

UDZIAŁ GATUNKOWY I LEKOWRAŻLIWOŚĆ DROBNOUSTROJÓW IZOLOWANYCH OD CHORYCH Z PRZEWLEKŁYM ZAPALENIEM UCHA ŚRODKOWEGO W SZPITALU UNIWERSYTECKIM NR 1 W BYDGOSZCZY

Janiak-Kiszka Joanna¹, Budzyńska Anna², Gospodarek-Komkowska Eugenia²,
Kaźmierczak Henryk¹, Kaźmierczak Wojciech¹

¹Zakład Badania Narządów Zmysłów Wydziału Nauk o Zdrowiu, ²Katedra i Zakład Mikrobiologii,
Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

WSTĘP*

Jednym z elementów patogenezы przewlekłego zapalenia ucha środkowego jest kolonizacja mikrobiologiczna. Drobnoustroje powodują zaostrzenie zapalenia, co objawia się wyciekami ropnym, bólem ucha, pogłębieniem niedosłuchu oraz może doprowadzić do poważnych powikłań usznopochodnych, takich jak zapalenie wyrostka sutkowatego, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, ropień mózgu. Kluczowym elementem leczenia jest celowana antybiotykochemia miejscowa, która eliminuje stan zapalny.

CEL

Celem pracy była ocena częstości występowania oraz lekowrażliwości drobnoustrojów izolowanych od chorych z przewlekłym zapaleniem ucha w Szpitalu Uniwersyteckim im. dr. A. Jurasza w Bydgoszczy.

MATERIAŁ I METODY

Analizie poddano wyniki badań uzyskane w latach 2015-2016 w Zakładzie Mikrobiologii Klinicznej z posiewów ropy lub wymazu z ucha pobranych od chorych z przewlekłym zapaleniem ucha środkowego w Klinice Otolaryngologii i Laryngologii Onkologicznej z Pododdziałem Audiologii i Foniatrii. Pobrane materiały opracowywano zgodnie ze standardowymi procedurami mikrobiologicznymi.

WYNIKI

Spośród 46 dodatnich posiewów wyizolowano łącznie 74 patogeny, w tym 31,1% bakterii Gram-dodatnich, 64,9% bakterii Gram-ujemnych oraz 4,1% grzybów. Najczęściej izolowanym gatunkiem był *Pseudomonas aeruginosa* (20,3%) oraz *Staphylococcus aureus* (18,9%). Wśród wyosobnionych drobnoustrojów odnotowano także patogeny kazuistyczne, tj. *Raoultella ornithinolytica* i *Bordetella trematum*.

Wszystkie szczepy *S. aureus* wykazywały metycylinowrażliwość, natomiast najwięcej (25%) szczepów opornych odnotowano dla amikacyny i tobramycyny. Wśród pałeczek *Enterobacterales* u 52,9% i 45,8% szczepów stwierdzono brak wrażliwości odpowiednio na amoksycylinę-klawulanian i tigececyklinę. Najwyższy odsetek szczepów *P. aeruginosa* oporny był na ciprofloksacynę i lewofloksacynę (odpowiednio 50,8% i 50,5%).

WNIOSKI

1. W przewlekłym zapaleniu ucha środkowego antybiotykochemia miejscowa powinna mieć charakter celowany, ze względu na narastającą lekooporność, jak również możliwość zakażenia z udziałem rzadko spotykanych patogenów.
2. Najczęściej izolowanym gatunkiem był *P. aeruginosa* oraz *S. aureus*.
3. Infekcje grzybicze stanowią znikomy odsetek zakażeń w przewlekłym zakażeniu ucha środkowego.

ZMIANY W MIKROBIOCIE NOSOGARDZIELI U PACJENTÓW Z NOWOTWOREM PŁUCA PODDAWANYCH CHEMIOTERAPII

Chwiejczak Edyta¹, Kurek Katarzyna², Kosikowska Urszula¹, Mackiewicz Barbara²

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Klinika Pneumonologii, Onkologii i Alergologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Wstęp: Pojęciem mikrobiota określa się wszystkie mikroorganizmy bytujące w ciele człowieka – zarówno komensalne jak i oportunistyczne. Drobnoustroje te znacząco wpływają na funkcjonowanie ludzkiego organizmu i grają istotną rolę w utrzymaniu homeostazy. Badacze wykazali wpływ wielu czynników na stan mikrobioty m.in. stan zdrowia, przyjmowane leki, zwłaszcza antybiotyki, oraz środowisko i styl życia. W czasie leczenia chemioterapią dochodzi do licznych negatywnych dla pacjenta następstw, m.in. zaburzenia odporności. Tym samym staje się on bardziej narażony na działanie drobnoustrojów patogennych, w tym oportunistycznych, co w sytuacji osłabienia układu odpornościowego może mieć negatywne konsekwencje.

Cel pracy: Celem pracy była wstępna ocena jakościowych zmian zachodzących w mikrobiocie nosogardzeli u pacjentów z nowotworem płuca, poddawanych chemioterapii.

Materiały i metody: Badaniami objęto 5 pacjentów z rozpoznaniem nowotworem płuca, którzy zostali zakwalifikowani do leczenia z użyciem chemioterapii. Od pacjentów, po wyrażeniu świadomej zgody pobierano wymazy z nosogardzeli przed rozpoczęciem leczenia (Badanie I) i po II cyklu chemioterapii (Badanie II). Otrzymane wymazy wysiewano na podłoże krwawe, agar czekoladowy, podłoże Sabourauda oraz Wilkins-Chalgren. Po inkubacji wyizolowane drobnoustroje identyfikowano przy użyciu spektrometrii mas MALDI-TOFMS.

Wyniki: U każdego z badanych pacjentów doszło do zmian w składzie mikrobioty nosogardzeli. W mikrobiocie nosogardzeli 1/5 (20%) przebadanych pacjentów w Badaniu II występowały inne drobnoustroje niż przed rozpoczęciem terapii, doszło do kolonizacji *Staphylococcus warneri*. W przypadku 3/5 (60%) pacjentów po II cyklu chemioterapii w obrębie mikrobioty zaobserwowano mniejszą różnorodność gatunkową. W przypadku tych pacjentów w obydwu badaniach w mikrobiocie nosogardzeli obecne były drobnoustroje z gatunku: *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium accolens* i *C. propinquum*. U 1/5 (20%) badanych pacjentów zmniejszyła się liczba gatunków bakterii oraz do kolonizacji przez *Klebsiella oxytoca*.

Wnioski: Leczenie chemioterapią jest bardzo obciążające zarówno dla komórek organizmu pacjenta, jak i dla mikroorganizmów go zasiedlających. Immunosupresja wynikająca z rodzaju choroby oraz stosowana cytotoksyczna terapia sprzyjają zmianom w mikrobiocie oddechowej i zwiększają ryzyko kolonizacji przez patogeny oportunistyczne, w tym pałeczki *Enterobacteriaceae*.

RÓŻNORODNOŚĆ GATUNKOWA *STAPHYLOCOCCUS* SPP. W MIKROBIOCIE NOSOGARDZIELI KOBIET CIĘŻARNYCH

Kosikowska Urszula¹, Chwiejczak Edyta¹, Dłuski Dominik², Dagmara Stępień-Pyśniak³, Bożena Leszczyńska-Gorzela², Anna Malm¹

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej z Pracownią Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

²Katedra i Klinika Położnictwa i Perinatologii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

³Zakład Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Instytut Biologicznych Podstaw Chorób Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

WSTĘP

Mikrobiota ma znaczący wpływ na utrzymanie homeostazy i prawidłowe funkcjonowanie makroorganizmu. Występowanie patogenów oportunistycznych oraz zmiany w mikrobiocie zarówno w stanach fizjologicznych (np. fizjologicznie przebiegająca ciąża) jak i podczas różnych chorób mogą mieć wpływ na samopoczucie i stan zdrowia kobiety i dziecka oraz zwiększać podatność organizmu na kolonizację przez patogeny.

CEL

Celem pracy była ocena częstości występowania różnych gatunków gronkowców, zarówno koagulazododatnich i koagulazo-ujemnych, w mikrobiocie nosogardzeli kobiet ciężarnych

MATERIAŁ I METODY

Wymaz z nosogardzeli pobierano od 43 kobiet ciężarnych w wieku 19-41 lat (średnia 29,5 ±4,4 lat), między 7-39 hbd, zgłaszających się do szpitala celem wykonania badań. Wyosobnione izolaty zidentyfikowano w oparciu o profil białkowy z użyciem MALDI-TOF MS (matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry).

WYNIKI

Wykazano, że w nosogardzeli 41/43 (95,3%) biorących udział w badaniu kobiet w ciąży występowały różne gatunki *Staphylococcus* spp., w tym 18/43 (41,9%) kobiet było skolonizowanych przez więcej niż jeden (2 lub 3) gatunek gronkowca. Łącznie wyosobniono 71 izolatów *Staphylococcus* spp. Koagulazododatni *Staphylococcus aureus* wyizolowano od 13/43 (30,2%) kobiet. Z gronkowców koagulazo-ujemnych wrażliwych na nowobiocynę najczęściej izolowanym gatunkiem był *S. epidermidis*. (34/43, 79,1%), znacznie rzadziej zidentyfikowano *S. hominis*, *S. haemolyticus*, *S. capitis*, *S. warneri*, *S. pasteurii*. Od 3/43 (6,98%) kobiet wyosobniono oporny na nowobiocynę *S. saprophyticus*.

WNIOSKI

1. Wykazano duże zróżnicowanie gatunkowe gronkowców kolonizujących nosogardzeli kobiet w ciąży.
2. Wśród badanych gatunków dominowały gronkowce koagulazo-ujemne wrażliwe na nowobiocynę, z gatunków koagulazododatnich wyosobniono tylko *S. aureus*.

WPLYW WYBRANYCH POCHODNYCH SKONDENSOWANYCH UKŁADÓW HETEROCYKLICZNYCH NA TETRACYKLINOOPORNOŚĆ *S. AUREUS*

Piątkowska Elżbieta¹, Wójcicka Anna², Nowicka-Zuchowska Anna², Baczyńska Dagmara³,
Łoziński Szymon¹

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Technologii Leku, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

³Zakład Technik Molekularnych, Katedra Medycyny Sądowej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

WSTĘP

Narastająca lekooporność *S.aureus* ogranicza zakres antybiotyków możliwych do zastosowania w terapii zakażeń. Brak nowych leków przeciwbakteryjnych prowadzi do poszukiwania innych strategii walki z patogenami. Jedną z nich jest poszukiwanie inhibitorów bakteryjnych mechanizmów oporności, które stosowane wraz z antybiotykiem, mogłyby przywrócić jego aktywność.

CEL

Ocena występowania oporności na tetracyklinę u klinicznych szczepów *S.aureus*, uwarunkowanej mechanizmem aktywnego wypływu antybiotyku. Poszukiwanie inhibitorów pompy Tet(K) wśród pochodnych skondensowanych układów heterocyklicznych.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 102 klinicznych szczepach *S.aureus*. Wrażliwość na tetracyklinę i wartość MIC antybiotyku oznaczono metodą mikrorozcieńczeń. Aktywny wpływ tetracykliny określono na podstawie wpływu rezerpiny na wartość MIC. Obecność genu *tet(K)* wykryto techniką PCR. Na wybranym szczepie *S.aureus* przebadano 29 nowosyntetyzowanych związków będących pochodnymi skondensowanych układów heterocyklicznych, poszukując wśród nich inhibitorów mechanizmu aktywnego transportu tetracykliny.

WYNIKI

Oporność na tetracyklinę stwierdzono u blisko 10% izolatów. Mieściła się ona w zakresie wartości MIC od 8 do 32µg/ml. U 80% szczepów opornych obserwowano spadek wartości MIC pod wpływem rezerpiny. U 7 z 10 szczepów opornych wykryto gen *tet(K)*. Badania skojarzonego działania związków syntetycznych i tetracykliny przeprowadzone na szczepie posiadającym gen *tet(K)*, pozwoliły wskazać na 3 związki, obniżające wartość MIC antybiotyku.

WNIOSKI

1. Dominującym mechanizmem oporności na tetracyklinę u *S.aureus* jest aktywne usuwanie jej poza komórkę, uwarunkowane obecnością genu *tet(K)*.
2. Pochodne skondensowanych układów heterocyklicznych o nr 15a, 15e i 15g obniżają wartość MIC tetracykliny u wybranego szczepu *S.aureus*.

SYNTEZA I BADANIA MIKROBIOLOGICZNE POCHODNYCH 2-(3-AZABENZYLIDENO)AMINO-1H-BENZIMIDAZOLU

Zuchowski Aleksander ¹, Nowicka-Zuchowska Anna ², Wójcicka Anna ², Bartoszewicz Marzenna ¹

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Technologii Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

WSTĘP

Narastająca oporność bakterii wobec antybiotyków dostępnych w leczeniu staje się problemem w terapii zakażeń nabierającym skali globalnej. Brak nowych, skutecznych preparatów wymaga zdobywania nowej wiedzy na temat syntezy oraz działania syntetycznych pochodnych układów heterocyklicznych, w tym benzimidazolu.

CEL

Synteza i modyfikacja chemiczna pochodnych 2-amino-1H-benzimidazolu o potencjalnej aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

MATERIAŁ I METODY

Substratami reakcji Schiffa były 2-amino-1H-benzimidazol oraz aldehyd 3-pirydynowy, które utworzyły 2-(3-azabenzylideno)amino-1H-benzimidazol. Zostały one użyte do dalszych modyfikacji struktury chemicznej – redukcji wiązania azametynowego, a następnie kondensacji Mannicha. Strukturę chemiczną otrzymanych związków ustalono na podstawie wyników analiz: elementarnych oraz spektralnych IR i ¹H NMR.

Otrzymane związki przebadano na aktywność przeciwbakteryjną wobec wybranych wzorcowych szczepów bakterii Gram-dodatnich (*S. aureus* ATCC 29213) i Gram-ujemnych pałeczek fermentujących (*E. coli* ATCC 25922) oraz pałeczek niefermentujących (*P. aeruginosa* ATCC 27852). Badania wykonano metodą mikrorozcieńczeń.

WYNIKI

Wobec szczepów *P. aeruginosa* ATCC 27852 i *S. aureus* ATCC 29213 testowane pochodne wykazały niską aktywność przeciwbakteryjną, natomiast najsilniej działały wobec *E. coli* ATCC 25922 (MIC 625-312 mg/L). Zasada Mannicha oraz produkt redukcji wiązania azametynowego zasady Schiffa wykazały silniejszą aktywność przeciwbakteryjną wobec *E. coli* ATCC 25922 niż 2-(3-azabenzylideno)amino-1H-benzimidazol.

WNIOSKI

1. Modyfikacja struktury zasady Schiffa okazała się celowa, co potwierdziły wyniki badań aktywności przeciwbakteryjnej wobec szczepu *E. coli* ATCC 25922.

AKTYWNOŚĆ PRZECIWBAKTERYJNA ZASAD SCHIFFA I MANNICHA, POCHODNYCH 2-AMINO-1H-BENZIMIDAZOLU

Zuchowski Aleksander¹, Nowicka-Zuchowska Anna², Wójcicka Anna², Bartoszewicz Marzenna¹

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Technologii Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

WSTĘP

Zasady Schiffa i Mannicha różnych układów heterocyklicznych wykazują aktywność przeciwbakteryjną. Skринingowe badanie ich aktywności przeprowadzono zarówno wobec wzorcowych szczepów bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych.

CEL

Porównanie aktywności przeciwbakteryjnej wybranych zasad Schiffa i Mannicha zawierających w swojej strukturze układ 2-amino-1H-benzimidazolu.

MATERIAŁ I METODY

Aktywność przeciwbakteryjną otrzymanych zasad Schiffa i Mannicha oznaczono metodą mikrorozcieńczeń. Określono MIC (ang. *minimum inhibitory concentration*) badanych związków względem wzorcowych szczepów *S. aureus* ATCC29213, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27852.

WYNIKI

Najsilniejszą aktywność przeciwbakteryjną otrzymane związki wykazały wobec szczepu *S. aureus* ATCC29213. Z kolei względem Gram-ujemnych pałeczek fermentujących (*E. coli* ATCC 25922) i pałeczek niefermentujących (*P. aeruginosa* ATCC 27852) wykazały niską aktywność.

WNIOSKI

1. Zasady Schiffa i Mannicha, pochodne 2-amino-1H-benzimidazolu wykazywały większą aktywność wobec bakterii Gram-dodatnich niż bakterii Gram-ujemnych.

HETEROCYKLICZNE POCHODNE PIRYDINY O AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ

Zuchowski Aleksander¹, Wójcicka Anna², Nowicka-Zuchowska Anna², Piątkowska Elżbieta¹,
Bartoszewicz Marzenna¹

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra i Zakład Technologii Leków, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Analityki Medycznej,
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

WSTĘP

Ograniczenie skuteczności leczenia zakażeń bakteryjnych wynika z narastającej oporności drobnoustrojów i powoduje ciągle poszukiwanie źródeł nowych antybiotyków. Jednym z nich są syntezy chemiczne heterocyklicznych pochodnych pirydyny, które wykazują działanie przeciwbakteryjne.

CEL

Określenie aktywności przeciwdrobnoustrojowej pochodnych pirydyny skondensowanych z pięcio- i sześcioczłonowymi pierścieniami heterocyklicznymi, wobec wybranych wzorcowych bakteryjnych szczepów Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

MATERIAŁ I METODY

Wstępne badania skringowe otrzymanych w Katedrze i Zakładzie Technologii Leków UMW osiemnastu pochodnych 2,7-naftyrydyny oraz pirolo[3,4-c]pirydyny przeprowadzono metodą mikrorozcieńczeń. Użyto szczepów wzorcowych: *S. aureus* ATCC29213, *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27852. Dla każdego związku wykonano trzy powtórzenia, a z uzyskanych wyników wyciągnięto średnią wartość MIC.

WYNIKI

Spośród wszystkich badanych związków pochodna hydrazynu kwasu 2,7-naftyrydyno-3-karboksylowego wykazywała najwyższą aktywność przeciwbakteryjną wobec *S. aureus* ATCC29213. Pochodne 2,7-naftyrydyny oraz pirolo[3,4-c]pirydyny wykazały najniższe wartości MIC wobec bakterii Gram-dodatnich. Otrzymane związki charakteryzowały się niską aktywnością przeciwbakteryjną wobec pałeczek Gram-ujemnych (*E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* ATCC 27852).

WNIOSKI

1. Heterocykliczne pochodne pirydyny skondensowane z pięcio- i sześcioczłonowymi pierścieniami działały silniej przeciwbakteryjnie wobec szczepów bakterii Gram-dodatnich niż Gram-ujemnych.

SZCZEPY ESBL(+) IZOLOWANE OD WOLNOŻYJĄCYCH PTAKÓW Z GATUNKU *FULICA ATRA*

Rybak Bartosz¹, Ziółkowski Paweł², Furmanek Blaszka Beata²

¹Zakład Medycyny Tropikalnej i Epidemiologii, Katedra Medycyny Tropikalnej i Parazytologii, Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa z Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Uniwersytet Gdański, Wydział Biologii Katedra Mikrobiologii

WSTĘP

Przez długi czas zjawisko antybiotykooporności wiązano jedynie ze środowiskiem szpitalnym jednak problem ten wykracza poza granicę szpitala. Bakterie wielolekooporne występują powszechnie u zwierząt wolnożyjących.

CEL

Celem pracy była analiza występowania oraz ocena lekooporności bakterii wytwarzających β -laktamazy typu ESBL wśród wolnożyjących osobników *Fulica atra*.

MATERIAŁ I METODY

W pracy wykorzystano szczepy pochodzące z materiału pobranego z kloaki 16 osobników *Fulica atra* obrączkowanych w okolicach Trójmiasta i Warszawy. Izolację drobnoustrojów przeprowadzano wysiewając próbki na podłoże MacConkeya uzupełnione cefotaksymem (2mg/l). Badane szczepy wstępnie zostały zidentyfikowane przy użyciu testów API NE. Badanie wrażliwości na antybiotyki wykonano metodą dyfuzyjno-krążkową na podłożu Mueller-Hintona II. Zdolność do syntezy β -laktamaz typu ESBL potwierdzono fenotypowo metodą dwóch krążków. Szczepy odporne na cefotaksym oraz zdolne do wytwarzania β -laktamaz z grupy ESBL zostały przebadane techniką PCR w kierunku obecności genów kodujących β -laktamazy ESBL. Uzyskane produkty amplifikacji zostały oczyszczone i poddane reakcji sekwencjonowania.

WYNIKI

Spośród 16 przebadanych próbek wzrost na podłożu MacConkeya uzyskano w 10 przypadkach (62,5%). Analizowano tylko szczepy laktozo-dodatnie, wśród których zidentyfikowano 10 izolatów *E. coli* i 2 należące do rodzaju *Enterobacter sp.*. U wszystkich szczepów *E. coli* potwierdzono produkcję enzymów typu ESBL. Wszystkie izolaty zostały przebadane pod kątem obecności genów *bla*^{CTX}, *bla*^{TEM} oraz *bla*^{SHV}. Szczepy ESBL⁺ były odporne na większość badanych leków przeciwbakteryjnych.

WNIOSKI

1. Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzające β -laktamazy ESBL w przewodzie pokarmowym dzikich zwierząt synantropijnych stanowią istotny rezerwuuar szczepów wielolekoopornych niebrany pod uwagę w rozważaniach epidemiologicznych.
2. Dominującym typem enzymów ESBL izolowanych w tym badaniu była rodzina CTX-M.

**LEKOWRAŻLIWOŚĆ *M. AVIUM* I *M. KANSASII* IZOLOWANYCH OD
PACJENTÓW POMORSKIEGO CENTRUM CHORÓB ZAKAŻNYCH
I GRUŻLICY W LATACH 2006-2016**

Bartosz Rybak^{1,2}, Alicja Sankowska², Katarzyna Sikorska¹

¹Zakład Medycyny Tropikalnej i Epidemiologii, Katedra Medycyny Tropikalnej i Parazytologii, Instytut Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Wydział Nauk o Zdrowiu z Oddziałem Pielęgniarstwa i Instytutem Medycyny Morskiej i Tropikalnej, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Laboratorium Prątka Pomorskie Centrum Chorób Zakaźnych i Gruźlicy, Gdańsk

WSTĘP

Ze względu na powszechne występowanie w otoczeniu człowieka prątków MOTT istotnym wyzwaniem diagnostycznym jest rozstrzygnięcie między zakażeniem a kolonizacją.

CEL

Ocena lekowrażliwości szczepów *M. avium* i *M. kansasii* izolowanych od pacjentów Pomorskiego Centrum Chorób Zakaźnych i Gruźlicy (PCChZiG) w latach 2006-2016.

MATERIAŁ I METODY

Analizowano retrospektywnie lekowrażliwość prątków izolowanych od pacjentów z rozpoznaniem mykobakteriozy, hospitalizowanych w PCChZiG w latach 2006-2016. Diagnostyka w kierunku zakażenia prątkami oraz podstawowe testy lekowrażliwości (PTL) na streptomycynę (S), izoniazyd (I), ryfampicynę (R) i etambutol (E) przeprowadzano w Pracowni Diagnostyki Prątka Gruźlicy PCChZiG. Test lekowrażliwość rozszerzonej (TLR) wykonywano rutynowo w Krajowym Referencyjnym Laboratorium Prątka Gruźlicy IGiChP. TLR oznaczono dla kapreomycyny (K), cykloseryny (C), etionamidu (ET), ofloksacyny (O), amikacyny (A), biseptolu (SXT), clofasiminy (CL), davercinu (D), rifabutiny (RB).

WYNIKI

W latach 2006-2016 wyizolowano *M. avium* od 33 pacjentów a *M. kansasii* od 19 pacjentów. *M. avium* izolowane było od wszystkich pacjentów z próbek popłuczyn oskrzelowych, u 1 pacjenta zakażonego wirusem HIV z posiewu krwi i u 1 pacjenta z węzłów chłonnych. *M. kansasii* było izolowane od wszystkich chorych z próbek popłuczyn oskrzelowych, u 1 pacjenta zakażonego wirusem HIV z posiewu krwi.

W PTL wrażliwość *M. avium* na S wyniosła 73,1%, na R 11,5%, E 73,7% i I 3,8%. Wrażliwość *M. kansasii* w PTL na S wyniosła 35,3 %, na E 5,9% oraz na I i R po 1,8%.

W TLR *M. avium* był w 100% wrażliwy na C i ET. Wrażliwość na CL, RB, K, SXT, O wyniosła odpowiednio 96%, 72%, 46,4%, 40%, 10,7%. Na A i D 100 % szczepów było opornych.

III OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA
”Drobnoustroje w świecie człowieka - Drobnoustroje oportunistyczne”
Bydgoszcz, 18-19 czerwca 2018 r.

W TLR *M. kansasii* był w 100% wrażliwy na K, C, ET, O, następnie na SXT, CL, RB 92,3%, A 53% i D 33,3 %.

WNIOSKI

3. *M. avium* i *M. kansasii* wykazują wysoki odsetek oporności na podstawowe leki przeciw prątkowe z grupy S I R E.
4. W TLR *M. avium* i *M. kansasii* są wrażliwe na większość leków.

CHARAKTERYSTYKA SZCZEPÓW *ENTEROBACTER* SPP. NIEWRAŻLIWYCH NA KARBAPENEMY

Michalska Anna ^{1,2}, Barańkiewicz Joanna ¹, Bogiel Tomasz ^{1,2}, Gospodarek-Komkowska Eugenia ^{1,2}

¹ Katedra i Zakład Mikrobiologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

² Zakład Mikrobiologii Klinicznej Szpitala Uniwersyteckiego nr 1 im. dr A. Jurasza w Bydgoszczy

WSTĘP

Bakterie z rodzaju *Enterobacter* spp. są Gram-ujemnymi pałeczkami *Enterobacteriaceae*. Wytwarzają chromosomalne β-laktamazy typu AmpC, mogą wytwarzać również β-laktamazy typu ESβL, a coraz częściej dokumentowana jest oporność bakterii na karbapenemy.

CEL

Celem pracy było określenie zdolności wytwarzania enzymów typu ESβL, MBL, KPC i OXA-48 u szczepów *Enterobacter* spp. niewrażliwych na karbapenemy (w szczególności na ertapenem) oraz ocena pokrewieństwa genetycznego wybranych szczepów metodą RAPD.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiło 41 szczepów *Enterobacter* spp. niewrażliwych na ertapenem. Ocenę lekowrażliwości badanych szczepów wykonano w systemie VITEK 2 Compact. β-laktamazy wykrywano zgodnie z zaleceniami KORLD. Dla wybranych szczepów przeprowadzono występowania genów β-laktamaz za pomocą techniki LAMP, izolację DNA bakteryjnego i amplifikację metodą PCR, wykrywanie genów *bla_{VIM}* i *bla_{IMP}* kodujących karbapenemazy typu VIM i IMP oraz ocenę pokrewieństwa wybranych szczepów metodą RAPD.

WYNIKI

Przy użyciu testu DDST wykryto 26,8% szczepów wytwarzających enzymy typu ESβL, a przy użyciu testu Carba NP 31,7% szczepów podejrzanych o wytwarzanie karbapenemaz. Testy fenotypowe z EDTA i kwasem boronowym, wykazały, że 31,7% szczepów wytwarzało enzymy typu MBL, 17,1% podejrzanych było o wytwarzanie enzymów typu KPC i 43,9 % o wytwarzanie enzymów typu OXA-48.

Wykrywanie karbapenemaz metodami z użyciem reakcji PCR oraz LAMP potwierdziło występowanie genów *bla_{VIM}* u wszystkich szczepów, które dały dodatni wynik testu CARBA NP oraz genów *bla_{CTX-M-1}* u 61,5% z nich. Ocena pokrewieństwa genetycznego wybranych szczepów *Enterobacter* spp. metodą RAPD wyodrębniła dwa typy genetyczne.

WNIOSKI

1. Wśród badanych szczepów *Enterobacter* spp. występowały szczepy wytwarzające β-laktamazy typu ESβL i karbapenemazy. Ze względów epidemiologicznych ważne jest wykrywanie u wielolekoopornych pałeczek *Enterobacter* spp. tych mechanizmów lekooporności.
2. Jednoczesne wytwarzanie przez szczepy *Enterobacter* spp. kilku mechanizmów oporności np. cefalosporynaz typu AmpC i β-laktamaz typu ESβL lub karbapenemaz może dawać fałszywie ujemne

III OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA
”Drobnoustroje w świecie człowieka - Drobnoustroje oportunistyczne”
Bydgoszcz, 18-19 czerwca 2018 r.

wyniki w teście DDST na wykrywanie β -laktamaz typu ES β L. Wątpliwy wynik takiego testu powinien być zweryfikowany innymi metodami fenotypowymi lub genotypowymi (np. metodą opartą na technice PCR lub techniką LAMP).

3. β -laktamazy typu ES β L wykryte u badanych szczepów metodą techniki LAMP należą do rodziny CTX-M-1, natomiast enzymy typu MBL do rodziny VIM.
4. Wykrywanie β -laktamaz o rozszerzonym zakresie działania typu: ES β L, OXA -48, VIM, KPC, NDM z użyciem techniki LAMP w czasie rzeczywistym jest łatwą, wiarygodną i bardzo szybką metodą diagnostyczną, która znacznie przyspiesza uzyskanie wyniku badania mikrobiologicznego.
5. Ocena pokrewieństwa wybranych szczepów *Enterobacter* spp. niewrażliwych na ertapenem przeprowadzona techniką RAPD wykazała występowanie wśród badanych szczepów izolatów identycznych. Świadczy to prawdopodobnie o translokacji i utrzymywaniu się szczepów w środowisku szpitalnym.

ZDOLNOŚĆ KLINICZNYCH SZCZEPÓW Z GATUNKÓW *ESCHERICHIA COLI* *I ENTEROCOCCUS FAECIUM* DO TWORZENIA BIOFILMU

Oleksy Monika, Dydak Karolina, Junka Adam, Bartoszewicz Marzenna

Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem
Analityki Medycznej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

WSTĘP

Escherichia coli oraz *Enterococcus faecium* to bakterie wchodzące w skład ludzkiego mikrobiomu jelitowego. W określonych warunkach są jednak w stanie wywołać zakażenia oportunistyczne. Jednym z istotnych czynników wirulencji tych bakterii jest zdolność do adhezji i tworzenia biofilmu na powierzchniach organicznych i nieorganicznych. Przyjmując formę biofilmową, drobnoustroje cechują się wysoką tolerancją na środki przeciwdrobnoustrojowe oraz opornością na usunięcie mechaniczne. Dlatego też *E. coli* i *E. faecium* są jednymi z najczęstszych patogenów układu moczowego, szczególnie pacjentów cewnikowanych.

CEL

Celem badania była ocena zdolności klinicznych szczepów *Escherichia coli* i *Enterococcus faecium* do formowania biofilmu na powierzchni 96-dółkowych polistyrenowych płytek titracyjnych.

MATERIAŁ I METODY

Przebadano 56 szczepów z gatunku *E. coli* oraz 122 szczepy z gatunku *E. faecium* izolowanych z materiałów pobranych od pacjentów hematologicznych. Jako metodę badawczą zastosowano spektrofotometryczny pomiar biomasy 24-godzinnego biofilmu, barwionego r-rem fioletu krystalicznego oraz metodą Richard'sa. Na podstawie średniej z sześciu pomiarów dla każdego szczepu oraz wartości krytycznych absorbancji utworzono skalę oceny siły tworzenia biofilmu wyróżniając 4 grupy: szczepy charakteryzujące się niską, umiarkowaną, silną oraz bardzo silną zdolnością do formowania biofilmu.

WYNIKI

W barwieniu fioletem krystalicznym 45% izolatów *E. coli* wykazywało silne lub bardzo silne zdolności do tworzenia biofilmu na polistyrenie. Wśród szczepów *E. faecium* silnie tworzyło biofilm jedynie 7%, żaden ze szczepów nie wykazywał bardzo silnych zdolności do formowania biofilmu a 83% tworzyło biofilm z umiarkowaną siłą. W barwieniu metodą Richards'a 42% szczepów *E. coli* wykazywało silne lub bardzo silne zdolności do tworzenia biofilmu a 45% umiarkowane. W obrębie gatunku *E. faecium* ponad 65% szczepów wykazywało słabe zdolności do tworzenia biofilmu a pozostałe 35% umiarkowane.

WNIOSKI

5. Gram-ujemne pałeczki z gatunku *Escherichia coli* silniej tworzą biofilm na powierzchni polistyrenu niż Gram-dodatnie ziarniaki z gatunku *Enterococcus faecium*.
6. Szczepy z gatunku *Enterococcus faecium* wykazują mniejsze zróżnicowanie zdolności do formowania struktur biofilmowych niż bakterie z gatunku *Escherichia coli*.

Badanie wykonano w ramach grantu badawczego młodych naukowców nr STM.D230.16.038

**PORÓWNANIE SKUTECZNOŚCI PRZECIWDROBNOUSTROJOWEJ
DICHLOROWODORKU OKTENIDYNY
I MLECZANU ETAKRYDYNY WZGLĘDEM BIOFILMU WYTWARZANEGO
PRZEZ METYCYLINOWRAŻLIWE
I METYCYLINOOPORNE SZCZEPY *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

Palczyński Justyna¹, Dydak Karolina¹, Franczak Aleksandra², Junka Adam¹, Bartoszewicz
Marzenna¹

¹Katedra i Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Parazytologii, Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

²Katedra Analizy Medycznej, Zakład Chemii Klinicznej, Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

WSTĘP

Staphylococcus aureus jest głównym czynnikiem etiologicznym zakażeń szpitalnych. Do rozwoju infekcji przyczynia się wysoka zdolność gronkowca złocistego do tworzenia biofilmu, którego złożona struktura warunkuje oporność drobnoustrojów na warunki środowiskowe, utrudnia penetrację komórkom odpornościowym gospodarza oraz hamuje przenikanie środków antybakteryjnych do patogenów. Narastająca oporność drobnoustrojów na antybiotyki stwarza konieczność wprowadzania nowych metod walki z bakteriami. Środki antyseptyczne, ze względu na bezpieczeństwo stosowania, odmienny mechanizm działania oraz niski stopień indukowania oporności, wydają się być skuteczną alternatywą dla antybiotykoterapii miejscowej.

CEL

Celem pracy jest ocena *in vitro* skuteczności przeciwdrobnoustrojowej często stosowanych antyseptyków o odmiennych mechanizmach działania: dichlorowodorku oktenidyny (Octenisept®) i mleczanu etakrydyny (Rivanol®) wobec klinicznych szczepów MRSA i MSSA (ang. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*, odpowiednio) w formie biofilmowej oraz planktonicznej.

MATERIAŁ I METODY

Przebadano 32 szczepy *Staphylococcus aureus* (15 szczepów klinicznych MRSA i szczep wzorcowy MR-3 ATCC33591 oraz 15 szczepów klinicznych MSSA i szczep wzorcowy ATCC6538). Zdolność badanych szczepów do tworzenia biofilmu oceniono metodą z fioletem krystalicznym. Aktywność antyseptyków wobec form planktonicznych *S. aureus* zbadano z wykorzystaniem metody seryjnych mikrorozcieńczeń z użyciem TTC (1% wodny roztwór chlorku 2,3,5-trójfenylo-tetrazoliowym). Wrażliwość biofilmu utworzonego przez *S. aureus* na siatkach chirurgicznych wobec preparatów antyseptycznych oceniono metodą płytkową.

WYNIKI

Szczepy MSSA charakteryzowały się istotnie wyższą zdolnością do tworzenia biofilmu niż szczepy MRSA (M-W test, $p < 0.0001$). Dichlorowodorek oktenidyny cechował się istotnie wyższą aktywnością wobec form biofilmowych oraz planktonicznych gronkowca niż mleczan etakrydyny (M-W test, $p < 0.05$). Wrażliwość szczepów MSSA i MRSA słabo tworzących biofilm na mleczan etakrydyny była wyższa niż szczepów silnie tworzących biofilm. Podobnej zależności dla dichlorowodorku oktenidyny nie zaobserwowano.

III OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA
”Drobnoustroje w świecie człowieka - Drobnoustroje oportunistyczne”
Bydgoszcz, 18-19 czerwca 2018 r.

WNIOSKI

W świetle przedstawionych wyników należy stwierdzić, że dichlorowodorek oktenidyny cechuje się wyższą przydatnością w leczeniu infekcji wywołanych przez *S.aureus* niż mleczan etakrydyny, szczególnie w przypadku silnie rozwiniętych struktur biofilmu gronkowca. Należy wykonać kolejne badania mające na celu określenie prawdopodobnego mechanizmu tego zjawiska.

Badania zrealizowano w ramach grantu ST-904

ZAKAŻENIA STOPY CUKRZYCOWEJ A FLORA JAMY USTNEJ CHOREGO

Rybakowski Mateusz¹, Młodzik Natalia¹, Kutek Marcin¹, Stanulewicz Emilia¹, Rybakowska Weronika¹, Korzon-Burakowska Anna², Jarosiewicz Małgorzata³, Garbacz Katarzyna³

¹Studenckie Koło Naukowe przy Zakładzie Mikrobiologii Jamy Ustnej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

²Zakład Prewencji i Dydaktyki, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

³Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

WSTĘP

Zespół stopy cukrzycowej powstaje w wyniku neuro- i angiopatii cukrzycowej, czynników mechanicznych oraz infekcji. Przewlekła hiperglikemia wywołuje też zmiany miejscowe w obrębie jamy ustnej, które wpływają na dalszy rozwój powikłań ogólnoustrojowych i pogarszają metabolizm glukozy.

Utrzymująca się hiperglikemia może powodować choroby jamy ustnej z uwagi na zmianę mikrobiomu jamy ustnej. Obserwacja zmian flory jamy ustnej może zatem przyczynić się do zmniejszenia ilości powikłań występujących w przebiegu cukrzycy i lepszą kontrolę glikemii.

CEL

Celem pracy było zbadanie mikroflory jamy ustnej chorego na cukrzycę z raną stopy oraz patogenów w ranie w ranie stopy pacjentów z cukrzycą.

MATERIAŁ I METODY

Od 25 chorych pobrano wymazy z jamy ustnej i rany. Wymazy posiewano na podłoża Columbia agar, Chapman, MacConkey i Sabourauda. Wyizolowane gronkowce identyfikowano standardowo, lekooporność oznaczono metodą dyfuzyjno–krążkową na podłożu Mueller-Hinton.

WYNIKI

Staphylococcus aureus stwierdzono w posiewach wymazów z rany u 13 (52%) pacjentów i u 4 (16%) z jamy ustnej. Wyizolowane gronkowce były najczęściej odporne na makrolidy i linkozamidy (52,9%), kolejno na aminoglikozydy (35,3%), tetracykliny (23,5%), kotrimoksazol (17,6%) i ciprofloksacynę (11,8%). Metycylooporne S. aureus (MRSA) stanowiły aż 23,5%, 3 z nich pochodziły z rany, a jeden z jamy ustnej. Drożdżaki (Candida spp.) wyizolowano od 12 (%) pacjentów jedynie z jamy ustnej.

Dane poddano analizie statystycznej testem χ^2 . Wartość współczynnika V-Cramera wyniosła 0,967.

WNIOSKI

Uzyskane wyniki wskazują na istnienie zależności pomiędzy zakażeniem rany gronkowcem w przebiegu stopy cukrzycowej, a obecnością Candida spp. we florze jamy ustnej.

LEKOOPORNOŚĆ I GENY WIRULENCJI SZCZEPÓW *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* WYIZOLOWANYCH Z MUKOWISCYDOZY

Jachowicz E, Buda A, Trojnar S, Parasion S, Kasperski T, Geller J, Pobiega M

Biophage Pharma S.A.

WSTĘP

Pseudomonas aeruginosa (PA) to Gram-ujemna pałeczka, czynnik etiologiczny chorób płuc oraz częsta przyczyna zakażeń szpitalnych, na które szczególnie narażeni są pacjenci z obniżoną odpornością, osoby starsze, wielokrotnie hospitalizowane, pacjenci OIT oraz chorzy na mukowiscydozę (CF – ang. *cystic fibrosis*). U chorych na mukowiscydozę nieprawidłowa sekrecja jonów chlorkowych i nadmierna absorpcja jonów sodu prowadzą do wytwarzania nieprawidłowego, lepkiego oraz gęstego śluzu, który sprzyja wtórnym zakażeniom bakteryjnym. Szczepy PA izolowane są nawet od 20% chorych na CF, a większości wypadków cechują się opornością na liczne antybiotyki, zdolnością tworzenia biofilmu i syntezy alginianu. U osób z CF zakażenie PA pogarsza przebieg choroby podstawowej.

CEL

Celem badania było określenie lekowrażliwości klinicznych izolatów PA oraz sprawdzenie obecności wybranych genów wirulencji. W badaniu przeanalizowano 20 szczepów PA wyizolowanych z płwociny od pacjentów z mukowiscydozą w roku 2014.

MATERIAŁ I METODY

Wykonano badanie lekooporności zgodnie z rekomendacjami EUCAST oraz PCR dla 8 genów: *pilA*, *pilB*, *exoS*, *exoT*, *exoU*, *exoY*, *phzM*, *phzS*, kodujących odpowiednio: białko pili typu IV, syntezę pili typu IV, białka systemu sekrecji typu III (TTSS) oraz białka związane z syntezą piocyjaniny.

WYNIKI

Najwięcej szczepów (n=17, 85%) charakteryzowało się opornością na aztreonam. Zidentyfikowano 4 (20%) szczepy odporne na kolistynę. Szczepów opornych na karbapenemy było 6 (30%). Szczepów MDR było 4 (20%), XDR - 5 (25%), zaś PDR - 2 (10%). Żaden z izolatów nie posiadał genu *pilB*, a nieliczne gen *pilA*. Większość z badanych szczepów posiada gen *exoY* (95%), *exoS* (95%) i *exoT* (100%), natomiast 1 szczep gen *exoU*. Wszystkie przebadane szczepy posiadały geny kodujące syntezę piocyjaniny.

WNIOSKI

Wykazano, że badane szczepy charakteryzowały się zróżnicowaną opornością na antybiotyki oraz zróżnicowaną obecnością genów wirulencji. Większość szczepów produkowała piocyjaninę, która odgrywa rolę w patogenezie chorób związanych z zakażeniem, uszkadzając min. tkankę płuc. Geny białek sekrecyjnych; *exoS* i *exoY* występują powszechnie, zaś gen *exoU* kodujący najbardziej cytotoksyczne z białek sekrecyjnych jest rzadziej spotykany. Szczepy tworzące biofilm i posiadające gen *exoU* są uważane za wysoce wirulentne i mogą powodować problemy terapeutyczne. *P. aeruginosa* posiada zdolność łatwej adaptacji do zmiennego otoczenia, szybko nabywa oporności na antybiotyki i ma zdolność produkcji licznych czynników wirulencji.

OPORNOŚĆ NA METYCYLINĘ KOAGULAZO-UJEMNYCH GRONKOWCÓW WYZOŁOWANYCH Z JAMY USTNEJ

Kwapisz Ewa, Wierzbowska Maria, Garbacz Katarzyna, Krause Mariola
Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Wydział Lekarski, Gdański Uniwersytet Medyczny

WSTĘP

Różne gatunki koagulazo-ujemnych gronkowców mogą przejściowo lub stale kolonizować jamę ustną. Mimo, iż uważane są za niepatogenną florę, zakażenia wywołane przez nie zyskują na znaczeniu, głównie z powodu ich rosnącej oporności na antybiotyki.

CEL

Celem pracy było wyizolowanie i identyfikacja koagulazo-ujemnych gatunków gronkowców (CNS) z jamy ustnej i ocena lekooporności.

MATERIAŁ I METODY

Gronkowce zostały wyizolowane z wymazów z błony śluzowej jamy ustnej od pacjentów z objawami i bez zapalenia błony śluzowej jamy ustnej. Drobnoustroje identyfikowano biochemicznie testem API ID32 STAPH (bioMérieux), dodatkowo z użyciem techniki MALDI-TOF MS. Wrażliwość na antybiotyki wstępnie określono metodą dyfuzyjno-krażkową. Oporność na oksacylinę (MRCNS) potwierdzono testem lateksowym, wykrywając zmodyfikowane białka PBP2a (PBP2' TEST KIT Oxoid).

WYNIKI

Wyizolowano 98 szczepów koagulazo-ujemnych gronkowców należących do 11 różnych gatunków. W tym: *S. warneri* (53,14%), *S. haemolyticus* (11,2%), *S. xylosus* (9,2%), *S. saprophyticus* (8,2%), *S. epidermidis* (7,1%), *S. hominis* (3,1%), *S. pasteurii* (3,1%), *S. kloosii* (2%), *S. auricularis* (1%), *S. equorum* (1%) i *S. simulans* (1%). Metycylinooporne CNS stanowiły 10,2% i były oporne na gentamycynę (80%), erytromycynę (60%) i tetracyklinę (60%). Izolaty wielolekooporne (MDR) stanowiły 17,3% badanej grupy, w tym *S. equorum* (100%), *S. haemolyticus* (54,5%), *S. saprophyticus* (50%) i *S. hominis* (33,3%). Badane szczepy okazały się w większości wrażliwe na ciprofloksacynę (98%) i chloramfenikol (95,9%).

WNIOSKI

Jama ustna może być rezerwuarem metycylinoopornych koagulazo-ujemnych gronkowców cechujących się dodatkowo opornością na aminoglikozydy, tetracykliny i makrolidy.

MIKROBIOLOGICZNE ZANIECZYSZCZENIE POWIETRZA NA TERENIE OCZYSZCZALNI ŚCIEKÓW ORAZ ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ BAKTERII Z RODZAJU *STAPHYLOCOCCUS* SPP.

Małecka-Adamowicz Marta, Kubera Łukasz, Jankowiak Emilia, Donderski Wojciech

Uniwersytet Kazimierza Wielkiego
Wydział Nauk Przyrodniczych, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Zakład Mikrobiologii

WSTĘP

Obiekty oczyszczalni ścieków, mimo swojej nieprzecenionej roli w ochronie środowiska, są również jednymi z podstawowych źródeł emisji bioaerozoli do atmosfery, przez co oddziałują na środowisko i zdrowie człowieka.

CEL

Celem pracy była ocena stopnia mikrobiologicznego zanieczyszczenia powietrza na terenie oczyszczalni ścieków, określonego na podstawie liczebności wybranych grup drobnoustrojów oraz ocena antybiotykooporności wyizolowanych szczepów gronkowców.

MATERIAŁ I METODY

Badania nad liczebnością wybranych grup drobnoustrojów przeprowadzono w cyklu sezonowym, przy użyciu metody zderzeniowej na podłożach testowych, za pomocą próbnika powietrza MAS – 100 (Merck). Próbki pobierane były z 6 stanowisk badawczych zlokalizowanych w miejscach reprezentujących poszczególne etapy oczyszczania ścieków. Lekowrażliwość wyizolowanych gronkowców oceniano metodą dyfuzyjno-krążkową zgodnie z rekomendacjami EUCAST. Identyfikację grzybów pleśniowych określono na podstawie cech makro- i mikroskopowych w oparciu o klucz do oznaczania grzybów.

WYNIKI

Wśród mikrobiota powietrza dominowały grzyby pleśniowe osiągając maksimum liczebności na stanowisku przy osadniku wtórnym radialnym. Bakterie heterotroficzne i gronkowce mannitolu-dodatnie najliczniej występowały w miejscach wstępnego etapu oczyszczania ścieków. Wraz z zaawansowaniem procesów oczyszczania, ścieki emitowały do powietrza atmosferycznego coraz mniejszą ilość mikroorganizmów. Na podstawie antybiogramów stwierdzono, że ponad 50% badanych szczepów *Staphylococcus* spp. wykazywała oporność wobec penicyliny i 20% wobec rifampicyny, natomiast 90% analizowanych szczepów było wrażliwych na pozostałe antybiotyki. Wśród grzybów pleśniowych odnotowano rodzaje: *Cladosporium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Aureobasidium* i *Acremonium*.

WNIOSKI

Największym zanieczyszczeniem powietrza charakteryzowały się stanowiska zlokalizowane w miejscach odpowiedzialnych za część mechaniczną procesu oczyszczania ścieków. Wraz z zaawansowaniem procesów oczyszczania, ścieki emitowały do powietrza atmosferycznego coraz mniejszą ilość bakterii heterotroficznych. Na terenie oczyszczalni ścieków nie stwierdzono rozprzestrzeniania się szczepów gronkowców wielolekoopomych.

OCENA WRAŻLIWOŚCI WIELOLEKOOPORNYCH SZCZEPÓW *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* NA POŁĄCZENIE CEFTAZYDYMU Z AVIBAKTAMEM

Kryszak Maria, Sękowska Alicja, Gospodarek-Komkowska Eugenia

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet
Mikołaja Kopernika w Toruniu

WSTĘP

W ostatnich latach wzrasta częstość izolacji wielolekoopornych (multidrug resistant, MDR) szczepów *Klebsiella pneumoniae*, stąd poszukiwania nowych leków lub skojarzeń znanych antybiotyków z nowymi. Jedną z takich możliwości jest połączenie ceftazydymu z avibaktamem (C/A). Avibaktam jest nowym, nie-beta-laktamowym inhibitorem beta-laktamaz, który tworzy kompleks z cząsteczką enzymu. Kompleks ten jest stabilny i oporny na hydrolizę. Połączenie to jest aktywne wobec szczepów MDR, w tym wytwarzających enzymy klasy A i C wg klasyfikacji Amblera. Nie jest natomiast aktywne wobec szczepów wytwarzających enzymy klasy B i w większości klasy D. Połączenie C/A może być stosowane w szpitalnych zapaleniach płuc (w tym respiratorowym), powikłanych zakażeniach w obrębie jamy brzusznej, czy powikłanych zakażeniach układu moczowego.

CEL

Celem pracy była ocena wrażliwości szczepów *K. pneumoniae* MDR i PDR (pan-drug resistant) na połączenie ceftazydymu z avibaktamem.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 46 szczepów *K. pneumoniae* izolowanych z próbek materiału klinicznego. Szczepy PDR stanowiły 43,5% badanych szczepów i w większości były wrażliwe tylko na kolistynę. Szczepy do badań pochodziły z kolonizacji (12 szczepów) i z zakażenia (34 szczepy). Dla każdego szczepu z obniżoną wrażliwością lub opornego na karbapenemy wykonano test Carba NP wykrywający szczepy wytwarzające karbapenemazy. Do dalszych badań wybrano tylko szczepy z ujemnym wynikiem w teście Carba NP. Dla każdego szczepu oznaczono wartość najmniejszego stężenia (minimal inhibitory concentration, MIC) ceftazydymu z avibaktamem hamującego wzrost bakterii metodą Etestu (Liofilchem).

WYNIKI

Wszystkie badane szczepy *K. pneumoniae* były wrażliwe na połączenie ceftazydymu z avibaktamem. Wartość MIC C/A dla szczepów izolowanych z kolonizacji wynosiła od 0,125µg/ml do 2µg/ml; a dla szczepów izolowanych z zakażeń od 0,094µg/ml do 4µg/ml. Wartość MIC₅₀ ceftazydymu z avibaktamem wyniosła 0,5µg/ml; a MIC₉₀ – 1,0µg/ml.

WNIOSKI

1. Połączenie ceftazydymu z avibaktamem może stanowić skuteczną opcję terapeutyczną w leczeniu zakażeń szczepami *K. pneumoniae* MDR i PDR.

**OCENA PRZYDATNOŚCI WYBRANYCH TESTÓW W WYKRYWANIU
SZCZEPÓW *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* WYTWARZAJĄCYCH METALO-
BETA-LAKTAMAZY**

Majerz Dawid, Sękowska Alicja, Gospodarek-Komkowska Eugenia

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet
Mikołaja Kopernika w Toruniu

WSTĘP

Wielolekooporne (muldrug resistant, MDR) szczepy *Klebsiella pneumoniae*, stanowią jeden z najważniejszych problemów diagnostycznych, klinicznych i epidemiologicznych współczesnej medycyny. Bakterie te w łatwy sposób nabywają geny warunkujące oporność na antybiotyki i coraz częściej wytwarzają więcej niż jeden mechanizm oporności. Z uwagi na niskie wymagania odżywcze mogą długi okres przetrwać w środowisku szpitalnym i stanowić potencjalne źródło późniejszego zakażenia. Nie bez znaczenia jest również częsta kolonizacja przewodu pokarmowego szczepami o takim fenotypie szczególnie u pacjentów leczonych w szpitalu. Aktualnie za najbardziej niebezpieczne uważane są szczepy wytwarzające enzymy NDM-1, z uwagi na wysoki potencjał chorobotwórczy, ograniczone opcje terapeutyczne i wysoką śmiertelność.

CEL

Celem pracy była ocena przydatności różnych metod w wykrywaniu szczepów wytwarzających karbapenemazy.

MATERIAŁ I METODY

Badaniem objęto 16 szczepów *K. pneumoniae* izolowanych z próbek materiału klinicznego od 9 pacjentów oraz 3 szczepy uzyskane w ramach różnych kontroli zewnątrzlaboratoryjnych. Szczepy kliniczne pochodziły z kolonizacji i z zakażenia. Spośród 9 pacjentów, 3 było skolonizowanych, 2 zakażonych, a u 4 szczepy izolowano z kolonizacji i z zakażenia. Szczepy hodowane z zakażeń izolowano z krwi, moczu i wymazów z rany. Jako metody badawcze zastosowano posiew na podłożu chromogennym ChromAgar CRE (bioMérieux), test krążkowy z EDTA, test czterech krążków (Liofilchem), test Carba NP i test eazyplex® SuperBug CRE (Amplex Diagnostics GmbH, Argenta).

WYNIKI

U wszystkich badanych szczepów, każdą z zastosowanych metod, wykryto zdolność do wytwarzania metalo-beta-laktamaz.

WNIOSKI

Wszystkie zastosowane metody pozwoliły wykryć szczepy wytwarzające karbapenemazy, ale test eazyplex® SuperBug CRE charakteryzuje szybkość (20 minut) wykonania oraz możliwość identyfikacji wytwarzanego enzymu.

ENTEROCOCCUS SPP. - BAKTERIE OPORTUNISTYCZNE

Szczesna Iwona, Gospodarek-Komkowska Eugenia

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet
Mikołaja Kopernika w Toruniu

Bakterie z rodzaju *Enterococcus* są składnikiem mikrobioty przewodu pokarmowego, występują w jamie ustnej, cewce moczowej, pochwie oraz na powierzchni skóry. Izolowane są również z wody, gleby, powierzchni roślin oraz produktów spożywczych. Mimo to, zaliczane są do bakterii warunkowo chorobotwórczych. Wywołują zakażenia egzo- i endogenne o różnej lokalizacji, sprawiające trudności terapeutyczne w wyniku narastającej lekooporności.

Gatunkami najczęściej izolowanymi z przypadków zakażeń są *E. faecalis* i *E. faecium*, rzadziej *E. gallinarum* i *E. casseliflavus*. Uważane były za drobnoustroje o niskiej zjadliwości, jednak ich potencjał chorobotwórczy wzrasta. Aktualnie rozpoznano u tych bakterii szereg czynników wirulencji oraz mogą nabywać mechanizmy oporności na związki przeciwbakteryjne. W ostatnich latach stały się drugim co do częstości czynnikiem etiologicznym zakażeń ran i układu moczowego, a trzecim - bakteriami. Stanowią jeden z najczęstszych patogenów izolowanych z zakażeń związanych z opieką szpitalną na oddziałach intensywnej terapii. Czynnikiem sprzyjającym zakażeniom o etiologii *Enterococcus* spp. są: inwazyjne zabiegi medyczne, upośledzenie układu immunologicznego pacjenta, długotrwała hospitalizacja, kontakt z nosicielami lub chorymi zakażonymi *Enterococcus* spp. opornymi na glikopeptydy.

Według raportu ECDC wśród *E. faecalis* obniża się odsetek szczepów opornych na wysokie stężenia aminoglikozydów (HLAR, ang. High Level Aminoglycoside Resistance), a odsetek szczepów opornych na glikopeptydy (VRE, ang. Vancomycin Resistant Enterococci) pozostaje na niskim poziomie. Odmienne jest w przypadku *E. faecium* - wzrasta odsetek szczepów HLAR oraz VRE. W 2009 roku w Polsce odsetek *E. faecium* VRE wynosił od 1 do 5%, w 2013 - 10-25%, obecnie wynosi 25-50%.

Szczepy *Enterococcus* spp. izolowane z zakażeń, zwłaszcza *E. faecium* oporne na glikopeptydy, stanowią duży problem terapeutyczny i epidemiologiczny w Polsce. Ważna jest kontrola rozprzestrzeniania się zakażeń wywoływanych przez szczepy *Enterococcus* spp., ponieważ mogą mieć charakter epidemiczny. Szczególne znaczenie w ograniczaniu zakażeń szpitalnych ma zachowanie zasad reżimu sanitarnego przez personel medyczny.