

## SPIS TREŚCI

A.A. Zasada: Wykorzystanie techniki PCR jako alternatywnej metody wykrywania toksynotwórczych szczepów <i>Corynebacterium diphtheriae</i> .....	321
P. Zalas, A. Mikucka, E. Gospodarek: Wrażliwość <i>Corynebacterium amycolatum</i> na antybiotyki .....	327
W. Rastawicki, M. Jagielski, R. Gierczyński: Wykorzystanie wydzielniczych białek Yop pałeczek <i>Yersinia</i> w serologicznej diagnostyce jersiniozy. III. Odczyn western-immunoblotting .....	335
M. Szpakowska, E.A. Trafny, K. Kozłowska, J. Grzybowski: Występowanie <i>Escherichia coli</i> w środowisku punktów zbiorowego żywienia .....	343
J. Nieradko, J. Kurlenda: Charakterystyka wybranych parametrów wirulencji pałeczek <i>Enterobacter cloacae</i> izolowanych z materiału klinicznego .....	351
A. Deptuła, A. Mikucka, E. Gospodarek: Wpływ warunków hodowli na hydrofobowe właściwości wielolekoopornych szczepów <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	359
M. Brauncajs, Z. Krzemiński, D. Sakowska: Porównanie flory bakteryjnej jamy ustnej u dzieci i u osób dorosłych .....	365
M. Wasiela, E. Brzezińska-Błaszczuk, Z. Krzemiński, J. Kalinka: Wpływ <i>Mycoplasma hominis</i> i <i>Ureaplasma urealyticum</i> na stężenie wybranych cytokin prozapalnych w wydzielinie pochwowej .....	371
M. Kochman, K. Piekarska, M. Ławrynowicz-Paciorek: Program zewnętrznej oceny jakości badań mikrobiologicznych – ocena wyników sprawdzianu przeprowadzonego w 2002 roku w laboratoriach stacji sanitarno-epidemiologicznych .....	377
W. Grzybowska, M. Banaszczyk-Ruś, A. Wójcik, S. Tyski: Porównanie metod szachownicy i „time-kill” stosowanych do badania zestawienia dwóch antybiotyków.....	391
K.P. Bielawski, E.A.Lakomy, K.Witczak-Malinowska, Z. Michalska, B. Falkiewicz: Wykrycie HCV-RNA w tkance wątroby nie koreluje z aktywnością i włóknieniem wątroby w przebiegu przewlekłego zapalenia wątroby typu C (WZW-C) .....	405
I. Wojak, E. Gospodarek: Drobnoustroje izolowane z krwi gorączkujących dzieci z chorobą nowotworową w okresie neutropenii .....	411

## CONTENTS

A.A. Zasada: PCR as an alternative method for detecting toxigenic strains of <i>Corynebacterium diphtheriae</i> .....	321
P. Zalas, A. Mikucka, E. Gospodarek: Antibiotic sensitivity of <i>Corynebacterium amycolatum</i> .....	327
W. Rastawicki, M. Jagielski, R. Gierczyński: Application of released proteins (RPs) of <i>Yersinia enterocolitica</i> for serological diagnosis of yersiniosis. III. Western-blot .....	335
M. Szpakowska, E.A. Trafny, K. Kozłowska, J. Grzybowski: Prevalence of <i>Escherichia coli</i> strains in the canteens .....	343
J. Nieradko, J. Kurlenda: The characteristic of selected virulence factors of <i>Enterobacter cloacae</i> strains isolated from clinical specimens.....	351
A. Deptuła, A. Mikucka, E. Gospodarek: Influence of growth conditions on cell surface hydrophobicity of multiresistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strains .....	359
M. Brauncajs, Z. Krzemiński, D. Sakowska: Comparison of bacterial flora on oral cavity in children and adults .....	365
M. Wasiela, E. Brzezińska-Błaszczuk, Z. Krzemiński, J. Kalinka: Impact of <i>Mycoplasma hominis</i> and <i>Ureaplasma urealyticum</i> on the concentration of proinflammatory cytokines in vaginal fluid.....	371
M. Kochman, K. Piekarska, M. Ławrynowicz-Paciorek: Microbiological external quality assurance program (MEQAP) evaluation of results obtained in sanitary epidemiological laboratories in 2002 .....	377
W. Grzybowska, M. Banaszczyk-Ruś, A. Wójcik, S. Tyski: Comparison of checkerboard and time-kill methods for analysis of two antibiotics combination .....	391
K.P. Bielawski, E.A.Lakomy, K.Witczak-Malinowska, Z. Michalska, B. Falkiewicz: Detection of HCV-RNA in liver tissue does not correlate with inflammatory process and fibrosis activity in chronic hepatitis C .....	405
I. Wojak, E. Gospodarek: Analysed microorganisms from febrile neutropenic childrens with neoplastic disease .....	411

WYKORZYSTANIE TECHNIKI PCR JAKO ALTERNATYWNEJ METODY WYKRYWANIA  
TOKSYNOTWÓRCZOŚCI SZCZEPÓW  
*CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE*

Zakład Bakteriologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. M. Jagielski

**Wystandaryzowano warunki reakcji PCR do poszukiwania fragmentu oraz całego genu *tox* odpowiedzialnego za wytwarzanie toksyny przez szczepy *Corynebacterium diphtheriae*. Stwierdzono, że technika PCR jest jedną z najmniej czasochłonnych metod wykrywania toksynotwórczych szczepów *C. diphtheriae*, obok techniki EIA (odczyń immunoenzymatyczny) i ICS (pasków immunochromatograficznych).**

*Corynebacterium diphtheriae* występuje w postaci toksynotwórczych i nietoksynotwórczych szczepów. Szczepy toksynotwórcze są czynnikiem etiologicznym błonicy. Ich zjadliwość jest związana z działaniem silnej egzotoksyny błonicznej oraz z wytwarzaniem miejscowo błon martwiczych na błonie śluzowej lub skórze (18). Niewiele wiadomo na temat mechanizmów wirulencji u szczepów nietoksynotwórczych, jednak mogą one wywoływać takie choroby jak błoniczopodobne zapalenie gardła o łagodnym przebiegu, infekcje skóry, septyczne zapalenie stawów, ropnie, bakteriemie oraz zapalenie wsierdza (17, 18).

Wytwarzanie toksyny błonicznej jest kodowane przez gen *tox* obecny w materiale genetycznym faga  $\beta$ . Szczepy toksynotwórcze są lizogenami tego faga co oznacza, iż zostały one zainfekowane fagiem  $\beta$  i nastąpiło wbudowanie DNA faga w chromosom bakterii. Regulacja ekspresji genu *tox* zależy od ilości żelaza w podłożu/środowisku. Maksymalny poziom syntezy i uwalniania toksyny błonicznej do środowiska zachodzi przy ograniczonej ilości żelaza (15). Toksyna błonicza składa się z dwóch fragmentów: A i B. Fragment B wiąże się z receptorem komórek gospodarza. Natomiast fragment A wnika do wnętrza komórki powodując zablokowanie syntezy białek (18), co prowadzi do śmierci komórki. Toksyna ma szczególne powinowactwo do układu nerwowego, w tym często do układu bodźcowo-przewodzącego serca i nadnerczy (1). Swoiste leczenie błonicy (zakażeń szczepami toksynotwórczymi *C. diphtheriae*) polega na jak najwcześniejszym podaniu antytoksyny błonicznej w celu neutralizacji krążącej toksyny i zapobiegnięcia dalszemu uszkodzeniu mięśnia sercowego i mieliny. Dlatego też bardzo istotne jest szybkie określenie czy wyizolowany od chorego szczep *C. diphtheriae* jest szczepem toksynotwórczym. Engler i Efstratiou (5) opisały wykorzystanie odczynu immunoenzymatycznego (EIA) do oznaczania toksynotwórczości. Technika tą uzyskuje się wynik po trzech godzinach. Jednak jest to metoda kosztowna i pracochłonna, a komercyjne testy nie są dotychczas dostępne. Jako metoda tańsza został opisany test ICS (pasków immunochromatograficznych) (6) jednak również on nie jest jeszcze dostępny na rynku. Dostępną, tanią, szybką i wiarygodną metodą jest technika łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR). Celem pracy jest wykazanie, czy wyniki uzyskane metodą PCR są wiarygodne i porównywalne z wynikami fenotypowych testów toksynotwórczości.

[powrót do spisu](#)

A. A. Zasada

PCR AS AN ALTERNATIVE METHOD FOR DETECTION TOXIGENIC STRAINS  
OF *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE*

Summary

PCR standardization was performed in order to detect a fragment and a whole *tox* gene which is presented in all toxigenic strains of *Corynebacterium diphtheriae*. PCR is one of the least time-consuming methods for detection toxigenicity of *C. diphtheriae* strains near EIA (enzyme immunoassay) and ICS (immunochromatographic strip) tests.

[contents](#)

## WRAŻLIWOŚĆ *CORYNEBACTERIUM AMYCOLATUM* NA ANTYBIOTYKI

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Akademia Medyczna im. L. Rydygiera w Bydgoszczy  
Kierownik: dr hab. E. Gospodarek, prof. nadzw. AM

**Celem pracy była ocena wrażliwości *C. amycolatum* na antybiotyki i chemioterapeutyki. Badaniem objęto 70 szczepów. Większość wykazywała wrażliwość na kwas fusydowy (95,7%) i rifampicynę (81,5%). Wszystkie szczepy były wrażliwe na pristinamycynę, quinupristinę/dalfopristinę, linezolid oraz glikopeptydy, a odporne na mupirocynę. Prawie 36% analizowanych szczepów charakteryzowało się wieloraką opornością na antybiotyki, tzn. były odporne na  $\beta$ -laktamy (~ 100%), linkozamidy (96,0%), makrolidy (92,0%) i chinolony (92,0%).**

Niektóre bakterie uznawane do niedawna za niechorobotwórcze dla człowieka lub traktowane jako zanieczyszczenie próbek materiału diagnostycznego zaczynają stanowić realne zagrożenie. Do takich ostatnio zaliczono Gram-dodatnie maczugowate pałeczki należące do grupy „*coryneform*”, w tym *Corynebacterium amycolatum* (1, 4). W laboratoriach mikrobiologicznych często traktuje się je jako florę fizjologiczną, dlatego nie wykonuje się ich pełnej identyfikacji i nie ocenia antybiotykowrażliwości.

Do chwili obecnej opisano już wiele zakażeń z udziałem *C. amycolatum*, w tym: bakteriemie, posocznice, zapalenie wsierdza, zapalenie otrzewnej, zakażenia układu moczowego, zakażenia ran pooperacyjnych i inne (1, 2, 6, 11, 12). *C. amycolatum* uznano za istotny z klinicznego punktu widzenia gatunek *Corynebacterium*, obecnie najczęściej izolowany z materiału klinicznego (2).

W piśmiennictwie światowym pojawiło się niewiele doniesień na temat wrażliwości *C. amycolatum* na antybiotyki. Bakterie te są najczęściej odporne na  $\beta$ -laktamy, makrolidy, linkozamidy, aminoglikozydy, chinolony i rifampicynę. Większość jest wrażliwa na tetracyklinę, a wszystkie opisane dotychczas szczepy były wrażliwe na glikopeptydy (3, 4, 7, 9, 15, 16). Zwrócono jednocześnie uwagę na fakt wielooporności niektórych szczepów (4, 7, 9, 19). Stąd, celem pracy było lepsze poznanie antybiotykowrażliwości oraz niektórych mechanizmów oporności występujących u *C. amycolatum*.

[powrót do spisu](#)

## ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF *CORYNEBACTERIUM AMYCOLATUM*

### Summary

*C. amycolatum* strains belongs to opportunistic bacteria considered as etiological factors of hospital infections. It's usually handled as a human natural flora, so antibiotic sensitivity is not checked. There's a few reports relative to antibiotic sensitivity of *C. amycolatum* in the world literature. So, we decided to examine antibiotic sensitivity of isolated strains.

The 70 of *C. amycolatum* strains isolated from clinical samples from patients hospitalised at Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny in Bydgoszcz were analysed.

Antimicrobial susceptibility testing of the strains was performed by means of a disk diffusion method. 28,6% of analysed strains were susceptible to penicillin and 38,6% to ampicillin. Susceptibility to another 16 antibiotics was from 40,0% for ceftazidime to 64,3% for ceftriaxone. The penicillinase wasn't produce by analysed strains. We stated higher percentage of strains susceptible to combinations of penicillin with inhibitors than to penicillin and ampicillin. The most strains were susceptible to quinupristin-dealfopristin, linezolid and glycopeptide antibiotics but resistance to mupirocin.

35,7% analyzed strains were multiresistance; there were resistance to  $\beta$ -lactames (~100%), lincosamides (96,0%), macrolides (92,0%) and quinolones (92,0%).

Multiresistant strains were the most frequently isolated from wound swabs (60,0%) and mainly came from patients treated at the departments of general surgery (28,0%) and vascular surgery (16,0%).

[contents](#)

WYKORZYSTANIE WYDZIELNICZYCH BIAŁEK YOP PAŁECZEK  
*YERSINIA* W SEROLOGICZNEJ DIAGNOSTYCE JERSINIOZY  
III. ODCZYŃ WESTERN-IMMUNOBLOTTING<sup>1</sup>

Zakład Bakteriologii PZH w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. *M. Jagielski*

**Z hodowli pałeczek *Y. enterocolitica* w podłożu pozbawionym jonów wapnia uzyskano preparat wydzielniczych białek Yop, który użyto jako antygen w odczynie western-immunoblotting do serologicznej diagnostyki jersiniozy. Wyniki badań porównano z wynikami uzyskanymi przy użyciu komercyjnych testów firmy Mikrogen i Euroimmun. Wykazano pełną przydatność otrzymanego preparatu wydzielniczych białek Yop do serologicznej diagnostyki jersiniozy w odczynie western-immunoblotting.**

Wspólną cechą odczynów serologicznych wykorzystywanych w rutynowej diagnostyce jersiniozy jest możliwość wystąpienia nieswoistych reakcji związanych z użytym preparatem antygeny, będącym zazwyczaj mieszaniną polisacharydów bądź też białek komórkowych. Dlatego też, dla potwierdzenia wyników najczęściej obecnie wykorzystywanego w serodiagnostyce jersiniozy odczynu immunoenzymatycznego ELISA, stosuje się coraz częściej odczyn western-immunoblotting, który pozwala wykryć w badanej próbce surowicy przeciwciała dla poszczególnych antygenów białkowych. Odczyn ten łączy elektroforetyczną analizę białek z serologiczną identyfikacją poszczególnych antygenów białkowych (1, 2, 3, 9, 10, 11, 12). Obecnie w odczynie western-immunoblotting jako antygeny najczęściej wykorzystywane są kodowane przez plazmid wirulencji pYV wydzielnicze białka Yop wytwarzane przez pałeczki *Yersinia enterocolitica*: YopM, YopH, V-AG, YopD, YopN, YopP, YopE. Masa cząsteczkowa preparatów poszczególnych rodzajów białek może nieznacznie różnić się w zależności od użytego do ich wytwarzania szczepu pałeczek *Yersinia* (13).

W uprzednio opublikowanych pracach przedstawiono przydatność preparatów wydzielniczych białek Yop, uzyskanych metodami inżynierii genetycznej oraz z hodowli pałeczek *Yersinia* w podłożu pozbawionym jonów wapnia do serodiagnostyki jersiniozy odczynem ELISA (7, 8). Stwierdzono też, bez względu na sposób uzyskania preparatów białkowych, wysoką zgodność wyników odczynów serologicznych.

Celem obecnej pracy było wykorzystanie uprzednio otrzymanych preparatów wydzielniczych białek Yop, do serologicznej diagnostyki jersiniozy przy użyciu odczynu western-immunoblotting.

[powrót do spisu](#)

W. Rastawicki, M. Jagielski, R. Gierczyński

APPLICATION OF RELEASED PROTEINS (RPs) OF YERSINIA ENTEROCOLITICA  
FOR SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF YERSINIOSIS  
III. WESTERN-BLOT

Summary

The usefulness of the immunoblotting using released proteins (Yersinia outer proteins-Yop) as the antigen for the serological diagnosis of yersiniosis was estimated. The *IgA*, *IgG*, and *IgM* antibody responses of patients with yersiniosis and healthy blood donors were studied by western-blot prepared in our laboratory, and two commercial assays. The results indicate that antibodies of all three classes are most consistently directed against the proteins of YopD, YopM and YopE. Good correlations between the three western-blot were obtained for all proteins except the protein V-AG. Patients with yersinia-triggered reactive arthritis have IgA class antibodies against the YopD more often and for longer period than the non-arthritic patients with yersiniosis.

[contents](#)



## WYSTĘPOWANIE *ESCHERICHIA COLI* W ŚRODOWISKU PUNKTÓW ZBIOROWEGO ŻYWIENIA

Zakład Mikrobiologii i Epidemiologii  
Wojskowego Instytutu Higieny i Epidemiologii w Warszawie  
Kierownik Zakładu: dr hab. E. A. Trafny

**Poszukiwano enteropatogennych (EPEC) oraz enterokrwotocznych (EHEC) szczepów *E. coli* w próbkach kału pracowników węzłów żywnościowych jednostek wojskowych, w ich miejscu pracy oraz w próbkach surowego mięsa. Po przebadaniu 777 izolatów stwierdzono przypadki nosicielstwa szczepów EPEC wśród personelu oraz występowanie tych szczepów w otaczającym środowisku; nie stwierdzono obecności szczepów EHEC.**

Wśród patogenów jelitowych znaczącą pozycję zajmują enteropatogenne a obecnie także enterokrwotoczne szczepy *E. coli* (2, 7). W Polsce szczepy enteropatogenne izoluje się od kilku tysięcy osób rocznie; ich udział w ogólnej liczbie izolatów tego gatunku sięga 20% (8). Dla szerzenia się toksykoinfekcji pokarmowych może mieć znaczenie nosicielstwo patogennych szczepów *E. coli* (4).

Przed wprowadzeniem metod biologii molekularnej, szczepy EPEC identyfikowano metodami serologicznymi z uwagi na epidemiologicznie stwierdzoną korelację między enteropatogennością a występowaniem określonych układów antygenów somatycznych i powierzchniowych (8). To klasyczne różnicowanie okazało się jednak niewystarczające dla określenia patogenności szczepów *E. coli* (8, 10, 11). Przynależność szczepu do grupy EPEC aktualnie wiązana jest z obecnością określonych wyznaczników zjadliwości. Badania ostatnich lat wykazały, że tylko część szczepów zaliczanych do grupy EPEC na podstawie serologicznego typowania, wyizolowanych zarówno od pacjentów z biegunką jak i od zdrowych nosicieli, posiada gen *eae*, warunkujący wytwarzanie adhezyjnego białka intyminy. Ekspresja tego genu jest warunkiem koniecznym, lecz niewystarczającym dla zjadliwości szczepu. Obecność genu *eae* stwierdzono w szczepach pochodzących zarówno od chorych jak i od nosicieli w zbliżonym odsetku – odpowiednio u 18,1% i 11,5% (11, 19). Wynika z tego, że diagnostyka szczepów EPEC oparta na określaniu grup serologicznych nie jest jednoznaczna z identyfikacją szczepów posiadających gen *eae*. Inny pogląd prezentują Scotland i wsp. (17), którzy twierdzą, że identyfikacja szczepów EPEC drogą grupowania serologicznego jest efektywną metodą identyfikacji szczepów potencjalnie chorobotwórczych.

Poważny problem w wielu krajach świata stanowią zakażenia szczepami EHEC, powodujące niejednokrotnie ciężki przebieg choroby u ludzi, szczególnie młodych oraz w starszym wieku. Często zachorowania te przebiegają w postaci ograniczonych ognisk epidemicznych. W ostatnim okresie również w Polsce odnotowano zachorowania wywołane zakażeniem tymi drobnoustrojami. Ponadto z uwagi na zagrożenie użycia enterokrwotocznych szczepów *E. coli* w celach bioterrorystycznych (1) uznano za zasadne monitorowanie występowania tych drobnoustrojów. Najczęstszymi nosicielami genów kodujących verotoksyny powodujące krwotoczne zapalenie okrężnicy są szczepy EHEC należące do serologicznego typu O157:H7. Poszukiwania szczepów EHEC powinny być prowadzone drogą serologicznego grupowania oraz równoległe przez poszukiwanie genów kodujących verotoksyny typu 1 i 2 (geny *stx1* i *stx2*).

W piśmiennictwie istnieje niedostatek danych na temat nosicielstwa chorobotwórczych szczepów *E. coli* wśród dorosłych zdrowych osób (6, 18). Z uwagi na powyższe uwarunkowania, podjęto badania mające na celu określenie stopnia rozpowszechnienia szczepów EPEC i EHEC w wyodrębnionej populacji ludzi zdrowych. Szczególne znaczenie mogą mieć te badania w środowisku ludzi biorących udział w procesie przygotowywania żywności. Badania przeprowadzono zatem w punktach zbiorowego żywienia jednostek wojskowych, poszukując szczepów *E. coli* w próbkach kału pracowników, w ich środowisku pracy oraz w próbkach mięsa dostarczonego do przetworzenia.

[powrót do spisu](#)

PREVALENCE OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS IN THE CANTEENS

Summary

The prevalence of enteropathogenic (EPEC) and enterohaemorrhagic (EHEC) *E. coli* strains in stool specimens from asymptomatic human carriers working in the canteens and also in the kitchen and sanitary facilities was evaluated. The *E. coli* genes coding for the following virulence markers: intimin (*eae*), enterohaemolysin (*hlyA*), and verotoxins type I and II (*stx1* and *stx2*) were sought by multiplex PCR assay. *E. coli* isolates were obtained from 144 stool specimens, 295 swabs taken from kitchen hardware and surrounding facilities, and from 33 meat specimens. Only 66 (8.5%) of total 777 *E. coli* isolates belonged to O44, O18, O25, O127, O55, O114, O125, and O142 serogroups, the prevalent serogroups in Poland. None of the strains was classified as serogroup O157. The serogroups O44 and O18 were present most often among all typeable strains and their incidence was 51.5% and 25.8% respectively. Among 363 isolates assayed for the presence of the genes encoding virulence markers only 10 isolates (2.8%) carried *eae* gene. None of the isolates possessing *eae* gene belonged to the serogroups tested. The *hlyA*, *stx1* and *stx2* genes were absent in all *E. coli* isolates tested.

[contents](#)

## CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH PARAMETRÓW WIRULENCJI PAŁECZEK *ENTEROBACTER CLOACAE* IZOLOWANYCH Z MATERIAŁU KLINICZNEGO

Katedra Mikrobiologii Uniwersytetu Gdańskiego w Gdańsku

Kierownik: prof. dr hab. T. Kaczorowski

<sup>1</sup> Zakład Bakteriologii Klinicznej Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego w Gdańsku

Kierownik: dr n.med. J. Kurlenda

***Enterobacter* sp., należy do grupy KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) wewnątrz rodziny *Enterobacteriaceae*. Pałeczki te w przeciwieństwie do pałeczek z rodzajów *Klebsiella* i *Serratia* są najmniej poznanymi bakteriami pod względem molekularnym. W niniejszej pracy badano między innymi: związek pomiędzy wytwarzaniem  $\beta$ -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym, a przynależnością do określonej grupy plazmidowej, aktywność hemolityczną, wrażliwość szczepów na niskie pH oraz zdolność nabycia i ustalenia się w szczepie *Enterobacter cloacae* plazmidu pochodzącego od bakterii *E. coli*.**

Bakterie z rodzaju *Enterobacter* sp. są drobnoustrojami oportunistycznymi i w sprzyjających okolicznościach mogą być czynnikiem etiologicznym zakażeń różnych narządów i tkanek. Zakażenia dotyczą głównie pacjentów ze zmniejszoną odpornością i po zabiegach inwazyjnych (4). Obecnie rodzaj ten obejmuje osiem gatunków (10), z których pięć izoluje się od hospitalizowanych pacjentów. Do tych gatunków należą: *E. cloacae*,

*E. sakazakii*, *E. aerogenes*, *E. agglomerans*, *E. gergoviae*. Z próbek materiału klinicznego pochodzących z Wojewódzkiego Szpitala Zespołowego w Gdańsku w dwuletnim okresie izolowaliśmy wyłącznie szczepy należące do gatunku *E. cloacae*. Z kolei z próbek materiału klinicznego pochodzących z Akademii Medycznej w Bydgoszczy w podobnym przedziale czasowym wyizolowano 143 szczepy *E. cloacae*, ponadto zidentyfikowano 15 szczepów *E. agglomerans*, 14 *E. sakazakii*, 13 *E. aerogenes* (4). Badania markerów epidemiologii i wirulencji występujących u tych dość często izolowanych (na oddziałach intensywnej opieki medycznej) z materiałów klinicznych pałeczek są stosunkowo nieliczne i koncentrują się na badaniu nietypowych mechanizmów oporności na antybiotyki (2). Za taki może być uważane pojawienie się szczepów opornych na imipenem, która jest konsekwencją mutacji białek porynowych (1). Nieprawidłowo uformowana poryna może zminimalizować nawet do 70% transport  $\beta$ -laktamu do periplazmy. Mechanizm ten został wykryty u rzadziej występującej na terenie szpitala pałeczki *Enterobacter aerogenes* (2). Obserwowany przez nas brak zróżnicowania w poziomie oporności na ampicylinę wśród przebadanych 171 szczepów *Enterobacter cloacae* (wszystkie były odporne na subinhibicyjne stężenie ampicyliny 1000  $\mu\text{g/ml}$ ), wskazuje pośrednio na występowanie tego mechanizmu także w błonie zewnętrznej *Enterobacter cloacae*. W połączeniu z produkcją chromosomalnych lub plazmidowych  $\beta$ -laktamaz stwarza to znaczne trudności w leczeniu pacjentów z powodu utraty najlepszej broni jaką są karbapenemy w walce z tymi drobnoustrojami. W niniejszej pracy badania wyznaczników patogenności prowadzono na wyselekcjonowanych grupach szczepów na podstawie typowania bakteriofagowego i typowania molekularnego. Badania w kolejności obejmowały ocenę częstości izolacji szczepów wytwarzających  $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum, wytwarzanie i charakterystykę hemolizyn, badanie aktywności białek opiekuńczych (HDEA) warunkujących oporność na niskie pH, możliwości nabycia i replikacji plazmidu(ów)

*E. coli*. w bezplazmidowych szczepach *Enterobacter cloacae*.

[powrót do spisu](#)

J. Nieradko, J. Kurlenda

THE CHARACTERISTIC OF SELECTED VIRULENCE FACTORS OF *ENTEROBACTER CLOACAE* STRAINS  
ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS

Summary

We demonstrated that *Enterobacter cloacae* possesses a selective haemolytic activity on sheep erythrocytes. All the screened strains showed a haemolytic activity on sheep erythrocytes when cultures were preincubated with  $\beta$ -mercaptoethanol. The investigation circulation of the genes encoding extended spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) shows that  $\beta$ -lactamase producers can be ascribed to specific patterns of plasmids. We also demonstrated that genetic material from *E. coli* can be transferred and established in selected *Enterobacter cloacae* strains. In a survival tests we demonstrated that similarly to *Salmonella* or *Vibrio* clinical isolates *Enterobacter cloacae* doesn't demonstrate acid tolerance.

[contents](#)

Aleksander Deptuła, Agnieszka Mikucka, Eugenia Gospodarek

## WPLYW WARUNKÓW HODOWLI NA HYDROFOBOWE WŁAŚCIWOŚCI WIELOLEKkoopORNYCH SZCZEPÓW *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Katedra i Zakład Mikrobiologii Akademii Medycznej  
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy  
Kierownik: dr hab. E. Gospodarek, prof. nadzw. AM

**Hydrofobowe właściwości komórek bakteryjnych mogą być czynnikiem warunkującym oporność na fagocytozę i ułatwiającym adhezję do komórek gospodarza, w związku z czym stanowią istotne czynniki wirulencji.**

**W niniejszej pracy dokonano analizy wpływu warunków hodowli na właściwości hydrofobowe wielolekkoopornych szczepów *P. aeruginosa* izolowanych z materiału klinicznego.**

W zakażeniach szpitalnych coraz większe znaczenie mają drobnoustroje wielolekkooporne, w przypadku których wybór antybiotyków do leczenia jest bardzo ograniczony. Pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* to bakterie o „dobrze ugruntowanej” pozycji zarówno w zakażeniach szpitalnych, jak i pozaszpitalnych. Wśród licznych czynników wirulencji wymieni ć należy endotoksynę, egzotoksyny, liczne enzymy, zewnątrzkomórkowy śluz, zdolność do indukcji apoptozy w komórkach gospodarza oraz wydzielanie bakteriocyn, które mogą ułatwiać kolonizację. Minimalne wymagania odżywcze i szeroki zakres tolerancji niekorzystnych warunków sprzyjają przeżyciu

*P. aeruginosa* w środowisku szpitalnym. Bakterie te mogą przetrwać w wilgotnym środowisku do 120 dni, a ich rozwój jest możliwy w roztworach środków dezynfekcyjnych, płynach infuzyjnych i pozornie czystej wodzie destylowanej.

Hydrofobowość powierzchni komórek bakteryjnych jest uznawana za czynnik wirulencji. Uważa się, że właściwości hydrofobowe mogą warunkować oporność na fagocytozę i ułatwiać adhezję do komórek gospodarza, a tym samym kolonizację.

Celem pracy była ocena wpływu warunków hodowli na hydrofobowe właściwości wielolekkoopornych szczepów *P. aeruginosa* i analiza związku pomiędzy hydrofobowością a profilem wrażliwości na antybiotyki.

[powrót do spisu](#)

A. Deptuła, A. Mikucka, E. Gospodarek

INFLUENCE OF GROWTH CONDITIONS ON CELL SURFACE HYDROPHOBICITY  
OF MULTIRESISTANT *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* STRAINS

Summary

Bacterial cell surface hydrophobicity (CSH) may promote colonization. The aim of this study was evaluation of the influence of growth conditions and sensitivity to selected antibiotics on hydrophobic properties of multiresistant *P. aeruginosa* strains by means of salt aggregation test (SAT) and bacterial adhesion to hydrocarbons (BATH).

30 multiresistant *P. aeruginosa* strains were included in this study. The variables were: microbiological media type (trypticase-soy agar, trypticase-soy agar with 5% sheep blood and trypticase-soy broth), growth temperature (22, 30 and 37°C) and growth time (24 and 48 h). Most of the investigated strains presented hydrophilic properties in both methods. Cultivation in trypticase-soy broth caused statistically relevant decrease of CSH. Growth temperature did not influence CSH. 48 hours of incubation caused statistically relevant drop of the CSH when compared with 24 h incubation. The sensitivity to selected antibiotics did not vary investigated strains, except form cefepime sensitive and intermediate sensitive strains.

[contents](#)

## PORÓWNANIE FLORY BAKTERYJNEJ JAMY USTNEJ U DZIECI I U OSÓB DOROSŁYCH

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Katedry Mikrobiologii  
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi  
Kierownik: prof. dr hab. Z. Krzemiński

**Badano częstość występowania i liczebność w jamie ustnej osób dorosłych i dzieci niektórych grup bakterii. Częstość występowania badanych grup bakterii nie różniła się w statystycznie znamionym stopniu w obu grupach. Jedynie zakresy liczebności oraz średnie liczebności bakterii tlenowych niehemolizujących, bakterii beztlenowych, paciorkowców hemolizujących i niehemolizujących oraz *Streptococcus mutans* są statystycznie znamionnie większe w grupie osób dorosłych niż w grupie dzieci.**

Jama ustna nie jest jednolitym środowiskiem; składa się z kilku odrębnych siedlisk sprzyjających rozwojowi i bytowaniu różnych rodzajów bakterii. Warunki ekologiczne, które panują w jamie ustnej ulegają pewnym zmianom w okresie życia osobniczego wpływając na skład i liczebność bakterii ją zasiedlających (13, 16, 19). Związane jest to przede wszystkim z pojawieniem się i rozwojem zębów, najpierw mlecznych później stałych, rodzajem diety, ilością spożywanej sacharozy, utratą zębów, powstaniem patologicznych kieszonek dziąsłowych. Zabiegi stomatologiczne – ekstrakcje, wypełnienia zębów czy uzupełnienia protetyczne – również wpływają na zmiany w ekologii jamy ustnej (13). Jakość i liczebność flory bakteryjnej jamy ustnej jest zależna w znacznym stopniu również od składu i ilości wytwarzanej śliny. Glikoproteiny śliny wpływają na powstawanie skupisk i osadzanie się bakterii na powierzchniach zębowych. Wnikające do jamy ustnej drobnoustroje, obok czynników sprzyjających ich osiedlaniu się, napotyka na swoiste (głównie wydzielnicze *IgA* oraz pewne ilości *IgM* i *IgG*) i nieswoiste (lizozym, laktoferyna, laktoperoksydaza oraz białka kationowe) mechanizmy obronne gospodarza. Ogromne znaczenie mają także wzajemne stosunki antagonistyczne i synergiczne między poszczególnymi rodzajami i gatunkami tworzącymi stałą florę bakteryjną jamy ustnej (2, 4, 7, 13, 14, 15, 20).

Celem pracy było ustalenie częstości występowania i liczebności w jamie ustnej osób dorosłych i dzieci niektórych wybranych grup bakterii.

[powrót do spisu](#)

COMPARISON OF BACTERIAL FLORA ON ORAL CAVITY IN CHILDREN  
AND ADULTS

Summary

The aim of the study was to assess levels of occurrence and number of aerobic bacteria hemolysing and non-hemolysing, anaerobic bacteria, streptococci hemolysing and non-hemolysing, staphylococci, and bacteria responsible for tooth decay (*Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.*) on oral cavity in children and adults.

The results obtained indicate the difference of the level of occurrence of, aerobic bacteria hemolysing and non-hemolysing, anaerobic bacteria, streptococci hemolysing and non-hemolysing, staphylococci, and bacteria responsible for tooth decay (*Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.*) wasn't a statistically significant in both groups. The counts and average values of the counts for aerobic bacteria non-hemolysing, anaerobic bacteria, streptococci hemolysing and non-hemolysing and *Streptococcus mutans* turned out to be statistically significantly larger in adults than in children. However for aerobic bacteria hemolysing, staphylococci and *Lactobacillus spp.* the difference of the counts wasn't statistically significant in both groups.

[contents](#)



Małgorzata Wasiela<sup>1</sup>, Ewa Brzezińska-Błaszczyk<sup>2</sup>, Zbigniew Krzemiński<sup>1</sup>, Jarosław Kalinka<sup>3</sup>

## **WPLYW MYCOPLASMA HOMINIS I UREAPLASMA UREALYTICUM NA STĘŻENIE WYBRANYCH CYTOKIN PROZAPALNYCH W WYDZIELINIE POCHWOWEJ\***

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej UM w Łodzi<sup>1</sup>

Kierownik: prof dr hab. n. med. Z. Krzemiński

Zakład Immunologii Doświadczalnej UM w Łodzi<sup>2</sup>

Kierownik: prof. dr hab. n. med. E. Brzezińska-Błaszczyk

Klinika Perinatologii, I Katedra Ginekologii i Położnictwa UM w Łodzi<sup>3</sup>

Kierownik: prof dr hab. n. med. T. Ludański

**Badano występowanie *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum* w dolnym odcinku dróg rodnych kobiet ciężarnych, oraz określono wpływ tych bakterii na stężenie wybranych cytokin prozapalnych IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6 i IL-8 w wydzielinie pochwowej. Stwierdzono, że mykoplazmy w istotnym stopniu wpływały na wzrost stężenia IL-8 w wydzielinie pochwowej.**

*Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum*, dwa gatunki mykoplazm genitalnych, należą do bakterii często kolonizujących dolny odcinek dróg rodnych kobiet ciężarnych (3, 4, 19). Obecnie wiadomo, że infekcje wstępujące u kobiet ciężarnych są przyczyną groźnych powikłań położniczych, a mykoplazmy genitalne, zwłaszcza *U. urealyticum* wskazywane są jako jeden z ważniejszych czynników tych powikłań. Istnieje wiele badań dokumentujących związek pomiędzy mykoplazmową infekcją dróg rodnych a zapaleniem błon płodowych, infekcją płynu owodniowego, infekcją wewnątrzmaciczną oraz małą masą urodzeniową noworodków (LBW) (2, 5, 7, 16, 18). Drobnoustroje te są jednak zwykle pomijane w rutynowych badaniach mikrobiologicznych dotyczących oceny biocenozy pochwy ze względu na specyficzne metody ich izolowania i identyfikacji.

W świetle obecnej wiedzy nie ulega wątpliwości, że zakażenia bakteryjne uruchamiają miejscową odpowiedź immunologiczną, w której uczestniczą komórki układu odpornościowego. W odpowiedzi na stymulujący czynnik bakteryjny wytwarzane są i wydzielane mediatory reakcji zapalnych, w tym wiele cytokin. Udokumentowano związek pomiędzy obecnością różnych gatunków bakterii w drogach rodnych i odpowiedzialnych za powikłania położnicze a wzrostem stężenia cytokin prozapalnych, głównie IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6 lub TNF-alfa w płynie owodniowym (1, 8,10,11,20).

Celem pracy była ocena częstości występowania *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma urealyticum* u kobiet ciężarnych i określenie wpływu tych bakterii na stężenia wybranych cytokin prozapalnych w wydzielinie pochwowej.

[powrót do spisu](#)

M. Wasiela, E. Brzezińska-Błaszczuk, Z. Krzemiński, J. Kalinka

IMPACT OF *MYCOPLASMA HOMINIS* AND *UREAPLASMA UREALYTICUM* ON THE CONCENTRATION OF PROINFLAMMATORY CYTOKINES IN VAGINAL FLUID

SUMMARY

The main aim of this study was to determine impact of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* on the concentrations of selected proinflammatory cytokines in vaginal fluid in pregnant women. The samples were obtained from 120 pregnant women at 22 to 36 weeks gestation. Vaginal fluid were analyzed for the concentrations of IL-1 alfa, IL-1 beta, IL-6 and IL-8 using standard enzyme-linked immunosorbent assay technique (ELISA), and cervical fluid for prevalence of *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*. Genital mycoplasmas were diagnosed in 36 of 120 pregnant women (30%), (in 17 of 36 women (47,2%) both *M. hominis* and *U. urealyticum*, in 14 women (38,9%) only *U. urealyticum*, and in 5 cases (13,8%) only *M. hominis* were diagnosed). Vaginal levels of IL-8 was statistically higher among women with genital mycoplasmas infection, as compared to group without these bacteria ( $p=0,033$ ), while there was no correlation between IL-1 alpha, IL-1 beta and IL-6 concentrations and genital mycoplasmas infection. Future studies should concentrate on evaluation the impact of other lower genital tract bacteria on concentration of IL-8 and other proinflammatory cytokines.

[contents](#)

*Maria Kochman, Katarzyna Piekarska, Maja Ławrynowicz-Paciorek*

PROGRAM ZEWNĘTRZNEJ OCENY JAKOŚCI BADAŃ  
MIKROBIOLOGICZNYCH – OCENA WYNIKÓW SPRAWDZIANU  
PRZEPROWADZONEGO W 2002 ROKU W LABORATORIACH  
STACJI SANITARNO-EPIDEMIOLOGICZNYCH

Zakład Bakteriologii PZH w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. *M. Jagielski*

**W ramach Programu Zewnętrznej Oceny Jakości Badań Mikrobiologicznych Sprawdzań 2002 oceniono wiarygodność identyfikacji i oznaczenia wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki różnych szczepów ziarenkowców Gram-dodatnich w laboratoriach 34 stacji sanitarno-epidemiologicznych. W pracy zawarto analizę wyników badań przeprowadzonego sprawdzianu ze zwróceniem uwagi na przyczyny najczęściej popełnianych błędów.**

Zewnętrzne sprawdziany jakości wykonywanych badań diagnostycznych w pracowniach mikrobiologicznych stacji sanitarno-epidemiologicznych, przeprowadzane są w Polsce przez PZH od 1969 roku (7, 8, 10, 12, 13,15). Głównym ich celem jest ocena wiarygodności wyników identyfikacji szczepów bakteryjnych oraz oznaczenia wrażliwości drobnoustrojów na antybiotyki i chemioterapeutyki. Od 1994 roku organizowane są przez Centralny Ośrodek Badania Jakości w Diagnostyce Mikrobiologicznej sprawdziany wiarygodności badań mikrobiologicznych POLMICRO, głównie w laboratoriach pionu leczenia (5, 6).

Celem niniejszego sprawdzianu była ocena poprawności identyfikacji oraz oznaczania wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki ziarenkowców Gram-dodatnich z rodzaju *Staphylococcus* i *Enterococcus* z uwzględnieniem prawidłowej identyfikacji gatunku, umiejętności wykrywania określonych mechanizmów lekooporności, interpretacji uzyskanych wyników badania oraz poprawności doboru krążków do antybiogramu.

[powrót do spisu](#)

M. Kochman, K. Piekarska, M. Ławrynowicz-Paciorek

MICROBIOLOGICAL EXTERNAL QUALITY ASSURANCE PROGRAM (MEQAP)  
EVALUATION OF RESULTS OBTAINED IN SANITARY EPIDEMIOLOGICAL  
LABORATORIES IN 2002

Summary

The aim of this study was to evaluate reliability of identification and determination of sensitivity to antibiotics and chemotherapeutics of some Gram positive cocci strains in 34 sanitary-epidemiological stations. All laboratories engaged in this study received 3 strains:

*S. aureus* (*S. aureus* SC+CF+, resistant to methicillin., or *S. aureus* SC - CF+, sensitive to methicillin), coagulase-negative staphylococci (*S. epidermidis* or *S. haemolyticus* or *S. saprophyticus*) and *Enterococcus* sp. (*E. faecalis* HLAR-positive or *E. faecalis* HLAR-negative or *E. faecium* or *E. gallinarum*). All these strains previously were identified in Department of Bacteriology of National Institute of Hygiene. Of the 68 staphylococci strains tested, 66 isolates were correctly identified. Among the 34 enterococcal strains studied the greatest difficulty in identification was caused by *E. gallinarum* strain – (8 out of 13 strains were incorrectly recognised). The determination of the sensitivity of the control strains to antibiotics and chemotherapeutic agents, generally was performed correctly in accordance with to the NCCLS and national recommendations. Some incorrect results of the antibiograms were caused by an erroneous interpretation of the zones of inhibition.

[contents](#)

## PORÓWNANIE METOD SZACHOWNICY I „TIME-KILL” STOSOWANYCH DO BADANIA ZESTAWIENIA DWÓCH ANTYBIOTYKÓW

Zakład Antybiotyków i Mikrobiologii NIZP w Warszawie  
Kierownik: prof. dr hab. S. Tyski

**Stosując metodę szachownicy i „time-kill” uzyskano porównywalne wyniki oddziaływań zestawień penicyliny prokainowej, polimyksyny i bacytracyny z neomycyną, natomiast niską korelację wyników dla badanych połączeń dihydrostreptomycyny z benzylopenicyliną prokainową.**

W ostatnim dwudziestolecu obserwuje się spowolnienie tempa odkrywania i opracowywania nowych chemioterapeutyków. Pojawianie się na rynku kolejnych preparatów antybiotykowych nie jest równoznaczne z produkcją nowych leków. Większość z oferowanych „nowych” produktów leczniczych stanowią preparaty odtwórcze. Taka sytuacja sprzyja szerzeniu się oporności drobnoustrojów na antybiotyki i powoduje wzrost liczby szczepów wieloopornych. Czynniki przeciwbakteryjne oddziałują na drobnoustroje na wielu poziomach: ściany komórkowej, błony komórkowej, kwasów nukleinowych, rybosomów czy enzymów. Łączenie w jednym preparacie kilku (2-4) substancji czynnych o różnych mechanizmach działania na komórkę bakteryjną może mieć wpływ na ogólną aktywność biologiczną preparatu. W wyniku współdziałania substancji czynnych zaobserwować można synergizm lub efekt niekorzystny, tzw. inhibicję. W preparatach wieloantybiotykowych łączy się od 2 do 4 substancji czynnych w jednym leku, co ma na celu rozszerzenie zakresu działania na bakterie Gram-ujemne i Gram-dodatnie.

Dotychczas oceniano efektywność zestawienia dwóch czynników przeciwbakteryjnych, dążąc do uzyskania synergizmu, głównie dwiema metodami (10). Pierwsza z nich, polegająca na oznaczeniu cząstkowego stężenia hamującego (FIC), to tzw. metoda szachownicy. W obliczeniach stosuje się określone uprzednio minimalne stężenie danego związku hamujące wzrost badanych drobnoustrojów (MIC). Przyjmuje się, że zestawienie antybiotyków jest synergiczne, jeśli nastąpi czterokrotne zmniejszenie MIC każdego antybiotyku w mieszaninie, w porównaniu do wartości MIC antybiotyków testowanych oddzielnie. Druga z metod to technika „time-kill”, gdzie następuje redukcja wyjściowego inokulum drobnoustrojów w ciągu 24 godzin w roztworze z mieszaniną antybiotyków, co jest porównywane do efektu, jaki został uzyskany w roztworach z pojedynczymi antybiotykami. Z definicji, synergizm określany jest wtedy, kiedy liczba komórek tworzących kolonie (cfu)/ml po 24 godzinach dla mieszaniny jest równa lub mniejsza od  $10^2$  cfu/ml (przy wyjściowej gęstości zawiesiny  $10^5$  cfu/ml) w porównaniu do wartości cfu/ml uzyskanych dla pojedynczych czynników. Za pomocą obu wymienionych metod można jedynie określić oddziaływanie dwóch antybiotyków w ustalonym czasie. Obydwie techniki wykazują szereg ograniczeń (2). Za pomocą metody szachownicy można mierzyć jedynie stężenia statyczne, a oszacować nią można efekt zestawienia w danym punkcie czasowym (po 18-24 godzinie inkubacji). Metoda nie dostarcza informacji o bakteriobójczym charakterze zestawienia. Metoda „time - kill” jest bardzo pracochłonna. Ponadto w piśmiennictwie brak ujednoczonych stężeń dla testowanych antybiotyków. Związki te mogą być łączone w różnych stosunkach ilościowych, zaś wyniki uzyskane przy zmiennych proporcjach tych samych antybiotyków mogą się znacznie różnić. Niekiedy obserwuje się także brak korelacji pomiędzy wartościami FIC oznaczonymi metodą szachownicy a krzywą działania bakteriobójczego przy uzyskiwaniu odpowiedzi synergicznej (1, 2). Jedną metodą stwierdza się synergizm, podczas gdy przy podobnym układzie testowanym drugą metodą obserwuje się oddziaływanie neutralne.

Niniejsza praca jest kontynuacją dwóch poprzednich publikacji (4, 5), w których oznaczano typy oddziaływań aminoglikozydu z drugim antybiotykiem, obecnym w złożonych produktach leczniczych dla ludzi i zwierząt dopuszczonych do obrotu w Polsce. W obecnej pracy porównano wyniki oceny zestawienia dwóch antybiotyków metodą szachownicy i „time-kill”.

[powrót do spisu](#)

W. Grzybowska, M. Banaszczyk-Ruś, A. Wójcik, S. Tyski

COMPARISON OF CHECKERBOARD AND TIME-KILL METHODS FOR ANALYSIS  
OF TWO ANTIBIOTICS COMBINATION.

Summary

Activity interaction analysis of two antibiotics by two methods: checkerboard and “time-kill” was compared during this study. Combinations of procaine penicillin, polymyxin B and bacitracin with neomycin and procaine penicillin with dihydrostreptomycin were examined. Checkerboard method is the most widely used technique for antimicrobials interactions analyses. The “time-kill” method, performed by the broth macrodilution technique, provides a dynamic picture of antimicrobial action and interaction over time (based on serial colony counts). Differences of „time-kill” method and the checkerboard technique, allow single visual examination (after 16 to 24 hours of incubation).

Additive and inhibition effects were observed in combinations of neomycin with  $\beta$ -lactam antibiotic (procaine penicillin) and peptide antibiotics (bacitracin and polymyxin B) on clinical strain *S. Enteritidis* IL 35 “Time-kill” method also confirmed observations mentioned above. In combinations of procaine penicillin with dihydrostreptomycin on strains *E. coli* IL 531 and *E. coli* IL 256 synergy effects on checkerboard technique were noticed. Such observation was not confirmed by the “time-kill” method. The methodologies and definitions of synergism are variable and not standardized. This situation should be improved, because comparison of the results obtained by different methods becomes a very difficult task.

[contents](#)

Krzysztof P. Bielawski<sup>1</sup>, Elżbieta A. Lakomy<sup>2</sup>, Krystyna Witczak-Malinowska<sup>2</sup>,  
Zofia Michalska<sup>2</sup>, Bogdan Falkiewicz<sup>1</sup>

## WYKRYCIE HCV-RNA W TKANCIE WĄTROBY NIE KORELUJE Z AKTYWNOŚCIĄ I WŁÓKNIENIEM WĄTROBY W PRZEBIEGU PRZEWLEKŁEGO ZAPALENIA WĄTROBY TYPU C (WZW-C)<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Pracownia Diagnostyki Molekularnej, Katedra Biotechnologii,  
Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii Uniwersytetu Gdańskiego  
i Akademii Medycznej w Gdańsku

Kierownik: prof. dr hab. *A. J. Podhajska*

<sup>2</sup> Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej w Gdańsku.

Kierownik: dr med. *H. Trocha*

**Zależność pomiędzy wykrywalnością HCV-RNA w wątrobie a stopniem aktywności przewlekłego wzw-C jest niejednoznaczna. W celu jej oceny zbadano obecność HCV-RNA w surowicy i materiale z biopsji wątroby oraz wybrane biochemiczne i histologiczne parametry aktywności wzw-C u 48 przewlekle zakażonych. HCV-RNA w wątrobie wykryto u 39 chorych (81%), jednak nie stwierdzono korelacji jego obecności z aktywnością choroby lub stopniem uszkodzenia wątroby.**

Wirusowe zapalenie wątroby (wzw) jest jedną z najczęściej występujących chorób zakaźnych na świecie i w Polsce, a wirus wzw typu C (HCV) jest jednym z jego najczęstszych czynników etiologicznych (2, 16). Powikłania przewlekłego wzw-C (marskość i rak wątroby) są częstym wskazaniem do przeszczepu wątroby, HCV przypuszczalnie wyzwała także inne niż wzw zespoły chorobowe.

Obecność genomów HCV w surowicy jest uznanym parametrem diagnostycznym, a ich stężenie prognostycznym co do skuteczności terapii w wzw-C (16), aczkolwiek ukryta infekcja HCV i związane z nią postępujące uszkodzenie wątroby może być bez wykrywalnej obecności HCV-RNA i przeciwciał anti-HCV w surowicy (5). Częstość wykrywania HCV-RNA w tkance uzyskanej z biopsji wątroby zależy może od stężenia wirusa w narzędzie i zastosowanej metody detekcji, jak również od miejsca pobrania, ze względu na nierównomierne (w postaci „wyspowej”) występowanie grup komórek zawierających dużą liczbą cząsteczek wirusowych. Detekcja HCV-RNA i jego ilość w wątrobie może mieć znaczenie diagnostyczne w ocenie przyczyny wzw (5, 10, 12) i korelować ze stopniem uszkodzenia wątroby i parametrami biochemicznymi aktywności choroby (głównie aktywnością zapalną i włóknieniem) w wzw-C (1, 5, 10, 14). Jednak wyniki innych prac kwestionują korelację pomiędzy wykrywalnością i stężeniem HCV-RNA w tkance wątrobowej a aktywnością procesu zapalnego (8, 9, 12, 15, 17). Ważniejsza wydaje się być obecność replikacyjnych form HCV w wątrobie (7). Wysokie stężenie genomów HCV w wątrobie przed rozpoczęciem terapii rokuje negatywnie co do skuteczności leczenia (18), natomiast ich brak bądź minimalne ilości korelują z pozytywną odpowiedzią na terapię (13). Detekcja HCV-RNA w hepatocytach ma także istotne znaczenie w diagnostyce reinfekcji HCV u chorych po przeszczepie wątroby.

Populacja polska charakteryzuje się występowaniem w znacznej części (>50%) genotypu 1 wirusa HCV, w tym głównie 1b (4). Genotyp 1b znany jest jako słabiej podatny na leczenie interferonem (4) i w niektórych badaniach związany jest z większym stopniem uszkodzenia tego narządu w ocenie histologicznej i/lub większym prawdopodobieństwem rozwoju marskości (6), toteż badania z tego zakresu na polskiej populacji wydają się szczególnie interesujące. W tej pracy poddano analizie związek pomiędzy obecnością HCV-RNA w wątrobie, a parametrami aktywności uszkodzenia tego narządu.

[powrót do spisu](#)

K.P. Bielawski, E.A. Lakomy, K. Witczak-Malinowska, Z. Michalska, B. Falkiewicz

DETECTION OF HCV-RNA IN LIVER TISSUE DOES NOT CORRELATE WITH  
INFLAMMATORY PROCESS AND FIBROSIS ACTIVITY IN CHRONIC HEPATITIS C

Summary

The significance of HCV-RNA presence in the liver tissue in chronic hepatitis C activity or prognosis has not yet been clearly explained. Therefore, we have examined the relationship between the presence of HCV-RNA in the liver and selected parameters of disease activity and liver damage. A group of 48 chronically HCV infected patients (7-63 years old, mean 39 years) was evaluated. In the patients we assessed the activity of transaminases (ALT, AST), gammaglutamyltransferase (GGTP), and alkaline phosphatase (ALP). The patients underwent routine liver biopsies and the liver tissue was examined histopathologically and in order to detect the presence of HCV-RNA, by means of a combined procedure joining a new method of HCV-RNA extraction from the liver tissue and HCV-RNA detection with RT-PCR automatic Cobas Amplicor™ Hepatitis C ver. 2.0 assay (Roche Diagnostics). At the time of the liver biopsy, 44 of the patients were identified as having detectable serum HCV-RNA (as examined by means of Cobas Amplicor™ Hepatitis C ver. 2.0 assay), 3 patients were negative, and 1 was not tested. The presence of HCV-RNA in the liver tissues was detected in 39 cases (81.2%). In the parameters examined we have not found any significant differences between currently liver HCV-RNA positive and negative patients. Presence of the detectable HCV-RNA in the liver biopsies from chronic hepatitis C patients does not correlate with disease activity or level of liver damage.

[contents](#)



*Ilona Wojak<sup>1</sup>, Eugenia Gospodarek<sup>2</sup>*

## DROBNOUSTROJE IZOLOWANE Z KRWI GORĄCZKUJĄCYCH DZIECI Z CHOROBAŁĄ NOWOTWOROWĄ W OKRESIE NEUTROPENII

Laboratorium Mikrobiologiczne Wojewódzkiego

Szpitala Dziecięcego w Bydgoszczy<sup>1</sup>

Kierownik: dr I. Wojak

Katedra i Zakład Mikrobiologii Akademii Medycznej w Bydgoszczy<sup>2</sup>

Kierownik: dr hab. E. Gospodarek, prof. nadzw. AM

**Analizie poddano 4660 wyników bakteriologicznych posiewów próbek krwi z żyły obwodowej, krwi i płynu z cewnika Broviaca, pobranych od gorączkujących dzieci z chorobą nowotworową w okresie neutropenii w latach 1997-2000 leczonych w Katedrze i Klinice Pediatrii, Hematologii i Onkologii Akademii Medycznej w Bydgoszczy. Oceniono wrażliwość izolowanych bakterii na antybiotyki.**

Jednym z najczęstszych powikłań leczenia chorób nowotworowych są zakażenia. Spadek liczby granulocytów obojętnochłonnych w następstwie chemo- i radioterapii predysponuje do rozwoju zakażeń, których ryzyko wzrasta wraz ze stopniem ciężkości neutropenii i czasu jej trwania. Wśród zakażeń udokumentowanych mikrobiologicznie u pacjentów w okresie neutropenii pierwsze miejsce zajmuje bakteriami. W latach 70-tych i 80-tych XX wieku dominowały zakażenia bakteriami Gram-ujemnymi, a w ostatnich latach – Gram-dodatnimi (8). Monitorowanie mikrobiologiczne chorych pozwala na modyfikacje postępowania w przypadku zmiany lekooporności drobnoustrojów (13, 16).

Celem pracy była ocena częstości zakażeń krwi u dzieci z chorobą nowotworową oraz analiza flory bakteryjnej i ocena lekowrażliwości izolowanych drobnoustrojów.

[powrót do spisu](#)

I. Wojak, E. Gospodarek

ANALYSED MICROORGANISMS ISOLATED FROM FEBRILE NEUTROPENIC  
CHILDRENS WITH NEOPLASTIC DISEASE

Summary

The microbiological evaluation of the blood was carried out as a continued monitoring of the microorganism culture using the colourmetric system VITAL 200 (bio-Mérieux). There have been analysed 4660 bacteriological research results of the peripheral blood, blood from Broviac and from Broviac liquid of the children suffering from cancer treated in the years 1997-2000 in the Pediatric, Hematology and Onkology Clinique of the State Clinical Hospital in Bydgoszcz. There have been gained 1032 positive cultures from KZZ, KZB, PZB.

There have been recognized 259 bacteriemia and 22 fungemia by the children with fever in the neutropenia period. In the analysed four years in the blood dominated Gram-positive bacteria. Among Gram-positive bacteria there were mostly *Staphylococcus spp.* (42,5%), mostly CNS, fewer numerous were *Streptococcus spp.* (14,5%) and *Corynebacterium spp.* (5,9%). Among Gram-negative bacteria mostly were isolated *Acinetobacter spp.* (25,6%), *Pseudomonas spp.* (9,7%), *E. coli* (13,8%), *Enterobacter spp.* (13,9%), *Klebsiella spp.* (9,2%). There were observed few infections by strains resistant to many antibiotics, *S. maltophilia*, *B. cepacia*, *E. faecium*, *S. haemolyticus*. All strains *Staphylococcus spp.* were sensitive to vancomycin. There have not been found *Enterococcus spp.* resistant to glycopeptides. Most active against Gram-positive rods were carbapenems and aminoglycosides.

[contents](#)