B, Francois A, Langlois P and Van Den Berg T. Kinetic and biologic properties of Recombinant ChIFN-γ expressed via Celo virus vectors. *Journal of Interferon and Cytokine Research*. 2007; 27:111-118.
  142. Berndtson E, Emanuelson U, Engvall A and Danielsson-Tham ML. 1-year epidemiological study of campylobacters in 18 Swedish chicken farms. *Prev. Vet. Med.* 1996a; 26:167-185.
  143. Nielsen EM, Engberg J, and Madsen M. Distribution of serotypes of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from Danish patients, poultry, cattle, and swine. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 1997;19:47-56.
  144. Evans SJ and Sayers AR. A longitudinal study of campylobacter infection of broiler flocks in Great Britain. *Prev. Vet. Med.* 2000;46:209-223
  145. Hald B, Wedderkopp A and Madsen M. Thermophilic *Campylobacter* spp. in Danish broiler production: a cross-sectional survey and a retrospective analysis of risk factors for occurrence in broiler flocks. *Avian Pathol.* 2000; 29:123-131.

146. Wedderkopp A, Rattenborg E and Madsen M. National surveillance of *Campylobacter* in broilers at slaughter in Denmark in 1998. *Avian Dis.* 2000; 44:993- 999.
147. Jorgensen F, Bailey R, Williams S, Henderson P, Wareing DRA, Bolton FJ, et al. Prevalence and numbers of *Salmonella* and *Campylobacter* spp. on raw, whole chickens in relation to sampling methods. *Int. J. Food Microbiol.* 2002; 76:151-164.
148. Avrain L., Humbert F, Hospitalier RL, Sanders P, and Kempf I. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* from broilers. *Brit. Poult. Sci.* 2001; 42:S32-S33.
149. Luangtongkum T. *Campylobacter* in conventional and organic poultry operations. Dissertation, Ohio State University, 2005.
150. Aho M and Hirn J. Prevalence of *Campylobacter* in the Finnish broiler chicken chain from the producer to the consumer. *Acta Vet. Scand.* 1988; 29:451-462.
151. Saleha AA, Mead GC and Ibrahim AL. *Campylobacter jejuni* in poultry production and processing in relation to public health. *World's Poult. Sci. J.* 1998; 54:49-58.
152. Shane SM. *Campylobacter* infection of commercial poultry. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 2000; 19:376-395.
153. Stern NJ, Fedorka-Cray P, Bailey JS, Cox NA, Craven SE, Hiatt KL et al. Distribution of *Campylobacter* spp. in selected U.S. poultry production and processing operations. *J. Food Prot.* 2001; 64:1705-1710.
154. Newell DG and Fearnley C. Sources of *Campylobacter* colonization in broiler chickens. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003; 69:4343-4351.

155. Atanassova V and King C. Prevalence of *Campylobacter* spp. in poultry and poultry meat in Germany. *Int. J. Food Microbiol.* 1999; 51:187-190.
156. Wedderkopp A., Gradel KO, Jorgensen JC and Madsen M. Preharvest surveillance of *Campylobacter* and *Salmonella* in Danish broiler flocks: a 2-year study. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 68:53-59.
157. Perko-Makela P, Hakkinen M, Honkanen-Buzalski T and Hanninen ML. Prevalence of campylobacters in chicken flocks during the summer of 1999 in Finland. *Epidemiol. Infect.* 2002; 129:187-192.
158. Bouwknecht M, van de Giessen AW, Dam-Deisz WD, Havelaar AH, Nagelkerke NJ and Henken AM. Risk factors for the presence of *Campylobacter* spp. in Dutch broiler flocks. *Prev. Vet. Med.* 2004; 62:35-49.
159. Stern NJ, Reiersen J, Lowman R, Bisailon JR, Fridriksdottir V, Gunnarsson E, et al. Occurrence of *Campylobacter* spp. in cecal contents among commercial broilers in Iceland. *Foodborne Pathog. Dis.* 2005; 2:82-89.
160. Adekeye JO, Abdu PA and Bawa EK. *Campylobacter fetus* subsp. *jejuni* in poultry reared under different management systems in Nigeria. *Avian Dis.* 1989; 33:801-803
161. Sackey BA, Mensah P, Collison E and Sakyi-Dawson E. *Campylobacter*, *Salmonella*, *Shigella* and *Escherichia coli* in live and dressed poultry from metropolitan area. *Int. J. Food Microbiol.* 2001; 71:21-28.
162. Cardinale E, Tall F, Gueye EF, Cisse M and Salvat G. Risk factors for *Campylobacter* spp. infection in Senegalese broiler-chicken flocks. *Prev. Vet. Med.* 2004; 64:15-25.
163. Shanker S, Lee A and Sorrell TC. *Campylobacter jejuni* in broilers: the role of vertical transmission. *J. Hyg. (Lond)* 1986; 96:153-159.

164. Berrang ME, Ladely SR and Buhr RJ. Presence and level of *Campylobacter*, coliforms, *Escherichia coli*, and total aerobic bacteria recovered from broiler parts with and without skin. *J. Food Prot.* 2001; 64:184-188.
165. Zhao C, Ge B, De Villena J, Sudler R, Yeh E, Zhao S et al. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the Greater Washington, D.C., area. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001; 67:5431-5436.
166. Padungton P and Kaneene JB. *Campylobacter* spp. in human, chickens, pigs and their antimicrobial resistance. *J. Vet. Med. Sci.* 2003; 65:161-170.
167. EFSA. Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Campylobacter* in broiler batches and of *Campylobacter* and *Salmonella* on broiler carcasses in the EU, 2008. *EFSA Journal*, 2010a; 8(03): 1503.
168. EFSA The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2008, *The EFSA journal*, 2010b; 1496.
169. Hue O, Allain V, Laisney MJ, LeBouquin S, Lalande F, Petetin I et al. *Campylobacter* contamination of broiler caeca and carcasses at the slaughterhouse and correlation with *Salmonella* contamination. *Food Microbiology* 2011; 28(5):862-868.
170. Mackiw E, Rzewuska K, Stos K, Jarosz M, Korsak D. Occurrence of *Campylobacter* spp in poultry and poultry products for sale on Polish Retail Market. *J Food Prot* 2011; 74(6):986-989.
171. Deckert A, Valdivieso-Garcia A, Reid-Smith R, Tamblyn S, Seliske P, Irwin R et al. Prevalence and antimicrobial resistance in *Campylobacter* spp.

isolated from retail chicken in two health units in Ontario. *J Food Prot.* 2010; 73(7):1317-24.

172. Moran L, Scates P, Madden RH. Prevalence of *Campylobacter* spp. in raw retail poultry on sale in Northern Ireland. *J Food Prot.* 2009; 72(9):1830-1835 .