

RZADKIE CZYNNIKI ETIOLOGICZNE ZAPALENIA WSIEDZIA

Łopaciuk Urszula

Zakład Mikrobiologii i Monitorowania Zakażeń Szpitalnych

Instytut Kardiologii im. Prymasa Tysiąclecia Stefana kardynała Wyszyńskiego w Warszawie

Infekcyjne zapalenie wsierdzia jest chorobą występującą rzadko, jej częstość występowania szacuje się na 3-7 osób na 100 tys osobolat. IZW jednakże obarczone jest stosunkowo wysoką śmiertelnością i uznawane za trzecią lub czwartą co do częstości zagrażających życiu chorób po sepsie, zapaleniu płuc i zakażeniach wewnątrzbrzusznych. W epidemiologii zapalenia wsierdzia w czasie ostatnich lat zanotowano zmiany zarówno wśród czynników etiologicznych jak i wśród populacji szczególnego ryzyka rozwoju choroby. Za najczęstszą przyczynę IZW uznaje się obecnie *Staphylococcus aureus*, a jest to związane z wzrastającą rolą kontaktu z opieką medyczną jako czynnika ryzyka wystąpienia zapalenia wsierdzia. Postęp w klasycznej diagnostyce mikrobiologicznej, dostępność metod molekularnych i rozwój innych technik badawczych daje możliwość wykrywania coraz większej drobnoustrojów jak bakterie z grupy HACEK, *Coxiella*, *Bartonella*, *Tropheryma* i inne. Obserwowany jest wzrost średniego wieku chorych na IZW, wzrost liczby chorych ze sztucznymi zastawkami i wszczepialnymi urządzeniami wewnątrzsercowymi oraz chorych z koniecznością utrzymania dostępu naczyniowego. Wprawdzie obecnie coraz częściej w terapii zapalenia wsierdzia konieczne jest leczenie chirurgiczne, jednak z uwagi na infekcyjną przyczynę choroby podstawową i konieczną w każdym przypadku metodą leczenia jest antybiotykoterapia. Ustalenie czynnika etiologicznego ułatwia dobór leków przeciwbakteryjnych i poprawia skuteczność leczenia

GRUŹLICA- WSPÓLCZESNE OBLCZE CHOROBY

Krawiecka Dorota

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej, Kujawsko-Pomorskie Centrum Pulmonologii w Bydgoszczy

W 2015 roku powstała, już czwarta od 2000 roku, strategia WHO zmierzająca do wyeliminowania gruźlicy jako problemu zdrowia publicznego na świecie. Celem wyznaczonym krajom świata przez WHO jest zmniejszenie do 2035 roku o 95% liczby zgonów z gruźlicy i o 90% zapadalności na gruźlicę, w porównaniu z rokiem 2015.

Wg danych WHO i ECDC w 2016 roku na świecie zachorowało na gruźlicę 10,4 mln osób, w tym 1 mln dzieci do lat 14. Ponad połowa chorych to mieszkańcy Indii, Indonezji, Chin, Filipin i Pakistanu. Średnia zapadalność wyniosła w 2016 roku 140 i zawierała się w przedziale od 500 (Korea Północna, Mozambik, RPA) do 1,8 (Islandia) na 100 000 mieszkańców. Nie ma obecnie na świecie kraju wolnego od gruźlicy. Zapadalność w UE/EOG wynosiła średnio 11/100 000 ludności. Zachorowało 58 994 osoby, blisko połowa chorych mieszka w Polsce, Rumunii i Wielkiej Brytanii.

Do najważniejszych przyczyn utrudniających zwalczanie gruźlicy zaliczane jest zakażenie HIV, które dotyczy 10% chorych (74% to mieszkańcy Afryki). Inne czynniki zwiększające ryzyko zachorowania to palenie papierosów, niedożywienie i cukrzyca. Ogromne zagrożenie stanowi gruźlica wielolekooporna (MDR-TB), wywołana przez prątki odporne na INH i RMP. Na tę postać gruźlicy zachorowało w 2016 roku 490 000 osób. Część chorych na MDR-TB ma gruźlicę z rozszerzoną opornością (XDR-TB). Wyniki leczenia chorych na MDR-TB są złe. Z powodu gruźlicy w 2016 roku zmarło 1,7 mln chorych.

Trwają intensywne prace nad nowymi, skutecznymi wobec MDR-TB lekami, wprowadzono do terapii dwa nowe leki delamanid i badequilinę. Poszukiwane są również wiarygodne, proste, szybkie i tanie testy do diagnozowania gruźlicy oraz szczepionki, których zadaniem jest ochrona osób w każdym wieku przed zakażeniem lub zachorowaniem. Obecnie stosowana szczepionka BCG zapobiega tylko ciężkim postaciom TB u dzieci.

OPORTUNISTYCZNE BAKTERIE GRAM-DODATNIE W ZAKAŻENIACH INWAZYJNYCH

Mikućka Agnieszka

Katedra i Zakład Mikrobiologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu
Mikołaja Kopernika w Toruniu

Zakażenia z udziałem drobnoustrojów oportunistycznych należą do trudnych w interpretacji, ze względu na występowanie tych bakterii fizjologicznie na skórze i błonach śluzowych człowieka oraz w środowisku.

W zakażeniach inwazyjnych, dotyczących tkanek fizjologicznie jałowych, co najmniej dwukrotna izolacja tego samego szczepu, może wskazywać na zakażenie. W przypadku pojedynczych izolacji do podjęcia decyzji o udziale drobnoustroju oportunistycznego w zakażeniu konieczna jest współpraca mikrobiologa i klinicysty, ponieważ wynik badania mikrobiologicznego jest rodzajem konsultacji medycznej i nie powinien być rozpatrywany w oderwaniu od stanu klinicznego pacjenta.

Udział w zakażeniach bakterii z rodzaju *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus* i *Streptococcus* grupy *viridans* nadal sprawia wiele trudności w interpretacji, ale też identyfikacji i ocenie lekowrażliwości. Związane jest to z brakiem w większości baz danych systemów do identyfikacji, wszystkich gatunków wymienionych drobnoustrojów. Natomiast *Bacillus* spp. i *Lactobacillus* spp. nie są uwzględnione w rekomendacjach EUCAST.

W ramach wykładu zostaną omówione przypadki zakażeń z udziałem bakterii z rodzaju *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Lactobacillus* i *Streptococcus* grupy *viridans* wraz z przeglądem piśmiennictwa na temat udziału tych drobnoustrojów w zakażeniach.

CLOSTRIDIUM DIFFICILE – ASPEKTY MIKROBIOLOGICZNE I KLINICZNE ZAKAŻEŃ

Juszczuk Klaudia, Mikucka Agnieszka

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

Clostridium difficile to Gram-dodatnie, beztlenowe laseczki wytwarzające spory. Są czynnikiem etiologicznym biegunki poantybiotykowej, zapalenia jelit związanego z antybiotykoterapią oraz rzekomobłoniastego zapalenia okrężnicy. W ostatniej dekadzie stwierdzono 4-krotny wzrost występowania zakażeń o etiologii *C. difficile* (*Clostridium difficile* Infection, CDI), a także zwiększenie chorobowości i ciężkości choroby oraz wzrost śmiertelności w następstwie CDI, co ma związek z pojawieniem się szczepów o podwyższonym potencjale toksynotwórczym.

Celem przeprowadzonych badań była ocena algorytmów diagnostyki zakażeń *C. difficile* proponowanych przez American Society of Microbiology, ocena wytwarzania toksyn A, B i binarnej przez badane szczepy *C. difficile*, ocena wartości minimalnych stężeń metronidazolu, wankomycyny i moksifloksacyny hamujących wzrost bakterii (Minimal Inhibitory Concentration, MIC), analiza czynników ryzyka występowania zakażenia *C. difficile* oraz ocena podobieństwa szczepów *C. difficile* na podstawie ich profili białkowych.

Materiał do badań stanowiło 100 szczepów *C. difficile* izolowanych w latach 2015-2017 z próbek kału pobranych od chorych z biegunką poantybiotykową o tej etiologii, hospitalizowanych w Szpitalu Uniwersyteckim nr 1 im. dr Antoniego Jurasza w Bydgoszczy.

Obecność antygeny dehydrogenazy i toksyn *C. difficile* w kale i/lub hodowli wykryto przy użyciu metod klasycznych (kasetkowe testy immunochromatograficzne, Techlab) i molekularnych: techniką amplifikacji kwasów nukleinowych w warunkach izotermicznych z detekcją zmętnienia w systemie Illumigene (Meridian Bioscience) oraz w czasie rzeczywistym (real-time PCR) przy użyciu aparatu Genie II (Amplex). Wartości MIC, w tym MIC50 i MIC90 metronidazolu, wankomycyny i moksifloksacyny ocenioną metodą Etestu (bioMérieux). Analizowano także czynniki ryzyka CDI oraz oceniono podobieństwo profili białkowych szczepów przy użyciu spektrometrii mas z desorpcją/ionizacją laserową wspomaganą użyciem matrycy i z analizą czasu przelotu (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation Time-of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS) w aparacie MALDI Biotyper (Bruker).

1. Większość badanych szczepów była toksynotwórcza, w tym 27% wytwarzało jednocześnie toksyny A, B i binarną. Niewielki odsetek stanowiły szczepy wytwarzające jedną z badanych toksyn, tj. A (1,0%) lub B (5%). Natomiast nie wykryto szczepu, który wytwarzałby tylko toksynę binarną.
2. Real-time PCR z użyciem testu eazyplex *C.diff* complete jest wiarygodną, szybką i łatwą metodą diagnostyki zakażeń *C. difficile*, o wyższej czułości i swoistości niż metoda klasyczna.
3. Większość badanych szczepów była wrażliwa na metronidazol i wankomycynę. Uzyskano znacznie niższą wartość MIC90 dla wankomycyny w porównaniu do metronidazolu.
4. Wartość MIC moksifloksacyny charakterystyczną dla szczepów *C. difficile* o podwyższonym potencjale epidemicznym stwierdzono u ponad 20% badanych szczepów.
5. Wśród chorych, od których izolowano badane szczepy *C. difficile* najważniejszymi czynnikami ryzyka rozwoju zakażenia o tej etiologii były farmakoterapia (w tym antybiotykoterapia) oraz choroby współistniejące.
6. Ocena podobieństwa profili białkowych szczepów wykazała duże zróżnicowanie i brak utrzymywania się jednego klonu wśród izolowanych szczepów *C. difficile* w okresie kiedy je izolowano

**ALTERNATYWNE OPCJE OGRANICZANIA ROZPRZESTRZENIANIA SIĘ
CLOSTRIDIUM DIFFICILE NA ODDZIAŁACH SZPITALNYCH**

Szufnarowski Krzysztof Dawid

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny we Wrocławiu, Ośrodek Badawczo-Rozwojowy

Wojewódzki Szpital Specjalistyczny w Legnicy

Występowanie zakażeń, szczególnie o charakterze epidemicznym jest związane conajmniej z 3 aspektami - podatnością pacjenta, zjadliwością bakterii, infrastrukturą, na którą składa się otoczenie wraz z jego organizacją. Dotyczy to również zakażeń i epidemii szpitalnych wywołanych przez *Cl.difficile*. Infekcje te stanowią olbrzymi problem w Polsce. Wg danych publikowanych przez Państwową Inspekcję Sanitarną, najwięcej ognisk epidemicznych w szpitalach jest wywołanych przez te bakterie. Zagadnienia związane z leczeniem i higieną szpitalną są dobrze opracowane w różnych rekomendacjach, w tym również rodzimych. Problemem są zakażenia nawrotowe, szczególnie w szpitalach które pełnią funkcje głównego ośrodka świadczącego usługi medyczne w regionie. Wpływają one również na upowszechnienie nosicielstwa w populacji mieszkańców, którzy z racji wieku i innych schorzeń towarzyszących są wielokrotnie hospitalizowani. Powoduje to stałe utrzymywanie się czynnika etiologicznego w szpitalu, możliwość jego krążenia i odtwarzania w tym środowisku. Metody, które są jeszcze zbyt rzadko stosowane w celu rozwiązania powyższego problemu (w praktyce szpitalnej), to leczenie nawrotów przeszczepami mikrobioty jelitowej oraz powierzchnie dotykowe wykonane ze stopów miedzi, wspomagające higienę szpitalną. Doświadczenia, które zostały już ujęte w wielu rekomendacjach, pokazują znaczne zmniejszenie liczny nawrotów biegunek po zastosowaniu metody leczenia przeszczepami mikrobioty. Bakteriobójczy wpływ miedzi na mikroorganizmy, został wykazany w licznych pracach doświadczalnych (w tym na *Cl. difficile*), jak i praktycznych, wykazujących zmniejszenie liczby drobnoustrojów izolowanych z powierzchni dotykowych w szpitalach, jak również obniżenie liczby zakażeń. Należy również podkreślić niebagatelną rolę w zapobieganiu odpowiedniej diety z wykluczeniem mleka i jego przetworów, cukrów oraz ograniczeniem spożycia glutenu.

CHARAKTERYSTYKA SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI* IZOLOWANYCH Z ZAKAŻEŃ OD NOWORODKÓW I KOBIET CIĘŻARNYCH

Nowak-Malczewska Dorota M.^{1,2}, Gafka Katarzyna¹, Ratajczak Magdalena¹, Gajęcka Marzena^{1,2}

¹Katedra i Zakład Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

²Instytut Genetyki Człowieka, Polska Akademia Nauk

Flora mikrobiologiczna człowieka kształtuje się od pierwszych dni jego życia. Noworodki urodzone naturalnie ulegają kolonizacji drobnoustrojami obecnymi na błonach śluzowych dróg rodnych i skórze matki. Natomiast noworodki urodzone drogą cesarskiego cięcia lub z innych przyczyn przebywające na oddziale intensywnej terapii są kolonizowane przez mikroorganizmy obecne w środowisku szpitalnym. Takie szczepy często charakteryzuje wysoka zjadliwość i oporność na liczne leki przeciwdrobnoustrojowe. Dodatkowo noworodki obarczone czynnikami ryzyka takimi jak: wcześniactwo, niska masa urodzeniowa czy opóźdzona odporność są najbardziej narażone na wystąpienie zakażeń inwazyjnych.

Pałeczki *Escherichia coli* są zaliczane zaraz po paciorkowcach typu B, do najczęstszych czynników etiologicznych powodujących zakażenia inwazyjne noworodków. Wśród szczepów *E. coli* powodujących inwazyjne zakażenia obserwuje się zróżnicowanie fenotypów i objawów klinicznych jako następstwo różnorodności w genomie tego gatunku. Z wirulencją szczepów *E. coli* wiążą się liczne czynniki zjadliwości zaangażowane w adhezję i inwazję komórek gospodarza.

W naszych badaniach analizowaliśmy geny *sat*, *vat* i *tcpC* u szczepów *E. coli*, wyizolowanych z materiału pobranego od noworodków z potwierdzonym wystąpieniem zakażenia inwazyjnego o tej samej etiologii oraz od kobiet w ciąży.

Uzyskane wyniki potwierdzają, że kolonizacja dróg rodnych kobiety ciężarnej przez patogenne szczepy *E. coli* ma zasadniczy wpływ na ryzyko wystąpienia zakażeń inwazyjnych noworodków o tej samej etiologii. Dodatkowo wysoka częstość występowania genu *vat* u szczepów badanych pochodzących od noworodków sugeruje, że ma on znaczenie w patogenezie zakażeń inwazyjnych.

Podsumowując, obecność w genomie *E. coli* genów *vat*, *sat* oraz *tcpC* może wpływać na wysoką zjadliwość *E. coli* i odgrywać znaczącą rolę w zakażeniach inwazyjnych noworodków o tej samej etiologii.

CANDIDA AURIS – TRUDNOŚCI DIAGNOSTYCZNE I TERAPEUTYCZNE

Prażyńska Małgorzata

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

Inwazyjne zakażenia grzybicze to typowe zakażenia oportunistyczne. Według danych epidemiologicznych wynoszą 5-10% zakażeń szpitalnych. Największą liczbę zakażeń grzybiczych wywołują grzyby rodzaju *Candida* – 60-90% – w zależności od oddziału, na drugim miejscu znajdują się grzyby rodzaju *Aspergillus* - 2-25%. Najczęstszą przyczyną kandydozy jest wciąż gatunek *C. albicans*, jednak w ciągu ostatnich lat odnotowywany jest wzrost liczby kandydoz o odmiennej etiologii. Obecnie 35-60% tych zakażeń powodowane jest przez gatunki takie jak: *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, i in. Gatunki non-*albicans* *Candida* stanowią heterogenną grupę, zróżnicowaną zarówno pod względem wirulencji, jak i lekowrażliwości.

Stosunkowo niedawno poznanym gatunkiem, budzącym szerokie zainteresowanie mikrobiologów oraz klinicystów, jest *C. auris*. Nazwa gatunkowa pochodzi od łacińskiego *auris* – ucho, bowiem pierwsze zidentyfikowane izolaty pochodziły od pacjentów z zakażeniem ucha zewnętrznego. Gatunek *C. auris* zidentyfikowano po raz pierwszy w Japonii, w 2009 roku. Od tamtego czasu szczepy *C. auris* izolowano w kilkunastu krajach, na wszystkich kontynentach, z przypadków zakażeń ucha, ran, oraz krwi. Szczególne zainteresowanie nowym gatunkiem powoduje fakt posiadanych przez niego cech, wcześniej niespotykanych u gatunków *Candida* spp. Szczepy *C. auris* często są lekooporne, a nawet wielolekooporne. Dlatego podstawą skutecznej terapii jest leczenie oparte na wyniku antybiogramu. Niestety wyniki oznaczania lekowrażliwości metodami wystandaryzowanymi dla *Candida* spp. dają rozbieżne wyniki. Kolejny problem diagnostyczny stanowi prawidłowa identyfikacja gatunkowa, która obecnie możliwa jest tylko przy zastosowaniu spektrometrii mas oraz metod molekularnych, do których dostęp w laboratoriach diagnostycznych jest wciąż ograniczony. Ponadto, szczepy *C. auris* cechuje łatwość rozprzestrzeniania się w środowisku.

Ze względu na trudności diagnostyczne, szczepy *C. auris* mogą być niewłaściwie identyfikowane, a liczba zakażeń o tej etiologii może być niedoszacowana. Podejmowane są liczne badania zmierzające do lepszego scharakteryzowania tego nowego patogenu oraz określenia potencjalnych zagrożeń epidemicznych.