

# Molekularne mechanizmy chorobotwórczości termotolerancyjnych *Campylobacter*

RENATA SZEWCZYK, KINGA WIECZOREK, JACEK OSEK

Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego  
– Państwowego Instytutu Badawczego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Szewczyk R., Wieczorek K., Osek J.

## Molecular mechanisms of pathogenicity of thermotolerant *Campylobacter*

### Summary

Thermotolerant bacteria belonging to the *Campylobacter* genus are one of the most common etiological factors of human food-borne infections. The main cause of the human illness is the ingestion of undercooked poultry meat, and the microorganism most commonly isolated from patients is *C. jejuni*. Every year the number of confirmed cases of campylobacteriosis increases in both developing and developed countries. The acute form of the disease manifests itself with a headache, abdominal pains, vomiting and, in some cases, bloody diarrhea. Campylobacteriosis can lead to serious complications, including the Miller-Fisher syndrome or Reiter's disease. The mechanism of infection is not yet fully understood, and therefore it is difficult to reduce the number of cases. The problems are related to high genetic variability among bacterial isolates. Several studies conducted in recent years are focused on clarifying the molecular basis of campylobacteriosis. The sequencing of the genome of *C. jejuni* NCTC 11168 and research conducted on *Campylobacter* mutants have made it possible to define specific markers playing a role in the virulence of these bacteria. A detailed understanding of the pathogenicity mechanisms of *Campylobacter* will make it possible to develop better methods of protection against the pathogen and more effective treatment methods. The present paper summarizes the results of recent research on the pathogenicity of *Campylobacter*, including a characterization of surface structures of bacterial cells (capsule and LOS) and their adaptability to the environment in which they exist, as well as the possibility of adhesion and penetration into the host's intestinal epithelial cells. Flagella and proteins, such as PEB and CadF, play an important role as adhesions factors. Characteristic of *Campylobacter* is the process of N-linked glycosylation, which modifies about 30 proteins involved in the colonization, adhesion and invasion of epithelial cells. These bacteria produce two kinds of toxins, of which the best known is cytolethal distending toxin (CDT), which destroys the intestinal epithelium and thereby causes bloody diarrhea in humans.

**Keywords:** *Campylobacter*, virulence, adhesion, cytolethal distending toxins CDT

Termotolerancyjne bakterie z rodzaju *Campylobacter* są głównym czynnikiem zatruć pokarmowych w krajach Unii Europejskiej oraz innych krajach rozwiniętych ([www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)). Ich głównym rezerwuarem jest przewód pokarmowy ptaków oraz ssaków, a transmisja drobnoustrojów na ludzi odbywa się zwykle poprzez spożycie żywności pochodzenia zwierzęcego, w szczególności mięsa drobiowego poddanego niedostatecznej obróbce termicznej czy też innych produktów żywnościowych wtórnie zanieczyszczonych *Campylobacter* w trakcie obróbki ([www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)). Pomimo istotnego znaczenia tych bakterii w zakażeniach sporadycznych i epidemiach pokarmowych u ludzi, nie zostały do końca wyjaśnione mechanizmy chorobotwórczości, na drodze których wywołują one objawy i rozwój choroby. Z dotychczas-

sowych badań wynika, że niektóre *Campylobacter*, mimo obecności w spożytej żywności, nie indukują schorzenia, natomiast inne izolaty są przyczyną poważnych dolegliwości, nie tylko ze strony przewodu pokarmowego, ale również powikłań narządowych (30, 36). W obecnej pracy przedstawiono najnowsze informacje dotyczące mechanizmów chorobotwórczości *Campylobacter*, ze szczególnym uwzględnieniem aspektów molekularnych, odgrywających rolę w indukowaniu rozwoju zakażenia i choroby u ludzi.

### Ogólna charakterystyka bakterii z rodzaju *Campylobacter*

Termotolerancyjne bakterie *Campylobacter* należą do rodziny *Campylobacteriaceae*, rzędu *Campylobacterales* i klasy *Epsilonproteobacteria*. W obrębie ro-

dzaju występuje ponad 20 gatunków i podgatunków, w tym najczęściej izolowane od ludzi i zwierząt *Campylobacter jejuni* i *C. coli* (30, 36). Należą do bakterii mikroaerofilnych, rosnących w środowisku zawierającym od 3% do 15% tlenu i 3-5% dwutlenku węgla. Zakres temperatury, w jakiej bakterie się rozwijają, waha się od 37°C do 44°C, a najbardziej optymalna to 42°C (19). Do klasyfikacji serologicznej termofilnych gatunków *Campylobacter* stosuje się dwie metody: Liora, która opiera się na ciepłochwiejnych antygenach (HL) białek powierzchniowych oraz Pennera, bazującą na antygenach ciepłostajłych (HS). Genom *Campylobacter* jest stosunkowo mały i składa się z ok.  $1,6-1,7 \times 10^7$  par zasad (3, 19, 36, 37).

W ostatnich latach obserwuje się duży wzrost liczby zakażeń, których przyczyną są *Campylobacter*. Problem ten nie dotyczy tylko krajów rozwijających się, ale przede wszystkim rozwiniętych, zwłaszcza Europy Zachodniej i USA. Według raportu Europejskiego Urzędu do spraw Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), opublikowanego w marcu 2011 r., który podaje występowanie chorób odzwierzęcych u ludzi w krajach Unii Europejskiej, *Campylobacter* jest nadal, począwszy od 2005 r., najczęstszym czynnikiem etiologicznym infekcji pokarmowych ([www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)). Liczba potwierdzonych przypadków choroby w 2009 r. w porównaniu z 2008 r. wzrosła o 4% i wynosiła 198 252, a współczynnik zapadalności na kampylobakteriozę, w przeliczeniu na 100 000 mieszkańców, zwiększył się z 43,9 do 45,6. Największy wzrost liczby przypadków zachorowań zaobserwowano w Rumunii (z 2 do 328), natomiast spadek – w sześciu krajach (Austria, Dania, Finlandia, Niemcy, Hiszpania i Szwecja). W przypadku Polski, wg danych EFSA za lata 2005-2009, również obserwuje się tendencję wzrostową – z 47 osób z potwierdzonymi objawami kampylobakteriozy w 2005 r., 192 w 2007 r., do 357 w 2009 r. ([www.efsa.europa.eu](http://www.efsa.europa.eu)).

### Źródła zakażenia i choroba

Rezerwuarem *Campylobacter* są głównie wolno żyjące lub udomowione ptaki i ssaki, zwłaszcza drób (kury, kaczki, indyki) oraz bydło, świnie, króliki, psy i koty. Bakterie te są składnikiem normalnej flory jelitowej, nie wywołującym żadnych objawów chorobowych. Człowiek najczęściej zakaża się po zjedzeniu nieprawidłowo przygotowanego termicznie mięsa drobiowego. Możliwa jest też infekcja po spożyciu surowego, niepasteryzowanego mleka zawierającego drobnoustroje lub wody zanieczyszczonej odchodami zwierząt, będących nosicielami *Campylobacter* (35, 36).

Dawka infekcyjna dla *Campylobacter* jest stosunkowo niska i wynosi ok. 500 komórek bakteryjnych. Pierwsze objawy pojawiają się między 2. a 5. dniem od zakażenia i są to bóle głowy oraz zaburzenia żołądkowo-jelitowe (skurcze brzucha, obfita, wodnista biegunka, nudności i wymioty). W ostrzejszych przy-

padkach choroby odnotowano też krwawą biegunkę. Symptomy te utrzymują się około dwóch, trzech dni, ale niekiedy mogą się wydłużyć do dwóch tygodni. Zakażenie dotyczy wszystkich grup wiekowych, jednak ryzyko infekcji wzrasta u osób z obniżoną odpornością. Powikłania po kampylobakteriozie mogą prowadzić do bardzo poważnych i ciężkich chorób, takich jak: zapalenie wątroby, trzustki, stawów (choroba Reitera) czy też zaburzeń neurologicznych w postaci zapalenia wielkorzeniowego (syndrom Guillain-Barre, GBS) lub jego odmiany (zespół Millera-Fishera, MFS) (30).

### Modele zwierzęce i komórkowe w badaniu patogeny kampylobakteriozy

Biologiczne znaczenie potencjalnych markerów wirulencji *Campylobacter* nie zostało do końca wyjaśnione, dlatego opracowano kilka modeli badań na zwierzętach, pozwalających lepiej zrozumieć mechanizm patogeny i przebieg zakażenia. Pojawienie się symptomów kampylobakteriozy zależy od kilku czynników, takich jak: dawka infekcyjna, mikroflora przewodu pokarmowego, stan układu odpornościowego gospodarza. Najlepszym modelem zwierzęcym, u którego symptomy kampylobakteriozy są bardzo podobne do objawów zakażeń u ludzi, jest makak. Po podaniu doustnym *Campylobacter* dochodzi do kolonizacji przewodu pokarmowego, rozwija się ostre zapalenie jelit i biegunka, a więc te symptomy, które występują w przypadku naturalnych infekcji ludzi. Wadami tego modelu są natomiast jego koszt i ograniczona liczba zwierząt, jaką można poddać testom oraz ryzyko związane z ewentualnym przenoszeniem chorób odzwierzęcych. Ze względu na powyższe problemy badania na makakach wykonywane są sporadycznie, a doświadczenia prowadzi się zwykle na innych zwierzętach, np. fretkach, myszach czy kurczętach (4, 14).

W modelu z wykorzystaniem fretki używa się zwierząt w wieku 3-6 tygodni. Po ok. 24 godzinach od podania dawki infekcyjnej *Campylobacter* obserwuje się pierwsze symptomy choroby, trwającej około 10 dni. Są to umiarkowane zmiany zapalne jelita grubego, z obecnością śluzu lub krwi w kale. Wadą tej metody jest dość wysoka cena zwierząt oraz ograniczona hodowla i rozmnażanie warunkowane sezonowością (14).

Testy przeprowadzane na myszach dostarczają pewnych informacji na temat chorobotwórczości *Campylobacter*, ale gryzonie z normalną florą przewodu pokarmowego i sprawnym układem immunologicznym nie są zwykle podatne na infekcje. Z tego też względu do doświadczeń nad patogeną kampylobakteriozy wykorzystuje się myszy o sztucznie zredukowanej florze jelitowej, co umożliwia obserwację etapu kolonizacji przewodu pokarmowego przez dużą liczbę komórek bakteryjnych, dając jednocześnie umiarkowany stan zapalny jelit. Inny model myszy wykorzystu-

je w testach zwierzęta, mające defekt w wydzielaniu interleukiny 10, co pozwala na podanie niskiej dawki *Campylobacter*, efektem czego jest dość ostry przebieg choroby, z podobnymi objawami, jakie obserwuje się w naturalnych zakażeniach ludzi (14).

W celu zbadania zdolności inwazyjnych *Campylobacter* wykorzystuje się też model z użyciem kurcząt. Niestety, nie jest on dobry do oceny rozwoju choroby u ludzi, ponieważ kurczęta nie chorują, ich temperatura fizjologiczna jest wyższa niż w organizmie człowieka, a dodatkowo przewód pokarmowy ptaków i ssaków różni się pod względem anatomicznym. Drób, jako rezerwuar zarazka, jest za to bardzo przydatny do badania czynników kolonizacji *Campylobacter*, jednak istnieją też ograniczenia z nim związane, wynikające m.in. z pochodzenia kurcząt doświadczalnych, ich wieku i matczyńskich przeciwciał obecnych w surowicy (1, 4).

Ze względu na brak optymalnego modelu zwierzęcego, który byłby łatwy do wykorzystania w badaniach laboratoryjnych i jednocześnie dawał objawy chorobowe zbliżone do naturalnych u ludzi, do testów nad interakcją bakterii z ludzkimi komórkami nabłonkowymi wykorzystuje się linie komórkowe *in vitro*. Przyjmuje się, że pewne zależności na tym poziomie są podobne do tych, jakie zachodzą w warunkach naturalnych *in vivo*. Badania tego typu dotyczą zdolności *Campylobacter* do wnikania do komórek, przeżywania i replikacji w ich wnętrzu. Powszechnie stosowanymi do tego celu komórkami są linie INT-407 (embrionalne komórki jelita) i Caco-2 (komórki gruczolaka jelita grubego). Badania *in vitro* przeprowadza się również na komórkach niespolaryzowanych, najczęściej z wykorzystaniem linii raka szyjki macicy HeLa oraz HEP-2, czyli komórek raka krtani. Do testów, w których analizuje się zdolność adhezji i inwazji *C. jejuni*, lepiej nadają się komórki HEP-2, natomiast cytotoxyczność bakterii ocenia się najczęściej na komórkach linii HeLa (14).

### Zmienność genetyczna szczepów *Campylobacter*

Szereg badań przeprowadzonych w ostatnich latach wykazało, że szczepy *Campylobacter*, izolowane od ludzi oraz zwierząt różnią się między sobą na poziomie fenotypowym. Odmienności te dotyczą: zdolności produkcji toksyn, stopnia adhezji i kolonizacji nabłonka jelitowego czy też budowy polisacharydów otoczkowych. Zmiany fenotypowe są skutkiem różnic obserwowanych w genomach różnych izolatów *Campylobacter*. Stwierdzono, że różnorodność molekularna *Campylobacter* wynika z występujących rekombinacji genowych w ramach tego samego gatunku oraz między *C. jejuni* i *C. coli*. Wykazano, że komórki bakteryjne na drodze naturalnej transformacji są zdolne do pobierania obcego DNA, a wydajność całego procesu jest odmienna w różnych szczepach. Sekwencjonowanie genomu *C. jejuni* wykazało obecność regionów hiperzmiennych, które warunkują zmienność

fazową, wywołującą zmiany sekwencji nukleotydów w konkretnych *loci* chromosomu. Proces ten wywołuje odwracalne zmiany fenotypowe komórek bakteryjnych, które umożliwiają im kolonizację różnorodnych nisz ekologicznych oraz maskowanie się przed mechanizmami obronnymi gospodarza. Zmienność fazowa dotyczy konkretnych genów, zawierających krótkie, powtarzające się sekwencje nukleotydowe. Ich obecność może prowadzić do poślizgu polimerazy DNA w procesie replikacji, co skutkuje zaburzeniem przebiegu transkrypcji czy translacji i często brakiem funkcjonalnego genu. Hiperzmiennie obszary obejmują geny biorące udział w biosyntezie struktur otoczki komórek bakteryjnych, białek FlaA i FlaB, lipooligosacharydów *Campylobacter* oraz geny kodujące białka, które tworzą układ przyswajania żelaza (30, 36).

### Czynniki wirulencji

Cały proces patogenezy kampylobakteriozy, podobnie jak w przypadku zakażenia innymi drobnoustrojami, składa się z kilku etapów. *Campylobacter*, odbywając drogę z organizmu nosiciela (np. kurcząt) na człowieka, musi pokonać wiele niekorzystnych warunków środowiska, zarówno zewnętrznego, jak i wewnętrznego, np.: szkodliwe działanie tlenu, wahania temperatury, ograniczone źródła substancji odżywczych, reakcję układu immunologicznego gospodarza itp. Po dostaniu się do organizmu gospodarza komórki bakteryjne przylegają do enterocytów nabłonka jelitowego i wnikają do ich wnętrza, dochodzi do ich niszczenia, najprawdopodobniej poprzez wytwarzanie toksyn. Skutkuje to zaburzeniem wchłaniania jelitowego i wystąpieniem wodnistej lub krwawej biegunki (3, 25, 34).

*Campylobacter*, po przekroczeniu warstwy śluzowej pokrywającej enterocyty nabłonka jelitowego, przyczepia się do komórek i stopniowo do nich wnika. Badania *in vitro* i *in vivo* wykazały, że pomiędzy szczepami istnieje duża zmienność pod względem stopnia zdolności wnikania do enterocytów. Stwierdzono, że najbardziej inwazyjne były izolaty pochodzące od osób z objawami chorobowymi, mniej natomiast od pacjentów nie wykazujących klinicznych symptomów kampylobakteriozy. W komórkach *Campylobacter* wykryto kilka białek pełniących funkcję adheryn, czyli białek łączących się z odpowiednimi receptorami na powierzchni komórek gospodarza. Należą do nich: CadF, PEB1, JlpA, CapA i niedawno opisane białko FlpA. CadF (*Campylobacter* adhesion to fibronectin) jest to białko błony zewnętrznej, o masie 37 kDa, łączące się z fibronektyną macierzy zewnątrzkomórkowej. Część glikoproteiny, wykazującej powinowactwo do CadF, tworzy sekwencja składająca się z czterech aminokwasów: fenyloalaniny–argininy–leucyny–seryny. Mutanty, u których brak jest genu *cadF* kodującego to białko, są niezdolne do adhezji do komórek linii INT-407, jak również nie potrafią kolonizować enterocytów *in vivo*. Badania z wykorzysta-

niem komórek INT-407 wykazały, że po zakażeniu drobnoustrojami *Campylobacter* wzrastał w nich poziom paksyliny, białka cytoszkieletu, którego biosynteza zachodzi w miejscu przylegania bakterii, tzw. ognisku adhezji. Stwierdzono, że paksylina bierze udział w transdukcji sygnału między fibronektyną a integrynami komórek docelowych, czego efektem jest rearanżacja szkieletu cytoplazmatycznego (8, 36).

Niedawno odkryto inne białko – FlpA (fibronectin-like protein A), które również łączy się z fibronektyną. Przeprowadzone badania *Campylobacter* z mutantami w genie flpA wykazały, że w znacznym stopniu została obniżona zdolność ich przylegania do komórek linii INT-407, a tym samym możliwość zasiedlenia i dalszej inwazji (24).

U *Campylobacter* występuje też grupa adhezyń białkowych, określonych jako PEB1-4. Ich masa molekularna wynosi, odpowiednio, 28, 29, 30 i 31 kDa, przy czym może być różna w zależności od badanego szczepu bakteryjnego. Wszystkie cztery proteiny mają inną sekwencję N-terminalną i różnią się stopniem zdolności stymulacji układu immunologicznego gospodarza. Najbardziej immunogenne jest białko PEB1, należące do grupy transporterów aminokwasów, zlokalizowane głównie w periplazmie komórki, skąd tylko niewielka jego część jest przenoszona przez błonę zewnętrzną. Ekspresja adhezyń zależy od genu peb1, a mutanty z inaktywowanym tym markerem wykazały znacznie zmniejszony stopień przylegania i inwazji komórek HeLa *in vitro*. Tego typu szczepy bakteryjne nie były też w stanie kolonizować nabłonka przewodu pokarmowego gospodarza. Z drugiej jednak strony, istnieją doniesienia o niewielkiej roli białka PEB1 w adhezji *Campylobacter* do enterocytów jelitowych (3, 8, 37).

Jejuni lipoprotein A jest lipoproteina kodowaną przez odpowiadający jej gen jlpA. Na powierzchni komórek nabłonkowych występuje białko szoku cieplnego (Hsp 90 $\alpha$ ), z którym łączy się lipoproteina A. Połączenie to aktywuje kompleks NF-KB, który występuje niemal we wszystkich komórkach ssaków i odgrywa kluczową rolę w regulacji odpowiedzi immunologicznej. W przeprowadzonych badaniach wykazano, że inaktywacja genu jlpA zmniejsza o około 18-19%, w porównaniu ze szczepem dzikim, stopień przylegania i inwazji *C. jejuni* do komórek linii HEp-2. Z drugiej jednak strony, badania *in vitro* z wykorzystaniem komórek linii LHM pokazały, że mutacja w markerze jlpA nie wpłynęła znacząco na stopień zdolności adhezyjnych i drobnoustroje takie były w stanie kolonizować nabłonek jelitowy kurcząt (8).

### Ochrona przed czynnikami zewnętrznymi

Jak wcześniej wspomniano, *Campylobacter* należy do drobnoustrojów mikroaerofilnych, przez co jest bardzo wrażliwy na tlen obecny w środowisku oraz na toksyczne produkty jego przemiany, wytwarzane podczas metabolizmu. Drobnoustroje te posiadają układ

chroniący przed stresem oksydacyjnym, w skład którego wchodzi enzym należący do dysmutaz nadtlenkowych (SOD), tzw. białko SodB, kodowane przez odpowiadający mu gen sodB. Enzym ten zawiera w swojej strukturze żelazo, a jego funkcją jest wyłapywanie i przekształcanie wolnych rodników nadtlenkowych w nadtlenek wodoru. Stwierdzono, że mutacje w genie sodB uniemożliwiły przeżycie *Campylobacter* w komórkach nabłonkowych INT-407. Wykazano również obecność dwóch innych białek: KatA – katalazy oraz AhpC – alkilowej reduktazy wodorotlenku. Pierwsze z nich przemienia nadtlenek wodoru, wytworzony przez dysmutazę, w wodę i tlen, natomiast AhpC redukuje alkilowane nadtlenki wodoru do alkoholi, które są utleniane samoistnie. Stwierdzono, że szczepy *Campylobacter* z mutacją w genie ahpC wykazywały mniejszą zdolność przeżywania w warunkach tlenowych i ginęły ok. 3 godz. wcześniej niż szczepy dzikie (36, 37).

*Campylobacter* potrafi zasiedlać różne środowiska, których temperatura znacznie różni się od siebie. W przewodzie pokarmowym drobiu panuje około 42°C, co jest o ponad 5°C więcej niż u ludzi. Żywe drobnoustroje izolowano również z materiału przechowywanego w temperaturze ok. 4°C. W komórkach *Campylobacter* istnieje tzw. układ białek szoku cieplnego (heat shock protein, HSP), dzięki któremu mogą one zasiedlać i rozwijać się w jelitach ptaków. HSP należą do chaperonów, czyli białek opiekuńczych, zapewniają uzyskanie prawidłowej konformacji tworzących się łańcuchów polipeptydowych, chronią inne białka przed denaturacją oraz umożliwiają renaturację białek, które uległy częściowej denaturacji. W grupie białek szoku cieplnego, jak do tej pory, zidentyfikowano 24 typy m.in.: GroESL, DnaJ, DnaK, ClpB, Lon (3, 34). Badania wykazały, że mutacja tylko w jednym z genów kodujących któreś z tych białek powoduje drastyczny spadek zdolności wzrostu bakterii w temperaturze 42°C i zasiedlenia jelit drobiu. U *C. jejuni* brak jest regulatora sigma 32, który kontroluje wytwarzanie białek HSP u *E. coli*. Zamiast niego ekspresja genów warunkowana jest przez dwuskładnikowy układ RacR/S. Komórki z mutacją w genie racR tworzą mniejsze kolonie w porównaniu do szczepu dzikiego, zarówno w temperaturze 37°C, jak i 42°C, ponadto mutanty takie nie są zdolne do zasiedlenia przewodu pokarmowego drobiu. Wyniki dalszych badań wykazały też obecność innego białka regulatorowego, HspR, które odpowiada za działanie chaperonu DnaK. Stwierdzono też, że mutanty w genie hspR nie wykazywały zdolności wzrostu w temperaturze 42°C. U bakterii izolowanych z żywności przechowywanej w warunkach chłodniczych nie wykryto do tej pory genów kodujących białka warunkujące przeżywanie w niskich temperaturach. Wiadomo jedynie, że w takim środowisku *Campylobacter* nadal wytwarza ATP, wykazuje właściwości chemotaktyczne, ale nie może się rozmnażać (3, 7, 36, 37).

Oporność bakterii, w tym *Campylobacter*, na działanie kwasów żółciowych jest kluczowa w procesie kolonizacji nabłonka jelitowego. W żółci występują głównie pochodne kwasu cholinowego – kwasy: cholowy, deosycholowy i chenodeosycholowy. Mają one właściwości bakteriobójcze, związane ze zdolnością do degradacji warstwy lipidowej błony komórkowej drobnoustrojów. W tym celu wykształciły one tzw. pompę CmeABC, która usuwa z wnętrza komórki bakteryjnej niektóre szkodliwe dla niej substancje, m.in. kwasy żółciowe. Pompa ta jest kodowana przez geny operonu składającego się z fragmentów oznaczonych jako: *cmeA*, *cmeB* i *cmeC*, których produkty pełnią, odpowiednio, funkcje: białka peryplazmatycznego, transportera błony wewnętrznej i białka błony zewnętrznej. Mutacja w genie *cmeB* wpływa negatywnie na ekspresję białek *cmeB* i *cmeC* oraz zwiększa wrażliwość *Campylobacter* na działanie kwasów żółciowych. Z drugiej strony, badania nad mutantami w genie *cmeC* wykazały, że nie wytwarzają one białka CmeC, ale ich deaktywacja nie ma wpływu na ekspresję genu *cmeA* (13, 27).

### Biofilm i quorum sensing

*Campylobacter* ma zdolność tworzenia biofilmu, czyli odizolowanych macierzą pozakomórkową od środowiska zewnętrznego mikrokoloni. Biofilm bakteryjny chroni drobnoustroje przed wysuszeniem, działaniem promieni UV, a nawet środków bakteriobójczych czy bakteriostatycznych. Macierz zewnątrzkomórkowa składa się głównie z wody i w mniejszym procencie z polisacharydów, białek, fosfolipidów oraz kwasu teichołowego. Stwierdzono, że tempo syntezy biofilmu u *Campylobacter* wzrasta w warunkach tlenowych, nawet w przypadku mutantów niewytwarzających rzęsek. Wcześniej przypuszczano, że obecność rzęsek jest kluczowa w mechanizmie formowania biofilmu, gdyż ułatwia drobnoustrojom przyleganie do podłoża (21).

*Campylobacter* wykształcił też quorum sensing (QS, brak odpowiednika w języku polskim), czyli zjawisko komunikowania się ze sobą komórek bakteryjnych za pomocą chemicznych cząsteczek sygnałowych, wydzielanych do środowiska. Mechanizm ten umożliwia drobnoustrojom regulację ważnych funkcji życiowych, w tym ekspresję niektórych czynników wirulencji, tworzenie biofilmu, reakcję na stres oksydacyjny czy oddziaływanie z komórkami nabłonkowymi gospodarza. Cząsteczką sygnałową w przypadku QS jest autoinduktor AI-2, wytwarzany przez enzym LuxS, którego ekspresję koduje odpowiadający mu gen *luxS* (30).

### Metabolizm

Jony żelaza są niezbędnym składnikiem odżywczym dla bakterii, odgrywającym istotną rolę w katalizie wielu reakcji biochemicznych, są m.in. ważnym ko-faktorem w syntezie DNA i reakcji przenoszenia elek-

tronów. Pobieranie tego pierwiastka ze środowiska odbywa się za pomocą sideroforów, będących chelatorami jonów żelaza. Tylko nieliczne szczepy *Campylobacter* wytwarzają własne siderofory, większość natomiast potrafi wykorzystywać molekuly innych bakterii, głównie wchodzących w skład mikroflory jelitowej. Źródłem żelaza dla *Campylobacter* mogą być siderofory ferichromowe, enterochelinowe, a także hemina, hemoglobina i kompleks hemoglobina–haptoglobina. Układy te są transportowane przez błonę zewnętrzną, wykorzystując energię przekształcaną przez kompleks TonB/ExbB/ExbD, a pochodzącą z gradientu protonów. Bakterie z mutacją w genie *tonB* nie są w stanie wykorzystywać heminy i sideroforów jako źródła żelaza. Układy pobierania żelaza są kodowane przez zespoły genów, np. białka tworzące mechanizm przyswajania jonów z hemin i hemoglobin koduje operon chuABCDZ, układ enterocholiny – *ceuBCDE*, a ferrochromów – geny *cfhuABD*. W transporcie jonów bierze udział białko FeoB, zakotwiczone w błonie wewnętrznej, kodowane przez gen *feoB*. Do całego procesu wykorzystywana jest energia pochodząca z przekształcenia ATP lub GTP. *Campylobacter*, które nie wytwarzają białka FeoB, gromadzą o około 50% mniej żelaza niż szczepy dzikie. Reakcja bakterii na zmiany stężenia pierwiastka w środowisku kontrolowana jest przez białka PeR (peroxide stress regulator) oraz FuR (ferric uptake regulator), które reagują na zwiększone stężenie żelaza wewnątrz komórki i są regulatorami dla około 53 genów (29).

### Lipooligosacharydy, otoczka, glikozylacja

Lipopolisacharydy (LPS) wchodzą w skład zewnętrznej ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych i są kolejnym czynnikiem wirulencji *Campylobacter*. Składają się z trzech, różniących się budową chemiczną, regionów: lipidu A, rdzenia i łańcucha O, tworzącego tzw. antygen powierzchniowy O, zbudowany z powtarzających się jednostek oligosacharydowych, stanowiących najbardziej zewnętrzną część LPS. Rdzeń wielocukrowy tworzy część zewnętrzną – heptozowa i wewnętrzna, składająca się z heptozy i kwasu Kdo (2-keto-3-deoksyoktulozowy) (30).

*Campylobacter* w składzie ściany komórkowej posiada jedynie lipooligosacharydy (LOS), różniące się od LPS brakiem łańcucha O. Badania wykazały, że LOS charakteryzuje duża zmienność strukturalna, która może wynikać zarówno z obecności kilku układów genów, kodujących różne klasy lipooligosacharydów, jak też z powodu mutacji, prowadzących do inaktywacji genów. Zmienność struktur powierzchniowych pozwala drobnoustrojom zasiedlać różne nisze oraz maskować się przed układem odpornościowym gospodarza, przez co nie ulegają fagocytozie i są odporne na bakteriobójcze działanie surowicy (28). Lipooligosacharydy ułatwiają adhezję bakterii do komórek docelowych i wnikanie do nich. Niektóre *Campylobacter* posiadają LOS mające w swojej budowie reszty kwa-

su sialowego, przyłączone do łańcucha oligosacharydowego rdzenia. Są przez to bardzo podobne strukturalnie do gangliozydów tkanki nerwowej i na drodze mimikry prowadzą do rozwoju reakcji immunologicznej, skierowanej przeciwko melinie komórek nerwowych gospodarza. Może to skutkować wystąpieniem chorób autoimmunologicznych: zespołów Guillain-Barre lub Millera-Fishera. Dotychczas stwierdzono różne rodzaje LOS, określono dokładniej osiem ich typów, oznaczonych jako A-H. Podaje się również, że mogą występować jeszcze inne ich klasy (I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R) (15, 16). Badania przeprowadzone na szczepach *Campylobacter* izolowanych od pacjentów z zespołem GBS wykazały, że w ich budowie przeważała obecność LOS typu A, natomiast LOS klasy B stwierdzano zwykle u chorych z MFS (16, 20). Za wytwarzanie kwasu sialowego odpowiada klaster genów *neu* (*neuB1*, *neuC1*, *neuA1*), a w przeniesieniu reszt sialowych na LOS udział bierze sialyltransferaza, kodowana przez gen *cstII* i galaktozylotransferaza, determinowana przez marker *wlaN*. Jeśli czynnikiem zakaźnym jest *Campylobacter* zawierający gen *cstII-Thr51*, wówczas klinicznie rozwijają się objawy GBS, natomiast w przypadku obecności genu *cstIIAsn51* – pojawia się zespół MFS (3, 15, 16, 31, 32).

Lipid A, wchodzący w skład LOS *Campylobacter*, wywołuje wewnątrzkomórkową kaskadę sygnalizacyjną komórek gospodarza, która aktywuje wydzielanie mediatorów przeciwwzpalnych (interleukin). Przypuszcza się, że w syntezie lipidu A bierze udział gen *galE*, kodujący enzym epimerazę, odpowiadający za interkonwersję UDP-galaktozy w UDP-glukozę. Mutanty *C. jejuni* w genie *galE* wytwarzały zmieniony lipid A, którego obecność powodowała brak zdolności przylegania i wnikania do komórek INT-407 (9).

Polisacharydowa otoczka (CPS) *Campylobacter* podlega zmienności fazowej, co powoduje, że różne szczepy mają odmienne zdolności zasiedlania makroorganizmu i przeżywania w tym środowisku. Polisacharydy otoczkowe składają się z powtarzających się jednostek cukrowych, przyłączonych do fosfolipidu błonowego. W biosyntezie otoczki bierze udział zespół trzech genów *kps*: *kpsE*, *kpsM* i *kpsT*. Białka kodowane przez dwa ostatnie geny są składnikami błony wewnętrznej i tworzą system wydzielniczy, a *KpsE* bierze udział w ich łączeniu z innymi składnikami błony zewnętrznej, ułatwiając transport poprzez przestrzeń periplazmatyczną (2, 3). Analiza CPS metodą SDS-PAGE przeprowadzona z mutantami w genie *kpsE* wykazała, że nie wytwarzały one cukrowych składników otoczki oraz miały zmniejszoną zdolność inwazji komórek nabłonka jelitowego. Z drugiej jednak strony, inaktywacja tego genu nie wpływała w znaczącym stopniu na syntezę glikoprotein u badanych *Campylobacter* (2, 3, 12, 20).

Do niedawna uważano, że proces glikozylacji białek dotyczy tylko komórek eukariotycznych. Szereg prac dokumentuje jednak istnienie u *Campylobacter*

zarówno procesów glikozylacji typu O, jak i N, odpowiadających m.in. za modyfikację flageliny rzęskowej. Mechanizm N-glikozylacji jest wysoce konserwatywny, a geny w nim uczestniczące nie podlegają zmienności fazowej. Cały system jest kodowany przez geny z grupy *pgl* (protein glycosylation), po raz pierwszy opisane u szczepu *C. jejuni* 81-176. Do tej pory określono około 30 białek ulegających N-modyfikacji. Wytworzone oligosacharydy są przyłączane do grup aminowych asparaginy, będącej częścią charakterystycznej sekwencji – Asp/Glu-Y-Asn-X-Ser/Thr, gdzie Y i X oznacza każdy aminokwas, z wyjątkiem proliny. Kluczowym enzymem N-glikozylacji jest białko *PglB*. Proces ten może stanowić element ochronny *Campylobacter* przed szkodliwymi warunkami panującymi w środowisku jelita cienkiego gospodarza. Stwierdzono, że mutanty w obrębie genu *pgl* wykazywały niski poziom adhezji i inwazji komórek linii INT-407 oraz słabo kolonizowały nabłonek jelitowy. Zmieniony gen wytwarzał białka o odmiennej od pierwotnej strukturze antygenowej, które nie posiadały zdolności reakcji z przeciwciałami swoistymi. Nie jest jednak do końca wyjaśnione, jak N-modyfikacja wpływa na właściwości chorobotwórcze *Campylobacter* (20, 23, 26).

Glikozylacja typu O ma znaczenie dla formowania się struktury rzęsek i ich właściwości immunogennych. Modyfikacja ta dotyczy reszt seryny lub treoniny, tworzących flagelinę rzęskową, do których jest dołączany kwas pseudaminowy, dziewięciowęglowy cukier przypominający kwas sialowy oraz jego pochodna, która w swojej budowie posiada grupę acetamidową – Pse-Am. Do tej pory zidentyfikowano kilka genów biorących udział w tym procesie: *ptmA* i *ptmB* (post-translation modification) oraz *pseB*, który koduje enzym potrzebny do syntezy pochodnej kwasu pseudaminowego. Mutacje w genie *pseB* powodują, że dany szczep nie wytwarza rzęsek, a wewnątrz komórki ma nagromadzoną niezglikolizowaną flagelinę (5, 12, 20). Zidentyfikowano jeszcze jeden gen *C. jejuni* 81-176 – *pseA* i stwierdzono, że szczepy nie wytwarzające białka kodowanego przez ten marker były ruchliwe, ale ich flagelina miała zmienione właściwości fizykochemiczne. Sekwencjonowanie genomu *C. jejuni* 11168 wykazało istnienie regionu obejmującego 50 ramek odczytu (ORF), który był związany z procesem syntezy i glikozylacji flageliny. Dotychczas określono funkcje tylko nielicznych białek tego obszaru, a wiele z nich posiada homologi w genomach innych mikroorganizmów. Geny te kodują niektóre białka biorące udział w procesie O-glikozylacji. Podzielono je na dwie rodziny: *maf* i *615* (20). Pierwsza z nich obejmuje siedem genów, których produkty odpowiadają za funkcję motoryczną flageliny, a inaktywacja w genie *maf* prowadziła do zaburzeń w budowie rzęsek. Gen *615* obejmuje pięć markerów, jednak ich funkcje nie są jeszcze do końca poznane (20, 37).

## Ruch i chemotaksja

Zdolność ruchu *Campylobacter* jest istotną cechą w kolonizacji nabłonka jelitowego gospodarza oraz w inwazji komórek docelowych. Jak wcześniej wspomniano, drobnoustroje te posiadają jedną lub dwie rzęski umieszczone w komórce biegunowo. Dodatkowo kształt komórki bakteryjnej ułatwia penetrację przez barierę śluzową, pokrywającą nabłonek. Rzęska zbudowana jest z trzech zasadniczych części: ciała bazalnego, haka i filamentu. Filament tworzą dwa białka strukturalne – FlaA i FlaB, kodowane przez odpowiadające im geny *flaA* i *flaB* (6). Regulacja ich ekspresji warunkowana jest przez czynniki sigma: sigma 28, wpływający na gen *flaA* oraz sigma 54, kodowany przez *rpoN*, odpowiadający za ekspresję genu *flaB*. Stwierdzono, że mutanty w genie *rpoN* nie wytwarzały rzęsek, przez co ich zdolność do ruchu była znacznie ograniczona. Mutanty *flaA* posiadały natomiast krótką, nie w pełni wykształconą rzęskę, co zaburzało możliwość przemieszczania się bakterii i zasiedlania nabłonka jelitowego (3, 6, 17, 37).

W procesie tworzenia rzęsek połączenie haka i filamentu warunkuje białko FlgK. Wykazano, że mutanty w genie *flgK* charakteryzowały się obniżoną ruchliwością w stosunku do szczepów dzikich, jednak funkcja tego czynnika w procesie ekspresji flageliny nie jest do końca wyjaśniona (6).

Zdolność kierowania się bakterii w kierunku określonych substancji występujących w środowisku (chemotaksja) pozwala drobnoustrojom kolonizować nisze, które zapewniają im najlepsze warunki do życia. Badania molekularne wykazały obecność w genomie *Campylobacter* kilku genów kodujących zespół białek, odpowiedzialnych za mechanizm chemotaksji. Funkcję regulatorową pełni gen *cheY*, którego inaktywacja powoduje brak ekspresji białka *CheY*, warunkującego zdolność przylegania i wnikania do komórek INT-407 *in vitro* oraz brak zdolności zasiedlania nabłonka jelitowego *in vivo*. Stwierdzono, że chemiczna stymulacja *Campylobacter* aktywuje kaskadę sygnalizacyjną, która przenosi impuls na białka chemotaktyczne, przyjmujące grupę metylową (MCP). Białka te znajdują się w błonie komórki bakteryjnej i pełnią funkcje chemoreceptorów. Fosforylują kinazę *CheA* i przenoszą dalej sygnał na regulator *CheY*, który działa aktywująco lub hamująco na rzęskę *Campylobacter* (3, 4, 34).

## Sekrecja białek

Wiele bakterii wydziela do środowiska ich bytowania lub do komórek gospodarza białka, których celem jest modulowanie metabolizmu lub wpływanie na układ immunologiczny. Opisano kilka układów sekrecyjnych, jednak nie wszystkie występują u *Campylobacter*, np. brak jest IV układu sekrecyjnego, a jego funkcje prawdopodobnie pełnią rzęski. Jednym z białek wydzielanych przez *Campylobacter* są struktury okreś-

lane jako Cia (*Campylobacter* invasion antigens). Do tej pory opisano 9 odmian tego białka, a ich sekrecja następuje po kontakcie bakterii z komórką gospodarza lub pod wpływem innych, dokładniej nie określonych czynników występujących w surowicy. Sam mechanizm wydzielania białek Cia też nie jest w pełni poznany. Uważa się, że najbardziej istotnym elementem w procesie inwazji komórek gospodarza jest białko CiaB. Jego sekrecja następuje w obecności w środowisku soli żółciowych lub śluzu, pokrywającego nabłonek jelitowy drobiu (1, 11, 18, 30).

Kolejnym białkiem wydzielanym przez układ sekcyjny rzęsek *Campylobacter* jest FlaC. Wykazuje ono podobieństwo sekwencji z flagelinami FlaA i FlaB, jednak przypuszcza się, że nie odgrywa większej roli w formowaniu rzęski lub jej ruchliwości. Białko FlaC bierze udział w inwazji komórek, ale nie w początkowym etapie adhezji. Inaktywacja genu *flaC* zmniejsza poziom inwazji komórek HEp-2 przez *Campylobacter* w porównaniu do szczepów dzikich. Przeprowadzone badania wykazały, że szczepy z mutacją w genach kodujących ciało bazalne rzęsek (*flgF*) i hak (*flgE*) nie wydzielały białka FlaC (18, 33).

## Toksyny

*Campylobacter* wytwarza co najmniej dwa rodzaje toksyn: enterotoksyny i cytotoksyny. Enterotoksyny są białkami wydzielanymi na zewnątrz komórki bakteryjnej, które łączą się z receptorami enterocytów, przylegają do nich i powodują wzrost syntezy cyklicznego adenozynomonofosforanu (cAMP). Związek ten jest wtórnym przekaźnikiem sygnału międzykomórkowego, wpływającym na aktywację układów enzymatycznych komórki gospodarza. Efektem działania tych toksyn jest hamowanie wytwarzania przeciwciał klas M i G oraz wzrost poziomu interleukiny 2, odpowiadającej za rozwój stanu zapalnego i pobudzania wzrostu limfocytów cytotoksycznych i komórek NK (10).

Cytotoksyny wytwarzane przez *Campylobacter* to białka, które powodują obumarcie komórek gospodarza. Mogą działać poprzez zatrzymanie kluczowych procesów fizjologicznych, takich jak synteza białek, formowanie filamentów aktyny lub też wywołują lizę przez tworzenie porów w błonach komórkowych. Najlepiej zbadaną toksyną, wytwarzaną przez *Campylobacter* jest cytotoksyna wydłużająca komórki (CDT, cytolethal distending toxin), opisana po raz pierwszy w 1988 r. Składa się ona z trzech podjednostek: *cdtA*, *cdtB* i *cdtC*, kodowanych przez odpowiednie konserwatywne geny *cdtA*, *cdtB* i *cdtC*. Nie wszystkie szczepy wytwarzają toksynę CDT. Jak wynika z przeprowadzonych badań, te izolaty, które nie miały zdolności ekspresji CDT, cechowały się delecją genów *cdtA* lub *cdtB*. Aktywna holotoksyna CDT powoduje zahamowanie mitozy komórek eukariotycznych w fazie G2 lub we wczesnym etapie M, co skutkuje zmianą kształtu i obumarciem komórek (15, 38, 42). Podjednostki *cdtA* i *cdtC* odpowiadają za łączenie się toksy-

ny z komórką gospodarza oraz ułatwiają wnikanie do jej wnętrza aktywnej podjednostki cdtB, która posiada aktywność podobną do DNazy klasy I. Stwierdzono, że kompleks CDT wytwarzany jest przez *Campylobacter* w czasie kolonizacji nabłonka jelitowego drobiu. Działanie cytotoksyny na ludzkie komórki INT-407 i Caco-2 przejawia się sekrecją interleukiny 8, która jest mediatorem reakcji zapalnej. Cytokina ta działa chemotaktycznie na neutrofile komórkowe, które pełnią zasadniczą rolę w odpowiedzi makroorganizmu na zakażenia bakteryjne (22, 37). Dokładna rola toksyn CDT w patogenezie kamylobakteriozy nie została do końca wyjaśniona. Uważa się, że jej działanie skutkuje rozwojem wodnistej biegunki na skutek zmniejszonej zdolności absorpcji komórek nabłonkowych jelit, wywołanej destrukcją kosmków jelitowych (37).

### Piśmiennictwo

- Ashgar S. S. A., Oldfield N. J., Wooldridge K. G., Jones M. A., Irving G. J., Turner D. P. J., Ala'Aldeen D. A. A.: CapA, an autotransporter protein of *Campylobacter jejuni*, mediates association with human epithelial cells and colonization of chicken gut. *J. Bacteriol.* 2007, 189, 1856-1865.
- Bachtiar B. M., Coloe P. J., Fry B. N.: Knockout mutagenesis of the kspE gene of *Campylobacter jejuni* 81116 and its involvement in bacterium-host interactions. *Immunol. Med. Microbiol.* 2007, 49, 149-154.
- Dasti J. I., Tareen A. M., Lugert R., Zautner A. E., Gross U.: *Campylobacter jejuni*: A brief overview on pathogenicity-associated factors and disease-mediating mechanisms. *Inter. J. Med. Microbiol.* 2010, 300, 205-211.
- Deun K. van, Pasmans F., Ducatelle R., Flahou B., Vissenberg K., Martel A., van den Broeck W., van Immerseel F., Haesebrouck F.: Colonization strategy of *Campylobacter jejuni* results in persistent infection of the chicken gut. *Vet. Microbiol.* 2008, 130, 285-297.
- Ewing Ch. P., Andreishcheva E., Guerry P.: Functional characterization of flagellin glycosylation in *Campylobacter jejuni* 81-176. *J. Bacteriol.* 2009, 191, 7086-7093.
- Fernando U., Biswas D., Allan B., Willson P., Potter A. A.: Influence of *Campylobacter jejuni* fliA, rpoN and flgK genes on colonization of the chicken gut. *Int. J. Food Microbiol.* 2007, 118, 194-200.
- Fields J. A., Tompson S. A.: *Campylobacter jejuni* CsrA mediates oxidative stress responses, biofilm formation and host cell invasion. *J. Bacteriol.* 2008, 190, 3411-3416.
- Flanagan R. C., Neal-McKinney J. M., Singh Dhillon A., Miller W. G., Konkel M. E.: Examination of *Campylobacter jejuni* putative adhesins leads to the identification of a new protein, designated FlpA, required for chicken colonization. *Infect. Immun.* 2009, 77, 2399-2407.
- Fry B. N., Feng Sh., Chen Y.-Y., Newell D. G., Coloe P. J., Korolik V.: The galE gene of *Campylobacter jejuni* is involved in lipopolysaccharide synthesis and virulence. *Infect. Immun.* 2000, 68, 2594-2601.
- Ge Z., Schauer D. B., Fox J. G.: In vivo virulence properties of bacterial cytolethal-distending toxin. *Cell. Microbiol.* 2008, 10, 1599-1607.
- Guerry P.: *Campylobacter* flagella: not just for motility. *Trends Microbiol.* 2007, 15, 456-461.
- Guerry P., Szymanski Ch. M.: *Campylobacter* sugars sticking out. *Trends Microbiol.* 2008, 16, 428-435.
- Guo B., Wang Y., Shi F., Barton Y.-W., Plummer P., Reynolds D. L., Nettleton D., Grinnag-Pulley T., Lin J., Zhang Q.: CmeR functions as a pleiotropic regulator and is required for optimal colonization of *Campylobacter jejuni* in vivo. *J. Bacteriol.* 2008, 190, 1879-1890.
- Haddad N., Marce C., Magras C., Cappelier J.-M.: An overview of methods used to clarify pathogenesis mechanism of *Campylobacter jejuni*. *J. Food Prot.* 2010, 73, 786-802.
- Hardy C. G., Lackey L. G., Cannon J., Price L. B., Silbergeld E. K.: Prevalence of potentially neuropathic *Campylobacter jejuni* strains on commercial broiler chicken products. *Int. J. Food Microbiol.* 2011, 145, 395-399.
- Howard S. L., Jagannathan A., Soo C. E., Hui J. P. M., Aubury A. J., Ahmed I., Karlyshev A., Kelly J. F., Jones M. A., Stevens M. P., Logan S. M., Wren B. W.: *Campylobacter jejuni* glycosylation island important in cell charge legion-aminic acid biosynthesis and colonization of chicken. *Infect. Immun.* 2009, 77, 2544-2556.
- Hwang J.-K., Chae M. J., Kim J. W., Ku B. K., Lee Y. J.: Role of flagella-related rpoN and fliA genes in *Campylobacter jejuni*. *J. Anim. Vet. Adv.* 2010, 9, 3034-3038.
- Jagustzyn-Krynicka E. K., Grabowska A., Szymanek K., Wyszynska A.: Genetyczne podstawy kolonizacji przewodu pokarmowego kurcząt przez bakterie rodzaju *Campylobacter*. *Medycyna Wet.* 2007, 63, 29-33.
- Jagustzyn-Krynicka E. K., Wyszynska A., Łasica A. M.: Oddziaływanie *Campylobacter jejuni* z komórkami eukariotycznymi – komensalizm a chorobotwórczość. *Post. Mikrobiol.* 2006, 45, 11-17.
- Jagustzyn-Krynicka E. K., Życka J., Tomczyk K., Wyszynska A.: Glikozylacja białek mikroorganizmów rodzaju *Campylobacter*. *Post. Mikrobiol.* 2005, 44, 299-308.
- Joshua G. W. P., Guthrie-Irons C., Karlyshev A. V., Wren B. W.: Biofilm formation in *Campylobacter jejuni*. *Microbiology* 2006, 152, 387-396.
- Kalischuk L. D., Inglis G. D., Buret A. G.: Strain-dependent induction of epithelial cell oncosis by *Campylobacter jejuni* is correlated with invasion ability and is independent of cytolethal distending toxin. *Microbiology* 2007, 157, 2952-2963.
- Kelly J., Jarrell H., Millar L., Tessier L., Fiori L. M., Lau P. C., Allan B., Szymanski Ch. M.: Biosynthesis of the N-linked glycan in *Campylobacter jejuni* and addition onto protein block transfer. *J. Bacteriol.* 2006, 188, 2427-2434.
- Konkel M. E., Klena J. D., Rivera-Amill V., Monteville M. R., Biswas D., Raphael B., Mickelson J.: Secretion of virulence proteins from *Campylobacter jejuni* is dependent on functional flagellar export apparatus. *J. Bacteriol.* 2004, 186, 3296-3303.
- Korsak D., Dizerzanowska-Fangrat K., Popowski J., Rożynek E.: Występowanie markerów zjadliwości i am w szczepach *Campylobacter jejuni* i *Campylobacter coli* izolowanych z tusz drobiowych. *Rocz. PZH* 2004, 55, 307-312.
- Louwen R., Heikema A., van Belkum A., Ott A., Gilbert M., Ang W., Endtz H. P., Bergman M. P., Nieuwenhuis E. E.: The sialylated lipooligosaccharide outer core in *Campylobacter jejuni* is an important determinant for epithelial cell invasion. *Infect. Immun.* 2008, 76, 4431-4438.
- Malik-Kale P., Parker C. T., Konkel M. E.: Culture of *Campylobacter jejuni* with sodium deoxycholate induces virulence gene expression. *J. Bacteriol.* 2008, 190, 2286-2297.
- Marsden G. L., Li J., Everest P. H., Lawson A. J., Ketley J. M.: Creation of a large deletion mutant of *Campylobacter jejuni* reveals that lipooligosaccharide gene cluster is not required for viability. *J. Bacteriol.* 2009, 191, 239-299.
- Millert C. E., Williams P. J., Ketley J. M.: Pumping iron: mechanisms for iron uptake by *Campylobacter*. *Microbiol.* 2009, 155, 3157-3165.
- Nachamkin I., Szymanski Ch. M., Blaser M. J.: *Campylobacter*. Third Edition, ASM Press, Washington DC 2008.
- Parker C. T., Gilbert M., Yuki N., Endtz H. P., Mandrell R. E.: Characterization of lipooligosaccharide classes: evidence of mosaic organizations. *J. Bacteriol.* 2008, 190, 5681-5689.
- Semchenko E. A., Day Ch. J., Wilson J. C., Grice I. D., Morgan A. P., Korolik V.: Temperature-dependent phenotypic variation of *Campylobacter jejuni* lipooligosaccharides. *BMC Microbiol.* 2010, 10, 1-10.
- Song Y. C., Jin S., Louie H., Ng D., Lau R., Zhang Y., Weerasekera R., Al Rashid S., Ward L. A., Der S. D., Chan V. L.: FlaC, a protein of *Campylobacter jejuni* TGH9011 (ATCC43431) secreted through the flagellar apparatus binds epithelial cells and influences cell invasion. *Mol. Microbiol.* 2004, 53, 541-553.
- Vegge Ch. S., Brondsted L., Li Y.-P., Bang D. D., Ingmer H.: Energy taxis drives *Campylobacter jejuni* toward the most favorable conditions of growth. *Appl. Environ. Microbiol.* 2009, 75, 5308-5314.
- Wysok B., Uradziński J.: Contamination of broiler chicken carcasses by thermotolerant *Campylobacter* sp. at selected stages of slaughter. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2009, 53, 79-82.
- Young K. T., Davis L. M., DiRita V. J.: *Campylobacter jejuni*: molecular biology and pathogenesis. *Nature* 2007, 5, 665-679.
- Zilbauer M., Dorrell N., Wren B. W., Bajaj-Elliott M.: *Campylobacter jejuni* – mediated disease pathogenesis: an update. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2008, 102, 123-129.

Adres autora: prof. dr hab. Jacek Osek, Al. Partyzantów 57, 24-100 Pulawy; e-mail: josek@piwet.pulawy.pl