

KAMPILOBAKTER KAO UZROČNIK AKUTNE DIJAREIČNE BOLESTI U PRIMORSKO-GORANSKOJ ŽUPANIJI TIJEKOM GODINE 2006.

CAMPYLOBACTERS AS THE CAUSE OF ACUTE DIARRHEAL DISEASE IN THE COUNTY PRIMORSKO-GORANSKA IN THE YEAR 2006

Darinka Vučković¹, Palmira Gregorović-Kesovija², Brigita Tićac^{1,2}, Maja Abram¹

SAŽETAK

Bakterije roda *Campylobacter* jesu gram-negativne, zavinute, mikroaerofilne i termofilne bakterije. U humanoj patologiji najčešće su zastupljeni *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) i *Campylobacter coli* (*C. coli*), i to kao uzročnici akutne dijareične bolesti nastale najčešće nakon konzumiranja nedovoljno termički obrađenoga kontaminiranoga mesa peradi ili svinja. Cilj je ovoga rada prikazati zastupljenost kampilobaktera u stolicama bolesnika s proljevom, na području Primorsko-goranske županije. Analizirani su retrospektivno podaci Laboratorija za dijagnostiku crijevnih infekcija Nastavnoga zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije za godinu 2006. Tijekom te godine, na kampilobakter pretraženo je 6416 stolica bolesnika s akutnim proljevom. Od toga su broja iz 407 (6,34%) uzoraka izolirani kampilobakteri. Primoizolata (bolesnika) bilo je 239 (3,73%), a ostali izolati bili su ponovljene izolacije tijekom kontrole bolesnika. Među primoizolatima, *C. jejuni* bio je zastupljen u 187 (78,24%) slučajeva, a *C. coli* u 50 slučajeva (20,92%), dva izolata (0,84%) bila su identificirana jedino na razini roda kao *Campylobacter* spp. Najčešći bolesnici bili su mala djeca u dobi do četvrte godine, te mlađe odrasle osobe (20 – 29 godina). Najviše primoizolata bilo je tijekom mjeseca siječnja i rujna, vjerojatno zbog blage zime i toplijega kraja ljeta.

Ključne riječi: *Campylobacter*, proljev, dob

¹ Katedra za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

² Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije

Primljeno: 16. 3. 2007.

Prihvaćeno: 1. 4. 2007.

Adresa za dopisivanje: prof. dr. sc. Darinka Vučković, dr. med., Zavod za mikrobiologiju i parazitologiju, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, tel.: 051 651 145, e-mail: dara@medri.hr

ABSTRACT

Campylobacter spp. are gram negative, curved, microaerophilic and thermophilic bacteria. The most important role in human pathology play *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) and *Campylobacter coli* (*C. coli*) as the causative agents of acute diarrheal disease developed after consumption of contaminated meat (poultry or pork). The aim of the study was to present the quantity of campylobacters isolated from stools of the patients with diarrhea in the County Primorsko-Goranska. The data from the Laboratory for diagnostics of enteric infections of the Teaching institute of public health of the County Primorsko-Goranska for the year 2006 were analysed retrospectively. During that year 6416 stool samples were examined for *Campylobacter* spp. Campylobacters were found in 407 samples (6.34%) but primoisolates were identified in 239 (3.73%) patients and the other isolates were from control stools obtained from the same patients. Among primoisolates *C. jejuni* was found in 187 (78.24%) patients, *C. coli* in 50 (20.92%) patients and for two isolates (0.84%) species determination was not possible. The patients were mostly children under four years of age and young adults and the largest numbers of isolation were seen in January and September.

Key words: *Campylobacter*, diarrhea, age

UVOD

Kampilobakteri jesu sitni, zavijeni gram-negativni štapići, mikroaerofilni su i termofilni, što je vjerojatno posljedica prilagodbe na uvjete u njihovu prirodnome staništu – probavnomu sustavu toplokrvnih životinja i ptica.

Još otkad je Escherich koncem 19. stoljeća uočio zavinute, gram-negativne bakterije u stolici bolesne djece s proljevom, raste zanimanje za infekcije u ljudi uzrokovane tim bakterijama. Godine 1963. Sebald i Véron predložili su osnivanje roda *Campylobacter*¹. Budući da se kampilobakteri razmnožavaju sporije negoli uobičajena crijevna flora, te najbolje rastu u mikroaerofilnim uvjetima (5 – 10% kisika) i na temperaturi od 42°C, iz uzoraka stolice nisu se mogli izolirati bez korištenja selektivnih tehnika. Tek je razvoj selektivnih hranjivih podloga 70-tih godina prošloga stoljeća, omogućio izolaciju tih mikroorganizama u većem broju laboratorija².

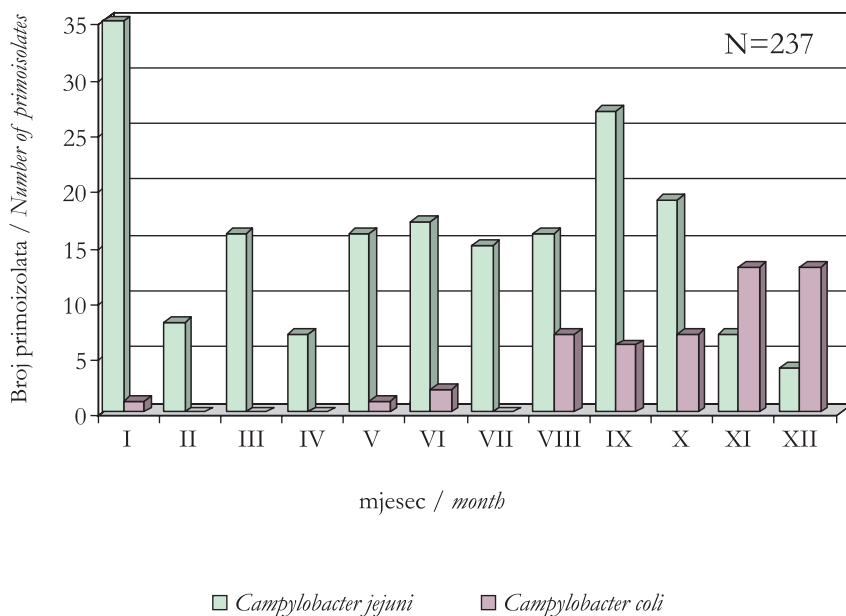
Danas tomu rodu pripada 17 vrsta. Iako nekoliko vrsta uzrokuje proljeve u čovjeka (*C. jejuni*, *C. coli*, *C. upsaliensis*, *C. lari* i drugi), najvažniji su *C. jejuni* i *C. coli*. Tako je danas *Campylobacter jejuni* vodeći uzročnik bakterijskoga gastroenteritisa i u zemljama u razvoju i u razvijenim zemljama. Izolira se mnogo češće od ostalih crijevnih patogena (*Salmonella*, *Shigella*...), stoga je važan javno-zdravstveni problem³. Infekcije u ljudi najčešće su posljedica konzumiranja nedovoljno termički obrađenoga pilećega ili svinjskoga mesa kontaminiranoga tijekom obrade, nepasterizirana mlijeka, vode zagađene izlučevinama inficiranih životinja, te izravna kontakta s inficiranim životinjama (profesionalno, ili s kućnim ljubimcima)⁴. Infektivna je doza približno 10⁵ bakterija, ali može biti i samo 800 bakterija⁵. Budući da je mikroorganizam osjetljiv na klorovodičnu kiselinu u želucu, uzimanje antacida smanjuje broj bakterija potreban za uzrokovanje akutne dijareične bolesti (ADB). Simptomi bolesti započinju naglo, nakon inkubacije do tjedan dana. Bolest je samooograničavajuća i najčešće se očituje proljevom, vrućicom i abdominalnim grčevima. Stolica su učestale, vodenaste, ponekad s primjesama krvi ili sluzi. Katkad su dominantni abdominalni grčevi, što može dovesti do dijagnoze akutnog abdomena. Tjelesna je temperatura najčešće umjereno povišena, no može biti i do 40°C, te trajati do tjedan dana^{3,6}. Leukociti i eritrociti mogu se naći u stolici inficiranih osoba u 75% slučajeva. *Campylobacter* spp. najprije prijanja uz epitelne stanice jejunuma, ileuma i kolona, kolonizira crijevo, a potom napada epitelne stanice, te dovodi do njihova oštećenja. Pojedini sojevi proizvode termolabilni "cholera-like" enterotoksin koji je odgovoran za pojavu obilnih vodenastih stolica, te citotoksin koji uzrokuje krvave proljeve. Uz intestinalne bolesti, kampilobakteri mogu uzrokovati i infekcije drugih

organskih sustava, meningitis, pankreatitis, septični artritis⁷. Dok u terapiji najveću važnost ima naknada tekućine i elektrolita, specifična antibiotska terapija potrebna je jedino u težim kliničkim stanjima, u trudnica, te u imunokompromitiranih bolesnika. Donedavna su fluorokinoloni bili lijek prvoga izbora, no svugdje u svijetu ustanovljen je porast broja otpornih sojeva kampilobaktera^{3,8}. Prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), infekcije probavnoga sustava uzrokovane kampilobakterima najčešće se pojavljuju u male djece i u mlađih odraslih osoba^{9,10}. U zemljama u razvoju, *Campylobacter* jest najčešće izolirana bakterija u djece s proljevom, mlađe od dviju godina¹¹. U područjima s umjerenom klimom, sporadične se infekcije pojavljuju sezonski, češće ljeti i tijekom rane jeseni¹⁰.

CILJ, MATERIJAL I METODE

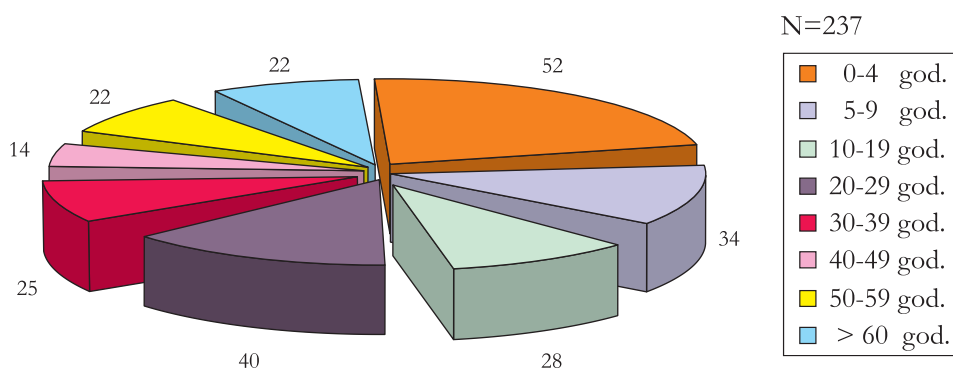
Cilj je ovoga rada prikazati zastupljenost bakterija roda *Campylobacter* u stolici bolesnika s akutnom dijareičnom bolesti na području Primorsko-goranske županije. Rezultati pretraga Laboratorija za dijagnostiku crijevnih infekcija Nastavnoga zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije za razdoblje od 1. siječnja 2006. do 31. prosinca 2006., analizirani su retrospektivno prema pripadnosti vrsti, sezonskoj raspodjeli, te dobi bolesnika.

Uzorci stolica oboljelih od ADB-a nacijepljeni su na kruto selektivno hranilište CCDA (Casein Hydrolysisate, Cefoperazone, Desoxycholate Agar) prema Boltonu¹² (Biolife, Milano, Italija), te inkubirani u mikroaerofilnim uvjetima (uz korištenje CampyPak vrećice, Becton Dickinson, Maryland, SAD), pri temperaturi od 42°C kroz 48 sati. Kolonije sumnjiva izgleda (malene ili sluzave, sivkaste, plosnate, nepravilnih rubova koje se šire ili roje uzduž inokulacijskoga traka), nakon inkubacije supkultivirane su na krvnome agaru u jednakim uvjetima. Iz narasle kulture urađen je mikroskopski preparat obojen prema Grammu i karbol fuksinom. Pripadnost vrsti *Campylobacter* određena je mikroskopskim nalazom karakterističnih gram-negativnih, nježnih, zavinutih bakterija koje često tvore oblike poput galebova krila ili kokoidne oblike, uz pozitivni oksidaza i katalaza test. Vrsta je određena testom hidrolize hipurata (hipurat pozitivni *C. jejuni* – hipurat negativni *C. coli*). Za identifikaciju vrste, prema potrebi korišten je također API Campy sustav za identifikaciju kampilobaktera (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francuska).



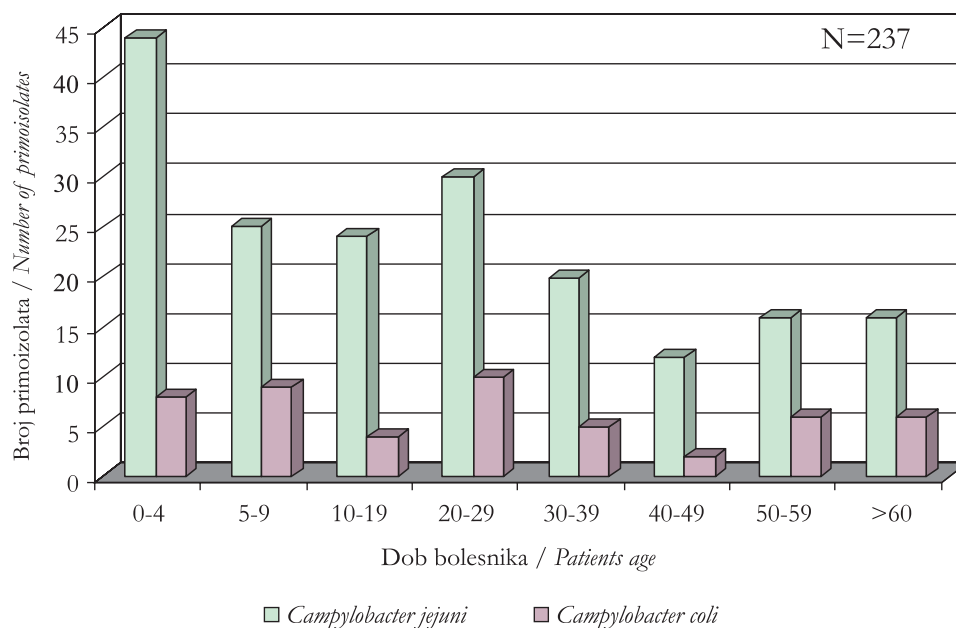
Slika 1. Prikaz primoizolata vrsta *C. jejuni* i *C. coli* tijekom godine 2006.

Figure 1 *C. jejuni* and *C. coli* primoisolates in 2006 (monthly distribution)



Slika 2. Prikaz raspodjele primoizolata vrsta *C. jejuni* i *C. coli* prema dobi bolesnika tijekom godine 2006.

Figure 2 Age distribution of *C. jejuni* and *C. coli* primoisolates in the year 2006



Slika 3. Raspodjela prema dobi bolesnika s primoizolatima *C. jejuni* i *C. coli* tijekom godine 2006.
Figure 3 Age distribution of diarrheal patients with *C. jejuni* and *C. coli* primoisolates in the year 2006

Tablica 1. Prikaz pregledanih stolica na kampilobaktere tijekom godine 2006.
Table 1 Stools examined for campylobacters in the year 2006

Mjesec Month	Broj pretraženih uzoraka* Number of samples	Pozitivni nalazi** Positive samples (%)	Broj primoizolata Number of primoisolates			Ukupno Total (%)
			<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. spp.</i>	
I	515	53 (10,29)	35	1	0	36 (6,99)
II	498	22 (4,42)	8	0	0	8 (1,61)
III	417	24 (5,76)	16	0	0	16 (3,84)
IV	343	12 (2,03)	7	0	0	7 (2,04)
V	469	26 (5,54)	16	1	1	18 (3,41)
VI	467	36 (7,71)	17	2	0	19 (4,07)
VII	471	28 (5,94)	15	0	0	15 (3,18)
VIII	605	38 (6,28)	16	7	1	24 (3,97)
IX	724	59 (8,15)	27	6	0	33 (3,73)
X	739	49 (6,63)	19	7	0	26 (2,57)
XI	619	29 (4,68)	7	13	0	20 (3,23)
XII	549	31 (5,65)	4	13	0	17 (3,10)
Ukupno /Total	6416	407 (6,34)	187	50	2	239 (3,73)

*Ukupno pretraženi uzorci stolica na kampilobaktere / Total stool samples examined

**Uzorci stolica iz kojih su izolirani kampilobakteri (primoizolati i "copy" sojevi) / Stool samples with Campylobacter isolates (primoisolates and "copy" strains)

REZULTATI

Tijekom godine 2006., u Laboratoriju za dijagnostiku crijevnih infekcija Nastavnoga zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, na prisustvo kampilobaktera pretraženo je ukupno 6416 stolica bolesnika s dijagnozom akutne dijareične bolesti. *Campylobacter* spp. izoliran je u 407 (6,34%) uzoraka, od toga je broja bilo 239 (3,73%) primoizolata, a ostalo bili su izolati dobiveni iz kontrolnih uzoraka stolica istih osoba (tzv. copy sojevi). Od primoizolata, 187 (78,24%) identificirano je kao *Campylobacter jejuni*, a 50 (20,92%) kao *Campylobacter coli*. U dvama izolatima (0,84%) nije bilo moguće odrediti pripadnost vrsti, jer su sojevi u supkultivaciji uginuli (tablica 1.).

Dok su dalje analizirani jedino primoizolati, "copy" sojevi izolirani tijekom kontrolnih pregleda, isključeni su. Tako je primoizolacija bilo najviše u siječnju (6,99%), te lipnju (4,07%) i u kolovozu (3,97%) godine 2006., iako je ukupno pozitivnih nalaza (izuzev u siječnju) bilo najviše još i u rujnu, te u lipnju.

Na slici 1. prikazan je odnos broja vrsta *C. jejuni* i *C. coli* izoliranih tijekom ispitivane godine. Tijekom cijele godine bilo je zamjetno više izolata *C. jejuni*, osim u studenome i u prosincu, kada je bilo po 13 izolata *C. coli* (65%, odnosno 76%).

Na slici 2. prikazana je dobna raspodjela bolesnika iz kojih su izolirane vrste *C. jejuni* i *C. coli* (primoizolati) tijekom godine 2006. Najviše je bilo djece u dobi do četvrte godine (52 bolesnika, ili 21,76%), te mlađih odraslih osoba (40 bolesnika, ili 16,74%). Predispozicija dobi bolesnika za određenu vrstu kampilobaktera (*C. jejuni* ili *C. coli*), nije uočena (slika 3.).

RASPRAVA

Danas u svijetu kampilobakteri pripadaju vodećim uzročnicima akutne dijareične bolesti. Bolest se uglavnom pojavljuje sporadično, rjeđe epidemijski, a prema podacima američkoga Centra za kontrolu i prevenciju bolesti, incidencija na 100.000 stanovnika tijekom godine 2005. u SAD-u bila je 12,72, što je pad za 30% u odnosu prema prethodnomu desetogodišnjem razdoblju. No, budući da se mnogobrojni slučajevi ne dijagnosticiraju ili ne prijave, smatra se da tijekom godine oboli približno 0,5% opće populacije¹³. Istraživanja u svijetu pokazala su da je učestalost kampilobakterioze u općoj populaciji podjednaka i u razvijenim zemljama i u zemljama u razvoju (90/100.000). Mikrobiološki

laboratorij Nastavnoga zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, obrađuje uzorke s područja cijele županije koja obuhvaća 305.000 stanovnika. Stoga naši rezultati obrade 239 primoizolata pokazuju donekle bolje stanje u županiji, odnosno učestalost od 80 izolata na 100.000 stanovnika. Nema potpunih podataka za cijelo područje Republike Hrvatske.

Najveća razlika između industrijaliziranih zemalja i zemalja u razvoju, uočava se tek nakon što se analizira dob bolesnika. Naime, istraživanja su pokazala da je u zemljama u razvoju kampilobakterioza najčešće pedijatrijska bolest¹¹. U Primorsko-goranskoj županiji najveći broj primoizolata ustanovljen je u djece u dobi do četvrte godine, te u mlađih odraslih osoba (20 – 29 godina), što je podudarno s podacima SZO-a za razvijene zemlje⁹. Zanimljivo je spomenuti da je u nas najmlađi bolesnik u kojega je izoliran kampilobakter bilo novorođenče u dobi od pet tjedana, a najstariji bolesnik imao je 78 godina.

Raspodjela izolata prema spolu osoba u kojih je bio izoliran *C. jejuni*, odnosno *C. coli* (podaci nisu prikazani), nije pokazala bitnija odstupanja između muškaraca i žena (134 muškarca i 103 žene, odnosno 56,5% i 43,5%), što je podudarno s podacima u literaturi¹⁴.

Epidemiološka istraživanja pokazala su da se kampilobakterioza najčešće pojavljuje koncem ljeta i u ranu jesen¹⁴, što je potvrđeno i u Primorsko-goranskoj županiji. Odstupanje je uočeno u siječnju, kada je bilo najviše izolata kampilobaktera. Iako nije potvrđeno da se radi o epidemiji, vjerojatno se radilo o konzumiranju namirnice iz istoga proizvodnoga lanca.

U literaturi se navodi da se *C. jejuni* zamjetno češće izolira negoli *C. coli*¹⁵, i to poglavito u urbanim sredinama¹⁶, što se pokazalo i u Primorsko-goranskoj županiji u kojoj većinsko stanovništvo živi u gradovima. Izuzetak su mjeseci studeni i prosinac 2006., kada je bilo zamjetno više izolata *C. coli*. U svijetu, opisane su manje epidemije uzrokovane tim kampilobakterom.¹⁷ U našem je slučaju uočen veći broj oboljelih u istome tjednu unutar mjeseca (podaci nisu prikazani), što ukazuje na to da je najvjerojatnije istu kontaminiranu namirnicu konzumiralo više bolesnika.

Praćenje učestalosti bakterija roda *Campylobacter* kao uzročnika akutne dijareične bolesti posebno je važno, jer pridonosi unapređenju kontrole namirnica, a time i njihovoj kvaliteti.

Daljnijim istraživanjima nastojat ćemo ustanoviti razvijaju li i naši izolati otpornost na eritromicin i

fluorokinolone, kao što se sve češće opisuje u zemljama Europske Unije¹⁸, te postoji li povezanost između razvoja otpornosti u humanih izolata i korištenja antibiotika tijekom uzgoja peradi i svinja.

LITERATURA

1. Sebald M, Véron M. Teneur en bases de l'ADN et classification des vibrions. *Année Inst Pasteur* 1963;105:897-910.
2. Skirrow MB. *Campylobacter* enteritis: a «new disease». *BMJ* 1977;2:9-11.
3. Allos BM. *Campylobacter jejuni* infections: update on emerging issues and trends. *Clin Infect Dis* 2001;32:1201-6.
4. Kapperud G, Espeland G, Wahl E, i sur. Factors associated with increased and decreased risk of *Campylobacter* infection: a prospective case-control study in Norway. *Am J Epidemiol* 2003;158:234-42.
5. Wallis MR. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*. *Br J Biomed Sci* 1994;51:57-64.
6. Butzler JP. *Campylobacter*, from obscurity to celebrity. *Clin Microbiol Infect* 2004;10:868-76.
7. Konkel ME, Monteville MR, Rivera-Amill V, i sur. The pathogenesis of *Campylobacter jejuni*-mediated enteritis. *Curr Issues Intestinal Microbiol* 2001;2: 55-71.
8. Nachamkin I, Ung H, Li M. Increasing fluoroquinolone resistance in *Campylobacter jejuni*, Pennsylvania, USA, 1982 – 2001. *Emerg Infect Dis* 2002;8: 1501-3.
9. Tauxe R. Incidence, trends and source of campylobacteriosis in developed countries: an overview. In: The increasing incidence of campylobacteriosis in humans. Report and proceedings of a WHO consultation of experts. Geneva: World Health Organisation 2001; 42-3.
10. Tauxe RV. Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections in the United States and other industrial nations. In: Nachamkin I, Blaser MJ; Tompkins LS, editors. *Campylobacter jejuni: current and future trends*. Washington: American Society for Microbiology 1992, p. 9-12.
11. Coker AO, Isokpehi RD, Thomas BN, Amisu KO, Obi CL. Human *Campylobacteriosis* in Developing countries. *Emerg Inf Dis* 2002;8:237-43.
12. Bolton FJ, Robertson L: A selective medium for isolating *Campylobacter jejuni/coli*. *J Clin Pathol* 1982;35: 462-7.
13. Preliminary FoodNet data on the incidence of infections with pathogens transmitted commonly through food-10 states, United States, 2005. *MMWR* 2006;55:392-5.
14. Gurtler M, Alter T, Kasimir S, i sur. The importance of *Campylobacter coli* in human campylobacteriosis: prevalence and genetic characterization. *Epidemiol Infect* 2005;133:1081-7.
15. Gillespie IA, O'Brien SJ, Frost JA, i sur. A case-case comparison of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni* infection: A tool for generating hypothesis. *Emerg Infect Dis* 2002;8:937-42.
16. Uzunovic-Kamberovic S. Some epidemiologic features of *Campylobacter jejuni/coli* infections in Bosnia and Herzegovina after the war. *Clin Microbiol Infect* 2003;9:458-460.
17. Ronveaux O, Quoilin S, Van Loock F, i sur. A *Campylobacter coli* foodborne outbreak in Belgium. *Acta Clin Belg* 2000;55:307-11.
18. Gallay A, Prouzet-Mauléon V, Kempf I, i sur. *Campylobacter* antimicrobial drug resistance among humans, broiler chickens, and pigs, France. *Emerg Infect Dis* [serial on the Internet]. 2007 Feb [date cited]. Available from <http://www.cdc.gov/EID/content/13/2/259.htm>