

XXIX OGÓLNOPOLSKI ZJAZD  
POLSKIEGO TOWARZYSTWA  
MIKROBIOLOGÓW  
15-17 WRZEŚNIA 2022,  
WARSZAWA



# XXIX OGÓLNOPOLSKI ZJAZD POLSKIEGO TOWARZYSTWA MIKROBIOLOGÓW

15-17 WRZEŚNIA 2022,  
WARSZAWA



**SESJA 1**

**Oporność bakterii na antybiotyki -  
mechanizmy lekooporności**

## Komitety naukowy:

prof. dr hab. Ewa Augustynowicz-Kopeć – przewodniczący

prof. dr hab. Stefan Tyski – wiceprzewodniczący

dr Anna Zabost – sekretarz

prof. dr hab. Jacek Bielecki – członek

prof. dr hab. Gabriela Bugla-Płoskońska – członek

prof. dr hab. inż. Katarzyna Czaczyk – członek

prof. dr hab. Alicja Ekiel – członek

prof. dr hab. Beata Gutarowska – członek

prof. dr hab. Beata Krawczyk – członek

prof. dr hab. Łucja Łaniewska-Trokenheim – członek

prof. dr hab. Wanda Małek – członek

prof. dr hab. Jacek Międzobrodzki – członek

prof. dr hab. Beata Sadowska – członek

prof. dr hab. Elżbieta A. Trafny – członek

dr hab. Wioletta Adamus-Białek – członek

dr hab. Tomasz Jagielski – członek

dr hab. Jolanta Karakulska – członek

dr hab. Agnieszka E. Laudy – członek

dr Anna Białecka – członek

dr Tamara Daniluk – członek

dr Joanna Jursa-Kulesza – członek

dr Alicja Sękowska – członek

dr Mariusz Worek – członek

## Komitet organizacyjny:

prof. dr hab. Stefan Tyski – przewodniczący

prof. dr hab. Ewa Augustynowicz-Kopeć – wiceprzewodnicząca

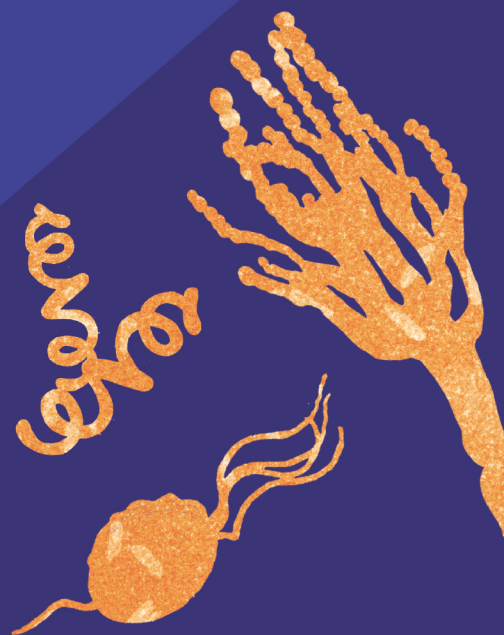
dr hab. Agnieszka E. Laudy – sekretarz

prof. dr hab. Elżbieta A. Trafny – członek

dr hab. Katarzyna Pancer – członek

dr hab. Edyta Podsiadły – członek

dr Anna Zabost – członek



## Organizator merytoryczny:



**Biuro Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów**

ul. Banacha 1 b

02-097 Warszawa

WUM Budynek CePT

tel. 22 116 61 77 lub 76

e-mail: [ptm.zmf@wum.edu.pl](mailto:ptm.zmf@wum.edu.pl)

## Organizator logistyczny:



**Medicare S.C.**

ul. Fiołkowa 54

05-123 Chotomów

tel: 888 906 323

tel: 608 517 740

e-mail: [biuro@medicare.waw.pl](mailto:biuro@medicare.waw.pl)

## Sponsorzy instytucjonalni:



Ministerstwo  
Edukacji i Nauki

Dofinansowano z programu „Dokonała nauka”

Ministra Edukacji i Nauki.

Umowa Nr DNK/SP/463237/2020



Federation of European  
Microbiological Societies



**ISME**  
International Society  
of Microbial Ecology

## Sponsor Główny Zjazdu:



## Sponsorzy:



**BD**



**BERLIN-CHEMIE**  
MENARINI

**DiaSorin**



PALL CORPORATION

## Wystawcy:



ARGENTA

**BIOMAXIMA**

**BIOMEDICA**

**BISAF**  
Be safe! [www.BISAF.pl](http://www.BISAF.pl)



**ECOLAB**

EUROIMMUN  
a PerkinElmer company



POLSKA

**GRASO**  
BIOTECH

**IMOGENA**  
Diagnostyka molekularna

**INFEBIO**



**ATCC**



**LGC**

**MEDAN**



**Perlan**  
a member of Altium Group

**ThermoFisher**  
SCIENTIFIC  
The world leader in serving science

**TZf**



**Roche**

**SMS**

**sterBios**

## Patronat medialny:

**Laboratorium**  
PRZEGŁĄD OGÓLNOPOLSKI



Warsaw  
Convention  
Bureau



**WYDAWNICTWO**  
UNIwersytetu  
ŁÓDZKIEGO

# Spis treści:

## **Wykłady:..... 6**

ANTYBIOTYKOOPORNOŚĆ – JEDNO Z NAJWIĘKSZYCH WYZWAŃ WSPÓŁCZESNEJ MEDYCYNY  
prof. dr hab. Waleria Hryniewicz

WYBRANE ZAGADNIENIA EPIDEMIOLOGII OPORNOŚCI NA KARBAPENEMY PAŁECZEK  
GRAM-UJEMNYCH W POLSCE  
prof. dr hab. Marek Gniadkowski

STAPHYLOCOCCUS AUREUS O GRANICZNEJ OPORNOŚCI NA OKSACYLINĘ (BORSA) –  
CZĘSTSZY PROBLEM NIŻ MOŻNA PRZYPUSZCZAĆ?  
dr hab. Katarzyna Garbacz .....7

W POSZUKIWANIU NOWYCH INHIBITORÓW TOPOIZOMERAZ BAKTERYJNYCH  
dr Aleksandra Kowalczyk, prof. dr hab. Paweł Stączek .....8

## **Komunikaty ustne: ..... 10**

GRONKOWCE OPORNE NA LINEZOLID JAKO NARASTAJĄCY PROBLEM W ZAKAŻENIACH  
OPORTUNISTYCZNYCH W POLSCE.....10

AKTYWACJA TOKSYNY PEMK JAKO POTENCJALNA STRATEGIA WALKI Z  
ANTYBIOTYKOOPORNYM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*.....11

ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII W PODCZERWIENI ORAZ METOD CHEMOMETRYCZNYCH  
DO OCENY ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI UROPATOGENNYCH SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI*  
.....12

STRUKTURA GENETYCZNA ORAZ POCHODZENIE REGIONU MESPM1-LIKE  
WARUNKUJĄCEGO OPORNOŚĆ NA MAKROLIDY, LINKOZAMIDY I STREPTOGRAMINĘ-B  
PIERWSZEGO W POLSCE, PODDANEGO ANALIZOM GENOMICZNYM METYCYLINO-  
OPORNEGO SZCZEPU *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* KODUJĄCEGO GEN ERM(B).....13

## **Plakaty:..... 14**

PROFIL WRAŻLIWOŚCI *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* WŚRÓD CHORYCH NA RAKA.....14

ZAKAŻENIE I NOSICIELSTWO PAŁECZEK ENTEROBACTERALES MBL TYPU NDM W GRUPIE  
CHORYCH COVID-19 I CHORYCH HOSPITALIZOWANYCH Z POWODU INNYCH CHOROŃ W  
IGICHP .....15

PAŁECZKI GRAM UJEMNE – CZYNNIK ETIOLOGICZNY ZAKAŻEŃ KRWI W KORELACJI Z  
ANALIZĄ WSKAŹNIKÓW STANU ZAPALNEGO (CRP, PCT) U CHORYCH HOSPITALIZOWANYCH  
W LATACH 2019-2021 NA ODDZIALE ANESTEZJOLOGII I INTENSYWNEJ TERAPII IGICHP.....16

CZY COVID-19 ZMIENIŁ MAPĘ EPIDEMIOLOGICZNĄ ZAKAŻEŃ BAKTERYJNYCH ODDZIAŁÓW SZPITALNYCH W INSTYTUCIE GRUŹLICY I CHORÓB PŁUC?	17
PROFIL LEKOWRAŻLIWOŚCI SZCZEPÓW <i>NEISSERIA GONORRHOEAE</i> IZOLOWANYCH W LATACH 2014-2021	18
LEKOWRAŻLIWOŚĆ I MECHANIZMY OPORNOŚCI PAŁECZEK <i>ENTEROBACTEREALES</i> IZOLOWANYCH OD PACJENTÓW HOSPITALIZOWANYCH W LATACH 2021-2022 W SZPITALU MSWiA W BIAŁYMSTOKU	19
LEKOWRAŻLIWOŚĆ I MECHANIZMY OPORNOŚCI SZCZEPÓW IZOLOWANYCH Z MIĘSA WIEPRZOWEGO	20
LEKOOPORNOŚĆ SZCZEPÓW <i>STREPTOCOCCUS CANIS</i> WYIZOLOWANYCH OD ZWIERZĄT TOWARZYSZĄCYCH	21
TRUDNOŚCI W IDENTYFIKACJI I WYKRYWANIU OPORNOŚCI NA METYCYLINĘ KOAGULAZOUJEMNYCH GRONKOWCÓW	22
OCENA ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI SZCZEPÓW <i>ENTEROCOCCUS SPP.</i> IZOLOWANYCH Z CHLEWNI	23
OPORNOŚĆ SZCZEPÓW <i>STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS</i> OPORNYCH NA METYCYLINĘ NA TETRACYKLINY	24
TOLERANCJA BIOFILMU SZCZEPÓW KLINICZNYCH Z GATUNKU <i>PSEUDOMONAS AERUGINOSA</i> NA GENTAMICYNĘ	25
<b>E-plakaty:</b>	<b>26</b>
STUDENCI JAKO GRUPA RYZYKA TRANSMISJI DROBNOUSTROJÓW WIELOLEKOOPORNYCH W SZPITALU KLINICZNYM	26
LEKOWRAŻLIWOŚĆ SZCZEPÓW <i>ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIE</i> IZOLOWANYCH OD DROBIU WODNEGO W POLSCE	27
ZAKAŻENIA POWODOWANE PRZEZ RZADKIE GATUNKI GRONKOWCÓW KOAGULAZOUJEMNYCH - PERSPEKTYWY LECZENIA ZAKAŻEŃ WYWOŁYWANYCH PRZEZ SZCZEPY METYCYLINOOPORNE	28
ROLA MUTACJI PUNKTOWYCH ORAZ GENÓW KODOWANYCH PLAZMIDOWO W OPORNOŚCI NA MUPIROCYNĘ ORAZ KWAS FUSYDOWY U SZCZEPÓW <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> POCHODZĄCYCH OD PACJENTÓW Z ATOPOWYM ZAPALENIEM SKÓRY	29
WYSTĘPOWANIE WYBRANYCH GENÓW ZWIĄZANYCH Z USUWANIEM LEKÓW U SZCZEPÓW <i>CORYNEBACTERIUM JEIKEIUM</i>	30
WYKRYCIE B-LAKTAMAZ TYPU NDM-1 U BAKTERII <i>ACINETOBACTER BAUMANNII</i> IZOLOWANYCH Z MATERIAŁÓW POCHODZĄCYCH OD PACJENTÓW SZPITALA UNIWERSYTECKIEGO W KRAKOWIE.	31

## Wykłady:

**„Antybiotykooporność - jedno z największych wyzwań współczesnej medycyny”**

**prof. dr hab. Waleria Hryniewicz**

**„Wybrane zagadnienia epidemiologii oporności na karbapenemy pałeczek Gram-ujemnych w Polsce”**

**prof. dr hab. Marek Gniadkowski**

**"*Staphylococcus aureus* o granicznej oporności na oksacylinę (BORSA) – częstszy problem niż można przypuszczać?"**

**dr hab. Katarzyna Garbacz**

**„W poszukiwaniu nowych inhibitorów topoizomeraz bakteryjnych”**

**dr Aleksandra Kowalczyk, prof. dr hab. Paweł Stączek**



# **STAPHYLOCOCCUS AUREUS O GRANICZNEJ OPORNOŚCI NA OKSACYLINĘ (BORSA) – CZĘSTSZY PROBLEM NIŻ MOŻNA PRZYPUSZCZAĆ?**

Katarzyna Garbacz

Zakład Mikrobiologii Jamy ustnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Polska

E-mail: katarzyna.garbacz@gumed.edu.pl

Oporność gronkowców na penicyliny odporne na penicylinazy gronkowcowe (PRPs - penicillinase-resistant penicillins), takie jak metycylina czy oksacylina, stanowi od lat jeden z najpowszechniejszych problemów bakteryjnej lekooporności. Borderline oxacillin-resistant *Staphylococcus aureus* (BORSA) są, obok MRSA (methicillin-resistant *S. aureus*), odmianą metycylinooporności zdecydowanie słabiej poznaną i niewystarczająco zdefiniowaną. Są to szczepy o niskiej, granicznej oporności na PRPs (MIC oksacyliny pomiędzy 1-8 µg/ml) i w przeciwieństwie do szczepów MRSA - nie posiadające zmutowanego białka PBP2a (penicillin binding protein 2a) determinowanego genem *mecA* lub *mecC*. Oporność BORSA uwarunkowana jest najczęściej hiperprodukcją β-laktamaz, a w niektórych przypadkach punktową mutacją w białkach PBPs. Szczepy BORSA nie mogą być klasyfikowane ani jako prawdziwie metycylinooporne ani metycylinowrażliwe gronkowce, chociaż bywają mylone w rutynowej diagnostyce laboratoryjnej, z jednymi i z drugimi. Stwarza to oczywiste niebezpieczeństwo epidemiologiczne i problemy terapeutyczne w leczeniu zakażeń gronkowcowych. BORSA są szeroko rozpowszechnione zarówno w środowisku ludzi jak i zwierząt, a także w szpitalach jak i poza nimi. Zakażenia spowodowane przez BORSA są podobne w epidemiologii i przebiegu do zakażeń MRSA i cięższe niż te wywołane przez MSSA. W oparciu o ostatnie dane z różnych krajów wydają się, że ich odsetek w Polsce jest niedoszacowany. Badania pokazują, że BORSA są często pomijanym i niedocenianym problemem, a ich izolacja z coraz to nowych środowisk wskazuje na pilną potrzebę monitorowania tego rodzaju zakażeń i umiejętność skutecznego różnicowania ich zarówno ze szczepami MSSA jak również i MRSA.

# W POSZUKIWANIU NOWYCH INHIBITORÓW TOPOIZOMERAZ BAKTERYJNYCH

Aleksandra Kowalczyk<sup>1</sup>, Paweł Stączek<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Mikrobiologii Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, Polska

<sup>2</sup> Katedra Mikrobiologii Molekularnej, Uniwersytet Łódzki, Polska

E-mail: aleksandra.kowalczyk@biol.uni.lodz.pl

Od czasu odkrycia pierwszych antybiotyków i chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych, problem szerzącej się lekooporności wśród bakterii towarzyszy ludzkości po dzień dzisiejszy. Z roku na rok obserwuje się ciągły wzrost liczby izolowanych szczepów wielolekoopornych. Według WHO lekooporność bakterii stanowi jeden z 10 kluczowych problemów i wyzwań współczesnego świata. Rokrocznie z powodu infekcji szczepami lekoopornymi umiera 700 tys. osób a szacuje się, że do 2050 roku łączna liczba zgonów spowodowana przez takie szczepy sięgnie 350 milionów. Obecnie izoluje się szczepy odporne na większość klas znanych antybiotyków, a do łask powróciła kolistyna (polimyksyna E) jako lek ostatniej szansy, pomimo jej licznych skutków ubocznych. Szczególną uwagę zwraca się na odporne na karbapenemy oraz cefalosporyny 3-generacji szczepy *Enterobacteriaceae*, (szczególnie *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*), *Acinetobacter baumannii* oraz *Pseudomonas aeruginosa*. a także wciąż groźne wielolekooporne prątki gruźlicy. Chociaż obserwuje się w ostatnich latach nieznaczny wzrost liczby leków przeciwbakteryjnych w fazie badań klinicznych, tylko 6 na 32, WHO uznało jako innowacyjne w 2019 roku. Dlatego niezmiernie istotne jest ciągłe poszukiwanie nowych, alternatywnych leków. Topoizomerazy, są enzymami obecnymi we wszystkich organizmach żywych, łączącymi w sobie funkcje zarówno nukleazy, ATPazy i ligazy. Dzielimy je na dwie główne grupy. Enzymy typu I są monomerami (z wyjątkiem odwrotnej gyrazy z *Methanopyrus kandleri*) i nacinają przejściowo tylko jedną nić podwójnej helisy. Topoizomerazy typu II są dimerycznymi enzymami i przejściowo nacinają obie nici cząsteczki DNA, a do swojej aktywności wymagają hydrolizy ATP. Bakteryjne topoizomerazy typu IIA (gyraza i topoizomeraza IV) stanowią atrakcyjny cel molekularny dla opracowania nowych leków przeciwbakteryjnych. Dzięki kontrolowaniu topologii DNA, enzymy te są zaangażowane w tak istotne procesy jak: replikacja, transkrypcja, segregacja chromosomu czy rekombinacja, a zahamowanie ich funkcji prowadzi do śmierci komórki bakteryjnej. Gyraza i topoizomeraza IV mają zbliżoną strukturę w centrum aktywnym i organizację funkcjonalnych domen. Te podobieństwa powodują, że małowcząsteczkowe inhibitory mogą zazwyczaj działać jednocześnie na oba enzymy. Związki hamujące oba enzymy (ang. *dual-target inhibitors*) są najbardziej pożądane gdyż zmniejszają częstość i wydłużają okres pojawiania się lekooporności. Najlepiej poznaną grupę inhibitorów bakteryjnych topoizomeraz stanowią chinolony/fluorochinolony oraz kumaryny. Chinolony (kwas nalidyksowy, kwas oksolinowy, ciprofloksacyna) działają na podjednostki, odpowiednio GyrA i ParC, powodując stabilizację kompleksu tnącego i uniemożliwiając ligację powstałych pęknięć. Kumaryny (nowobiocyna, kumermycyna) działają na podjednostki GyrB i ParE, konkurując z ATP o miejsce wiązania enzymu. Pomimo wysokiej skuteczności fluorochinolonów szczególnie w leczeniu zakażeń układu moczowego wywołanych pałeczkami *E. coli*, stanowią one grupę związków, na które obserwuje się jeden z najwyższych poziomów lekooporności. Według analizy GLASS (Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System) oporność na ciprofloksacynę wśród izolowanych od pacjentów szczepów *E. coli* waha się od 8.4% do 92.9% w zależności od kraju. Wśród krajów europejskich, Polska posiada jeden z wyższych wskaźników



lekooporności na fluorochinolony wyrażony w granicach 25-50% wg danych z 2020 roku. W związku z tym, uwaga wielu ośrodków naukowych na całym świecie, została zwrócona w kierunku poszukiwania zupełnie nowych inhibitorów bakteryjnych topoizomeraz, różniących się swoją strukturą i miejscem wiązania do enzymu, od klasycznych antybiotyków i chemioterapeutyków przeciwbakteryjnych. Jednym z przełomowych odkryć było opracowanie oraz określenie metodą krystalografii miejsc wiązania z gyrazą *Staphylococcus aureus* nowej cząsteczki o nazwie GSK299423. Na podstawie struktury tej cząsteczki powstało wiele nowych inhibitorów topoizomeraz, wśród których gepotidacyna (GSK2140944) jest obecnie w fazie badań klinicznych. Wykład stanowić będzie zintegrowany opis najnowszych osiągnięć dotyczących poszukiwania nowych inhibitorów bakteryjnych topoizomeraz typu IIA. Przedstawione zostaną najbardziej obiecujące związki począwszy od małocząsteczkowych inhibitorów po peptydy antybakteryjne. Dane zostaną uzupełnione o wyniki badań własnych, prowadzonych w Katedrze Mikrobiologii Molekularnej od kilkunastu lat we współpracy z licznymi ośrodkami w Polsce.

# Komunikaty ustne:

Nr streszczenia: 0090

## GRONKOWCE OPORNE NA LINEZOLID JAKO NARASTAJĄCY PROBLEM W ZAKAŻENIACH OPORTUNISTYCZNYCH W POLSCE

Mariola Wolska-Gębarzewska<sup>1</sup>, Michał Michalik<sup>2</sup>, Adrianna Podbielska-Kubera<sup>2</sup>, Alfred Samet<sup>2</sup>, Jacek Międzobrodzki<sup>1</sup>, Maja Kosecka-Strojek<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, Kraków, Polska

<sup>2</sup> Centrum Medyczne MML, Warszawa, Polska

E-mail: mariola.wolska@doctoral.uj.edu.pl

Rosnąca oporność na antybiotyki, w tym te ostatniej szansy, wśród gronkowców jest problemem pojawiającym się na całym świecie. W 2001 roku pojawiły się pierwsze szczepy odporne na linezolid, a od 2015 roku w Polsce odnotowuje się zakażenia szczepami *Staphylococcus epidermidis* opornymi na ten antybiotyk [1]. Mikroflora nosa pacjentów laryngologicznych, może stanowić zagrożenie dla pacjentów z obniżoną odpornością, ze względu na obecność szczepów oportunistycznych z licznymi genami oporności i wirulencji. Celem badań była genetyczna charakterystyka dwóch gronkowców potencjalnie niosących geny oporności na linezolid, pobranych od pacjentów z chronicznym zapaleniem zatok. Izolaty bakteryjne zidentyfikowano na poziomie gatunku, określono profile lekooporności oraz scharakteryzowano za pomocą typowania spa, oceny struktur kaset SCCmec, typowania MLST oraz identyfikacji genów wirulencji i oporności na antybiotyki. Oba zidentyfikowane izolaty *Staphylococcus aureus* i *Staphylococcus haemolyticus* wykazały oporność na ponad dziesięć antybiotyków. Dla szczepu *S. aureus* zidentyfikowano typ spa - t4474, typ sekwencyjny ST398 oraz zidentyfikowano kasetę SCCmec typu IVe. Szczep *S. aureus* fenotypowo wykazał wrażliwość na linezolid, ale metody genetyczne pozwoliły na identyfikację genów oporności na linezolid takich jak *optrA*, *poxtA* oraz wykryto mutacje w białkach rybosomalnych L3 i L4. Szczep *S. haemolyticus* zidentyfikowano jako typ ST42 oraz wykryto gen *mecA*. Szczep *S. haemolyticus* fenotypowo wykazał oporność na linezolid, która była związana z obecnością genu *cfr*. Zarówno, szczep *S. aureus* jak i *S. haemolyticus* posiadały geny adhezyn i hemolizyn. Otrzymane wyniki wskazują, że rosnąca oporność gronkowców na linezolid jest coraz większym problemem w Polsce, nie tylko w środowisku szpitalnym. Badane szczepy gronkowców zostały pozyskane od pacjentów ambulatoryjnych, którzy nie byli leczeni linezolidem [2]. Wyniki potwierdzają, że wśród gronkowców dochodzi do pozyskiwania ruchomych elementów genetycznych od innych szczepów, co świadczy o rozprzestrzenianiu się szczepów lekoopornych w środowisku poza szpitalnym.

### Literatura:

- [1] Kosecka-Strojek M et al. (2020) Emergence of linezolid-resistant *Staphylococcus epidermidis* in the tertiary children's hospital in Cracow, Poland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 39(9):1717-1725  
[2] Michalik M et al. (2021) First case of staphylococci carrying linezolid resistance genes from laryngological infections in Poland. *Pathogens.* 10(3):335

## **AKTYWACJA TOKSYNY PEMK JAKO POTENCJALNA STRATEGIA WALKI Z ANTYBIOTYKOOPORNYM *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

Emilia Bonar<sup>1</sup>, Weronika Jodłowska<sup>1</sup>, Benedykt Władyka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Polska

E-mail: emilia.bonar@uj.edu.pl

*Staphylococcus aureus* to występujący powszechnie oportunistyczny patogen wywołujący choroby o zróżnicowanej lokalizacji, objawach i przebiegu. Szczególnie groźnym czyni *S. aureus* zdolność syntezy licznych czynników wirulencji, tworzenie biofilmu, a także rosnąca oporność na antybiotyki stanowiąca ogromne wyzwanie dla medycyny. Wiele bakterii patogennych, w tym gronkowce, posiadają geny kodujące systemy toksyna-antytoksyna (TA). Przedmiotem badań był system TA (PemIK), występujący u gronkowców, w którym w normalnych warunkach antytoksyna (PemI) i toksyna (PemK) tworzą stabilny kompleks, co skutkuje inaktywacją toksyny. Co łączy zjawisko antybiotykooporności i systemy TA? Otóż aktywacja toksyny może prowadzić do zahamowania wzrostu komórek bakteryjnych, zatem stanowi potencjalną strategię walki z patogenami. Celem prezentowanych badań była weryfikacja wpływu aktywacji toksyny na obniżenie oporności gronkowca złocistego na działanie antybiotyków. W tym celu po wykonaniu antybiogramów szczepy MRSA USA300 i CH24 poddano transformacji wektorem zawierającym gen kodujący toksynę PemK pod kontrolą promotora indukowanego kadmem. Aktywowano produkcję toksyny, następnie wyznaczano minimalne stężenie hamujące wzrost, po czym uzyskane wartości porównano z MIC dla MRSA USA300 i CH24 nie posiadających toksyny. Zaobserwowano, że toksyna PemK wywołała zmniejszenie oporności gronkowca złocistego na wybrane antybiotyki, penicylinę (P), oksacylinę (OX), chloramfenikol (C) i ciprofloksacynę (CIP). W wyniku aktywacji toksyny stężenie antybiotyków potrzebne do zahamowania wzrostu *S. aureus* CH24 było dziewięć- i sześciokrotnie niższe, odpowiednio, dla P i OX, a wobec *S. aureus* USA300, dla P dwudziesto-, dla OX i CIP cztero-, a C dwukrotnie niższe. W świetle uzyskanych wyników można zaryzykować twierdzenie, że aktywacja toksyny systemów TA potencjalnie może stanowić nową strategię w walce z gronkowcami antybiotykoopornymi.

Źródło finansowania: Narodowe Centrum Nauki, DEC-2017/25/B/NZ6/01056.

## **ZASTOSOWANIE SPEKTROSKOPII W PODCZERWIENI ORAZ METOD CHEMOMETRYCZNYCH DO OCENY ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI UROPATOGENNYCH SZCZEPÓW *ESCHERICHIA COLI***

Łukasz Lechowicz<sup>1</sup>, Mariusz Urbaniak<sup>2</sup>, Barbara Gawdzik<sup>2</sup>, Katarzyna Durlik-Popińska<sup>1</sup>, Magdalena Chrapek<sup>3</sup>, Paweł Parniewski<sup>4</sup>, Wiesław Kaca<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii i Parazytologii, Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Polska

<sup>2</sup> Zakład Syntezy i Badań Strukturalnych, Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Polska

<sup>3</sup> Zakład Analizy Matematycznej i Zastosowań, Uniwersytet Jana Kochanowskiego, Polska

<sup>4</sup> Pracownia Genetyki Molekularnej, Instytut Biologii Medycznej PAN w Łodzi, Polska

E-mail: llechowicz@ujk.edu.pl

W przedstawionych badaniach przeanalizowaliśmy możliwość wykorzystania spektroskopii w podczerwieni w połączeniu wraz z metodami matematycznymi do szybkiego wykrywania oporności uropatogennych *E. coli* na antybiotyki. W tym celu zebrano kolekcję 128 szczepów bakterii wyizolowanych z moczu pacjentów w Zakładzie Diagnostyki Laboratoryjnej i Biochemii Klinicznej Uniwersyteckiego Szpitala Klinicznego Nr 2 imienia Wojskowej Akademii Medycznej w Łodzi. Oznaczenie podatności szczepów na antybiotyki zostało przeprowadzone metodą dyfuzyjno-krażkową zgodnie z zaleceniami Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości (EUCAST). Pomiar widm IR bakterii przeprowadzono w technice osłabionego całkowitego odbicia w podczerwieni (ATR/FT-IR) przy użyciu spektroskopu FT-IR/FT-NIR Spectrum 400 (Perkin Elmer). Pomiaru dokonywano w zakresie widma 4000-650  $\text{cm}^{-1}$  z rozdzielczością 1  $\text{cm}^{-1}$ . Analiz matematycznych dokonano przy użyciu oprogramowania STATISTICA 12. Do analizy chemometrycznej widm IR wykorzystano metody uczenia maszynowego (sztuczne sieci neuronowe, metoda K najbliższych sąsiadów i in.). Analiza widm IR komórek bakteryjnych wykazała, iż najlepsze predyktory lekooporności liczby falowej 1050  $\text{cm}^{-1}$  oraz w paśmie 1800-1650  $\text{cm}^{-1}$ . W oparciu o dane chemometryczne skonstruowano sztuczne sieci neuronowe zdolne do wykrywania oporności na antybiotyki z dokładnością 90-93%. W przypadku modeli opartych na metodzie K-najbliższych sąsiadów modele charakteryzowały się czułością do 98% i dokładnością do 96%. Uzyskane wyniki sugerują, że możliwe jest zaprojektowanie modeli matematycznych wykrywających oporność bakterii na antybiotyki z dokładnością ponad 90%. Takie modele opierają się na informacjach rozproszonych w widmach IR żywych komórek bakteryjnych. Ze względu na szybkość działania modelu matematycznego i szybkość pomiaru widma w podczerwieni, zastosowanie tych technik może znacząco skrócić czas potrzebny do określenia lekooporności bakterii.

Źródło finansowania: Grant Uniwersytetu Jan Kochanowskiego nr SUPB.RN.21.235

## **STRUKTURA GENETYCZNA ORAZ POCHODZENIE REGIONU MESPM1-LIKE WARUNKUJĄCEGO OPORNOŚĆ NA MAKROLIDY, LINKOZAMIDY I STREPTOGRAMINĘ-B PIERWSZEGO W POLSCE, PODDANEGO ANALIZOM GENOMICZNYM METYCYLINO-OPORNEGO SZCZEPU *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* KODUJĄCEGO GEN ERM(B)**

Ksenia Szymanek-Majchrzak<sup>1</sup>, Grażyna Młynarczyk<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

E-mail: ksenia.szymanek-majchrzak@wum.edu.pl

Mechanizm krzyżowej oporności na makrolidy, linkozamidy oraz streptograminę-B (MLS-B) u *Staphylococcus aureus* związany jest ze zdolnością do produkcji N6-dimetylotransferaz Erm, które poprzez dimetylację adeniny (A2058) w V domenie 23S rRNA podjednostki 50S rybosomu, czynią to miejsce niedostępnym dla antybiotyków z grupy MLS-B. Spośród znanych około czterdziestu typów genu *erm*, u gronkowców opisywane były dotychczas głównie *ermA* oraz *ermC*. Gen *ermB* jeszcze do niedawna występował przede wszystkim u pałeczek Gram-ujemnych oraz dominował u opornych wariantów *Streptococcus* oraz *Enterococcus*. Celem pracy była analiza struktury genetycznej, organizacji oraz pochodzenia regionu MES<sub>PM1-like</sub>, jak również charakterystyka genomu opisanego, najprawdopodobniej po raz pierwszy w Polsce, metacylino-opornego szczepu *S. aureus* (MRSA), kodującego gen *ermB*. Materiał badania stanowił kliniczny izolat MRSA, pochodzący z zakażonej rany pooperacyjnej od pacjenta hospitalizowanego na oddziale chirurgicznym warszawskiego ośrodka klinicznego. Identyfikację izolatu i analizę fenotypu oporności na antybiotyki przeprowadzono przy zastosowaniu konwencjonalnych metod diagnostyki mikrobiologicznej, według rekomendacji EUCAST. Szczegółowe analizy genetyczne przeprowadzono przy zastosowaniu narzędzi bioinformatycznych, w oparciu o sekwencję genomowego DNA, uzyskanego przy zastosowaniu technologii sekwencjonowania następnej generacji (WGS-NGS) na platformie MiSeq Illumina. Gen *ermB* został zlokalizowany na chromosomie w regionie MES<sub>PM1-like</sub> (mobile element structure), o wielkości 14,690 pz. Wykazano, że MES<sub>PM1-like</sub> jest transpozonom złożonym, zawierającym Tn551 (5,266 pz), na którym kodowany jest *ermB* oraz geny oporności na aminoglikozydy oraz streptotrycinę. Stwierdzono, iż struktura MES<sub>PM1-like</sub> oflankowana jest sekwencjami insercyjnymi IS1216V, które świadczą o prawdopodobnym pochodzeniu tego regionu od *Enterococcus* sp. Badany szczep MRSA zawierał kasetę SCCmec typu V<sub>T</sub> (5C2&5) oraz geny *lukS/F-PV*. Na tej podstawie oznaczony został jako wariant community-associated MRSA (CA-MRSA). Ponadto reprezentował typ *spa-t437*, typ *agr-1*, typ sekwencyjny ST338, kompleks klonalny CC59 oraz międzynarodowy klon Taiwan. Podsumowując, poddany analizie *ermB*-pozytywny ST338-SCCmecV<sub>T</sub>/CC59, oporny na antybiotyki MLS-B kliniczny izolat CA-MRSA stanowi unikatowy materiał mikrobiologiczny, co uzasadnia konieczność prowadzenia dalszych badań dotyczących jego charakterystyki oraz epidemiologii w Polsce.

# Plakaty:

Nr streszczenia: 0006

## PROFIL WRAŻLIWOŚCI *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* WŚRÓD CHORYCH NA RAKA

Maria Szymankiewicz<sup>1</sup>, Tomasz Nowikiewicz<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii, Centrum Onkologii im. prof. F. Łukaszczyka w Bydgoszczy, Polska

<sup>2</sup> Katedra Chirurgii Onkologicznej, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Polska

E-mail: szymankiewicz@co.bydgoszcz.pl

Najlepsze efekty leczenia w raku piersi uzyskuje się po zabiegach chirurgicznych. Mogą im jednak towarzyszyć zakażenia okołoperacyjne. Wśród czynników etiologicznych zakażeń, obok najczęściej występujących ziarenkowców Gram-dodatnich, izoluje się pałeczki *Pseudomonas aeruginosa*. Celem pracy była charakterystyka kliniczna i demograficzna pacjentów, poddanych leczeniu z powodu raka piersi, którzy rozwinęli zakażenie wywołane przez *P. aeruginosa*. Oceniono także lekowrażliwość *P. aeruginosa* i zdolność do wytwarzania ESBL (beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym), MBL (karbapenemazy klasy B, metalo-beta-laktamazy) i KPC (karbapenemazy klasy A). Analizę 20 pacjentów: wiek, wskaźnik masy ciała (BMI), czynniki ryzyka, rozpoznanie, stopień zaawansowania nowotworu (cTNM, pTNM), typ zabiegu, przeprowadzono w oparciu o dane z dokumentacji medycznej. Dane mikrobiologiczne pozyskano z raportów mikrobiologicznych. Identyfikację i oznaczenie lekowrażliwości szczepów, wyhodowanych z materiału ropnego, przeprowadzano w szpitalnym laboratorium mikrobiologicznym, zgodnie z procedurami badawczymi, opracowanymi na podstawie instrukcji producentów IVD MALDI Biotyper Smart System, VITEK 2, BD Phoenix i wytycznych EUCAST i KORLD. Szczepy wielolekooporne (MDR) kwalifikowano na podstawie jednoczesnej oporności na trzy leki, z następujących: piperacylina/tazobaktam, ceftazydym, fluorochinolony, aminoglikozydy, karbapenemy. Średnia wieku pacjentów wynosiła 66.35 lat ( $\pm 10.69$  SD), średnie BMI wynosiło 30.22 ( $\pm 4.70$  SD). U 14 pacjentów stwierdzono jeden lub więcej czynników ryzyka sprzyjających rozwinięciu zakażenia. Dominował rak inwazyjny i wysoki stopień zaawansowania nowotworu. Najczęściej przeprowadzanym zabiegiem była amputacja piersi. Wśród 20 szczepów *P. aeruginosa*, 14 nie wykazywało oporności na badane antybiotyki, 2 należały do MDR, 1 szczep był producentem MBL. Nie stwierdzono producentów enzymów ESBL i karbapenemaz KPC. Ogółem oporność wynosiła: piperacylina/tazobaktam (2/20), ceftazydym (1/20), fluorochinolony (3/20), aminoglikozydy (2/20) i karbapenemy (2/20). Potwierdzone występowanie oporności *P. aeruginosa* na antybiotyki w grupie pacjentów chorych na raka piersi jest niepokojącym zjawiskiem. Stosowana terapia empiryczna, ukierunkowana głównie na zakażenia wywołane przez ziarenkowce Gram-dodatnie, powinna być weryfikowana wynikami posiewu.

## **ZAKAŻENIE I NOSICIELSTWO PAŁECZEK *ENTEROBACTERALES* MBL TYPU NDM W GRUPIE CHORYCH COVID-19 I CHORYCH HOSPITALIZOWANYCH Z POWODU INNYCH CHORÓB W IGICHP**

Joanna Nowak<sup>1</sup>, Violetta Petroniec<sup>1</sup>, Agnieszka Iwańska<sup>1</sup>, Justyna Pałuba<sup>1</sup>, Ewa Augustynowicz-Kopeć<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Polska

E-mail: j.nowak@igichp.edu.pl

COVID-19 to choroba zakaźna wywołana przez wirusa SARS-CoV-2, może mieć charakter infekcji bezobjawowej, ale powodować również zapalenie płuc przebiegające z niewydolnością oddechową. W grupie pacjentów obciążonych innymi chorobami może prowadzić do śmierci. COVID-19 zwiększa ryzyko wtórnych infekcji bakteryjnych z powodu takich czynników jak przedłużona intubacja, wszechobecne stosowanie cewników inwazyjnych i osłabiona odporność gospodarza. Dodatkowym ryzykiem jest kolonizacja i zakażenie szczepami wielolekoopornymi, w tym szczególnie pałeczkami Gram ujemnymi z rodz. Enterobacterales z mechanizmem oporności typu MBL. Celem pracy była ocena częstości występowania nosicielstwa i zakażeń wywołanych przez pałeczki Enterobacterales MBL typu NDM u 60 chorych z COVID-19 oraz 72 chorych z grupy kontrolnej (bez COVID-19). Chorzy byli hospitalizowani na OIOM w okresie 11.2020.-04.2021. Materiał do badań stanowiły wymazy z odbytu oraz materiały diagnostyczne z zakażeń pobrane od 132 chorych (60 chorych z COVID-19). Analizie poddano 1279 wyników posiewów mikrobiologicznych (665 od chorych z COVID-19). Wykrywanie produkcji karbapenemaz u badanych szczepów prowadzono zgodnie z algorytmem testów przesiewowych zalecanych przez KORLD. Wśród 60 chorych z COVID-19, pałeczki Enterobacterales MBL typu NDM wykryto u 16 chorych (26,7%). Nosicielstwo stwierdzono u 16 chorych (*Klebsiella pneumoniae* – 13 vs. *Escherichia coli* – 3), u 12 tych chorych doszło również do zakażenia (*Klebsiella pneumoniae* – 10 vs. *Escherichia coli* – 2). U 72 chorych bez COVID-19 hospitalizowanych na OIOM zakażenie oraz nosicielstwo pałeczek *Klebsiella pneumoniae* MBL typu NDM wykryto u 4 chorych (5,6%). Zaobserwowaliśmy wyższą częstość nosicielstwa i zakażenia pałeczkami Enterobacterales MBL typu NDM u chorych z COVID-19 niż w grupie bez COVID-19. Wdrożenie programów zwiększonego nadzoru nad stosowanymi antybiotykami powinno być istotnym elementem strategii postępowania z pacjentami z COVID-19.



## **PAŁECZKI GRAM UJEMNE – CZYNNIK ETIOLOGICZNY ZAKAŻEŃ KRWI W KORELACJI Z ANALIZĄ WSKAŹNIKÓW STANU ZAPALNEGO (CRP, PCT) U CHORYCH HOSPITALIZOWANYCH W LATACH 2019-2021 NA ODDZIALE ANESTEZJOLOGII I INTENSYWNEJ TERAPII IGICHP**

Justyna Pałuba<sup>1</sup>, Violetta Petroniec<sup>1</sup>, Joanna Nowak<sup>1</sup>, Agnieszka Iwańska<sup>1</sup>, Ewa Augustynowicz-Kopeć<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Polska

E-mail: j.paluba@wp.pl

Potencjalnymi czynnikami etiologicznymi zakażenia krwi są drobnoustroje stanowiące florę szpitalną, jak również florę endogenną pacjenta. Na oddziałach OAiT szczególny problem stanowią wielolekooporne pałeczki Gram ujemne. Przestrzeganie zaleceń dotyczących pobierania krwi, transportu i metod inkubacji umożliwia uzyskanie wiarygodnego wyniku mikrobiologicznego oraz wdrożenie właściwego leczenia. Analiza posiewów krwi jest ważna w monitorowaniu lekooporności ze względu na konieczność stosowania terapii empirycznej. Uzyskanie wyniku mikrobiologicznego pozwala na wprowadzenie leczenia celowanego, a ocena dynamiki zmiany stężenia markerów CRP i PCT umożliwia rozpoznanie reakcji zapalnej i monitorowanie skuteczności leczenia. Celem pracy była retrospektywna analiza pałeczek Gram ujemnych wyizolowanych z krwi pobranych od chorych leczonych na OAiT IGICHP w latach 2019-2021, określenie profilu ich lekooporności oraz ocena wskaźników stanu zapalnego. Analizie poddano wyniki 1782 posiewów krwi pobranych od 369 chorych. Badania wykonywano zgodnie z ogólnie przyjętymi procedurami obowiązującymi w laboratoriach mikrobiologicznych. Wyizolowano 131 szczepów pałeczek Gram ujemnych ze 129 (7,2%) posiewów krwi. Gatunkami dominującymi były: *A. baumannii* cplx (53 szczepy- 40,4%), *K. pneumoniae* (45 szczepów – 34,3%) i *E.coli* (12 szczepów -9,2%). Wśród wyhodowanych pałeczek Gram ujemnych dominowały szczepy wielolekooporne. Ponad 77% pałeczek *A. baumannii* cplx było wrażliwych tylko na kolistynę. Mechanizm oporności typu ESBL wykryto u 62,2% *K. pneumoniae* vs 66,7% *E. coli* natomiast MBL typu NDM u 35,5% *K. pneumoniae* vs 8,3% *E.coli*. Wśród 73 chorych z dodatnim posiewem krwi, u których wyhodowano pałeczki Gram ujemne, podwyższony wskaźnik CRP (w przedziale 11,6 – 635 mg/l) stwierdzono w 97% przypadków, natomiast PCT (w przedziale 0,66 – 160 ng/ml) w 48%. Wysoki odsetek szczepów wielolekoopornych wśród wyhodowanych pałeczek Gram ujemnych wskazuje na konieczność ciągłego monitorowania mikroflory szpitalnej, mechanizmów oporności patogenów, a także analizy zużycia antybiotyków w szpitalu.

## **CZY COVID-19 ZMIENIŁ MAPĘ EPIDEMIOLOGICZNĄ ZAKAŻEŃ BAKTERYJNYCH ODDZIAŁÓW SZPITALNYCH W INSTYTUCIE GRUŹLICY I CHORÓB PŁUC?**

Violetta Petroniec<sup>1</sup>, Joanna Nowak<sup>1</sup>, Agnieszka Iwańska<sup>1</sup>, Ewa Augustynowicz-Kopeć<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii, Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc, Polska

E-mail: v.petroniec@igichp.edu.pl

Rolą laboratorium mikrobiologicznego jest identyfikacja czynnika etiologicznego zakażenia oraz monitorowanie lekooporności drobnoustrojów. Dane te pozwalają na opracowanie „mapy epidemiologicznej”, dzięki której można wyznaczać standardy terapii empirycznej. Celem pracy była analiza porównawcza drobnoustrojów wyhodowanych z materiałów od chorych hospitalizowanych w IGiChP oraz określenie ich lekooporności w latach 2015-2019 i w trakcie trwania pandemii COVID-19 w latach 2020-2021. W okresie 2015-2019 analizie poddano 22 534 materiały z oddz. zachowawczych i 14121 z oddz.zabiegowych, pochodzące głównie z dróg oddechowych. Na oddz. zachowawczych liczba wyhodowanych szczepów wynosiła 4413 (19.6%), natomiast na oddz. zabiegowych 4648 (32.9%). W latach 2020-2021 w związku z pandemią wirusa SARS CoV-2 zarejestrowano mniejszą liczbą hospitalizacji w stosunku do lat poprzednich. Efektem tego była zmniejszona o ok. 20% liczba badań na obu typach oddziałów. Na podstawie przeprowadzonej analizy wyników stwierdzono, że pomimo pandemii odsetek izolowanych patogenów był na podobnym poziomie. Na oddz. zabiegowych i zachowawczych dominującą florę patogenną stanowiły pałeczki *Enterobacterales* (2015-2019-45%; 2020-2021 42%). Drugim co do częstości izolacji patogenem był *P. aeruginosa* i *Acinetobacter spp.* (2015-2019-31%; 2020-2021 - 35%). *H. influenzae* oraz *M. catarrhalis* izolowano w niskim odsetku (2015-2019 - 6,5% vs.1,5%; 2020-2021 - 5,2% vs.1,4%). Wśród ziarniaków Gram (+) dominował *S. aureus* (2015-2019-23%; 2020-2021-20%), natomiast *S. pneumoniae* występował w odsetku - 2015-2019 2,2%, 2020-2021-1,7%. Wskaźniki te pozostały niezmiennie mimo pandemii SARS CoV-2. Pałeczki Gram (-) typu ESBL identyfikowano częściej na oddz. zabiegowych w porównaniu do zachowawczych (2015-2019 - 39,1% vs.17,9%; 2020-2021 - 36,2% vs. 16,9%), podobnie jak *K. pneumoniae* MBL (2015-2019 - 16,2% vs 5,2%; 2020 - 18,8% vs 7,7%) i *S. aureus* MRSA (2015-2019 - 51,2% vs 9,8%; 2020 - 49,3% vs 8,2%). Przez kolejne lata obserwujemy wzrost oporności na kolistynę, głównie u pałeczek *K. pneumoniae* MBL. Liczba wyizolowanych drobnoustrojów z mechanizmami oporności w latach 2020 - 2021 jest porównywalna do lat ubiegłych pomimo pandemii COVID-19. Nie stwierdzono różnic w odsetkach izolowanych drobnoustrojów oraz ich lekooporności w okresie przed i w czasie pandemii. Opracowanie mapy epidemiologicznej pozwala na szybkie włączenie metod zapobiegających szerzeniu się szczepów lekoopornych.

## **PROFIL LEKOWRAŻLIWOŚCI SZCZEPÓW *NEISSERIA GONORRHOEAE* IZOLOWANYCH W LATACH 2014-2021**

Joanna Bialecka<sup>1</sup>, Katarzyna Rak<sup>1</sup>, Marta Laskowska-Zientara<sup>1</sup>, Barbara Zawilińska<sup>2</sup>, Anna Bialecka<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Centrum Badań Mikrobiologicznych i Autoszczepionek imienia dr Jana Bobra sp. z o. o., Polska

<sup>2</sup> Zakład Molekularnej Mikrobiologii Medycznej, Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, Polska

E-mail: joanna.bialecka@cbm.com.pl

Rzeżączka jest chorobą zakaźną przenoszoną drogą płciową, której czynnikiem etiologicznym jest *Neisseria gonorrhoeae*. Diagnostyka rzeżączki oparta jest o hodowlę patogenu lub wykrycie jego materiału genetycznego metodami molekularnymi w wymazach z cewki moczowej, kanału szyki macicy, pochwy, rzadziej odbytu, gardła, worka spojówkowego. W związku ze wzrostem częstości stosowania technik molekularnych w diagnostyce oraz terapii empirycznej w leczeniu rzeżączki niewiele jest danych na temat lekowrażliwości szczepów, której oznaczenie wymaga hodowli drobnoustroju. Celem pracy była analiza profilu lekowrażliwości zgromadzonej kolekcji szczepów *N. gonorrhoeae* w kontekście aktualnych zaleceń EUCAST. Materiał i metody. Oznaczenie przeprowadzono dla 116 szczepów *N. gonorrhoeae* izolowanych z materiałów klinicznych w laboratorium mikrobiologicznym CBMiA w Krakowie. Szczepy pochodziły z niepowikłanych zakażeń rzeżączkowych od mężczyzn (89%) i kobiet (11%), przed oznaczeniem były przechowywane w temperaturze -80°C w mikrobankach. Badanie lekowrażliwości przeprowadzono z użyciem pasków gradientowych (Liofilchem, Italy), na podłożu Mueller Hinton Chocolate Agar (Liofilchem, Włochy) zgodnie z instrukcją producenta. Oznaczano MIC (mg/L) dla penicyliny, cefiksymu, ceftriaksonu, cefotaksymu, azytromycyny, ciprofloksacyny, tetracykliny i spektinomycyny. Lekowrażliwość interpretowano według zaleceń EUCAST 2022. Wykonano test cefinazowy w celu wykrycia  $\beta$ -laktamazy. Wyniki. Stwierdzono 100% wrażliwości szczepów *N. gonorrhoeae* na cefalospryny III generacji oraz spektinomycynę i 96% wrażliwości na azytromycynę. Spośród badanych izolatów 12.9% było opornych na penicylinę, 65% wykazywało obniżoną wrażliwość na ten antybiotyk, 10 szczepów było  $\beta$ -laktamazo dodatnich. Wykazano wysokie odsetki oporności na ciprofloksacynę (48.3%) i tetracyklinę (40.5%). Wniosek. Otrzymany obraz lekowrażliwości szczepów *N. gonorrhoeae* potwierdza, iż empiryczne leczenie rzeżączki ceftriaksonem lub cefiksymem oraz azytromycyną jest zasadne, natomiast stosowanie antybiotyków z innych grup musi być poprzedzone oznaczeniem wrażliwości szczepu klinicznego.

## **LEKOWRAŻLIWOŚĆ I MECHANIZMY OPORNOŚCI PAŁECZEK *ENTEROBACTERALES* IZOLOWANYCH OD PACJENTÓW HOSPITALIZOWANYCH W LATACH 2021-2022 W SZPITALU MSWiA W BIAŁYMSTOKU**

Tamara Daniluk<sup>1</sup>, Krzysztof Fiedoruk<sup>1</sup>, Ewelina Pikel<sup>1</sup>, Urszula Wnorowska<sup>1</sup>, Robert Bucki<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Lekarskiej i Inżynierii Nanobiomedycznej, Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Polska

E-mail: tamara.daniluk@umb.edu.pl

Ciągły wzrost liczby wielolekoopornych szczepów bakterii, takich jak pałeczki Enterobacterales wytwarzające  $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ES $\beta$ L) i karbapenemazy (CPE) jest dużym zagrożeniem dla ochrony zdrowia publicznego, związanym z ograniczeniem lub coraz częściej brakiem możliwości leczenia ciężkich zakażeń wywoływanych przez te drobnoustroje. Celem pracy była analiza wrażliwości szczepów pałeczek Gram-ujemnych Enterobacterales wytwarzających różne typy  $\beta$ -laktamaz (ES $\beta$ L, M $\beta$ L, AmpC) izolowanych z próbek materiałów klinicznych pobranych od pacjentów hospitalizowanych (w okresie od stycznia 2021 do kwietnia 2022) w Szpitalu MSWiA im. Mariana Zyndrama Kościółkowskiego w Białymstoku. Przebadano łącznie 155 szczepów wyizolowanych głównie z próbek moczu, dolnych dróg oddechowych, krwi oraz zakażonych ran. Wykrywanie poszczególnych  $\beta$ -laktamaz oraz ocenę wrażliwości na antybiotyki wykonano przy użyciu metody dyfuzyjno-krążkowej oraz systemu VITEK2 zgodnie z rekomendacjami EUCAST/KORDL. Obecność enzymów ES $\beta$ L stwierdzono u 120 szczepów, reprezentowanych głównie przez gatunki: *Klebsiella pneumoniae* (41,7%), *Escherichia coli* (33,3%) oraz *Proteus mirabilis* (16,6%). Natomiast metalo- $\beta$ -laktamazy wykryto jedynie wśród szczepów *K. pneumoniae*, z których 29 posiadało tylko M $\beta$ L a 2 szczepy oba typy  $\beta$ -laktamaz (ES $\beta$ L/M $\beta$ L). Pozostałe typy  $\beta$ -laktamaz – AmpC i hiperprodukcja SHV, odnotowano tylko u pojedynczych szczepów *E.coli* i *K.pneumoniae*. Niezależnie od gatunku większość szczepów cechowała oporność na ciprofloksacynę (88,2%) oraz kotrimoksazol (69,5%). Natomiast wysoka oporność na wszystkie aminoglikozydy (amikacynę, gentamycynę i tobramycynę) dotyczyła głównie szczepów *K. pneumoniae* (98,8%) oraz w mniejszym stopniu *E. coli* (39,5%). Podobnie 35,5% i 27,4% szczepów *K. pneumoniae* było odpowiednio opornych na tigecyklinę i kolistynę. Jest to szczególnie niepokojące mając na uwadze, że były to generalnie jedyne antybiotyki wykazujące aktywność wobec szczepów M $\beta$ L (+) tego gatunku.

*Źródło finansowania: subwencja – projekty naukowe (SUB/1/DN/19/001/1162) Uniwersytetu Medycznego w Białymstoku*

## LEKOWRAŻLIWOŚĆ I MECHANIZMY OPORNOŚCI SZCZEPÓW IZOLOWANYCH Z MIĘSA WIEPRZOWEGO

Sylwia Andrzejczak-Grządko<sup>1</sup>, Natalia Buda<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Uniwersytet Zielonogórski, Polska

E-mail: s.andrzejczak-grzadko@wnb.uz.zgora.pl

Lekooporność jest cechą obserwowaną wśród szczepów izolowanych od pacjentów szpitalnych, ale także od osób zdrowych. Ponadto liczne doniesienia mówią o bakteriach lekoopornych pochodzących od zwierząt domowych, hodowlanych i dzikich. W związku z tym, że drobnoustroje lekooporne, w tym producenci  $\beta$ -laktamaz i laktamaz ESBL, mogą być izolowani także z mięsa, łańcuch pokarmowy może stanowić istotne źródło przekazywania szczepów wytwarzających ESBL oraz genów ESBL do mikrobioty jelitowej człowieka. Celem pracy było określenie lekowrażliwości oraz scharakteryzowanie mechanizmów oporności na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe 21 szczepów z rodziny *Enterobacteriaceae* oraz 26 izolatów *Pseudomonas* spp. izolowanych ze 100 próbek mięsa wieprzowego pozyskanych od lokalnego producenta żywności.

Oznaczenie lekowrażliwości oraz zdolności szczepów do wytwarzania  $\beta$ -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym wykonano metodą krążkowo-dyfuzyjną zgodnie z wytycznymi EUCAST. Wśród 21 izolatów *Enterobacteriaceae* oznaczono 11 szczepów rodzaju *Serratia*, 5 z rodzaju *Rahnella*, 3 szczepy *Hafnia*, 1 szczep *Yersinia* i 1 szczep *Citrobacter*. Trzy z przebadanych szczepów (1 *Serratia* spp. i 2 *Hafnia* spp.) były odporne wyłącznie na zastosowane penicyliny (AMP, AML, AUG, PRL), natomiast u 10 izolatów (6 z rodzaju *Serratia*, 3 *Rahnella* spp. i szczep *Citrobacter*) wykazano oporność typu ESBL. Wszystkie szczepy były wrażliwe na meropenem i imipenem, a 11 wykazało wrażliwość w stosunku do aztreonamu. Spośród 26 przebadanych szczepów rodzaju *Pseudomonas*, 23 były odporne na ceftazydym, 17 wykazywało oporność na meropenem, a 16 na imipenem. Największą wrażliwość izolaty te wykazywały w stosunku do amikacyny (25 szczepów wrażliwych). Pozyskane izolaty wykazały się zróżnicowaną lekowrażliwością, przy jednocześnie wysokim stopniu oporności typu ESBL.

*Źródło finansowania:* Badanie współfinansowane ze środków budżetu województwa lubuskiego w ramach programu "Małe dotacje dotacje dla uczelni publicznych z terenu województwa lubuskiego".

## LEKOOPORNOŚĆ SZCZEPÓW *STREPTOCOCCUS CANIS* WYIZOLOWANYCH OD ZWIERZĄT TOWARZYSZĄCYCH

Ilona Stefańska<sup>1</sup>, Ewelina Kwiecień<sup>2</sup>, Magdalena Kizerwetter-Świda<sup>2</sup>, Dorota Chrobak-Chmiel<sup>2</sup>, Magdalena Rzewuska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Polska

<sup>2</sup> Katedra Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Polska

E-mail: [ilona\\_stefanska@sggw.edu.pl](mailto:ilona_stefanska@sggw.edu.pl)

Występowanie lekooporności wśród patogenów zwierzęcych stanowi coraz większy problem i zagrożenie dla zdrowia publicznego ze względu na możliwość przenoszenia się determinantów oporności pomiędzy tymi bakteriami a bakteriami chorobotwórczymi dla człowieka. *Streptococcus canis* należy do beta-hemolitycznych paciorkowców z grypy G wg Lancefield. Bakterie te są ważnymi czynnikami etiologicznymi różnego typu zakażeń u zwierząt towarzyszących. *S. canis* coraz częściej opisywany jest również jako patogen zoonotyczny, wywołujący u ludzi zarówno łagodne, jak i ciężkie inwazyjne zakażenia, takie jak zapalenie wsierdza, zapalenie płuc, sepsa, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Pomimo istotnego potencjału chorobotwórczego tych bakterii, niewiele jest danych dotyczących wrażliwości *S. canis* na chemioterapeutyki przeciwbakteryjne oraz genetycznych uwarunkowań obserwowanej oporności szczepów. Celem badań było określenie oporności na tetracyklinę 66 szczepów klinicznych *S. canis* wyizolowanych z zakażeń u psów i kotów. W badaniach wyznaczono wartości MIC tetracykliny zgodnie z wytycznymi CLSI VET08, a wyniki interpretowano zgodnie z rekomendacjami CA-SFM Vet2021 [[https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2021/12/CASFM\\_VET2021.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2021/12/CASFM_VET2021.pdf)]. U szczepów opornych (MIC > 8 mg/l) wykryto geny *tet* determinujące oporność nabytą na tetracykliny. Wśród badanych szczepów odnotowano wysoki odsetek oporności na tetracyklinę wynoszący 65,2% (43 szczepy). W przypadku 36 szczepów stwierdzono wysokie wartości MIC  $\geq$  128 mg/l. U 34 szczepów wykryto geny kodujące białka chroniące rybosomy należące do klasy *tet(O)* (27 szczepów), *tet(M)* (5 szczepów), *tet(T)* (1 szczep) oraz *tet(O)* i *tet(M)* równocześnie (1 szczep). U żadnego szczepu nie wykryto genów *tet(K)* i *tet(L)* kodujących białka odpowiedzialne za aktywne usuwanie antybiotyku z komórki (mechanizm *efflux pump*). Otrzymane wyniki świadczą o tym, że występujące u zwierząt towarzyszących szczepy *S. canis* są istotnym rezerwuarem genów oporności na tetracykliny. Obserwacja ta wskazuje na konieczność monitorowania lekowrażliwości wśród tych patogenów.

## TRUDNOŚCI W IDENTYFIKACJI I WYKRYWANIU OPORNOŚCI NA METYCYLINĘ KOAGULAZO-UJEMNYCH GRONKOWCÓW

Marta Katkowska<sup>1</sup>, Ewa Kwapisz<sup>1</sup>, Maria Wierzbowska<sup>1</sup>, Katarzyna Garbacz<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Jamy Ustnej, Gdański Uniwersytet Medyczny, Polska

E-mail: m.katkowska@gumed.edu.pl

Najważniejszym mechanizmem oporności na antybiotyki generowanym przez bakterie z rodzaju *Staphylococcus* jest oporność na metycylinę (MR). Wykrycie tego mechanizmu wyklucza z możliwości terapii wszystkie antybiotyki  $\beta$ -laktamowe oraz wiele innych grup antybiotyków. Zgodnie z rekomendacjami KORLD oznaczanie metacyliinooporności *Staphylococcus aureus* oraz koagulazo-ujemnych gatunków gronkowców (ang. coagulase-negative staphylococci – CNS) rutynowo opiera się na metodzie dyfuzyjno-krażkowej z cefoksytiną (30 $\mu$ g). Celem pracy było porównanie skuteczności detekcji metacyliinoopornych CNS przy użyciu czterech różnych metod. Materiał badań stanowiły 103 izolaty CNS wyizolowane z jamy ustnej, zidentyfikowane metodą MALDI-TOF. Do detekcji metacyliinooporności CNS użyto metody dyfuzyjno-krażkowej z cefoksytiną (30 $\mu$ g) i oksacyliną (1 $\mu$ g), metody rozcieńczeniowej oksacyliny w podłożu, wykrywania białka PBP2a metodą aglutynacji lateksowej oraz detekcji genów *mecA* i *mecC* metodą PCR. Wśród 103 koagulazo-ujemnych gronkowców wykryto 16 (15,5%) izolatów opornych na metycylinę (MRCNS), w oparciu o obecności białka PBP2a oraz genu *mecA*. Wykryte MRCNS należały do gatunków *S. haemolyticus* (5/16), *S. saprophyticus* (5/16), *S. epidermidis* (2/16), *S. equorum* (1/16), *S. hominis* (1/16), *S. pasteurii* (1/16) i *S. warneri* (1/16). Wśród 11 z 16 (68,8%) MRCNS pojawiły się rozbieżności pomiędzy fenotypową metodą dyfuzyjno-krażkową z cefoksytiną, a innymi metodami. Szczepy wrażliwe na cefoksytinę, wykazywały oporność na oksacylinę potwierdzoną wysokimi wartościami MIC w metodzie rozcieńczeniowej z oksacyliną oraz obecnością białka PBP2a i genu *mecA*. Największe wartości MIC dla oksacyliny (32mg/L) osiągnęły szczepy z gatunku *S. haemolyticus* oraz *S. epidermidis*. Uzyskane wyniki pokazały, że wykrywanie oporności na metycylinę wśród szczepów CNS z wykorzystaniem rekomendowanej metody dyfuzyjno-krażkowej z cefoksytiną (30 $\mu$ g) może nie zawsze dawać wiarygodne wyniki, co w konsekwencji może prowadzić do nieprawidłowego leczenia i niepowodzeń w terapii tych zakażeń.



## OCENA ANTYBIOTYKOOPORNOŚCI SZCZEPÓW *ENTEROCOCCUS* SPP. IZOLOWANYCH Z CHLEWNI

Katarzyna Grudlewska-Buda<sup>1</sup>, Krzysztof Skowron<sup>1</sup>, Justyna Bauza-Kaszewska<sup>2</sup>, Natalia Wiktorczyk-Kapischke<sup>1</sup>, Zbigniew Paluszak<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Mikrobiologii, Collegium Medicum im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska

<sup>2</sup> Katedra Mikrobiologii i Technologii Żywności, Politechnika Bydgoska im. J.J. Śniadeckich, Polska

E-mail: skowron238@wp.pl

Bakterie *Enterococcus* spp. są patogenami oportunistycznymi człowieka, odpowiedzialnymi za zakażenia dróg moczowych, skóry, wsierdza oraz za bakteriemię. Zwierzęta i bezpośredni kontakt z nimi stanowią istotne źródło zakażeń wywołanych przez *Enterococcus faecalis* i *E. faecium* u rolników, weterynarzy oraz pracowników farm hodowlanych i ubojni. Bardzo poważnym zagrożeniem związanym z enterokokami jest wzrost ich oporności na antybiotyki stosowane w terapii wywołanych przez nie zakażeń. Celem przeprowadzonych badań była ocena częstości występowania szczepów *E. faecalis* (EFA) i *E. faecium* (EFM) w środowisku fermy trzody chlewnej, ocena ich lekowrażliwości oraz określenie fenotypu i genotypu wankomycynooporności. Badane szczepy wyizolowane zostały z powierzchni (wymazy) oraz próbek odchodów pobranych w różnych sektorach produkcyjnych chlewni. Identyfikację gatunkową przeprowadzono z wykorzystaniem reakcji PCR. Stopień podobieństwa genetycznego badanych szczepów określono metodą RAPD. Wrażliwość szczepów *Enterococcus* spp. na antybiotyki określono z wykorzystaniem metody krążkowo-dyfuzyjnej, a dla wybranych antybiotyków (wankomycyny, teikoplaniny, gentamycyny, streptomycyny i kanamycyny) ustalono wartości minimalnych stężeń hamujących (MIC). Określenie genotypów oporności na glikopeptydy przeprowadzono z wykorzystaniem reakcji multipleks PCR z użyciem starterów specyficznych dla poszczególnych genotypów wankomycynooporności. Liczba izolatów *Enterococcus* sp. uzyskanych z 475 pobranych próbek wyniosła 160 (33,7%). Stwierdzono wśród nich 110 różnych genetycznie szczepów, w tym 82 (74,5%) EFA i 28 (25,5%) EFM. Największa liczba szczepów EFA (7; 8,5%) wykazała oporność na imipenem, natomiast wśród szczepów EFM najwięcej (5; 17,9%) było opornych na ampicylinę. Spośród badanych szczepów, odpowiednio, 6 (7,3%) EFA i 4 (14,3%) EFM były odporne na wankomycynę, a po 2 szczepy z każdego gatunku wykazywały oporność na linezolid. Liczba profili lekowrażliwości określona dla EFA wyniosła 18, a profil dominujący obejmował 64 (78,0%) szczepy wrażliwe na wszystkie badane antybiotyki. Taki sam profil lekowrażliwości wykazano dla 17 (60,7%) szczepów EFM i również dominował wśród wszystkich 10 profili. Analiza multipleks PCR wykazała obecność 4 szczepów EFA należących do genotypu *VanB*, 1 do *VanA* i 1 do *VanD*. Wśród badanych szczepów EFS dwa należały do genotypu *VanA* i dwa do genotypu *VanB*.

Oświadczenie: Prezentowana praca jest samodzielnym opracowaniem jej autorów.

## **OPORNOŚĆ SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS PSEUDINTERMEDIUS* OPORNYCH NA METYCYLINĘ NA TETRACYKLINY**

Magdalena Kizerwetter-Świda<sup>1</sup>, Dorota Chrobak-Chmiel<sup>2</sup>, Ewelina Kwiecień<sup>2</sup>, Ilona Stefańska<sup>2</sup>, Magdalena Rzewuska<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Polska

<sup>2</sup> Zakład Mikrobiologii, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Polska

E-mail: magdalena\_kizerwetter\_swida@sggw.edu.pl

*Staphylococcus pseudintermedius* jest oportunistycznym patogenem izolowanym najczęściej od psów, sporadycznie także od innych gatunków zwierząt oraz od ludzi. W ostatnich latach obserwuje się znaczny wzrost oporności na metycylinę wśród szczepów *S. pseudintermedius* (MRSP ang. methicilin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*). Izolaty te są odporne na wszystkie antybiotyki β-laktamowe oraz często wykazują wielolekooporność, co znacznie utrudnia wybór skutecznej terapii przeciwdrobnoustrojowej. Jedną z opcji terapeutycznych wobec szczepów MRSP stanowią tetracykliny. Oporność gronkowców na antybiotyki z tej grupy związana jest z występowaniem genów z grupy *tet*.

Celem podjętych badań było określanie wrażliwości 50 klinicznych izolatów MRSP na antybiotyki z grupy tetracyklin oraz porównanie wrażliwości *in vitro* z występowaniem genów *tetM* oraz *tetK*. Wrażliwość na tetracyklinę oraz minocyklinę określano przy pomocy krążkowo-dyfuzyjnej, obecność genów *tetK* oraz *tetM* wykrywano przy pomocy techniki PCR.

Oporność na tetracyklinę oraz minocyklinę stwierdzono odpowiednio u 82% oraz 48% badanych szczepów MRSP. Obecność genów *tetK* oraz *tetM* stwierdzono u 72% oraz 54% badanych szczepów. Ponadto, oba geny wykryto u 50% badanych szczepów. Uzyskane wyniki dowodzą, że minocyklina wykazuje aktywność *in vitro* wobec połowy klinicznych izolatów MRSP, natomiast tetracyklina jest aktywna jedynie wobec 18% szczepów. Molekularny mechanizm oporności najczęściej wynika z obecności genu *tetK* i wytwarzania białek odpowiedzialnych za aktywne usuwanie tetracyklin (z wyjątkiem minocykliny) z komórek gronkowców. Ponadto, u połowy badanych szczepów MRSP, u których występowały oba geny *tet*, może występować także mechanizm związany z wytwarzaniem białek chroniących rybosomy. Wyniki uzyskane w ramach przeprowadzonych badań dowodzą, że minocyklina może stanowić opcję terapeutyczną w leczeniu zakażeń wywołanych przez szczepy MRSP.

## **TOLERANCJA BIOFILMU SZCZEPÓW KLINICZNYCH Z GATUNKU *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* NA GENTAMICYNĘ**

Jana Przekwas<sup>1</sup>, Joanna Kwiecińska-Piróg<sup>1</sup>, Eugenia Gospodarek-Komkowska<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Katedra Mikrobiologii, Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska

E-mail: jana.przekwas@doktorant.umk.pl

Bakterie gatunku *Pseudomonas aeruginosa* stanowią szczególne zagrożenie dla pacjentów hospitalizowanych, m. in. ze względu na obecność czynników wirulencji. Jedną z najważniejszych cech wirulencji tych pałeczek jest zdolność do tworzenia biofilmu charakteryzującego się tolerancją wobec antybiotyków, dzięki czemu zwalczenie zakażenia jest wyjątkowo trudne. Celem niniejszej pracy było określenie tolerancji na gentamicynę biofilmu 21 szczepów klinicznych *P. aeruginosa* izolowanych z zakażeń ran przewlekłych. Szczepy badane zostały zidentyfikowane do gatunku za pomocą MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization Time-Of-Flight Mass Spectrometry, Becton-Dickinson, Franklin Lakes, USA). W pierwszym etapie badania oznaczono wartość MIC (Minimum Inhibitory Concentration) gentamicyny dla wszystkich badanych szczepów. Biofilm bakteryjny hodowano w płytkach 96-dołkowych przez 24 godziny w temperaturze 37°C, a następnie usuwano komórki planktoniczne. Dojrzały biofilm przemywano trzykrotnie za pomocą buforowanej soli fizjologicznej. W kolejnej dobie na biofilm działało gentamicyną w stężeniach subinhibicyjnych. Ponownie po 24 godzinach inkubacji w temperaturze 37°C usuwano komórki planktoniczne, a biofilm trzykrotnie przemywano. Następnie dołki płytki polistyrenowej wypełniano solą fizjologiczną i sonikowano. Uzyskane zawiesiny wysiewano po przeprowadzeniu szeregu rozcieńczeń na podłoże TSA (Tryptone-Soy Agar, Oxoid). Po 24-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C wyniki odczytywano zliczając liczbę jednostek tworzących kolonie. Badanie wykonano w trzech powtórzeniach. Dwa szczepy charakteryzowały się tak niską tolerancją, że gentamicyna w stężeniu subinhibicyjnym spowodowała eradykację rozumianą przez osiągnięcie wartości  $DK_{99}$  (Duration for Killing 99% of Population) po 24 godzinach. Jedenaście (52,4%) szczepów wykazało wysoką tolerancję biofilmu na gentamicynę (redukcję względem kontroli rzędu do 24,9%). Jedynie 4 (19,0%) szczepy wykazały niską tolerancję (redukcję względem kontroli rzędu od 75,0 do 100,0%). Pozostałych 6 (28,6%) szczepów ujawniło umiarkowaną tolerancję (redukcja względem kontroli rzędu od 25,0 do 74,9%). Na podstawie powyższych wyników można wnioskować, że gentamicyna w stężeniach subinhibicyjnych nie wykazuje wysokiej skuteczności w eradykacji dojrzałego biofilmu szczepów z gatunku *P. aeruginosa*.

# E-plakaty:

Nr streszczenia: 0200

## **STUDENCI JAKO GRUPA RYZYKA TRANSMISJI DROBNOUSTROJÓW WIELOLEKOOPORNYCH W SZPITALU KLINICZNYM**

Piotr Leszczyński<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zespół Kontroli Zakażeń Szpitalnych, SKDJ UCK WUM, Polska

E-mail: piotr.leszczynski@wum.edu.pl

Na podstawie wielu badań studentów medycyny zalicza się do grupy ryzyka transmisji szczepów wielolekoopornych. Naszym celem była weryfikacja tej hipotezy w grupie studentów WUM. Badanie przeprowadzono w jednej z klinik szpitala UCKWUM. Porównywaliśmy mikroflorę dłoni w grupach: studentów, pracowników ochrony zdrowia (lekarze i pielęgniarki), a także pacjentów i osób odwiedzających. Postawiono hipotezę badawczą, że mikroflora studentów nie odbiega od mikroflory pozostałych badanych grup. Materiał ze strony dłoniowej pobrano łącznie od 40 osób. Izolowane drobnoustroje oznaczano ilościowo do gatunku. Uzyskane wyniki nie potwierdzają istotnych różnic między studentami a pozostałymi grupami. Od żadnej z grup nie izolowano bakterii wielolekoopornych, co może świadczyć o sukcesie prowadzonej polityki pięciu momentów higieny rąk wg WHO.

## LEKOWRAŻLIWOŚĆ SZCZEPÓW *ERYSIPELOTHRIX RHUSIOPATHIE* IZOLOWANYCH OD DROBIU WODNEGO W POLSCE

Tomasz Nowak<sup>1</sup>, Karolina Wódz<sup>1</sup>, Marta Dec<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Weterynaryjne laboratorium diagnostyczne, Vet-Lab Brudzew Dr Piotr Kwieciński, Polska

<sup>2</sup> Katedra Prewencji Weterynaryjnej i Chorób Ptaków, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Polska

E-mail: marta.dec@up.lublin.pl

Zakażenia szczepami *Erysipelothrix rhusiopathiae* są istotnym problemem w produkcji drobiu wodnego. Choroba wywoływana przez te bakterie, zwaną różycą, rokrocznie jest odnotowywana przez lekarzy weterynarii nadzorującym stada gęsi i kaczek hodowanych w Polsce. Aktualnie nie ma żadnych danych literaturowych na temat lekowrażliwości szczepów *E. rhusiopathiae* zakażających drób, a aspekt ten ma istotne znaczenie nie tylko ze względu na ochronę stad, ale również ze względu na zoonotyczny potencjał patogenu. Celem pracy było określenie fenotypowych i genotypowych profili lekooporności szczepów *E. rhusiopathiae* wyizolowanych od gęsi (51 izolatów) i kaczek (3 izolaty) w latach 2019-2021. Zakażone ptaki pochodziły z kilkudziesięciu ferm drobiowych zlokalizowanych w Polsce. Lekowrażliwość szczepów oznaczono metodą rozcieńczeń w bulionie przy wykorzystaniu systemu Microunat AST (Merlin Diagnostika GmbH, Niemcy). Detekcję 21 genów oporności, w tym *tetK*, *tetL*, *tetM*, *tetO*, *tetW*, *ermA*, *ermB*, *ermC*, *ermA-like*, *mefA/E*, *lnuA*, *lnuB*, *lsaE*, *aac(6)-Ie-aph(2'')-Ia*, *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*, *aph(2'')-Ib*, *aph(2'')-Ic*, *aph(2'')-Id*, *ant(6)-Ia*, *blaZ* oraz genu kodującego transpozazę *Int-Tn* (Tn916/Tn1545), przeprowadzono za pomocą reakcji PCR. U badanych izolatów *E. rhusiopathiae* odnotowano bardzo wysoką częstotliwość występowania oporności na tetracykliny (68.5-94%), gentamycynę i neomycynę (100%), fluorichinolony (96-98%) i trimetoprim/sulfometoksazol (85%). Ok 40% izolatów odznaczało się opornością na streptomycynę (42,5%) oraz linkomycynę (41%). Niższa częstotliwość oporności dotyczyła tiamuliny (35%) i makrolidów (20-24%). Tylko 3 izolaty (5.5%) wykazywały oporność na penicylinę, a wszystkie były wrażliwe na amoksycylinę i ceftiofur. U 91% izolatów odnotowano występowanie genu *tetM* (w tym u 49 z 51 fenotypowo opornych na oksytetracyklinę) oraz transpozonu Tn916/Tn1545. U kilku szczepów (2-15% izolatów) potwierdzono obecność genów *tetO*, *lnuB*, *lsaE* i *ant(6')-Ia*. Podsumowując, antybiotyki beta-laktamowe są rekomendowane jako leki pierwszego rzutu w terapii zakażeń włoskowcem różycy, natomiast antybiotyki z grupy tetracyklin, gentamycyna, neomycyna, fluorochinolony i trimetoprim/sulfometoksazol w ogóle nie powinny być brane pod uwagę jako środki terapeutyczne w przebiegu różycy u drobiu wodnego. Wyjaśnienie mechanizmu oporności na makrolidy u szczepów *E. rhusiopathiae* wymaga przeprowadzenia dalszych badań.

## **ZAKAŻENIA POWODOWANE PRZEZ RZADKIE GATUNKI GRONKOWCÓW KOAGULAZOUJEMNYCH - PERSPEKTYWY LECZENIA ZAKAŻEŃ WYWOŁYWANYCH PRZEZ SZCZEPY METYCYLINOOPORNE**

Magdalena Szemraj<sup>1</sup>, Paulina Glajzner<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi, Polska

E-mail: magdalena.szemraj@umed.lodz.pl

Gatunki koagulazoujemnych gronkowców takie jak *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. simulans* czy *S. warneri* są coraz częściej izolowane z przypadków ciężkich zakażeń łożyska krwi, przypadków infekcji skóry i tkanek miękkich, a także zakażeń dróg moczowych. Gronkowce te stają się poważnym wyzwaniem terapeutycznym, jeśli wykazują jednocześnie, oporność na metycylinę i na inne grupy antybiotyków. Podobnie jak w wypadku gronkowców złocistych wówczas w leczeniu stosowane są antybiotyki glikopeptydowe - najczęściej wankomycyna.

Celem naszej pracy była ocena wrażliwości 80 szczepów koagulazoujemnych gronkowców na wankomycynę i heterogenności ich populacji w kontekście bezpieczeństwa stosowania wankomycyny w terapii. *S. haemolyticus* były izolowane z krwi i ran, *S. hominis* - z krwi, *S. simulans* pochodziły z wymazów z ran, a *S. warneri* z oka, otrzewnej, ran i cewki moczowej. Wykonano antybiogramy rozszerzone i oznaczenia wartości MIC zgodnie z wytycznymi EUCAST. Poszukiwano genów *mecA*, *vanA* i *vanB*. Dla szczepów o obniżonej wrażliwości na wankomycynę analizowano profile populacji (PAP) i heterooporność.

Spośród badanych szczepów, 49 było fenotypowo opornych na metycylinę, co potwierdzała obecność genu *mecA*. Były to wszystkie szczepy *S. hominis* (19) i większość *S. haemolyticus* (19) oraz 11 szczepów pozostałych gatunków. Pomimo, że wykazywały one zgodnie z wytycznymi EUCAST wrażliwość na wankomycynę jedenaście szczepów, w tym *S. haemolyticus* (7), *S. hominis* (2) i *S. warneri* (2) wykazywało wartości graniczne wrażliwości na ten antybiotyk, która jak się okazało, wynikała z heterogenności ich populacji.

Wykazanie heterooporności na wankomycynę praktycznie nie jest możliwe w rutynowym badaniu w laboratorium szpitalnym. W wypadku jednak, gdy wartości MIC dla badanego szczepu są równe 1-2 mg/L wydaje się konieczna konsultacja laboratorium z klinicystami w celu oceny ryzyka, zwłaszcza, gdy pacjent był wcześniej leczony wankomycyną.

## **ROLA MUTACJI PUNKTOWYCH ORAZ GENÓW KODOWANYCH PLAZMIDOWO W OPORNOŚCI NA MUPIROCYNĘ ORAZ KWAS FUSYDOWY U SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* POCHODZĄCYCH OD PACJENTÓW Z ATOPOWYM ZAPALENIEM SKÓRY**

Mateusz Ziomek<sup>1</sup>, Leszek Blicharz<sup>2</sup>, Zbigniew Samochocki<sup>2</sup>, Lidia Rudnicka<sup>2</sup>, Grażyna Młynarczyk<sup>3</sup>, Ksenia Szymanek-Majchrzak<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Studenckie Koło Naukowe przy Katedrze i Zakładzie Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

<sup>2</sup> Katedra i Klinika Dermatologiczna, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

<sup>3</sup> Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Polska

E-mail: ksenia.szymanek-majchrzak@wum.edu.pl

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą dermatozą, której podłoże obejmuje predyspozycje genetyczne, zaburzoną barierę naskórkową oraz rozregulowane funkcjonowanie układu odpornościowego. Pacjenci z AZS są szczególnie predysponowani do kolonizacji przez *Staphylococcus aureus* (57-100% chorych). W okresach nasilenia symptomów dermatozy często dochodzi do manifestacji objawowych zakażeń o etiologii *S. aureus*. Antybiotykoterapia empiryczna zmian skórnych w przebiegu AZS w ~40% przypadków polega na stosowaniu mupirocyny (MUP) lub kwasu fusydowego (FUS). Celem pracy było określenie występowania oraz podłoża genetycznego mechanizmów oporności u analizowanych szczepów *S. aureus* na MUP oraz FUS. Badano 112 szczepów *S. aureus*, pochodzących z trzech lokalizacji, tj.: 34 ze skóry zdrowej; 42 ze skóry zmienionej atopowo, ale nie zakażonej; 36 z błony śluzowej przedsionka jamy nosowej; od 41 pacjentów z potwierdzonym klinicznie (wg skali SCORAD) AZS. Pozyskane w ramach współpracy naukowej z Kliniką Dermatologiczną WUM izolaty identyfikowano przy zastosowaniu metody spektrometrii masowej VITEK MS, firmy Biomerieux, zgodnie z instrukcją producenta, a następnie archiwizowano w kriobanku Katedry i Zakładu Mikrobiologii Lekarskiej WUM. Lekowrażliwość szczepów oznaczono przy zastosowaniu standardowych metod wg EUCAST. Obecność genów *mupA/mupB* oraz *fusB/fusC/fusD* weryfikowano przy zastosowaniu techniki PCR. Mutacje punktowe w genach *ileS*, *fusA/efg*, *fusF/rpl* analizowano w sekwencjach amplikonów pozyskanych przy zastosowaniu metody wg Sanger'a z użyciem znakowanych fluorescencyjnie dideoksynukleotydów. Oporność (R) na MUP i FUS stwierdzono u 7 (6.25%) i 14 (12.5%) analizowanych *S. aureus*, pochodzących odpowiednio od trzech i sześciu pacjentów. 3/7 izolatów MUP-R oraz 4/14 FUS-R pochodziło ze skóry atopowo zmienionej. 100% izolatów MUP-R wyrażało fenotyp wysokiej oporności, co korelowało z występowaniem genu *mupA*. Wśród 13 szczepów FUS-R, wyrażających fenotyp oporności na niskim poziomie jedynie u trzech stwierdzono występowanie genu oporności *fusB*. Nie wykryto genów *fusC/fusD*. U szczepu FUS-R wyrażającego oporność na wysokim poziomie stwierdzono obecność 2/8 mutacji SNP typu missense w genie *fusA* (pozycje: 199G→A, aa 67Ala→Thr oraz 1369C→T, 457His→Tyr). Wśród *S. aureus* pochodzących od pacjentów z AZS oporność na mupirocynę stanowi zagrożenie epidemiologiczne, natomiast na kwas fusydowy jest najprawdopodobniej powiązana z presją selekcyjną antybiotykoterapii empirycznej.



## WYSTĘPOWANIE WYBRANYCH GENÓW ZWIĄZANYCH Z USUWANIEM LEKÓW U SZCZEPÓW *CORYNEBACTERIUM* *JEIKEIUM*

Daria Borowicz<sup>1</sup>, Agnieszka Mikucka<sup>1</sup>, Tomasz Bogiel<sup>1</sup>, Marcin Woźniak<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Katedra Mikrobiologii, Collegium Medium im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska

<sup>2</sup> Katedra Medycyny Sądowej, Collegium Medium im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, Polska

E-mail: a.mikucka@cm.umk.pl

*Corynebacterium jeikeium* to lipofilne pałeczki Gram-dodatnie, wchodzące w skład mikrobioty skóry i błon śluzowych człowieka. Szczepy tego gatunku nie są częstym czynnikiem zakażeń szpitalnych, ale są przedmiotem badań ze względu na wielolekooporność, łatwość tworzenia biofilmu i oportunistyczny charakter zakażeń u pacjentów z grup ryzyka. Do czynników predysponujących do wystąpienia zakażeń o etiologii *C. jeikeium* należą inwazyjne procedury diagnostyczne i lecznicze, długotrwała antybiotykoterapia i hospitalizacja, obecność biomateriałów oraz choroby podstawowe, np. nowotwory krwi. Opisano udział *C. jeikeium* w zapaleniu wsierdza, najczęściej u chorych z obecnością sztucznych zastawek serca, cewników naczyniowych oraz poddawanych hemodializom. Wielolekooporność (Multidrug Resistant, MDR) szczepów *C. jeikeium* warunkowana może być przez różne mechanizmy. Jednym z nich jest obecność genów związanych z usuwaniem leków z komórki bakteryjnej. Celem pracy była ocena lekowrażliwości szczepów *C. jeikeium*, ocena występowania pięciu genów oporności na antybiotyki związanych z usuwaniem leków z komórki bakteryjnej (*matE*, *dinF*, *ImrB*, *jk0701* i *jk1309*) oraz ocena korelacji fenotypów oporności z występowaniem poszczególnych genów. Badaniu poddano 60 szczepów pochodzących z kolekcji Katedry Mikrobiologii Collegium Medicum im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu, izolowanych w latach 2000-2019. Materiałami, z których najczęściej izolowano *C. jeikeium* była krew (38,0%) oraz wymazy z rany (15,0%). Ocenę lekowrażliwości szczepów wykonano zgodnie z rekomendacjami EUCAST, metodą krążkowo-dyfuzyjną oraz gradientowo-dyfuzyjną, w celu określenia wartości MIC. Wszystkie szczepy były wrażliwe na wankomycynę i linezolid, a odporne na penicylinę. Wysoki odsetek szczepów opornych dotyczył klindamycyny, ciprofloksacyny i moksifloksacyny. Wśród badanych szczepów wyodrębniono 8 fenotypów oporności, z czego pięć było typu MDR. Gen *jk0701* wykryto u 85% szczepów, *matE* u 76,7%, *ImrB* u 35%, a geny *jk1309* i *dinF* u 23,3% szczepów. Obecność poszczególnych genów nie korelowała z konkretnymi fenotypami oporności. Ze względu na częste występowanie wielolekooporności u szczepów *C. jeikeium* oraz nieliczne prace na temat obecności genów związanych z usuwaniem leków z komórki i ich związku z opornością na antybiotyki, istotne jest prowadzenie dalszych badań w tym zakresie.

Źródło finansowania: Podstawowa działalność badawcza Katedry Mikrobiologii CM UMK (PDB 839)

## **WYKRYCIE B-LAKTAMAZ TYPU NDM-1 U BAKTERII *ACINETOBACTER BAUMANNII* IZOLOWANYCH Z MATERIAŁÓW POCHODZĄCYCH OD PACJENTÓW SZPITALA UNIWERSYTECKIEGO W KRAKOWIE.**

Anna Pałka<sup>1</sup>, Anna Kujawska<sup>2</sup>, Tomasz Wołkowicz<sup>3</sup>, Jolanta Kędzierska<sup>1</sup>, Estera Jachowicz<sup>4</sup>, Dorota Romaniszyn<sup>4</sup>, Mateusz Gajda<sup>4</sup>, Rafał Gierczyński<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Szpital Uniwersytecki, Polska

<sup>2</sup> UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI - Collegium Medicum, Polska

<sup>3</sup> Zakład Bakteriologii i Zwalczania Skażeń Biologicznych PZH-NIZP, Polska

<sup>4</sup> Katedra Mikrobiologii, UNIWERSYTET JAGIELLOŃSKI - Collegium Medicum, Polska

E-mail: [estera.jachowicz@gmail.com](mailto:estera.jachowicz@gmail.com)

W ostatnich latach *Acinetobacter baumannii* okazał się jednym z najgroźniejszych drobnoustrojów występującym m.in. w środowisku szpitalnym. Naturalna oporność, jak również liczne nabyte enzymatyczne i nieenzymatyczne mechanizmy oporności spowodowały, że szczepy *A. baumannii* są trudne w eradykacji i leczeniu. Wrażliwość bakterii *Acinetobacter baumannii* najczęściej ogranicza się do kolistyny, ampicyliny z sulbaktamem lub aminoglikozydów.

Celem pracy była analiza występowania  $\beta$ -laktamaz u pałeczek *Acinetobacter baumannii* izolowanych z materiałów klinicznych i przesiewowych pobranych od pacjentów Szpitala Uniwersyteckiego w Krakowie. Analizie poddano 239 szczepów *Acinetobacter baumannii* opornych na karbapenemy: izolowanych z próbek materiałów pobranych w przebiegu zakażeń dolnych dróg oddechowych, układu moczowego, zakażeń krwi oraz ran. Identyfikację drobnoustrojów wykonano metodą spektrometrii mas (VITEK MS), natomiast ocenę obecności  $\beta$ -laktamaz wykonano metodą sekwencjonowania całych genomów (WGS, Whole Genome Sequencing), we współpracy z Narodowym Instytutem Zdrowia Publicznego PZH w Warszawie. U wszystkich badanych izolatów *Acinetobacter baumannii* wykryto naturalne cefalosporyny typu ADC-25. Dominującym typem  $\beta$ -laktamaz były karbapenemazy typu OXA tj. OXA-66, OXA-72 oraz OXA-23 i  $\beta$ -laktamazy TEM-1D. Stwierdzono również u 39 szczepów  $\beta$ -laktamazę NDM-1 (New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase). Narastająca antybiotykooporność pałeczek *Acinetobacter baumannii* stanowi ogromne zagrożenie dla pacjentów leczonych w Oddziałach Intensywnej Terapii oraz chorych z obniżoną odpornością. Metallo- $\beta$ -laktamazy typu NDM, wcześniej kojarzone głównie z pałeczkami *Enterobacterales*, są coraz częściej wykrywane u *Acinetobacter baumannii*. Jest to niepokojące zjawisko, ze względu na łatwość transmisji genu NDM między bakteriami i tym samym możliwości szerzenia się oporności na karbapenemy w środowisku szpitalnym. Ponadto, brak możliwości wykrywania enzymów NDM u pałeczek *Acinetobacter baumannii* z zastosowaniem rutynowych metod fenotypowych sprawia, że nowoczesne techniki molekularne są niezbędne w monitorowaniu sytuacji epidemiologicznej w szpitalach.

Badanie finansowane ze środków programów badawczych U1C/W41/NO/28.17 oraz SZPITAL-  
JEDNOIMIENNE/18/2020