

ROLA BAKTERII JELITOWYCH W OSTRYM, MARTWICZYM ZAPALENIU TRZUSTKI

Strus Magdalena

Zakład Bakteriologii, Ekologii Drobnoustrojów i Parazytologii, Katedra Mikrobiologii Collegium Medicum
Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie

Martwicze zapalenie trzustki to agresywna postać ostrego zapalenia trzustki (OZT), które u 50% pacjentów prowadzi do rozwoju sepsy, krwawienia z przewodu pokarmowego, wystąpienia objawów zespołu ostrej niewydolności oddechowej i niewydolności wielonarządowej, a w konsekwencji do śmierci chorego. W oparciu o bieżące dane epidemiologiczne obserwuje się wyraźny wzrost postaci OZT i to nie tylko w Polsce, ale również w Wielkiej Brytanii czy USA. Jakie są znane przyczyny prowadzące do rozwoju OZT, a w konsekwencji martwicy trzustki? Najczęściej wymienia się nadużywanie alkoholu, leków immunosupresyjnych, stresujący tryb życia, nieprawidłowe nawyki żywieniowe, choroby pęcherzyka żółciowego i dróg żółciowych, uraz jamy brzusznej, nadczynność przytarczyc. O ile znane są czynniki predysponujące do rozwoju OZT, to nie sprecyzowano dotąd czynników przyczyniających się do rozwoju postaci martwiczej. Coraz częściej naukowcy podkreślają istotną rolę mikroflory (mikrobioty) jelitowej w rozwinięciu się postaci ciężkiego OZT z martwicą. Bakterie te mogą przemieścić się do światła przewodu trzustkowego i tkanek trzustki z dwunastnicy poprzez zarzucanie skażonej żółci lub też na drodze translokacji mikroflory jelit przy osłabieniu integralności ściany jelita. Co więcej toksyny i metabolity bakteryjne mogą przenikać do otoczenia bez bezpośredniej migracji bakterii do trzustki i tkanek okołotrzustkowych. Rozwój martwicy trzustki nie ma specyficznych markerów biochemicznych, ale manifestuje się najczęściej pogorszeniem stanu miejscowego i narastaniem markerów zapalenia. Na tym etapie włącza się z reguły leczenie antybiotykowe w celu ograniczenia szybkiego rozprzestrzeniania się zakażenia tkanki martwiczej. Niestety proces pozyskiwania materiałów klinicznych do wykonania posiewu mikrobiologicznego od pacjentów z ciężką postacią OZT jest bardzo trudny, każda bezpośrednia ingerencja w chory narząd może jeszcze bardziej przyspieszyć postęp martwicy trzustki lub prowadzić do zakażenia jałowej do tej pory martwicy. Dlatego próbki do badań mikrobiologicznych pobierane są głównie w trakcie wykonywania biopsji cienkoigłowej, chirurgicznego usuwania tkanki martwiczej, a także z drenów, przetok, z krwi.

BAKTEROCYNY BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ
– KIERUNKI PRAKTYCZNEGO WYKORZYSTANIA

Sip Anna

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Bakteriocyny są białkowymi metabolitami wielu szczepów bakterii. Wśród producentów bakteriocyn ważną grupę stanowią bakterie fermentacji mlekowej (LAB). Bakteriocyny LAB wykazują silną aktywność antagonistyczną w stosunku do wielu szczepów bakterii chorobotwórczych. Ze względu na takie działanie przez długi czas utożsamiano je z antybiotykami. Zakres aktywności bakteriocyn jest jednak dużo węższy niż antybiotyków. Obejmuje on najczęściej jedynie kilka grup bakterii, zwykle blisko spokrewnionych wytwarzającymi je szczepami. Bakteriocyny, w odróżnieniu od antybiotyków, są też całkowicie bezpieczne dla organizmu człowieka (niecytotoksyczne i niekancerogenne). Z uwagi na białkową naturę są inaktywowane w przewodzie pokarmowym. Dlatego też nie zakłócają równowagi mikrosystemu jelitowego. Nie akumulują się też w środowisku naturalnym, a co za tym idzie, nie są źródłem jego zanieczyszczeń. Dodatkowo wiele bakteriocyn, zwłaszcza tych o najsilniejszym działaniu bakteriobójczym w stosunku do bakterii chorobotwórczych, jest nieaktywnych wobec bakterii wykorzystywanych do produkcji żywności fermentowanej i probiotycznej. Poza tym bakteriocyny są pozbawione smaku, zapachu i aromatu. Są stabilne w środowisku o zróżnicowanym odczynie oraz cechują się wysoką ciepłoodpornością. Efektywnie działają w niewielkich stężeniach (nawet pikomolowych). Stosunkowo łatwo jest je też wytworzyć na skalę przemysłową. Za sprawą tych właściwości coraz częściej związki te są wykorzystywane do utrwalania produktów żywnościowych. Spośród wielu bakteriocyn LAB jako konserwanty żywności jak dotąd zostały zaakceptowane cztery bakteriocyny - nizyna A, nizyna Z, pedicyna PA-1 i sakacyna P. Wiele innych bakteriocyn, przede wszystkim o działaniu listeriobójczym, czeka już jednak na legalizację. W przemyśle spożywczym powszechnie są też stosowane kultury starterowe złożone z bakteriocynogennych LAB. Bardzo zaawansowane są również badania nad wykorzystywaniem bakteriocyn do tworzenia opako wań aktywnych i biodegradowalnych środków dezynfekcyjnych. Związki te są także przedmiotem zainteresowania przemysłu paszowego. Duże nadzieje wiąże się z ich użyciem jako dodatków paszowych. Ja dotąd najlepiej udokumentowana jest możliwość stosowania bakteriocyn zamiast zakazanych antybiotykowych stymulatorów wzrostu. Poza tym bakteriocyny aktywne w stosunku do *S. aureus* i *S. agalacitae* 60 dobrze sprawdzają się jako składniki maści i preparatów przeznaczonych do leczenia mastitis. Bakteriocyny LAB wydają się też być dobrym narzędziem walki z antybiotykoodpornymi szczepami. W wielu badaniach potwierdzono ich aktywność w stosunku do MDR szczepów, zarówno planktonicznych, jak i tworzących biofilmy. W związku z tym podejmowane są próby opracowywania na bazie bakteriocyn nowych leków będących alternatywą dla antybiotyków. Bakteriocyny są ponadto testowane w leczeniu infekcji skórnych i systemowych. Aktywność przeciwdrobnoustrojowa bakteriocyn jest także wykorzystywana w przemyśle kosmetycznym. Związki te są dodawane do środków myjących, płynów do higieny jamy ustnej oraz past do

III OGÓLNOPOLSKA KONFERENCJA

”Drobnoustroje w świecie człowieka - Drobnoustroje oportunistyczne”

Bydgoszcz, 18-19 czerwca 2018 r.

zębów. Są one również potencjalnymi składnikami preparatów do higieny intymnej i środków antykoncepcyjnych. W ostatnich latach zainteresowanie sektora medycznego i farmaceutycznego budzi jednak nie tylko aktywność przeciwdrobnoustrojowa bakteriocyn, ale także przeciwwirusowa i przeciwnowotworowa. Taka aktywność bakteriocyn otwiera przed nimi kolejne interesujące możliwości aplikacyjne. Pełne wykorzystanie potencjału bakteriocyn, zwłaszcza jako składników biofarmaceutyków nowej generacji, wymaga jednak prowadzenia dalszych badań. Badania te powinny koncentrować się zarówno na opracowywaniu postaci w jakiej te związki mają być dozowane, jaki i testowaniu ich działania w warunkach *in-vivo*. Poza tym potrzebne są nadal nowe bakteriocyny o jeszcze większej specyficzności działania i stabilności. Duże możliwości w tym zakresie daje wykorzystanie technik inżynierii genetycznej.

BAKTERIOCYNINY - POTENCJALNY CZYNNIK WSPOMAGAJĄCY LECZENIE NOWOTWORÓW

Olejniki-Schmidt Agnieszka

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Bakteriocyny są niskocząsteczkowymi białkami o aktywności przeciwbakteryjnej. Na podstawie cech strukturalnych wyróżniono cztery klasy bakteriocyn. Bakteriocyny produkowane przez bakterie kwasu mlekowego są spożywane przez człowieka wraz z żywnością fermentowaną (kiszonki warzywne i przetwory mleczne) od tysięcy lat. Obecnie są powszechnie stosowane, jako naturalne czynniki utrwalające żywność a ich zastosowanie może zostać rozszerzone do aplikacji klinicznych np. w terapii zakażeń antybiotykoopornymi bakteriami. Inne potencjalnie korzystne aktywności tych białek testuje się w zakresie modulowania składu mikrobiota, oraz jako czynników antywirusowych i przeciwnowotworowych.

Diwercyna AS7, będąca obiektem prezentowanych badań, przynależy do klasy IIa bakteriocyn. Jest produkowana przez szczep *Carnobacterium divergens* AS7 i ma szczególnie wysoką aktywność bakteriodobłącząco względem ludzkiego patogenu *L.monocytogenes*. Bakteriocyna ta może mieć zastosowanie poza obszarem bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności i pasz. Prezentowane badania dotyczą poszukiwania biologicznych aktywności diwercyny AS7 względem komórek eukariotycznych.

Wpływ diwercyny AS7 na ludzkie enterocyty został przetestowany na modelu *in vitro* zróżnicowanych komórek linii Caco-2 (integralność komórek, cytotoksyczność i apoptoza). Natomiast oddziaływanie tej bakteriocyny na ludzkie białka zostało przeanalizowane w drożdżowym systemie dwu-hybrydowym (*S.cerevisiae* MaV203).

Diwercyna AS7 nie jest toksyczna dla komórek ludzkich – nie wywołuje apoptozy ani nekrozy enterocytów. W systemie dwu-hybrydowym zidentyfikowano ludzkie białka, na które oddziałuje diwercyna AS7, które uczestniczą w procesach translacji, wewnątrzkomórkowego transportu pęcherzykowego oraz onkogenezy.

GRZYBY PLEŚNIOWE I MIKOTOKSYNY – PASIERBY MEDYCYNY

Grajewski Jan, Twarużek Magdalena

Katedra Fizjologii i Toksykologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Wydział Nauk Przyrodniczych,
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, ul. Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz

W latach dwudziestych i trzydziestych XX wieku, świat zbulwersowała historia „Klątwy Tutenchamona”, która podobnie pojawia się również w Polsce w latach siedemdziesiątych, po otwarciu grobowców króla Jagiellończyka i jego żony Rakuszanki. W obu przypadkach nastąpiła seria nagłych, tajemniczych śmierci świadków tego zdarzenia. W kraju profesorowie Aleksandrowicz i Smyk, już wówczas wskazywali, że przyczyną śmierci mogą być bakterie i grzyby pleśniowe oraz ich toksyczne metabolity. Przez wiele lat świat lekarski nie doceniał patogennych pleśni z braku wiedzy, głuchy był także na wskazania Pasteura czy Fleminga, którzy przestrzegali przed metabolitami grzybów, że zabijając komórki bakterii, mogą też zabijać komórki organizmu ludzkiego.

Wzrasta jednak liczba naukowców, którzy są przekonani, iż trujące metabolity grzybów pleśniowych wpływają na patogenezę wielu schorzeń w wiele większym stopniu, niż dotychczas zakładano. Światowa Organizacja Zdrowia (WHO) oraz powołana przy UE Komisja ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) postrzegają to zagrożenie całkiem realnie, dlatego w ostatnich latach powoływane są komisje czy zespoły robocze dla oceny toksyczności poszczególnych mikotoksyn w artykułach żywnościowych i paszach. Grzyby pleśniowe i mikotoksyny są ciągle „pasierbami medycyny człowieka” – większością studiów w tym temacie zajmują się bowiem służby weterynaryjne, hodowcy zwierząt czy producenci żywności i pasz. W świecie lekarskim panowało przeświadczenie „ignoramus et ignorabimus”. Nie leczono mikotoksykoz przyczynowo, a ograniczano się do leczenia objawowego. Nie podejmowano prac nad zanieczyszczeniem toksycznych metabolitów, które są już zaawansowane w sektorze produkcji pasz i żywienia zwierząt.

Problem mikotoksyn to akutanie temat priorytetowy. Dysponując nowoczesną aparaturą instrumentalną oznaczamy ich poziomy, przez co poznajemy ich toksyczność, a także wrażliwość organizmu ludzkiego i zwierzęcego.

MIKOTOKSYNY W SUPLEMENTACH DIETY - UKRYTE RYZYKO DLA ZDROWIA KONSUMENTA

Twarużek Magdalena, Ałtyn Iwona

Katedra Fizjologii i Toksykologii, Instytut Biologii Eksperymentalnej, Wydział Nauk Przyrodniczych,
Uniwersytet Kazimierza Wielkiego w Bydgoszczy, ul. Chodkiewicza 30, 85-064 Bydgoszcz

Rynek suplementów diety rozwija się bardzo dynamicznie. W 2015 r. Polacy wydali na suplementy diety 3,5 mld zł. Według ustawy z dnia 25 sierpnia 2006 r. o bezpieczeństwie żywności i żywienia (Dz. U. z 2015 r., poz. 594): „suplement diety to środek spożywczy, którego celem jest uzupełnienie normalnej diety”. Badania laboratoryjne zlecone przez NIK wykazały, że wiele suplementów nie wykazuje cech deklarowanych przez producentów. W sprzedaży, obok rzetelnych preparatów znajdowały się suplementy zafałszowane zawierające np. bakterie chorobotwórcze, substancje zakazane z listy psychoaktywnych oraz stymulanty. Ustalenia kontroli wskazują, że w Polsce nie jest zapewniony właściwy poziom bezpieczeństwa suplementów. Celem niniejszej pracy była ocena stopnia skażenia grzybami pleśniowymi i mikotoksynami suplementów diety na bazie zielonej kawy, błonnika, zielonego jęczmienia, ostropestu plamistego, soi, głogu dostępnych na rynku polskim.

Najczęściej wykrywanymi mikotoksynami w suplementach diety był ZEN oraz DON. Najwyższy ich poziom został wykryty w błonniku ($ZEN_{max} = 38,6$ ppb) oraz w zielonym jęczmieniu ($DON_{max} = 531$ ppb). Analiza mikotoksykologiczna zielonej kawy wykazała obecność OTA w 26% próbek, natomiast w 50% próbek suplementów diety na bazie ekstraktu z zielonej kawy wykryto tą mikotoksynę. 31% próbek suplementów na bazie soi zawierało toksynę T-2 i HT-2, a w 63% prób wykryto AF. Średnia zawartość mikotoksyn w próbach ostropestu plamistego wynosiła: (T-2 = 77,81 ppb, HT-2 = 82,91 ppb, NIV = 6,95 ppb). Wyniki badania głogu pokazują, że 52% wszystkich próbek zostało skażonych patuliną ($PAT_{max} 93,2$ µg/kg). Analiza mikologiczna wykazała znaczne porażenie suplementów diety grzybami pleśniowymi z rodzaju: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Eurotium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor* i in.

METAGENOMIKA W KLINICE ZAKAŻEŃ – NOWA GAŁĄŻ MEDYCyny

Woźniak Marcin

Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu

W ostatnich latach zagadnienia związane z funkcjonowaniem mikroorganizmów symbiotycznych człowieka, znanych pod ogólną nazwą mikrobiomu, spotykają się z coraz większym zainteresowaniem lekarzy – klinicystów. Kolejne publikacje wykorzystujące nowoczesne metody diagnostyczne pozwalają poznać zależności rządzące rozwojem i utrzymaniem prawidłowego mikrobiomu oraz jego rolę w stanach patologicznych.

Wykład będzie poświęcony przykładowym zastosowaniom metod analizy metagenomowej w monitorowaniu antybiotykoterapii i przeszczepów, terapii nowotworów oraz diagnostyce i leczeniu schorzeń takich jak zakażenia górnych dróg oddechowych, infekcje pasożytnicze, choroby jelit itp.