

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW

Postępy Mikrobiologii

Advancements of Microbiology

Kwartalnik

Tom 60

Zeszyt 4•2021

PAŹDZIERNIK – GRUDZIEŃ

CODEN:

PMKMAV 60 (4)

2021

Impact Factor = 0,947 (2020)

Punktacja MNiSW = 20,00 (2019)

<http://www.pm.microbiology.pl>

RADA REDAKCYJNA

JACEK BARDOWSKI (Instytut Biochemii i Biofizyki PAN), DARIUSZ BARTOSIK (Uniwersytet Warszawski),
JACEK BIELECKI (Uniwersytet Warszawski), RYSZARD CHRÓST (Uniwersytet Warszawski),
JERZY DŁUGOŃSKI (Uniwersytet Łódzki), NADZIEJA DRELA (Uniwersytet Warszawski),
EUGENIA GOSPODAREK-KOMKOWSKA (Collegium Medicum w Bydgoszczy, Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu),
JERZY HREBENDA (Uniwersytet Warszawski), WALERIA HRYNIEWICZ (Narodowy Instytut Leków),
MAREK JAKÓBISIAK (Warszawski Uniwersytet Medyczny), JACEK MIĘDZOBRODZKI (Uniwersytet Jagielloński),
ANDRZEJ PIEKAROWICZ (Uniwersytet Warszawski), ANTONI RÓŻAŁSKI (Uniwersytet Łódzki),
ALEKSANDRA SKŁODOWSKA (Uniwersytet Warszawski), RADOSŁAW STACHOWIAK (Uniwersytet Warszawski),
BOGUSŁAW SZEWCZYK (Uniwersytet Gdański), ELŻBIETA TRAFNY (Wojskowa Akademia Techniczna),
STANISŁAWA TYLEWSKA-WIERZBANOWSKA (Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego),
GRZEGORZ WĘGRZYN (Uniwersytet Gdański), PIOTR ZIELENKIEWICZ (Uniwersytet Warszawski)

REDAKCJA

JACEK BIELECKI (Redaktor Naczelny)
Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
tel. 22 5541304; e-mail: jbielecki@biol.uw.edu.pl

RADOSŁAW STACHOWIAK (Zastępca)
Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa
e-mail: radeks@biol.uw.edu.pl

JAROSŁAW A. PANKOWSKI (Sekretarz)
Sieć Badawcza Łukasiewicz – Instytut Chemii Przemysłowej, ul. Starościańska 5, 02-516 Warszawa
e-mail: post.mikrobiol@biol.uw.edu.pl

ADRES REDAKCJI

Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski
ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa;
e-mail: post.mikrobiol@biol.uw.edu.pl

REDAKTORZY

MONIKA ADAMCZYK-POPLAWSKA (Uniwersytet Warszawski), GABRIELA BUGLA-PŁOSKOŃSKA (Uniwersytet Wrocławski)
HENRYK KRUKOWSKI (Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie), BOŻENA NEJMAN-FALEŃCZYK (Uniwersytet Gdański)
RENATA MATLAKOWSKA (Uniwersytet Warszawski), EDYTA PODSIADŁY (Uniwersyteckie Centrum Kliniczne WUM)
ADRIANNA RACZKOWSKA (Uniwersytet Warszawski)
AGATA GORYLUK-SALMONOWICZ (Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie)
AGNIESZKA KWIATEK (Uniwersytet Warszawski), AGNIESZKA SZCZEPANKOWSKA (Instytut Biochemii i Biofizyki PAN)
PIOTR ZALESKI (Instytut Biotechnologii i Antybiotyków)

PUBLIKACJE METODYCZNE I STANDARDY

Redaktor odpowiedzialny: STEFANIA GIEDRYS-KALEMBA (Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie)

Adres Redaktora działu Publikacje Metodyczne i Standardy
ul. Malinowa 11, 72-003 Wołczkowo
tel. 605031324; fax 91 3113186; e-mail: kalemba@mp.pl

ISBN 978 - 83 - 923731 - 3 - 1

Informacja o zdjęciu na okładce:

Komórki z rodzaju *Yersinia*.

Preparatyka: dr Jagoda Płaczekiewicz i dr hab. Agnieszka Kwiatek, Zakład Wirusologii Molekularnej,
Instytut Mikrobiologii, Uniwersytet Warszawski.

Zdjęcie: dr Paweł Bącał, Instytut Paleobiologii PAN Polskiej Akademii Nauk.

Obraz SEM uzyskano przy użyciu aparatury zakupionej w ramach projektu CePT POIG.02.02.00-14-024/08-00.

P O L S K I E T O W A R Z Y S T W O M I K R O B I O L O G Ó W

Skład i druk: Zakład Wydawniczy Letter Quality, tel.: 607 217 879
e-mail: roma.walendzewicz@gmail.com; projekt okładki: Jerzy Grzegorkiewicz

NOWOŚCI W LEKACH PRZECIWBAKTERYJNYCH ZAREJESTROWANYCH PRZEZ EUROPEJSKĄ AGENCJĘ LEKÓW – ODPOWIEDŹ NA RAPORT WHO Z 2017 R. O GLOBALNYM PROBLEMIE WIELOLEKOOPORNOŚCI

Joanna Krajewska, Agnieszka Ewa Laudy*

Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Wpłynęło w lipcu, zaakceptowano we wrześniu 2021 r.

Streszczenie: Problem narastającej oporności drobnoustrojów został zakwalifikowany przez Światową Organizację Zdrowia (WHO) jako jedno z dziesięciu największych zagrożeń dla ludzkości. W specjalnym raporcie z 2017 roku WHO przedstawiła listę bakterii, dla których poszukiwanie nowych opcji terapeutycznych jest priorytetowe. Za najpilniejsze działanie uznano poszukiwanie nowych antybiotyków skutecznych wobec opornych na karbapenemy szczepów *Acinetobacter baumannii* i *Pseudomonas aeruginosa* oraz opornych na karbapenemy i cefalosporyny III generacji szczepów *Enterobacterales* (tzw. patogeny o krytycznym priorytecie). Wysoki priorytet przypisano również poszukiwaniu leków aktywnych m.in. wobec szczepów *Staphylococcus aureus* opornych na metycylinę (MRSA) i wankomycynę (VRSA) oraz *Enterococcus faecium* opornych na wankomycynę (VRE). Od czasu publikacji raportu WHO, Europejska Agencja Leków (EMA) dopuściła do obrotu w sumie 6 nowych antybiotyków szerokospektralnych, z 6 różnych grup, skierowanych w różnym stopniu wobec szczepów priorytetowych wg WHO. Dwa spośród nich to nowe połączenia karbapenemów z nie-β-laktamowymi inhibitorami β-laktamaz (o aktywności także wobec karbapenemaz), należącymi do dwóch nowych grup inhibitorów: diazabicyklooktanowych (relebaktam, skojarzony z imipenemem) oraz boronowych (waborbaktam, skojarzony z meropenemem). Trzeci nowy lek to cefalosporyna sideroforowa (cefiderokol) o innowacyjnym mechanizmie wnikania do komórki bakteryjnej. Kolejne dwa antybiotyki to nowy fluorochinolon (delafloksacyna) i nowa tetracyklina (erawacyklina), zaprojektowane i zsyntezowane z myślą o zwiększonej skuteczności w stosunku do starszych przedstawicieli tych grup. Ostatni, innowacyjny antybiotyk to lefamulina – pierwsza pleuromutylna zarejestrowana do stosowania ogólnego u ludzi. Nowe rejestracje poszerzyły liczbę dostępnych opcji terapeutycznych w leczeniu m.in. powikłanych zakażeń dróg moczowych (meropenem/waborbaktam, cefiderokol), powikłanych zakażeń wewnętrznych (meropenem/waborbaktam, erawacyklina), szpitalnych zapaleń płuc (meropenem/waborbaktam, imipenem/relebaktam), ostrych bakteryjnych zakażeń skóry i tkanek podskórnych (delafloksacyna) oraz pozaszpitalnych zakażeń płuc (lefamulina).

1. Wstęp 2. Boronowe inhibitory β-laktamaz 3. Diazabicykloktanowe inhibitory β-laktamaz 4. Cefalosporyny sideroforowe 5. Nowe fluorochinolony 6. Nowe tetracykliny 7. Pleuromutyliny 8. Podsumowanie

THE EUROPEAN MEDICINES AGENCY APPROVED THE NEW ANTIBACTERIAL DRUGS – RESPONSE TO THE 2017 WHO REPORT ON THE GLOBAL PROBLEM OF MULTI-DRUG RESISTANCE

Abstract: The growing problem of antimicrobial resistance has been classified by the World Health Organization (WHO) as one of the top ten threats to mankind. In a special report published in 2017, the WHO presented a list of microorganisms for which the search for new therapeutic options is a priority. The highest (critical) priority was given to the search for new antibiotics active against carbapenem-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* as well as against carbapenem- and third-generation-cephalosporin-resistant *Enterobacterales* strains (so-called critical priority pathogens). Whereas the second (high) priority was given among others to the search for new antibiotics active against methicillin- and vancomycin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA and VRSA) and vancomycin-resistant strains of *Enterococcus faecium* (VRE). Since the publication of the WHO report the European Medicines Agency has approved 6 novel, broad-spectrum antibiotics, from 6 different groups, addressing the priority pathogens to a different extent. Two of them are new combinations of carbapenems with non-β-lactam inhibitors of β-lactamases (active also against carbapenemases), belonging to two novel groups of inhibitors: diazabicyclooctanes (relebactam, combined with imipenem) and boronates (vaborbactam, combined with meropenem). The third new drug is a siderophore cephalosporin (cefiderocol) with an innovative mechanism of penetration into the bacterial cell. The next two antibiotics are the new fluoroquinolone (delafloxacin) and the new tetracycline (eravacycline), designed and synthesized to be more active than older members of these groups. The last innovative antibiotic is lefamulin – the first pleuromutilin approved for systemic use in humans. New approvals have expanded the number of available therapeutic options in the treatment of complicated urinary tract infections (meropenem/vaborbactam, cefiderocol), complicated intra-abdominal infections (meropenem/vaborbactam, eravacycline), nosocomial pneumonia (meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam), acute bacterial skin and skin structure infections (delafloxacin) and community-acquired pneumonia (lefamulin).

1. Introduction 2. Boronate β-lactamases inhibitors 3. Diazabicyclooctane β-lactamases inhibitors 4. Siderophore cephalosporins 5. New fluoroquinolones 6. New tetracyclines 7. Pleuromutilins 8. Summary

Słowa kluczowe: delafloksacyna, erawacyklina, inhibitory β-laktamaz, siderofory, waborbaktam
Keywords: delafloxacin, eravacycline, β-lactamases inhibitors, siderophores, vaborbactam

* Autor korespondencyjny: Agnieszka E. Laudy, Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Centrum Badań Przedklinicznych i Technologii (CEPT), ul. Banacha 1 b, 02-097 Warszawa, Poland, e-mail: alaudy@wp.pl

1. Wstęp

Narastająca lekooporność drobnoustrojów to według Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization – WHO) jedno z dziesięciu największych zagrożeń dla ludzkości. W 2017 roku WHO opublikowała specjalny raport, zawierający listę patogenów, dla których poszukiwanie nowych opcji terapeutycznych jest priorytetowe, ze względu na coraz bardziej ograniczoną pulę antybiotyków możliwych do wykorzystania w leczeniu wywoływanych przez nie infekcji [121]. Na liście znalazło się w sumie 12 patogenów, podzielonych na 3 kategorie pod względem pilności w poszukiwaniu nowych, aktywnych wobec nich opcji terapeutycznych. W pierwszej grupie patogenów o najwyższym, krytycznym priorytecie znalazły się odporne na karbapenemy pałeczki Gram-ujemne. Jako najgroźniejsze uznano odporne na karbapenemy szczepy *Acinetobacter baumannii* (carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* – CRAB), następnie szczepy *Pseudomonas aeruginosa* (carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* – CRPA) i na trzecim miejscu szczepy z rzędu *Enterobacterales* (carbapenem-resistant *Enterobacterales* – CRE). Do grupy tej należą także szczepy *Enterobacterales* odporne na cefalosporyny III generacji oraz *Mycobacterium tuberculosis* i inne prątki kwasooporne. Natomiast wielolekooporne szczepy ziarenkowców Gram-dodatnich zostały zaklasyfikowane przez WHO do drugiej grupy patogenów o wysokim priorytecie konieczności poszukiwania dla nich nowych leków. Do grupy tej włączono szczepy *Staphylococcus aureus* odporne na metycylinę (methicillin-resistant *S. aureus* – MRSA) i wankomycynę (vancomycin-resistant *S. aureus* – VRSA), *Enterococcus faecium* odporne na wankomycynę, a ponadto *Helicobacter pylori* odporne na klarytromycynę, *Campylobacter* spp. i *Salmonella* spp. odporne na fluorochinolony oraz *Neisseria gonorrhoeae* odporne na fluorochinolony i cefalosporyny III generacji [121].

Najpoważniejszym problemem wśród krytycznie priorytetowych patogenów jest ich oporność na karbapenemy, związana z wytwarzaniem rozkładających je enzymów (karbapenemaz), bądź z niespecyficznymi mechanizmami, takimi jak zmniejszenie przepuszczalności błony zewnętrznej oraz nadekspresja genów kodujących pompy błonowe (efflux pumps) [26, 37, 60]. Karbapenemazy występujące wśród szczepów pałeczek Gram-ujemnych należą głównie do klas A, B i D wg klasyfikacji Amblera [4]. Dotychczas opisano jedynie nieliczne karbapenemazy z klasy C np. enzym ADC-68 u *A. baumannii*. Spośród enzymów klasy A największe znaczenie kliniczne mają plazmidowe karbapenemazy typu KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapenemase), przede wszystkim warianty KPC-2 oraz KPC-3 [37]. Są one szeroko rozpowszechnione u szczepów *Enterobacterales*, a głównie u szczepów *K. pneumoniae* i coraz

częściej u szczepów *E. coli*. Zdolność do ich wytwarzania wykazano także u szczepów Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących tj. *P. aeruginosa*, a ostatnio u *A. baumannii*. Kodujące je geny zlokalizowane są w transpozonach w dużych plazmidach koniugacyjnych, co stwarza możliwość łatwego ich horyzontalnego transferu. W terapii zakażeń wywołanych przez szczepy KPC-dodatnie można jedynie stosować kolistynę, tygocyklinę i niekiedy aminoglikozydy. O wiele mniejsze znaczenie kliniczne mają szczepy wytwarzające karbapenemazy z rodziny GES (Guiana extended-spectrum β -lactamase). Enzymy GES wykrywane są stosunkowo rzadko zarówno u szczepów *P. aeruginosa* jak i pałeczek *Enterobacterales*, a geny je kodujące zlokalizowane są najczęściej w integronach klasy 1 [37].

Spośród enzymów klasy B wg Amblera (metalo- β -laktamaz – MBL) najczęściej u szczepów pałeczek Gram-ujemnych na całym świecie występują obecnie enzymy rodziny NDM (New Delhi metallo- β -lactamase) [37]. Pierwotnie enzymy typu MBL stwarzały problem terapeutyczny głównie u szczepów *P. aeruginosa*. W Europie, także w Polsce, dominowały enzymy z rodziny VIM (Verona integrated-encoded metallo- β -lactamase), a na Dalekim Wschodzie enzymy IMP (imipenemase). W 2009 roku opisano pierwszy przypadek wytwarzania enzymu NDM-1 u *Enterobacterales*, a w kolejnych latach doszło do szerokiego rozpowszechnienia zdolności wytwarzania enzymów NDM głównie u *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa* oraz innych pałeczek. Szeroki zakres substratowy enzymów MBL (rozkładają wszystkie β -laktamy oprócz monobaktamów) w połączeniu z łatwym transferem horyzontalnym kodujących je genów (zlokalizowanych w plazmidach, integronach lub transpozonach) oraz brakiem możliwości do zastosowania w lecznictwie inhibitora (są hamowane m.in. przez EDTA) sprawiają, że enzymy te stanowią istotny problem kliniczny. Za największe zagrożenie uważa się szczepy NDM-dodatnie, które jednocześnie zawierają w swoich genomach także geny kodujące inne β -laktamazy (AmpC, OXA-48, VIM, KPC) oraz geny warunkujące oporność na inne antybiotyki (aminoglikozydy i fluorochinolony). Szczepy wytwarzające enzymy MBL pozostają zazwyczaj wrażliwe na kolistynę, tygocyklinę i fosfomicynę [37].

Karbapenemazy z klasy D wg Amblera to oksacylinazy z rodziny OXA, których zakres substratowy został rozszerzony i mają zdolność hydrolizy także karbapenamów. Największe znaczenie kliniczne mają enzymy grupy CHDL (carbapenem-hydrolyzing class D β -lactamases) oraz β -laktamaza OXA-48. Enzymy CHDL są dominującym mechanizmem oporności na karbapenemy u szczepów *A. baumannii* [79, 102]. Oprócz naturalnie występującego chromosomalnego enzymu OXA-51-like u szczepów *A. baumannii* wykrywane są najczęściej karbapenemazy CHDL z grupy

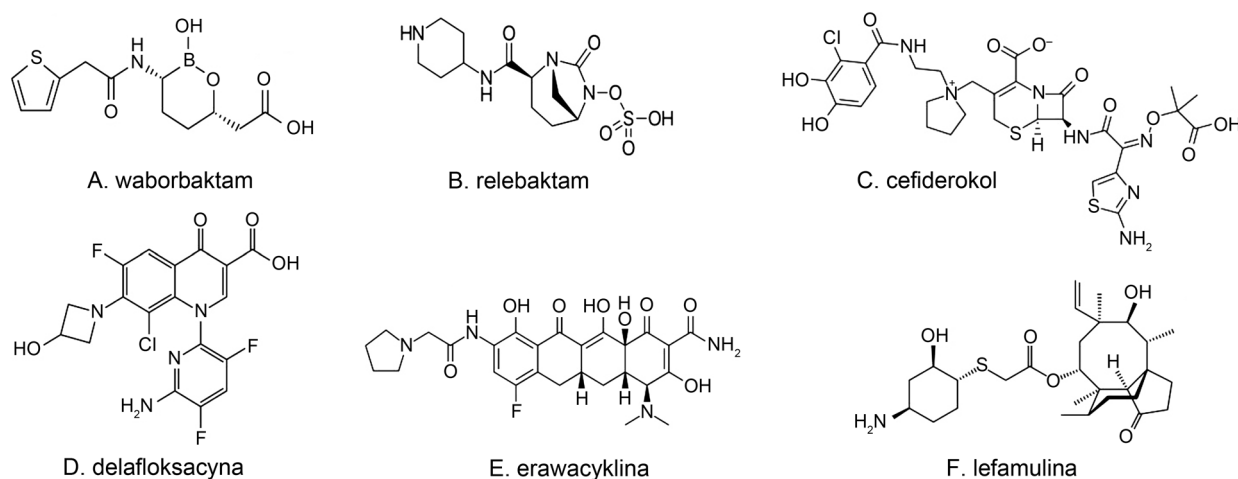
OXA-23-like oraz OXA-24-like. Natomiast karbapenemaza OXA-48 występuje powszechnie u pałeczek z rzędu *Enterobacterales*. Aktywność hydrolityczna karbapenemazy klasy D wobec karbapenemów i cefalosporyn jest mniejsza w porównaniu do enzymów typu MBL oraz KPC. Jednakże obecność sekwencji insercyjnych (IS*Aba*) poprzedzających geny *bla*_{CHDL} znacznie zwiększa oporność szczepów *A. baumannii* na karbapenemy. Szczepy *A. baumannii* CRAB ze względu na wielorakość innych mechanizmów oporności jakie u nich jednocześnie występują zaliczane są do najgroźniejszych patogenów, wobec których WHO zaleca priorytetowe poszukiwanie nowych opcji terapeutycznych.

Oporność na karbapenemy opisano również wśród szczepów *Enterobacterales* jak i Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących, które nie wytwarzają karbapenemazy. Przyczyną braku wrażliwości szczepów na karbapenemy może być ograniczenie przepuszczalności błony zewnętrznej, skutek obniżenia liczebności lub zmiany w konformacji poryn, przez które karbapenemy wnikają do wnętrza komórki, tzw. mechanizm influx [26]. Obniżenie liczebności lub brak poryn OprD był pierwszym opisanym mechanizmem oporności *P. aeruginosa* na imipenem. Ten mechanizm oporności na karbapenemy opisano także u szczepów *K. pneumoniae* (związany z porynami OmpK35 i OmpK36), *E. coli* (związany z porynami OmpC i OmpF) oraz u *A. baumannii* (przede wszystkim CarO). Ważną rolę odgrywa również mechanizm aktywnego usuwania antybiotyków z komórek bakteryjnych przez systemy pomp błonowych tzw. mechanizm efflux – u szczepów CRE największe znaczenie mają pompy z rodziny RND (np. systemy AcrAB-TolC u *E. coli* jak i u *K. pneumoniae*) u szczepów CRPA systemy MexAB-OprM i MexXY, a u szczepów CRAB system AdeABC [60]. Bardzo często w oporności pałeczek Gram-ujemnych na karbapenemy biorą udział jednocześnie dwa lub trzy mechanizmy, takie jak wytwarzanie dwóch różnych karbapenemaz i/lub zaburzenie wnikania antybiotyku do wnętrza komórek i/lub aktywne usuwanie leków przy udziale systemów pomp błonowych.

Wśród patogenów z drugiej grupy wg WHO, o wysokim priorytecie, dominującymi problemami jest oporność szczepów gronkowców na metycylinę i glikopeptydy oraz oporność enterokoków na glikopeptydy [121]. Metycylinooporność gronkowców związana jest z obecnością genu *mecA* lub jego homologów tj. *mecB*, *mecC* lub *mecD* warunkujących syntezę zmienionego białka PBP-2a, nieposiadającego powinowactwa do antybiotyków β-laktamowych (oprócz ceftaroliny i ceftobiprolu) [28]. Geny *mec* zlokalizowane są w obrębie dużego mobilnego fragmentu DNA tj. SCC*mec* (ang. staphylococcal cassette chromosome *mec*). Oprócz oporności na β-laktamy, szczepy MRSA są również zazwyczaj odporne na aminoglikozydy, fluorochinolony,

makrolidy i linkozaminy. Często pozostają natomiast wrażliwe na ceftarolinę, ceftobiprol, linezolid, tygocyklinę, daptomycynę, dalbawancynę i ryfampicynę. Po pojawieniu się opornych na metycylinę gronkowców, lekiem z wyboru w leczeniu wywołanych przez nie infekcji stała się wankomycyna. Wkrótce jednak pojawiły się również szczepy o obniżonej wrażliwości na ten antybiotyk (vancomycin intermediate-resistant *Staphylococcus aureus* – VISA), a także (rzadziej) szczepy odporne na wankomycynę (vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* – VRSA) [28]. Przyczyny obniżonej wrażliwości fenotypu VISA na wankomycynę wciąż nie są do końca wyjaśnione. Najprawdopodobniej związane jest to ze zmianą struktury ściany komórkowej i zmniejszeniem jej przepuszczalności dla wankomycyny. Natomiast całkowita oporność na wankomycynę, fenotyp VRSA, warunkowana jest obecnością operonu zawierającego gen *vanA*. Wykazano iż operon ten zlokalizowany był w transpozonie Tn1546, pochodzącym z plazmidu koniugacyjnego enterokoków. To właśnie u enterokoków po raz pierwszy zaobserwowano oporność na wankomycynę. Wśród szczepów VRE (vancomycin-resistant enterococci) wywołujących zakażenia szpitalne znacznie częściej oporność na wankomycynę wykazują izolaty *E. faecium* niż *E. faecalis* [95]. Gen *vanA* jak i inne wykryte dotychczas geny *van* (*vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE*, *vanG*, *vanL*, *vanM*, *vanN*) warunkujące oporność lub obniżoną wrażliwość enterokoków na wankomycynę odpowiadają za syntezę zmienionego fragmentu peptydowego D-alanylo-D-alaniny w prekursorze ściany komórkowej, powstaje D-alanylo-D-mleczan lub D-alanylo-D-seryna. Następuje więc zmiana miejsca docelowego działania glikopeptydów co wyraża się w różnych poziomach oporności izolatów. Oprócz szczepów VRE i MRSA izolowane są także szczepy odporne jednocześnie na linezolid, co może stanowić poważny problem kliniczny. Oporność patogenów priorytetowych na fluorochinolony wynika natomiast przede wszystkim z mutacji w genach kodujących topoisomerazę II czyli gyrazę (w genach *gyrA*) i topoisomerazę IV (w genach *parC* u *E. coli* oraz *grlA* u gronkowców), co skutkuje syntezą zmienionych podjednostek tych enzymów, o zmniejszonym powinowactwie do fluorochinolonów [42]. Dodatkowo, fluorochinolony są substratami dla wielu pomp MDR u patogenów priorytetowych, np. AdeABC u *A. baumannii*, MexAB-OprM u *P. aeruginosa*, AcrAB-TolC u *Enterobacterales*, NorA u *S. aureus*, CmeABC u *Campylobacter* spp. czy NorM u *N. gonorrhoeae* [42].

Od czasu publikacji raportu WHO z 2017 roku alarmującego w sprawie poszukiwania nowych skutecznych leków przeciwko groźnym patogenom, na rynku europejskim zostało zarejestrowanych przez Europejską Agencję Leków (European Medicines Agency – EMA) sześć nowych antybiotyków z 6 różnych grup,



Rycina 1. Wzory strukturalne nowych związków przeciwbakteryjnych

Struktury nowych związków aktywnych wobec priorytetowych patogenów wg WHO, dopuszczonych do obrotu na terenie Unii Europejskiej od 2018 roku: A) waborbaktam – boronowy inhibitor β -laktamaz (skojarzony z meropenemem); B) relebaktam – diazabicyklooktanowy inhibitor β -laktamaz (skojarzony z imipenemem/cilastatyną); C) cefiderokol – cefalosporyna sideroforowa; D) delafloksacyna – fluorochinolon IV generacji; E) erawacyklina – pierwsza w pełni syntetyczna tetracyklina; F) lefamulina – pierwsza pleuromutylina do stosowania ogólnego u ludzi.

adresujących w różnym stopniu priorytety WHO. Dwa spośród nich to nowe połączenie karbapenemów z nie- β -laktamowymi inhibitorami β -laktamaz (o aktywności także wobec karbapenemaz), z dwóch nowych grup: inhibitorów diazabicyklooktanowych (relebaktam, skojarzony z imipenemem) oraz boronowych (waborbaktam, skojarzony z meropenemem). Sukces jakim było dopuszczenie po wielu latach do obrotu nowych inhibitorów β -laktamaz z dwóch dotychczas nie stosowanych grup chemicznych spowodowało rozszerzenie zakresu poszukiwań nowych inhibitorów [12, 19, 39]. Poszukiwanie nowych sposobów na pokonanie bariery jaką jest błona zewnętrzna bakterii Gram-ujemnych zaowocowały natomiast wprowadzeniem na rynek cefiderokolu – cefalosporyny sideroforowej. Wykorzystanie sideroforów w projektowaniu leków jest nowatorskim podejściem do koncepcji współczesnego leku [80, 119]. Zarówno nowe połączenie karbapenemów z inhibitorami β -laktamaz jak i cefiderokol są w różnym stopniu aktywne wobec krytycznych patogenów WHO. Dwa kolejne oryginalne antybiotyki to nowy fluorochinolon (delafloksacyna) oraz nowa tetracyklina (erawacyklina), których cząsteczki zostały zaprojektowane i zsyntezowane z myślą o zwiększonej skuteczności oraz zminimalizowanej podatności na bakteryjne mechanizmy oporności, typowe dla starszych przedstawicieli tych grup. Oba antybiotyki są aktywne wobec wielu patogenów o wysokim priorytecie wg WHO. Ostatni z nowych antybiotyków to lefamulina – pierwszy przedstawiciel grupy pleuromutylin zarejestrowany do stosowania ogólnego u ludzi. Charakterystyczną cechą tej grupy antybiotyków jest unikatowa struktura (spełniająca kryteria innowacyjności WHO), rzadkie występowanie oporności oraz aktywność wobec patogenów o wysokim priorytecie wg WHO. Natomiast szczepy pałeczek Gram-ujemnych tj.

P. aeruginosa, *A. baumannii* oraz *Enterobacterales* są na lefamulinę naturalnie odporne. Niniejszy artykuł zawiera przegląd nowych, szerokospektralnych antybiotyków, aktywnych wobec priorytetowych patogenów wg WHO, dopuszczonych do obrotu na terenie Unii Europejskiej od 2018 roku (Rycina 1).

2. Boronowe inhibitory β -laktamaz

Boronowe inhibitory β -laktamaz to stosunkowo nowa klasa związków, z cyklicznym kwasem boronowym jako farmakoforem. Waborbaktam (wcześniej RPX7009) został otrzymany w ramach programu ukierunkowanego na poszukiwanie inhibitora β -laktamaz serynowych, szczególnie typu KPC [39]. Waborbaktam jest monocyklicznym, odwracalnym inhibitorem kompetycyjnym enzymów z klasy A wg Amblera (z rodzin CTX-M, KPC, BKC, FRI, SME, TEM, SHV) oraz C (AmpC), z którymi tworzy kowalencyjne wiązania między ugrupowaniem boronowym a katalitycznym centrum serynowym. Inhibicja KPC przez waborbaktam nie powoduje jego inaktywacji oraz charakteryzuje się ekstremalnie wolną odwracalnością. Jednocześnie, waborbaktam nie działa na enzymy klasy B (np. NDM, VIM) oraz D (np. OXA-48), nie hamuje ludzkich proteaz serynowych ani nie wykazuje bezpośredniej aktywności przeciwbakteryjnej w stężeniach terapeutycznych [15, 39, 111]. W badaniach *in vitro* wykazano, że waborbaktam silniej obniża wartości MIC karbapenemów niż pozostałych β -laktamów, stąd do dalszych badań wytypowano kombinację meropenem-waborbaktam [66].

W testach przeprowadzonych z udziałem klinicznych izolatów pałeczek Gram-ujemnych (*E. coli*, *Enterobacter* spp., *K. pneumoniae*, *A. baumannii* oraz *P. aeruginosa*)

potwierdzono, że waborbaktam zwiększa aktywność meropenemu wobec opornych na karbapenemy szczepów *Enterobacterales* ale nie wobec szczepów *P. aeruginosa* oraz *A. baumannii* [59, 97]. W dużych badaniach przeglądowych ogólny odsetek szczepów wrażliwych na meropenem/waborbaktam wśród *Enterobacterales* wynosił 99,3% i był wyższy niż dla meropenemu (96,9%). Natomiast wśród *Enterobacterales* opornych na karbapenemy waborbaktam przywracał aktywność meropenemu u 73,9% szczepów, a wśród szczepów wytwarzających KPC aż u 99,5%. Waborbaktam nie przywracał wrażliwości na meropenem szczepom wytwarzającym metalo- β -laktamazy oraz enzymy typu OXA-48 [88], a także szczepom *A. baumannii*, *P. aeruginosa* i *Stenotrophomonas maltophilia* [14]. Podobne wyniki uzyskano analizując wrażliwość kolekcji szczepów klinicznych *E. coli* opornych na karbapenemy, pochodzących z całego świata, w której ogólny odsetek szczepów wrażliwych na meropenem/waborbaktam wynosił 6% i był niższy tylko od odsetka szczepów wrażliwych na tygecyklinę (100%) i amikacynę (74%). Wrażliwość była większa wśród szczepów pochodzących z Ameryki Łacińskiej (88%) a mniejsza wśród szczepów izolowanych w Europie (75%) i w Azji (51%) [52]. Również w pracy Zhou i wsp. [129] stwierdzono, że odsetek szczepów *K. pneumoniae* z podwyższonymi wartościami MIC meropenemu z waborbaktamem w Chinach jest wyższy niż w innych rejonach geograficznych, prawdopodobnie wskutek rozpowszechnienia w tym rejonie szczepów z defektami w obu głównych porynach (OmpK35 oraz OmpK36) zaangażowanych we wnikanie karbapenemów do komórki bakteryjnej.

Narastający problem zakażeń szczepami wytwarzającymi metalo- β -laktamazy (i w związku z tym opornymi na wszystkie β -laktamy oprócz aztreonamu) w połączeniu z brakiem skutecznego inhibitora tych enzymów, spowodował, że podjęte zostały również próby skojarzenia meropenemu/waborbaktamu z aztreonanem – monobaktamem opornym na działanie karbapenemaz ale rozkładanym przez szereg enzymów serynowych. Jak dotąd w badaniach *in vitro* wykazano, że meropenem/waborbaktam działa synergistycznie z aztreonanem wobec wielolekoopornych szczepów *K. pneumoniae* oraz *E. coli* wytwarzających zarówno enzymy typu NDM jak i β -laktamazy serynowe [11, 70]. Skuteczność tej kombinacji wymaga jednak dalszych badań.

Obserwowana jak dotąd oporność szczepów na meropenem/waborbaktam była najczęściej związana z wytwarzaniem metalo- β -laktamaz [15], mutacjami w genach kodujących białka poryn (OmpK35, OmpK36) [24, 66, 108] odpowiedzialnych za wnikanie leku czyli influx i/lub nadekspresją systemów pompy AcrAB-TolC [15] biorących udział w mechanizmie wyrzutowym (tzw. efflux), rzadziej w efekcie nadprodukcji KPC związanej ze zwiększeniem liczby kopii

genów *bla*_{KPC} [108]. Jak dotąd, nie opisano przypadku oporności związanej z mutacją w genach *bla*_{KPC}.

W badaniach klinicznych wykazano, że meropenem/waborbaktam (podawany 2 g/2 g co 8 h) jest nie gorszy niż piperacylina/tazobaktam (4 g/0,5 g co 8 h) u pacjentów z powikłanym zakażeniem układu moczowego (complicated urinary tract infection – cUTI) [55]. Wyniki ostatniego z badań klinicznych (TANGO II) wskazują ponadto, że meropenem-waborbaktam jest skuteczniejszy od najlepszej dostępnej terapii (best available treatment – BAT) u pacjentów z potwierdzonym lub podejrzeniem zakażenia opornymi na karbapenemy *Enterobacterales* oraz dodatkowymi obciążeniami, takimi jak: niewydolność nerek, deficyty odporności czy wcześniejsza antybiotykoterapia [9, 10]. W grupie chorych leczonych meropenemem/waborbaktamem obserwowano lepszą wyleczalność, niższą śmiertelność oraz niższą nefrotoksyczność [9].

Na rynku europejskim od 20.11.2018 roku zarejestrowany jest preparat zawierający meropenem z waborbaktamem w postaci proszku do sporządzania infuzji (1 g/1 g) pod nazwą handlową Vaborem [20]. Jego wskazania rejestracyjne obejmują leczenie powikłanych zakażeń układu moczowego (w tym odmiedniczkowego zapalenia nerek), powikłanych zakażeń w obrębie jamy brzusznej, szpitalnych zapaleń płuc (także respiratorowych) oraz zakażeń wywołanych tlenowymi drobnoustrojami Gram-ujemnymi u pacjentów dorosłych, z ograniczonymi możliwościami leczenia.

3. Diazabicyklooktanowe inhibitory β -laktamaz

Relebaktam (wcześniej MK-7655) jest drugim po awibaktamie, nie- β -laktamowym inhibitorem β -laktamaz z grupy pochodnych diazabicyklooktanowych, dopuszczonym do stosowania w lecznictwie [20]. Relebaktam jest strukturalnie podobny do awibaktamu, zawiera jednak dodatkowy pierścień piperydynowy, zapewniający cząsteczce dodatni ładunek w fizjologicznym pH, kluczowy dla obniżenia jej podatności na aktywne usuwanie przez systemy pomp w zjawisku efflux. W badaniach biochemicznych wykazano, że relebaktam jest inhibitorem enzymów klasy A (typu KPC) oraz klasy C (typu AmpC, m.in. AmpC *Pseudomonas*-derived cephalosporinase-3, PDC-3), a dodatkowo (podobnie jak imipenem) nie jest on substratem dla systemów pomp MDR u *P. aeruginosa* [7, 12, 124]. Brak podatności połączenia imipenem/relebaktam na usuwanie go z komórek bakteryjnych przez systemy pomp MDR *P. aeruginosa* oraz aktywność relebaktamu wobec enzymów AmpC sprawiły, że do dalszych badań wytypowano tę właśnie kombinację. W badaniach *in vitro* potwierdzono, że relebaktam faktycznie zwiększa aktywność imipenemu wobec szczepów *Enterobacterales*,

których oporność na karbapenemy związana była z wytwarzaniem enzymów typu KPC lub u których obserwowano wytwarzanie β -laktamaz typu AmpC bądź ESBL przy jednoczesnym zmniejszeniu przepuszczalności błony zewnętrznej (mutacje w OmpK36). Jak również obserwowano to zjawisko u szczepów *P. aeruginosa* z defektem wytwarzania poryn OprD oraz (w wyższych stężeniach preparatu) wobec szczepów *P. aeruginosa* MDR. Podobnie jak waborbaktam, relebaktam nie jest jednak inhibitorem metalo- β -laktamaz (NDM, IMP, VIM) ani enzymów klasy D (OXA), nie wykazuje również bezpośredniej aktywności przeciwbakteryjnej [36, 40, 63]. W warunkach *in vitro* opisano również synergistyczne oddziaływanie imipenemu/relebaktamu z amikacyną oraz kolistyną wobec szczepów *P. aeruginosa* opornych na imipenem [6].

W wielu dużych badaniach przeglądowych testowano wrażliwość na imipenem/relebaktam szczepów klinicznych izolowanych od pacjentów z zakażeniami m.in. dolnych dróg oddechowych, dróg moczowych i zakażeniami wewnątrzbrzuszными [53, 54, 64, 65]. Wykazano, że w obecności relebaktamu następuje obniżenie stężenia imipenemu, które powoduje zahamowanie wzrostu większości klinicznych szczepów *Enterobacteriales* (także opronych na karbapenemy), chociaż wartości MIC imipenemu dla szczepów *Serratia marcescens* są z reguły wyższe niż dla pozostałych gatunków. Odsetki wrażliwych na imipenem/relebaktam szczepów *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., i *Enterobacter* spp. kształtowały się na poziomie ponad 95%. Natomiast wśród *S. marcescens* odsetek szczepów wrażliwych był niższy. Imipenem/relebaktam jest również skuteczny wobec szczepów *P. aeruginosa* (odsetki szczepów wrażliwych powyżej 90%), za wyjątkiem szczepów produkujących β -laktamazy klas B lub D. Wśród szczepów opornych na karbapenemy wrażliwe na imipenem/relebaktam pozostaje od 42 do 66% szczepów *Enterobacteriales* oraz od 74 do 78% szczepów *P. aeruginosa*. Relebaktam nie zwiększa jednak aktywności imipenemu wobec szczepów *Acinetobacter* spp. [53, 54, 64, 65, 115].

Zaobserwowana oporność pałeczek Gram-ujemnych na imipenem/relebaktam wynika głównie z wytwarzania metaloenzymów. U szczepów *P. aeruginosa* może również wynikać ze zdolności do wytwarzania karbapenemazy klasy A z rodziny GES oraz nadekspresji genów kodujących enzymy PDC w połączeniu z utratą białka porynowego OprD [65, 124]. Natomiast u *Enterobacteriales* przyczyną oporności może być wytwarzanie oksacylinaz o aktywności karbapenemazy np. OXA-48, a także mutacje w genach kodujących białka poryn oraz spadek liczebności tych poryn (OmpK35, OmpK36, OmpC i OmpF) i tym samym ograniczenie wnikania imipenemu/relebaktamu do komórek bakteryjnych [30, 51].

W badaniach klinicznych wykazano, że imipenem (podawany 500 mg co 6 h) w skojarzeniu z relebaktamem (125 mg lub 250 mg co 6 h) jest kuracją dobrze tolerowaną i nie gorszą niż samodzielnie zastosowany imipenem w grupie pacjentów z powikłanymi zakażeniami wewnątrzbrzuszными oraz z powikłanymi zakażeniami dróg moczowych [67, 101]. Imipenem/relebaktam charakteryzował się również porównywalną skutecznością oraz mniejszą nefrotoksycznością niż zastosowanie imipenemu i kolistyny w leczeniu skojarzonym zakażeń wywołanych przez pałeczki Gram-ujemne odporne na imipenem [78]. Na podstawie uzyskanych wyników preparat zawierający imipenem/cylastatynę (gdzie cylastatyna jest inhibitorem dehydrogenazy I, enzymu nerkowego, który unieczynnia imipenem) z relebaktamem (Recarbrio 500 mg/500 mg + 250 mg, proszek do sporządzania roztworu do infuzji) został 13.02.2020 roku dopuszczony przez EMA do stosowania w leczeniu szpitalnych zapaleń płuc (także związanych z wentylacją mechaniczną) oraz w leczeniu zakażeń bakteriami Gram-ujemnymi u osób dorosłych z ograniczonymi możliwościami terapeutycznymi [20].

4. Cefalosporyny sideroforowe

Cefiderokol jest przedstawicielem nowej grupy antybiotyków – cefalosporyn sideroforowych [80]. Siderofory to zróżnicowana strukturalnie grupa cząsteczek o niskiej masie (150–2000 Da), o właściwościach chelatujących z dużym powinowactwem do żelaza [119]. Żelazo jest pierwiastkiem niezbędnym do funkcjonowania wielu enzymów, a w związku z tym także dla mikroorganizmów. Jego pozyskiwanie przez bakterie jest jednak utrudnione ze względu na niską rozpuszczalność żelaza przy fizjologicznym pH w warunkach tlenowych, w których dochodzi do utleniania łatwo przyswajalnych jonów Fe(II) do Fe(III) i powstawania nierozpuszczalnych tlenowodorotlenków. Ponadto, mechanizmy obronne pacjenta powodują dalsze ograniczanie dostępności żelaza w miejscu infekcji w związku z wydzielaniem własnych białek wiążących jony żelaza, takich jak lipokalina 2, nazywana również siderokaliną lub lipokaliną neutrofilową związaną z żelatynazą (neutrophil gelatinase associated lipocalin – NGAL). W celu pozyskania odpowiedniej ilości żelaza bakterie wytwarzają i wydzielają do środowiska zewnątrzkomórkowego siderofory, których zadaniem jest związanie jonów żelaza i ich przetransportowanie do wnętrza komórki. Jak dotąd zidentyfikowano ponad 500 różnych sideroforów. Charakterystycznymi elementami strukturalnymi w ich cząsteczkach są chelatujące żelazo grupy funkcyjne (hydroksamiany, katechole, karboksylany, ugrupowania fenolanowe lub ich kombinacje) przyłączone do liniowego lub cyklicznego

szkieletu tworzącego heksadentatową strukturę. Po związaniu jonu żelaza, powstały kompleks (ferrosiderofor) jest wchłaniany na zasadzie transportu aktywnego. U bakterii Gram-ujemnych cały kompleks przekracza zarówno błonę zewnętrzną jak i błonę wewnętrzną, a związane żelazo jest uwalniane w cytoplazmie. Alternatywnie, żelazo może być uwalniane w przestrzeni periplazmatycznej [119].

Pierwsze próby wykorzystania sideroforów do transportu antybiotyków do wnętrza komórki podjęto już w latach 70. XX wieku, a strategię tę nazwano „metodą konia trojańskiego” (trojan horse approach) [80]. Cefiderokol (wcześniej S-649266, GSK2696266) jest pierwszym tego typu antybiotykiem wprowadzonym do leczenia. Jest stosowany w postaci tosylanu siarczanu cefiderokolu. Jest to katecholowa cefalosporyna sideroforowa, wyselekcjonowana spośród innych pochodnych o podobnej strukturze, w trakcie programu ukierunkowanego na znalezienie nowego antybiotyku aktywnego wobec szczepów opornych na karbapenemy [5]. Cefiderokol wykazuje podobieństwo strukturalne do cefepimu, takie jak obecność grupy piroolidyniowej przy łańcuchu bocznym C-3 zwiększającej aktywność przeciwbakteryjną i stabilność wobec β -laktamaz, oraz grupy karboksypropanoksyiminonowej przy łańcuchu C-7 ułatwiającej transport cefiderokolu przez błonę zewnętrzną. Dodatkowo, cefiderokol posiada również grupę chlorokatecholową na końcu łańcucha C-3, odpowiadającą za aktywność sideroforową [96].

Zasadniczy mechanizm działania cefiderokolu polega na hamowaniu syntezy ściany komórkowej poprzez wiązanie z białkami PBP (głównie PBP-3). Cefiderokol, po związaniu żelaza, dociera do przestrzeni periplazmatycznej w drodze transportu aktywnego, w który zaangażowane są m. in. transportery CirA i FiuA u *E. coli* oraz PiuA u *P. aeruginosa*. Ten mechanizm transportu eliminuje problem oporności związanej z obniżeniem liczby poryn w błonie zewnętrznej lub nadekspresji pomp MDR odpowiedzialnych za zjawisko efflux [96]. Dodatkowo, cząsteczka cefiderokolu jest oporna na szeroki wachlarz β -laktamaz, zarówno serynowych (KPC-3, OXA-23, AmpC) jak i metalo- β -laktamaz (IMP-1, VIM-2) [46, 47]. Oporność może jednak być wynikiem mutacji w obrębie genów kodujących białka PBP, białka związanego z regulacją wychwyty jonów żelaza lub białka transportującego siderofory, a także wytwarzaniem β -laktamaz zdolnych do hydrolizy cefiderokolu (typu NDM, PER) oraz nadekspresją natywnych sideroforów bakteryjnych [58, 69, 96].

Cefiderokol wykazuje wysoką aktywność wobec szerokiego spektrum bakterii Gram-ujemnych, zarówno przedstawicieli *Enterobacterales* (*Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *S. marcescens*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* spp., *Yersinia* spp.) jak i pałeczek niefermentujących (*Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp.,

Burkholderia spp., *S. maltophilia*) oraz *Vibrio* spp. [48]. Nie wykazuje natomiast aktywności wobec tlenowych bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp.) oraz bakterii beztlenowych. Cefiderokol jest również aktywny wobec szczepów wytwarzających różne β -laktamazy, takie jak typu KPC, VIM, NDM i OXA-48 u *Enterobacterales*, czy typu VIM, IMP, NDM i GES u *P. aeruginosa* lub enzymy CHDL z grup OXA-23, OXA-24/40 i OXA-58 u *A. baumannii* [48]. Wrażliwość klinicznych szczepów *Enterobacterales* oraz pałeczek niefermentujących była badana w kilku międzynarodowych badaniach przeglądowych [27, 35, 106]. Jak dotąd, odsetki wrażliwych na cefiderokol szczepów izolowanych od pacjentów m.in. ze szpitalnym zapaleniem płuc, zakażeniem krwi, powikłanymi zakażeniami wewnątrzbrzusznymi oraz powikłanymi zakażeniami dróg moczowych kształtują się na poziomach >95%, niezależnie od regionu geograficznego. Niższy odsetek obserwowano jedynie w przypadku szczepów *K. pneumoniae* (88%).

W badaniach klinicznych wykazano, że cefiderokol (podawany w dawce 2 g co 8 h) jest nie mniej skuteczny w leczeniu powikłanych zakażeń dróg moczowych (cUTI) niż imipenem (w dawce 1 g co 8 h) w badaniu APEKS-cUTI [89] oraz nie mniej skuteczny w leczeniu szpitalnych zapaleń płuc (także związanych z wentylacją mechaniczną) niż meropenem (w dawce 2 g co 8 h) w badaniu APEKS-NP [122]. Wykazano również, że cefiderokol posiada podobną kliniczną oraz mikrobiologiczną skuteczność w leczeniu ciężko chorych pacjentów zakażonych opornymi na karbapenemy szczepami pałeczek Gram-ujemnych w porównaniu do najlepszej dostępnej terapii (best available therapy – BAT), chociaż w grupie osób leczonych cefiderokolem odnotowano również wyższą śmiertelność, głównie wśród pacjentów z zakażeniami wywoływanymi przez *Acinetobacter* spp. [8]. Cefiderokol został zarejestrowany przez EMA 23.04.2020 roku pod nazwą Fetcroja 1 g, proszek do sporządzania koncentratu roztworu do infuzji. Jego aktualne wskazania rejestracyjne obejmują leczenie zakażeń wywoływanych przez tlenowe bakterie Gram-ujemne u osób dorosłych, z ograniczonymi opcjami terapeutycznymi [20].

5. Nowe fluorochinolony

Delafloksacyna (wcześniej WQ-3034, ABT-492) jest nowym fluorochinolonom IV generacji i pierwszym anionowym związkami w tej grupie [57, 112]. Jej cząsteczka wyróżnia się przede wszystkim brakiem zasadowej grupy w pozycji C7 (co zapewnia kwasowe właściwości), obecnością chloru w pozycji C8 przyciągającego elektrony z pierścienia aromatycznego (co zwiększa polarność związku oraz podnosi jego

aktywność i stabilność) oraz obecnością dużego podstawnika heteroaromatycznego w pozycji N1, przez co powierzchnia cząsteczki delafloksacyny jest zdecydowanie większa niż innych fluorochinolonów. W rezultacie, delafloksacyna występuje w postaci anionowej w pH obojętnym oraz w postaci neutralnej w środowisku kwaśnym. Przyczynia się to do jej zwiększonej aktywności w warunkach niskiego pH, podczas gdy aktywność innych fluorochinolonów maleje wraz ze spadkiem pH.

Mechanizm działania delafloksacyny podobnie jak wszystkich fluorochinolonów polega na hamowaniu aktywności gyrazy i topoizomerazy IV [81]. Wykazano jednak, że działa ona z porównywalną siłą na obie te topoizomerazy zarówno u *E. coli* jak i u *S. aureus*. Podczas gdy pozostałe fluorochinolony wykazują u bakterii Gram-dodatnich większą aktywność wobec topoizomerazy IV, a u bakterii Gram-ujemnych większą aktywność wobec gyrazy. Hamowanie aktywności gyrazy jest bardziej efektywnym sposobem hamowania replikacji DNA, ze względu na zaangażowanie tego enzymu we wcześniejszym jej etapie (usuwanie dodatnich super-skretów przed widełkami replikacyjnymi) niż ma to miejsce w przypadku topoizomerazy IV, która działa po przejściu widełek replikacyjnych (dekatencja DNA i rozdzielanie chromosomów). Tym samym, silniejsze od pozostałych fluorochinolonów oddziaływanie delafloksacyny na gyrazę u bakterii Gram-dodatnich przyczynia się do zwiększonej aktywności nowego fluorochinolonu wobec tych bakterii.

Dodatkowo, oddziaływanie z równą siłą na obie topoizomerazy sugerowało, że delafloksacyna w porównaniu do pozostałych fluorochinolonów powinna w mniejszym stopniu predysponować szczepy do wytworzenia oporności, w związku z koniecznością powstania mutacji jednocześnie w obydwu genach kodujących te topoizomerazy. W badaniach *in vitro* opisano niższy niż u innych fluorochinolonów potencjał selekcji spontanicznych mutantów szczepów *S. aureus* MRSA [92]. Wartości stężeń hamujących selekcję spontanicznych mutantów (mutant prevention concentration – MPC) delafloksacyny były od 8 do 32 razy niższe niż wartości MPC moksyfloksacyny, lewofloksacyny i cyprofloksacyny, a dodatkowo u uzyskanych mutantów obserwowano spadek żywotności w porównaniu do szczepu macierzystego. Analiza wrażliwości szczepów izolowanych od pacjentów leczonych delafloksacyną w trakcie badań klinicznych potwierdziła, że delafloksacyna zachowywała wysoką aktywność także wobec szczepów z mutacjami w regionach determinujących oporność na chinolony (quinolone resistance-determining region – QRDR) [72]. Wartości MIC delafloksacyny nie ulegały znaczącemu zwiększeniu (tj. MIC > 0,5 mg/l) dopóki nie występowały jednocześnie podwójne mutacje zarówno w obrębie genów *gyrA* jak i *parC*.

Zgodnie z przewidywaniami, w badaniach *in vitro* delafloksacyna wykazywała większą aktywność niż trowafloksacyna, lewofloksacyna i cyprofloksacyna wobec wrażliwych oraz opornych na chinolony szczepów bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Listeria monocytogenes*), wybrednych bakterii Gram-ujemnych (*H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *Legionella pneumophila*) oraz *H. pylori*. Jej aktywność wobec szczepów *Enterobacterales* i *P. aeruginosa* była porównywalna z pozostałymi fluorochinolonami, a aktywność wobec *Chlamydia* spp. porównywalna z trowafloksacyną i wyższa niż lewofloksacyny [3, 29, 81]. W warunkach *in vitro* delafloksacyna jest również aktywna wobec szczepów *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma fermentans*, *Mycoplasma hominis* i *Ureaplasma* spp. [113]. Wykazuje również aktywność wobec biofilmu tworzonego przez *S. aureus* MSSA oraz MRSA, ze zdolnością penetracji do wnętrza biofilmu sięgającą 52% (w zależności od proporcji polisacharydów w macierzy) i zwiększoną skutecznością wobec biofilmów charakteryzujących się niższym pH [100]. Wykazano, że wobec szczepów *Streptococcus pneumoniae*, *H. influenzae* i *M. catarrhalis* delafloksacyna działa zazwyczaj bakterioobójczo [34].

Wysoka aktywność delafloksacyny wobec gronkowców (także MRSA) i paciorkowców, szczepów najczęściej wywołujących ostre bakteryjne zakażenia skóry i tkanki podskórnej (acute bacterial skin and skin structure infections – ABSSSI), połączona z jej wysoką aktywnością w środowisku kwaśnym (typowym dla skóry) ukierunkowała dalsze badania na zastosowanie delafloksacyny w tej jednostce chorobowej. Opublikowane ostatnio wyniki badań przeglądowych wrażliwości 11 866 szczepów wyizolowanych w latach 2014–2019 w Stanach Zjednoczonych i Europie od pacjentów z ABSSSI potwierdziły wysoką aktywność delafloksacyny [99]. Najczęściej izolowanymi szczepami były *S. aureus* MSSA (~30,6%), *E. coli* (11%), *Streptococcus* spp. (10%) oraz *S. aureus* MRSA (7,2%). Wrażliwość na ten antybiotyk stwierdzono u 98,7% szczepów MSSA, 98,4% szczepów *Streptococcus* spp., 58% szczepów *E. coli* oraz 65,6% szczepów MRSA.

W badaniach klinicznych delafloksacyna okazała się być lekiem o liniowej farmakokinetyce, minimalnej akumulacji oraz dobrze tolerowanym – zaburzenia żołądkowo-jelitowe obserwowane były jedynie przy doustnych dawkach jednorazowych >1200 mg lub wielokrotnych dawkach >800 mg [44]. Doustna dawka 450 mg oraz dożylna 300 mg okazały się być porównywalne, zapewniając możliwość zmiany drogi podania w czasie terapii [43].

W randomizowanych badaniach klinicznych z udziałem pacjentów z powikłanymi zakażeniami skóry i tkanki podskórnej (ropnie oraz infekcje ran po operacjach, urazach, oparzeniach i ugryzieniach) podawana

dożylnie delafloksacyna (300 mg 2 razy dziennie) okazała się być równie skuteczna jak tygecyklina (50 mg 2 razy dziennie) [83], wankomycyna z aztreonamem (15 mg/kg + 2 g 2 razy dziennie) [91] i linezolid (600 mg 2 razy dziennie) [56] oraz skuteczniejsza niż wankomycyna (15 mg/kg masy ciała 2 razy dziennie) [56]. Skuteczność nie gorszą niż wankomycyny z aztronamem wykazano także dla delafloksacyny dawkowanej w schemacie 300 mg dożylnie (2 razy dziennie) przez 2 dni a następnie 450 mg doustnie [82]. Ten sam schemat dawkowania delafloksacyny okazał się również nie mniej skuteczny niż moksyflokscacyna (400 mg dożylnie, a następnie 400 mg doustnie raz dziennie) w leczeniu pozaszpitalnych zapaleń płuc (community-acquired bacterial pneumonia – CABP), także zapaleń płuc wywołanych przez atypowe patogeny (*M. pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *L. pneumophila*) [45]. Delafloksacyna wykazywała co najmniej 16-krotnie wyższą aktywność niż moksyflokscacyna wobec bakterii Gram-dodatnich oraz wybrednych pałeczek Gram-ujemnych, jak również zachowywała aktywność wobec szczepów opornych, np. *S. pneumoniae* MDR, *Haemophilus* spp. wytwarzających β -laktamazy oraz szczepów opornych na makrolidy, a także *S. aureus* MRSA oraz opornych na fluorochinolony [71, 73].

Delafloksacyna w pojedynczej dawce 900 mg okazała się być jednak nieskuteczną formą leczenia niepowikłanej rzeżączki – niepowodzeniem zakończyło się wiele terapii zakażeń szczepami *N. gonorrhoeae*, dla których wartości MIC były poniżej 0,008 mg/l, co wskazuje na konieczność modyfikacji schematu dawkowania [41].

W Unii Europejskiej delafloksacyna została dopuszczona 16.12.2019 roku, do stosowania w leczeniu ostrych bakteryjnych zakażeń skóry i tkanki podskórnej (ABSSSI) oraz pozaszpitalnego zapalenia płuc (CABP) u osób dorosłych, gdy stosowanie innych leków przeciwbakteryjnych powszechnie zalecanych w początkowym leczeniu tych zakażeń jest uważane za niewłaściwe. Zarejestrowana została zarówno postać doustna (tabletki 450 mg) jak i dożylna (300 mg) po nazwę handlową Quofenix [20].

6. Nowe tetracykliny

Tetracykliny to naturalne lub półsyntetyczne związki o właściwościach amfoterycznych, zawierające w swojej cząsteczce cztery skondensowane pierścienie karbocykliczne (w tym jeden aromatyczny) [31]. Ich mechanizm działania polega na hamowaniu syntezy białka poprzez wiązanie do podjednostki 30S rybosomu. Dla wszystkich związków z tej grupy charakterystyczne jest szerokie spektrum aktywności, zarówno wobec bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych, mykoplazm, chlamydii, riketsji oraz niektórych pierwotniaków. Różnice

między poszczególnymi przedstawicielami dotyczą właściwości farmakokinetycznych oraz siły działania. Pierwsze antybiotyki tetracyklinowe (wytwarzane przez różne gatunki promieniowców – *Streptomyces*) wprowadzono do leczenia na przełomie lat 40. i 50. XX wieku. Niestety, ich intensywne stosowanie w leczeniu doprowadziło do szybkiego pojawiania się i rozpowszechnienia oporności, związanej z obecnością genów *tet*, kodujących białka pomp błonowych biorących udział w zjawisku tzw. efflux (m.in. geny *tet(A)*, *tet(B)*, *tet(K)*, *tet(L)*), białka ochronne rybosomu (m.in. geny *tet(M)*, *tet(O)*, *tet(P)*, *tet(S)*) lub enzymy rozkładające tetracykliny tj. gen *tet(X)*.

Narastająca lekooporność drobnoustrojów na antybiotyki z innych grup przyczyniła się jednak do ponownego wzrostu zainteresowania tetracyklinami. Ustalenie struktury kokryształu tetracyklina-podjednostka 30S rybosomu wykazało, że w wiązanie do rybosomu nie jest zaangażowany jedynie rejon wokół atomów węgla C5-C9 [13]. W związku z tym, podjęte zostały próby wprowadzenia modyfikacji strukturalnych przy atomach C7 i C9, które zaowocowały wprowadzeniem do obrotu półsyntetycznych tetracyklin (minocykliny, tygecykliny, omadacykliny). Nowe tetracykliny charakteryzują się wyższą aktywnością przeciwbakteryjną oraz mniejszą podatnością na bakteryjne mechanizmy oporności [31]. Liczba chemicznych modyfikacji naturalnych tetracyklin i tym samym możliwości uzyskiwania nowych półsyntetycznych pochodnych jest jednak ograniczona. Dopiero synteza *de novo* kolejnych związków zawierających szkielet tetracyklinowy znacząco zwiększyła liczbę nowych związków z tej grupy [107].

Erawacyklina (wcześniej TP-434) to pierwsza w pełni syntetyczna tetracyklina wprowadzona do leczenia [20]. Jej cząsteczka charakteryzuje się obecnością fluoru przy atomie węgla C7 oraz grupy pirolidynoacetoamidowej przy węglu C9 szkieletu tetracyklinowego i wykazuje aktywność także wobec opornych na tetracyklinę szczepów posiadających geny *tet(M)* i *tet(Q)* (odpowiedzialne za zablokowanie miejsca wiązania tetracyklin do rybosomu) oraz geny *tet(A)*, *tet(B)* i *tet(K)* (odpowiadające za syntezę białek błonowych pomp MDR) [33, 123]. Spektrum aktywności erawacykliny obejmuje szczepy *S. aureus* (także MRSA oraz MRSA odporne na linezolid), *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp. (także VRE), *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Providencia stuartii*, *S. marcescens*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *A. baumannii*, *Acinetobacter lwoffii*, *S. maltophilia*, *Legionella pneumophila*, *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides ovatus*, *Prevotella* spp., *Clostridioides difficile*, *Clostridium perfringens*.

Erawacyklina zachowuje swoją aktywność również wobec szczepów opornych na fluorochinolony, aminoglikozydy, cefalosporyny III generacji, karbapenemy, polimiksyne oraz szczepów MDR, a jej aktywność jest zwykle 2–4-krotnie wyższa lub równa z tygecykliną, zarówno wobec bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych [1, 23, 50, 62, 103, 110, 125, 127]. Wykazano ponadto, że w warunkach *in vitro* erawacyklina działa synergistycznie z kolistyną wobec szczepów *A. baumannii*, także opornych na karbapenemy oraz kolistynę [84]. Niewrażliwe na nią są natomiast szczepy z gatunków *P. aeruginosa* oraz *Burkholderia cenocepacia* [110].

Ponadto wykazano aktywność erawacyliny wobec biofilmu uropatogennego szczepu *E. coli* w stopniu porównywalnym z gentamycyną i lewofloksacyną oraz wyższym niż w przypadku kolistyny i meropenemu [32]. Nie wykazano jednak aktywności erawacykliny wobec biofilmu tworzonego przez szczepy *S. aureus* izolowane z okołoprotezowych zakażeń stawów [130].

Ostatnio opublikowane wyniki dużych badań przeglądowych potwierdziły wysoką aktywność erawacykliny wobec szerokiego spektrum szczepów klinicznych [76, 77]. Odsetki szczepów wrażliwych wynosiły odpowiednio: 97,6% dla *S. aureus* (95,5% dla MRSA i 99,8% dla MSSA), 84,6% dla *S. epidermidis*, 89,9% dla *S. haemolyticus*, 99,4% dla *E. faecalis* (98,3% dla szczepów VR, 99,5% dla VS), 97,7% dla *E. faecium* (96,1% dla szczepów VR i 98,9% dla VS) oraz 92,6% dla *Enterobacterales* (82% dla szczepów MDR). Z kolei w przypadku szczepów *A. baumannii*, dla których nie zdefiniowano wartości granicznych MIC, wartości MIC₅₀/MIC₉₀ wynosiły odpowiednio 0,5 mg/l i 1 mg/l (dla szczepów MDR MIC₉₀ wynosił 2 mg/l).

Zagrożeniem dla skuteczności klinicznej erawacykliny w przyszłości może stać się jednak narastająca oporność związana z mechanizmem usuwania antybiotyku (efflux), enzymatycznym rozkładem tego antybiotyku oraz modyfikacją miejsca jego wiązania w rybosomie. Jak dotąd wykazano, że u szczepów *S. aureus* (zarówno MRSA jak i MSSA), *E. faecalis* oraz *S. agalactiae* wartości MIC erawacykliny (podobnie jak tygecykliny) wykazywały znaczące spadki w obecności inhibitorów pomp MDR takich jak cyjanek karbonylowy 3-chlorofenylohydrazonu (carbonyl cyanide 3-chlorophenylhydrazon – CCCP) i L-fenylalanino-L-arginino-β-naftyloamid (L-phenylalanine-L-arginine-β-naphthylamide – PAβN) [61, 118, 127]. Opisano również odporne na erawacyklinę kliniczne szczepy *A. baumannii* z nadekspresją systemu pompy AdeABC [98], *K. pneumoniae* z nadekspresją pomp OqxAB i MacAB-TolC [128] oraz izolowane od zwierząt hodowlanych w Chinach szczepy *K. pneumoniae* typu PDR (pan-drug resistant) z ekspresją nowej pompy typu RND, z rodziny MexCD-OprJ, o nazwie TMexCD1-TOprJ1, odpowiadającą za oporność m. in. na wszystkie tetracy-

kliny [68]. Ponieważ kodujące ją geny są zlokalizowane w plazmidzie, ich rozpowszechnienie wśród odzwierzęcych szczepów *K. pneumoniae* może w przyszłości stanowić poważne zagrożenie kliniczne. Drugim równie istotnym zagrożeniem dla skuteczności stosowania w leczeniu erawacykliny jest rozprzestrzenianie się zlokalizowanych w plazmidach i transpozonach genów *tet(X)*. Kilka wariantów tych genów opisano ostatnio w Chinach u szczepów *A. baumannii* (środowiskowych i klinicznych) [16, 116] oraz u szczepów *Enterobacterales* izolowanych z próbek kału od zdrowych osób dorosłych w Singapurze [18]. Są one również szeroko rozpowszechnione wśród izolowanych od zwierząt (świnie, kurczaki, ptaki wędrownie) oraz z gleby szczepów *E. coli* [17, 109], a ostatnio obecność tych genów potwierdzono również u *Proteus* sp. wyizolowanego z handlowej wieprzowiny [38]. Oporność na erawacyklinę może być również wynikiem mutacji w genach kodujących białka podjednostki 30S rybosomu, co opisano już u szczepów *S. aureus* oraz *S. agalactiae* [61, 117].

W badaniach klinicznych wykazano, że erawacyklina (podawana 1 mg/kg co 12 h) jest dobrze tolerowana i bezpieczna, a także nie gorsza niż meropenem (podawany 1 g co 8 h) i nie mniej skuteczna niż ertapenem (1 g co 24 h) w leczeniu powikłanych zakażeń wewnątrzbrzusznym [104, 105]. Na podstawie uzyskanych wyników erawacyklina została 20.09.2018 roku dopuszczona przez EMA do stosowania w tej jednostce chorobowej i zarejestrowana pod nazwą handlową Xerava 50 mg – proszek do sporządzania koncentratu roztworu do infuzji [20].

7. Pleuromutyliny

Lefamulina to nowy antybiotyk z grupy pleuromutylin – pochodnych naturalnie występującej pleuromutyliny, wyizolowanej w latach 50. XX wieku z grzyba gatunku *Pleurotus mutilus* (obecnie *Clitophilus scyphoides*) [86]. Pierwsze półsyntetyczne pochodne pleuromutyliny (tiamulina i walnemulina) dopuszczono do stosowania w weterynarii odpowiednio w 1979 i 1999 roku. Leki te były jednak stosowane wyłącznie w leczeniu zakażeń płucnych i jelitowych zwierząt, nie były natomiast stosowane w procesie produkcji żywności pochodzenia zwierzęcego jako stymulatory wzrostu lub dodatki zwiększające wydajność pasz (w przeciwieństwie m.in. do tetracyklin, streptogramin czy sulfonamidów). Może to wyjaśniać nisko rozpowszechnioną oporność wśród bakterii na pleuromutyliny. Pierwszym antybiotykiem z tej klasy dopuszczonym do stosowania u ludzi była retapamulina – dostępna jednak jedynie w postaci maści do stosowania miejscowego w krótkotrwałym leczeniu powierzchniowych zakażeń skóry (liszajec, niewielkie rany szarpane, otarcia lub

rany szyte). Lefamulina (wcześniej BC-3781) to druga pleuromutyliną dopuszczona do stosowania u ludzi, jednak pierwsza dopuszczona do stosowania ogólnego, zarówno w postaci dożylniej jak i doustnej [86].

Pod względem chemicznym, pleuromutyliny to diterpenoidy zawierające w swojej cząsteczce 14-węglowy, tricykliczny szkielet (kluczowy dla aktywności przeciwbakteryjnej) oraz ugrupowanie estru glikolowego tworzące łańcuch boczny w pozycji C14, którego różne modyfikacje odpowiadają m.in. za odmienne właściwości farmakodynamiczne pochodnych [126]. Mechanizm działania tej grupy antybiotyków polega na hamowaniu syntezy białka poprzez wiązanie do podjednostki 50S rybosomu w centrum peptydylotransferazy (PTC), w środkowej części domeny V cząsteczki 23S rRNA. Za przyłączenie pleuromutylin do rybosomu odpowiada tricykliczny rdzeń, tworzący wiązania wodorowe z nukleotydami w kieszonce w pobliżu miejsca A rybosomu, podczas gdy łańcuch boczny w pozycji C14 rozciąga się w stronę miejsca P, uniemożliwiając ruch końca 3' tRNA w kierunku miejsca P. Cząsteczka lefamuliny charakteryzuje się silniejszym od innych pleuromutylin wiązaniem z rybosomem dzięki obecności 2-(4-amino-2-hydroksycykloheksylo)sulfanylooctanowego łańcucha bocznego w pozycji C14, którego grupa aminowa zapewnia możliwość utworzenia jeszcze jednego wiązania wodorowego. Dodatkowo, obecność w tym łańcuchu grupy hydroksylowej i I-rzędowej aminowej zwiększa rozpuszczalność lefamuliny w wodzie [21].

W warunkach *in vitro* lefamulina wykazuje aktywność wobec większości Gram-dodatnich ziarenkowców (*S. aureus* MSSA oraz MRSA, *S. epidermidis*, *E. faecium* opornych na wankomycynę, *S. pneumoniae* (także opornych na penicylinę, makrolidy oraz szczepów MDR), *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *Streptococcus* spp. z grupy C i G), oraz niektórych bakterii Gram-ujemnych (*H. influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *L. pneumophila*, *M. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae*) i patogenów atypowych (*M. pneumoniae*, *Ch. pneumoniae*). Nie jest natomiast aktywna wobec Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących oraz *Enterobacterales* [49, 74, 85, 93, 94, 114].

W badaniach przeglądowych potwierdzono, że lefamulina jest wysoce aktywna wobec patogenów wywołujących pozaszpitalne zapalenie płuc, izolowanych od pacjentów na całym świecie (SENTRY Antimicrobial Surveillance Program) [85, 87]. Ogólny odsetek szczepów z wartościami MIC lefamuliny poniżej 1 mg/l (breakpoint dla *S. pneumoniae*) wynosił 99,2%, w tym 100% dla szczepów *S. pneumoniae* oraz *M. catarrhalis*, 99,8% dla *S. aureus*, 93,8% dla *H. influenzae* i 88,1% dla *E. faecium*. Jednocześnie nie stwierdzono oporności krzyżowej między lefamuliną a β -laktamami, fluorochinolonami i makrolidami.

Oporność na lefamulinę u szczepów zazwyczaj wrażliwych na nią gatunków bakterii może powstać w wyniku mutacji w domenie V 23S rRNA, np. w wyniku metylacji nukleotydu w pozycji 2503 pod wpływem metylotransferazy Cfr [75]. Enzym Cfr zapewnia oporność krzyżową na oksazolidynony, linkozamidy, fenikole i streptograminy. Ponadto nabycie oporności może być wynikiem mutacji w genach kodujących rybosomalne białka L3 (*rplC*) i L4 (*rplD*), co powoduje zmianę w strukturze PTC i zaburza przyłączanie do niej lefamuliny. Wykazano, że oporność może być również związana z ochroną miejsca docelowego wiązania lefamuliny przez białka pomp błonowych z podrodziny ABC-F kodowane przez geny *vga(A)*, *vga(B)*, *vga(E)* oraz *Isa(E)*. Białka ABC-F mogą powodować oporność krzyżową na linkozamidy i streptograminy A [75]. Wykazano również, że inaktywacja pompy MtrCDE (ale nie MacAB i NorM) u *N. gonorrhoeae* znacząco (min. 4-krotnie) obniża wartości MIC lefamuliny [49].

W badaniach klinicznych wykazano, że lefamulina (podawana 150 mg dożylnie co 12 h przez 3 dni a następnie 600 mg doustnie co 12 h) jest na równi skuteczna co moksyflokscyna (podawana 400 mg dożylnie co 24 h przez 3 dni a następnie 400 mg doustnie co 24 h) w leczeniu pozaszpitalnego zapalenia płuc [22]. Podobne rezultaty uzyskano stosując lefamulinę i moksyflokscynę wyłącznie doustnie [2]. Z kolei w leczeniu ostrych bakteryjnych zakażeń skóry i tkanek podskórnych wywołanych przez patogeny Gram-dodatnie, w grupie pacjentów leczonych lefamuliną (podawaną 100 lub 150 mg dożylnie co 12 h) odsetek sukcesów klinicznych był porównywalny z grupą pacjentów leczonych wankomycyną (1 g dożylnie co 12 h) [90]. Aktualnie, postaci dożylna (iniekcje 150 mg co 12 h) oraz doustna (tabletki 600 mg) lefamuliny, pod nazwą handlową Xenleta, zostały dopuszczone 27.07.2020 r. do stosowania jedynie w leczeniu pozaszpitalnych zakażeń płuc u osób dorosłych [20].

8. Podsumowanie

Od 2018 na rynku europejskim zarejestrowano 6 nowych, szeroko spektralnych leków przeciwbakteryjnych, aktywnych wobec szczepów zaliczanych wg WHO do patogenów o krytycznym oraz wysokim priorytecie konieczności poszukiwania dla nich nowych leków. Dwa z nich to nowe połączenia β -laktamów z nie- β -laktamowymi inhibitorami β -laktamaz (meropenem z waborbaktamem oraz imipenem/cylastatyna z relebaktamem), jeden jest przedstawicielem nowej grupy antybiotyków sideroforowych (cefiderokol), kolejne dwa są nowymi pochodnymi znanych grup antybiotyków: fluorochinolonów (delaflokscyna) oraz tetracyklin (erawacyklina). Ponadto jako ostatni z nowych

leków w lipcu 2020 r. EMA dopuściła do obrotu lefamulinę, tj. pierwszego przedstawiciela nowej grupy leków – pleuromutylin, przeznaczoną do stosowania ogólnego u ludzi. Lefamulina w odróżnieniu od ww. nowych leków nie jest aktywna wobec Gram-ujemnych pałeczek niefermentujących i *Enterobacterales*, które są na nią naturalnie odporne. Według kryteriów przyjętych przez WHO, dwa z 6 nowych leków przeciwbakteryjnych (delafloksacyna i lefamulina) zostały zarejestrowane jako skuteczne wobec patogenów o wysokim priorytecie (enterokoki odporne na wankomycynę, gronkowce MRSA), a pozostałe cztery (meropenem/waborbaktam, imipenem/cylastatyna/relebaktam, erawacyklinna oraz cefiderokol) jako aktywne wobec patogenów krytycznych (*Enterobacterales* odporne na karbapenemy), przy czym tylko jeden (cefiderokol) wykazuje wysoką skuteczność również wobec opornych na karbapenemy szczepów *P. aeruginosa* oraz *A. baumannii*. Kryterium innowacyjności WHO w pełni spełnia jedynie meropenem/waborbaktam (w kategorii nowa klasa chemiczna) oraz częściowo lefamulina z zastrzeżeniem, że przedstawiciele tej grupy (pleuromutylin) stosowano już w weterynarii oraz do leczenia miejscowego u ludzi. Natomiast kryterium innowacyjności w kategorii braku oporności krzyżowej spełnia potencjalnie meropenem/waborbaktam oraz cefiderokol.

Spośród zarejestrowanych leków dwa są dostępne zarówno w formie dożylniej jak i doustnej (delafloksacyna i lefamulina). Dzięki nowym rejestracjom wzrosła liczba opcji terapeutycznych w leczeniu powikłanych zakażeń dróg moczowych (meropenem/waborbaktam, cefiderokol), powikłanych zakażeń wewnętrzbrzusznych (meropenem/waborbaktam, erawacyklina), szpitalnych zapaleń płuc, w tym związanych z wentylacją mechaniczną (meropenem/waborbaktam, imipenem/cylastatyna/relebaktam), ostrych bakteryjnych zakażeń skóry i tkanek podskórnych (delafloksacyna) oraz pozaszpitalnych zapaleń płuc (lefamulina). Według ostatniego raportu WHO dotyczącego nowych antybiotyków liczba nowych opcji terapeutycznych dostępnych w leczeniu zakażeń wywołanych patogenami o wysokim i krytycznym priorytecie, jak również patogenami typu PDR (pan-drug resistant) oraz XDR (extensively drug resistant) jest wciąż niewystarczająca [120]. Ostatnio opisano jednak przypadek sukcesu terapeutycznego w leczeniu zakażenia wywołanego przez *Achromobacter* sp. typu PDR u 10-letniej pacjentki z mukowiscydozą, po zastosowaniu skojarzonego leczenia cefiderokolem, meropenemem z waborbaktamem i terapią fagowej (Ax2CJ45φ2). Kuracja była dobrze tolerowana i doprowadziła do eradykacji *Achromobacter* sp. [25]. Możliwe zatem, że dzięki terapii skojarzonej nowe antybiotyki okażą się skuteczne również wobec patogenów typu PDR oraz XDR, co poszerzy możliwości ich zastosowania w lecznictwie.

Podziękowania

Artykuł powstał przy wsparciu firmy Berlin-Chemie.



BERLIN-CHEMIE
MENARINI

Piśmiennictwo

1. Abdallah M., Olafisoye O., Cortes C., Urban C., Landman D., Quale J.: Activity of eravacycline against *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii*, including multidrug-resistant isolates, from New York City. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 1802–1805 (2015)
2. Alexander E., Schranz J. i wsp.: Oral lefamulin vs moxifloxacin for early clinical response among adults with community-acquired bacterial pneumonia: the LEAP 2 randomized clinical trial. *Jama*, **322**, 1661–1671 (2019)
3. Almer L.S., Hoffrage J.B., Keller E.L., Flamm R.K., Shortridge V.D.: *In vitro* and bactericidal activities of ABT-492, a novel fluoroquinolone, against Gram-positive and Gram-negative organisms. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 2771–2777 (2004)
4. Ambler R.P.: The structure of β -lactamases. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* **289**, 321–331 (1980)
5. Aoki T., Yamano Y. i wsp.: Cefiderocol (S-649266), a new siderophore cephalosporin exhibiting potent activities against *Pseudomonas aeruginosa* and other Gram-negative pathogens including multi-drug resistant bacteria: structure activity relationship. *Eur. J. Med. Chem.* **155**, 847–868 (2018)
6. Asempa T.E., Nicolau D.P., Kuti J.L.: *In vitro* activity of imipenem-relebactam alone or in combination with amikacin or colistin against *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **63**, DOI: 10.1128/aac.00997-19 (2019)
7. Barnes M.D., Bethel C.R., Alsop J., Becka S.A., Rutter J.D., Papp-Wallace K.M., Bonomo R.A.: Inactivation of the *Pseudomonas*-derived cephalosporinase-3 (PDC-3) by relebactam. *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, DOI: 10.1128/aac.02406-17 (2018)
8. Bassetti M., Nagata T.D. i wsp.: Efficacy and safety of cefiderocol or best available therapy for the treatment of serious infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (CREDIBLE-CR): a randomised, open-label, multicentre, pathogen-focused, descriptive, phase 3 trial. *Lancet Infect. Dis.* **21**, 226–240 (2021)
9. Bassetti M., Giacobbe D.R., Patel N., Tillotson G., Massey J.: Efficacy and safety of meropenem-vaborbactam versus best available therapy for the treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infections in patients without prior antimicrobial failure: a post hoc analysis. *Adv. Ther.* **36**, 1771–1777 (2019)
10. Bhowmick T.: Clinical outcomes of patient subgroups in the TANGO II study. *Infect. Dis. Ther.* **10**, 35–46 (2021)
11. Biagi M., Wu T., Lee M., Patel S., Butler D., Wenzler E.: Searching for the optimal treatment for metallo- and serine- β -Lactamase producing *Enterobacteriaceae*: aztreonam in combination with ceftazidime-avibactam or meropenem-vaborbactam. *Antimicrob. Agents Chemother.* **63**, DOI: 10.1128/aac.01426-19 (2019)
12. Blizzard T.A., Hammond M.L. i wsp.: Discovery of MK-7655, a β -lactamase inhibitor for combination with Primaxin®. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **24**, 780–785 (2014)
13. Brodersen D.E., Clemons W.M., Jr., Carter A.P., Morgan-Warren R.J., Wimberly B.T., Ramakrishnan V.: The structural basis for the action of the antibiotics tetracycline, pactamycin, and hygromycin B on the 30S ribosomal subunit. *Cell*, **103**, 1143–1154 (2000)

14. Castanheira M., Huband M.D., Mendes R.E., Flamm R.K.: Meropenem-vaborbactam tested against contemporary Gram-negative isolates collected worldwide during 2014, including carbapenem-resistant, KPC-producing, multidrug-resistant, and extensively drug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, e00567-17 (2017)
15. Castanheira M., Rhomberg P.R., Flamm R.K., Jones R.N.: Effect of the β -lactamase inhibitor vaborbactam combined with meropenem against serine carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 5454–5458 (2016)
16. Chen C., Liu Y.H. i wsp.: Genetic diversity and characteristics of high-level tigecycline resistance Tet(X) in *Acinetobacter* species. *Genome Med.* **12**, DOI:10.1186/s13073-020-00807-5 (2020)
17. Chen C., Sun J. i wsp.: Emergence of mobile tigecycline resistance mechanism in *Escherichia coli* strains from migratory birds in China. *Emerg. Microbes Infect.* **8**, 1219–1222 (2019)
18. Ding Y., Saw W.Y., Tan L.W.L., Moong D.K.N., Nagarajan N., Teo Y.Y., Sedorf H.: Emergence of tigecycline- and eravacycline-resistant Tet(X4)-producing *Enterobacteriaceae* in the gut microbiota of healthy Singaporeans. *J. Antimicrob. Chemother.* **75**, 3480–3484 (2020)
19. Durka K., Laudy A.E., Charzewski Ł., Urban M., Stępień K., Tyski S., Krzyśko K.A., Luliński S.: Antimicrobial and KPC/AmpC inhibitory activity of functionalized benzosiloxaboroles. *Eur. J. Med. Chem.* **171**, 11–24 (2019)
20. European Medicines Agency: Medicines. https://www.ema.europa.eu/en/medicines/field_ema_web_categories%253Aname_field/Human (16.07.2021)
21. Eyal Z., Matzov D., Krupkin M., Paukner S., Riedl R., Rozenberg H., Zimmerman E., Bashan A., Yonath A.: A novel pleuromutilin antibacterial compound, its binding mode and selectivity mechanism. *Sci. Rep.* **6**, DOI:10.1038/srep39004 (2016)
22. File T.M., Gasink L.B. i wsp.: Efficacy and safety of intravenous-to-oral lefamulin, a pleuromutilin antibiotic, for the treatment of community-acquired bacterial pneumonia: the phase III lefamulin evaluation against pneumonia (LEAP 1) trial. *Clin. Infect. Dis.* **69**, 1856–1867 (2019)
23. Fyfe C., LeBlanc G., Close B., Nordmann P., Dumas J., Grossman T.H.: Eravacycline is active against bacterial isolates expressing the polymyxin resistance gene *mcr-1*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 6989–6990 (2016)
24. Gaibani P., Lombardo D., Bussini L., Bovo F., Munari B., Giannella M., Bartoletti M., Viale P., Lazzarotto T., Ambretti S.: Epidemiology of meropenem/vaborbactam resistance in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* causing bloodstream infections in northern Italy, 2018. *Antibiotics*, **10**, DOI:10.3390/antibiotics10050536 (2021)
25. Gainey A.B., Burch A.K., Brownstein M.J., Brown D.E., Fackler J., Horne B., Biswas B., Bivens B.N., Malagon F., Daniels R.: Combining bacteriophages with cefiderocol and meropenem/vaborbactam to treat a pan-drug resistant *Achromobacter* species infection in a pediatric cystic fibrosis patient. *Pediatr. Pulmonol.* **55**, 2990–2994 (2020)
26. Ghai I., Ghai S.: Exploring bacterial outer membrane barrier to combat bad bugs. *Infect. Drug Resist.* **10**, 261–273 (2017)
27. Giacobbe D.R., Ciacco E., Girmenia C., Pea F., Rossolini G.M., Sotgiu G., Tascini C., Tumbarello M., Viale P., Bassetti M.: Evaluating cefiderocol in the treatment of multidrug-resistant Gram-negative bacilli: a review of the emerging data. *Infect. Drug Resist.* **13**, 4697–4711 (2020)
28. Giulieri S.G., Tong S.Y.C., Williamson D.A.: Using genomics to understand methicillin- and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Microb. Genom.* **6**, DOI: 10.1099/mgen.0.000324 (2020)
29. Goldstein E.J., Citron D.M., Merriam C.V., Warren Y.A., Tyrrell K.L., Fernandez H.T.: *In vitro* activities of ABT-492, a new fluoroquinolone, against 155 aerobic and 171 anaerobic pathogens isolated from antral sinus puncture specimens from patients with sinusitis. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 3008–3011 (2003)
30. Gomez-Simmonds A., Stump S., Giddins M.J., Annavajhala M.K., Uhlemann A.C.: Clonal background, resistance gene profile, and porin gene mutations modulate *in vitro* susceptibility to imipenem-relebactam in diverse *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, DOI:10.1128/aac.00573-18 (2018)
31. Grossman T.H.: Tetracycline antibiotics and resistance. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **6**, DOI:10.1101/cshperspect.a025387 (2016)
32. Grossman T.H., O'Brien W., Kerstein K.O., Sutcliffe J.A.: Eravacycline (TP-434) is active *in vitro* against biofilms formed by uropathogenic *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 2446–2449 (2015)
33. Grossman T.H., Starosta A.L., Fyfe C., O'Brien W., Rothstein D.M., Mikolajka A., Wilson D.N., Sutcliffe J.A.: Target- and resistance-based mechanistic studies with TP-434, a novel fluorocycline antibiotic. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 2559–2564 (2012)
34. Gunderson S.M., Hayes R.A., Quinn J.P., Danziger L.H.: *In vitro* pharmacodynamic activities of ABT-492, a novel quinolone, compared to those of levofloxacin against *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Moraxella catarrhalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 203–208 (2004)
35. Hackel M.A., Tsuji M., Yamano Y., Echols R., Karlowsky J.A., Sahm D.F.: *In vitro* activity of the siderophore cephalosporin, cefiderocol, against carbapenem-nonsusceptible and multidrug-resistant isolates of Gram-negative bacilli collected worldwide in 2014 to 2016. *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, DOI:10.1128/aac.01968-17 (2018)
36. Haidar G., Clancy C.J., Chen L., Samanta P., Shields R.K., Kreiswirth B.N., Nguyen M.H.: Identifying spectra of activity and therapeutic niches for ceftazidime-avibactam and imipenem-relebactam against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, DOI:10.1128/aac.00642-17 (2017)
37. Hammoudi Halat D., Ayoub Moubareck C.: The current burden of carbapenemases: review of significant properties and dissemination among Gram-negative bacteria. *Antibiotics*, **9**, DOI:10.3390/antibiotics9040186 (2020)
38. He D., Wang L., Zhao S., Liu L., Liu J., Hu G., Pan Y.: A novel tigecycline resistance gene, tet(X6), on an SXT/R391 integrative and conjugative element in a *Proteus genomospecies 6* isolate of retail meat origin. *J. Antimicrob. Chemother.* **75**, 1159–1164 (2020)
39. Hecker S.J., Dudley M.N. i wsp.: Discovery of a cyclic boronic acid β -lactamase inhibitor (RPX7009) with utility vs class A serine carbapenemases. *J. Med. Chem.* **58**, 3682–3692 (2015)
40. Hirsch E.B., Ledesma K.R., Chang K.T., Schwartz M.S., Motyl M.R., Tam V.H.: *In vitro* activity of MK-7655, a novel β -lactamase inhibitor, in combination with imipenem against carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 3753–3757 (2012)
41. Hook E.W., 3rd, Golden M.R., Taylor S.N., Henry E., Tseng C., Workowski K.A., Swerdlow J., Nenninger A., Cammarata S.: Efficacy and safety of single-dose oral delafloxacin compared with intramuscular ceftriaxone for uncomplicated gonorrhea treatment: an open-label, noninferiority, phase 3, multicenter, randomized study. *Sex. Transm. Dis.* **46**, 279–286 (2019)
42. Hooper D.C., Jacoby G.A.: Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **6**, DOI:10.1101/cshperspect.a025320 (2016)

43. Hoover R., Hunt T., Benedict M., Paulson S.K., Lawrence L., Cammarata S., Sun E.: Safety, tolerability, and pharmacokinetic properties of intravenous delafloxacin after single and multiple doses in healthy volunteers. *Clin. Ther.* **38**, 53–65 (2016)
44. Hoover R., Hunt T., Benedict M., Paulson S.K., Lawrence L., Cammarata S., Sun E.: Single and multiple ascending-dose studies of oral delafloxacin: effects of food, sex, and age. *Clin. Ther.* **38**, 39–52 (2016)
45. Horcajada J.P., Salata R.A., Álvarez-Sala R., Nitu F.M., Lawrence L., Quintas M., Cheng C.Y., Cammarata S.: A phase 3 study to compare delafloxacin with moxifloxacin for the treatment of adults with community-acquired bacterial pneumonia (DEFINE-CABP). *Open Forum Infect. Dis.* **7**, DOI:10.1093/ofid/ofz514 (2020)
46. Ito-Horiyama T., Ishii Y., Ito A., Sato T., Nakamura R., Fukuhara N., Tsuji M., Yamano Y., Yamaguchi K., Tateda K.: Stability of novel siderophore cephalosporin S-649266 against clinically relevant carbapenemases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 4384–4386 (2016)
47. Ito A., Nishikawa T., Ota M., Ito-Horiyama T., Ishibashi N., Sato T., Tsuji M., Yamano Y.: Stability and low induction propensity of cefiderocol against chromosomal AmpC β -lactamases of *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacter cloacae*. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 3049–3052 (2018)
48. Ito A., Yamano Y. i wsp.: *In vitro* antibacterial properties of cefiderocol, a novel siderophore cephalosporin, against Gram-negative bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, DOI:10.1128/aac.01454-17 (2018)
49. Jacobsson S., Paukner S., Golparian D., Jensen J.S., Unemo M.: *In vitro* activity of the novel pleuromutilin lefamulin (BC-3781) and effect of efflux pump inactivation on multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, DOI:10.1128/aac.01497-17 (2017)
50. Johnson J.R., Porter S.B., Johnston B.D., Thuras P.: Activity of eravacycline against *Escherichia coli* clinical isolates collected from U.S. veterans in 2011 in relation to coresistance phenotype and sequence Type 131 genotype. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 1888–1891 (2015)
51. Johnston B.D., Thuras P., Porter S.B., Anacker M., VonBank B., Vagnone P.S., Witwer M., Castanheira M., Johnson J.R.: Activity of imipenem-relebactam against carbapenem-resistant *Escherichia coli* isolates from the United States in relation to clonal background, resistance genes, coresistance, and region. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, DOI:10.1128/aac.02408-19 (2020)
52. Johnston B.D., Thuras P., Porter S.B., Castanheira M., Johnson J.R.: Activity of meropenem/vaborbactam against international carbapenem-resistant *Escherichia coli* isolates in relation to clonal background, resistance genes, resistance to comparators and region. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **24**, 190–197 (2021)
53. Karlowsky J.A., Lob S.H., Kazmierczak K.M., Hawser S.P., Magnet S., Young K., Motyl M.R., Sahm D.F.: *In vitro* activity of imipenem/relebactam against Gram-negative ESKAPE pathogens isolated in 17 European countries: 2015 SMART surveillance programme. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 1872–1879 (2018)
54. Karlowsky J.A., Lob S.H., Kazmierczak K.M., Young K., Motyl M.R., Sahm D.F.: *In vitro* activity of imipenem/relebactam and key β -lactam agents against Gram-negative bacilli isolated from lower respiratory tract infection samples of intensive care unit patients – SMART Surveillance United States 2015–2017. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **55**, DOI:10.1016/j.ijantimicag.2019.10.022 (2020)
55. Kaye K.S., Giamarellos-Bourboulis E.J. i wsp.: Effect of meropenem-vaborbactam vs piperacillin-tazobactam on clinical cure or improvement and microbial eradication in complicated urinary tract infection: the TANGO I randomized clinical trial. *Jama*, **319**, 788–799 (2018)
56. Kingsley J., Mehra P., Lawrence L.E., Henry E., Duffy E., Cammarata S.K., Pullman J.: A randomized, double-blind, phase 2 study to evaluate subjective and objective outcomes in patients with acute bacterial skin and skin structure infections treated with delafloxacin, linezolid or vancomycin. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 821–829 (2016)
57. Kocsis B., Domokos J., Szabo D.: Chemical structure and pharmacokinetics of novel quinolone agents represented by avarfloxacin, delafloxacin, finafloxacin, zabofloxacin and nemonoxacin. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* **15**, DOI:10.1186/s12941-016-0150-4 (2016)
58. Kohira N., Hackel M.A., Ishioka Y., Kuroiwa M., Sahm D.F., Sato T., Maki H., Yamano Y.: Reduced susceptibility mechanism to cefiderocol, a siderophore cephalosporin, among clinical isolates from a global surveillance programme (SIDERO-WT-2014). *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **22**, 738–741 (2020)
59. Lapuebla A., Abdallah M., Olafisoye O., Cortes C., Urban C., Quale J., Landman D.: Activity of meropenem combined with RPX7009, a novel β -lactamase inhibitor, against Gram-negative clinical isolates in New York City. *Antimicrob. Agents Chemother.* **59**, 4856–4860 (2015)
60. Laudy A.E.: Systemy MDR – istotny mechanizm oporności pałeczek Gram-ujemnych na antybiotyki i chemioterapeutyki. *Post. Mikrobiol.* **47**, 415–422 (2008)
61. Li P., Wei Y., Li G., Cheng H., Xu Z., Yu Z., Deng Q., Shi Y.: Comparison of antimicrobial efficacy of eravacycline and tigecycline against clinical isolates of *Streptococcus agalactiae* in China: *In vitro* activity, heteroresistance, and cross-resistance. *Microb. Pathog.* **149**, DOI:10.1016/j.micpath.2020.104502 (2020)
62. Livermore D.M., Mushtaq S., Warner M., Woodford N.: *In vitro* activity of eravacycline against carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 3840–3844 (2016)
63. Livermore D.M., Warner M., Mushtaq S.: Activity of MK-7655 combined with imipenem against *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Chemother.* **68**, 2286–2290 (2013)
64. Lob S.H., Hackel M.A., Kazmierczak K.M., Young K., Motyl M.R., Karlowsky J.A., Sahm D.F.: *In vitro* activity of imipenem-relebactam against Gram-negative ESKAPE pathogens isolated by clinical laboratories in the United States in 2015 (Results from the SMART Global Surveillance Program). *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, DOI:10.1128/aac.02209-16 (2017)
65. Lob S.H., Karlowsky J.A., Young K., Motyl M.R., Hawser S., Kothari N.D., Sahm D.F.: *In vitro* activity of imipenem-relebactam against resistant phenotypes of *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from intraabdominal and urinary tract infection samples – SMART Surveillance Europe 2015–2017. *J. Med. Microbiol.* **69**, 207–217 (2020)
66. Lomovskaya O., Sun D., Rubio-Aparicio D., Nelson K., Tsivkovski R., Griffith D.C., Dudley M.N.: Vaborbactam: spectrum of β -lactamase inhibition and impact of resistance mechanisms on activity in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, DOI:10.1128/aac.01443-17 (2017)
67. Lucasti C., Paschke A. i wsp.: Phase 2, dose-ranging study of relebactam with imipenem-cilastatin in subjects with complicated intra-abdominal infection. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 6234–6243 (2016)
68. Lv L., Liu J.H. i wsp.: Emergence of a plasmid-encoded resistance-nodulation-division efflux pump conferring resistance to multiple drugs, including tigecycline, in *Klebsiella pneumoniae*. *mBio*, **11**, DOI:10.1128/mBio.02930-19 (2020)

69. Malik S., Kaminski M., Landman D., Quale J.: Cefiderocol resistance in *Acinetobacter baumannii*: roles of β -lactamases, siderophore receptors, and penicillin binding protein 3. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, DOI:10.1128/aac.01221-20 (2020)
70. Maraki S., Mavromanolaki V.E., Moraitis P., Stafylaki D., Kasimati A., Magkafouraki E., Scoulica E.: Ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, and imipenem-relebactam in combination with aztreonam against multidrug-resistant, metallo- β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* DOI:10.1007/s10096-021-04197-3 (2021)
71. McCurdy S., Keedy K., Lawrence L., Nenninger A., Sheets A., Quintas M., Cammarata S.: Efficacy of delafloxacin versus moxifloxacin against bacterial respiratory pathogens in adults with community-acquired bacterial pneumonia (CABP): microbiology results from the delafloxacin phase 3 CABP trial. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, DOI:10.1128/aac.01949-19 (2020)
72. McCurdy S., Lawrence L., Quintas M., Woosley L., Flamm R., Tseng C., Cammarata S.: *In vitro* activity of delafloxacin and microbiological response against fluoroquinolone-susceptible and nonsusceptible *Staphylococcus aureus* isolates from two phase 3 studies of acute bacterial skin and skin structure infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, DOI:10.1128/aac.00772-17 (2017)
73. McCurdy S., Nenninger A., Sheets A., Keedy K., Lawrence L., Quintas M., Cammarata S.: Efficacy of delafloxacin versus moxifloxacin against atypical bacterial respiratory pathogens in adults with community-acquired bacterial pneumonia (CABP): data from the delafloxacin phase 3 CABP trial. *Int. J. Infect. Dis.* **97**, 374–379 (2020)
74. Mendes R.E., Farrell D.J., Flamm R.K., Talbot G.H., Ivezic-Schoenfeld Z., Paukner S., Sader H.S.: *In vitro* activity of lefamulin tested against *Streptococcus pneumoniae* with defined serotypes, including multidrug-resistant isolates causing lower respiratory tract infections in the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* **60**, 4407–4411 (2016)
75. Mendes R.E., Paukner S., Doyle T.B., Gelone S.P., Flamm R.K., Sader H.S.: Low prevalence of Gram-positive isolates showing elevated lefamulin MIC. Results during the SENTRY Surveillance Program for 2015–2016 and characterization of resistance mechanisms. *Antimicrob. Agents Chemother.* **63**, DOI:10.1128/aac.02158-18 (2019)
76. Morrissey I., Hawser S., Lob S.H., Karlowsky J.A., Bassetti M., Corey G.R., Olesky M., Newman J., Fyfe C.: *In vitro* activity of eravacycline against Gram-positive bacteria isolated in clinical laboratories worldwide from 2013 to 2017. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, DOI: 10.1128/aac.01715-19 (2020)
77. Morrissey I., Olesky M., Hawser S., Lob S.H., Karlowsky J.A., Corey G.R., Bassetti M., Fyfe C.: *In vitro* activity of eravacycline against Gram-negative bacilli isolated in clinical laboratories worldwide from 2013 to 2017. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, DOI: 10.1128/aac.01699-19 (2020)
78. Motsch J., Paschke A. i wsp.: RESTORE-IMI 1: a multicenter, randomized, double-blind trial comparing efficacy and safety of imipenem/relebactam vs colistin plus imipenem in patients with imipenem-nonsusceptible bacterial infections. *Clin. Infect. Dis.* **70**, 1799–1808 (2020)
79. Namysłowska A., Laudy A.E., Tyski S.: Mechanizmy oporności *Acinetobacter baumannii* na związki przeciwbakteryjne. *Post. Mikrobiol.* **54**, 392–406 (2015)
80. Negash K.H., Norris J.K.S., Hodgkinson J.T.: Siderophore-antibiotic conjugate design: new drugs for bad bugs? *Molecules*, **24**, DOI:10.3390/molecules24183314 (2019)
81. Nilius A.M., Shen L.L., Hensley-Rudloff D., Almer L.S., Beyer J.M., Balli D.J., Cai Y., Flamm R.K.: *In vitro* antibacterial potency and spectrum of ABT-492, a new fluoroquinolone. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 3260–3269 (2003)
82. O’Riordan W., McManus A., Teras J., Poromanski I., Cruz-Saldariagga M., Quintas M., Lawrence L., Liang S., Cammarata S.: A comparison of the efficacy and safety of intravenous followed by oral delafloxacin with vancomycin plus aztreonam for the treatment of acute bacterial skin and skin structure infections: a phase 3, multinational, double-blind, randomized study. *Clin. Infect. Dis.* **67**, 657–666 (2018)
83. O’Riordan W., Mehra P., Manos P., Kingsley J., Lawrence L., Cammarata S.: A randomized phase 2 study comparing two doses of delafloxacin with tigecycline in adults with complicated skin and skin-structure infections. *Int. J. Infect. Dis.* **30**, 67–73 (2015)
84. Ozger H.S., Cuhadar T., Yildiz S.S., Demirbas Gulmez Z., Dizbay M., Guzel Tunccan O., Kalkanci A., Simsek H., Unaldi O.: *In vitro* activity of eravacycline in combination with colistin against carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates. *J. Antibiot.* **72**, 600–604 (2019)
85. Paukner S., Gelone S.P., Arends S.J.R., Flamm R.K., Sader H.S.: Antibacterial activity of lefamulin against pathogens most commonly causing community-acquired bacterial pneumonia: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2015–2016). *Antimicrob. Agents Chemother.* **63**, DOI:10.1128/aac.02161-18 (2019)
86. Paukner S., Riedl R.: Pleuromutilins: potent drugs for resistant bugs—mode of action and resistance. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **7**, DOI:10.1101/cshperspect.a027110 (2017)
87. Paukner S., Sader H.S., Ivezic-Schoenfeld Z., Jones R.N.: Antimicrobial activity of the pleuromutilin antibiotic BC-3781 against bacterial pathogens isolated in the SENTRY antimicrobial surveillance program in 2010. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 4489–4495 (2013)
88. Pfaller M.A., Huband M.D., Mendes R.E., Flamm R.K., Castanheira M.: *In vitro* activity of meropenem/vaborbactam and characterisation of carbapenem resistance mechanisms among carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from the 2015 meropenem/vaborbactam surveillance programme. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **52**, 144–150 (2018)
89. Portsmouth S., van Veenhuizen D., Echols R., Machida M., Ferreira J.C.A., Ariyasu M., Tenke P., Nagata T.D.: Cefiderocol versus imipenem-cilastatin for the treatment of complicated urinary tract infections caused by Gram-negative uropathogens: a phase 2, randomised, double-blind, non-inferiority trial. *Lancet Infect. Dis.* **18**, 1319–1328 (2018)
90. Prince W.T., Ivezic-Schoenfeld Z., Lell C., Tack K.J., Novak R., Obermayr F., Talbot G.H.: Phase II clinical study of BC-3781, a pleuromutilin antibiotic, in treatment of patients with acute bacterial skin and skin structure infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 2087–2094 (2013)
91. Pullman J., Gardovskis J., Farley B., Sun E., Quintas M., Lawrence L., Ling R., Cammarata S.: Efficacy and safety of delafloxacin compared with vancomycin plus aztreonam for acute bacterial skin and skin structure infections: a phase 3, double-blind, randomized study. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 3471–3480 (2017)
92. Remy J.M., Tow-Keogh C.A., McConnell T.S., Dalton J.M., Devito J.A.: Activity of delafloxacin against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: resistance selection and characterization. *J. Antimicrob. Chemother.* **67**, 2814–2820 (2012)
93. Sader H.S., Biedenbach D.J., Paukner S., Ivezic-Schoenfeld Z., Jones R.N.: Antimicrobial activity of the investigational pleuromutilin compound BC-3781 tested against Gram-positive organisms commonly associated with acute bacterial skin and skin structure infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **56**, 1619–1623 (2012)

94. Sader H.S., Paukner S., Ivezic-Schoenfeld Z., Biedenbach D.J., Schmitz F.J., Jones R.N.: Antimicrobial activity of the novel pleuromutilin antibiotic BC-3781 against organisms responsible for community-acquired respiratory tract infections (CARTIs). *J. Antimicrob. Chemother.* **67**, 1170–1175 (2012)
95. Sadowy E.: Mobile genetic elements beyond the VanB-resistance dissemination among hospital-associated *enterococci* and other Gram-positive bacteria. *Plasmid*, **114**, DOI:10.1016/j.plasmid.2021.102558 (2021)
96. Sato T., Yamawaki K.: Cefiderocol: discovery, chemistry, and in vivo profiles of a novel siderophore cephalosporin. *Clin. Infect. Dis.* **69**, 538–543 (2019)
97. Savov E., Trifonova A., Kovachka K., Kjosseva E., Strateva T.: Antimicrobial *in vitro* activities of ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam and plazomicin against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* – a pilot Bulgarian study. *Infect. Dis.* **51**, 870–873 (2019)
98. Shi Y., Hua X., Xu Q., Yang Y., Zhang L., He J., Mu X., Hu L., Leptihn S., Yu Y.: Mechanism of eravacycline resistance in *Acinetobacter baumannii* mediated by a deletion mutation in the sensor kinase adeS, leading to elevated expression of the efflux pump AdeABC. *Infect. Genet. Evol.* **80**, DOI:10.1016/j.meegid.2020.104185 (2020)
99. Shortridge D., Pfaller M.A., Streit J.M., Flamm R.K.: Update on the activity of delafloxacin against acute bacterial skin and skin-structure infection isolates from European hospitals (2014–2019). *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **23**, 278–283 (2020)
100. Siala W., Mingeot-Leclercq M.P., Tulkens P.M., Hallin M., Denis O., Van Bambeke F.: Comparison of the antibiotic activities of daptomycin, vancomycin, and the investigational fluoroquinolone delafloxacin against biofilms from *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 6385–6397 (2014)
101. Sims M., Mariyanovski V., McLeroth P., Akers W., Lee Y.C., Brown M.L., Du J., Pedley A., Kartsonis N.A., Paschke A.: Prospective, randomized, double-blind, phase 2 dose-ranging study comparing efficacy and safety of imipenem/cilastatin plus relebactam with imipenem/cilastatin alone in patients with complicated urinary tract infections. *J. Antimicrob. Chemother.* **72**, 2616–2626 (2017)
102. Słoczyńska A., Wand M.E., Tyski S., Laudy A.E.: Analysis of *bla*_{CHDL} genes and insertion sequences related to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical strains isolated in Warsaw, Poland. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, DOI:10.3390/ijms22052486 (2021)
103. Snyderman D.R., McDermott L.A., Jacobus N.V., Kerstein K., Grossman T.H., Sutcliffe J.A.: Evaluation of the *in vitro* activity of eravacycline against a broad spectrum of recent clinical anaerobic isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **62**, DOI: 10.1128/aac.02206-17 (2018)
104. Solomkin J.S., Gardovskis J., Lawrence K., Montravers P., Sway A., Evans D., Tsai L.: IGNITE4: results of a phase 3, randomized, multicenter, prospective trial of eravacycline vs meropenem in the treatment of complicated intraabdominal infections. *Clin. Infect. Dis.* **69**, 921–929 (2019)
105. Solomkin J.S., Ramesh M.K., Cesnauskas G., Novikovs N., Stefanova P., Sutcliffe J.A., Walpole S.M., Horn P.T.: Phase 2, randomized, double-blind study of the efficacy and safety of two dose regimens of eravacycline versus ertapenem for adult community-acquired complicated intra-abdominal infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **58**, 1847–1854 (2014)
106. Stracquadanio S., Torti E., Longshaw C., Henriksen A.S., Stefani S.: *In vitro* activity of cefiderocol and comparators against isolates of Gram-negative pathogens from a range of infection sources: SIDERO-WT-2014-2018 studies in Italy. *J. Glob. Antimicrob. Resist.* **25**, 390–398 (2021)
107. Sun C., Wang Q., Brubaker J.D., Wright P.M., Lerner C.D., Noson K., Charest M., Siegel D.R., Wang Y.M., Myers A.G.: A robust platform for the synthesis of new tetracycline antibiotics. *J. Am. Chem. Soc.* **130**, 17913–17927 (2008)
108. Sun D., Rubio-Aparicio D., Nelson K., Dudley M.N., Lomovskaya O.: Meropenem-vaborbactam resistance selection, resistance prevention, and molecular mechanisms in mutants of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, DOI:10.1128/aac.01694-17 (2017)
109. Sun J., Liu Y.H. i wsp.: Plasmid-encoded *tet(X)* genes that confer high-level tigecycline resistance in *Escherichia coli*. *Nat. Microbiol.* **4**, 1457–1464 (2019)
110. Sutcliffe J.A., O'Brien W., Fyfe C., Grossman T.H.: Antibacterial activity of eravacycline (TP-434), a novel fluorocycline, against hospital and community pathogens. *Antimicrob. Agents Chemother.* **57**, 5548–5558 (2013)
111. Tsvikovski R., Lomovskaya O.: Biochemical activity of vaborbactam. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, DOI: 10.1128/aac.01935-19 (2020)
112. Tulkens P.M., Van Bambeke F., Zinner S.H.: Profile of a novel anionic fluoroquinolone-delafloxacin. *Clin. Infect. Dis.* **68**, 213–222 (2019)
113. Waites K.B., Crabb D.M., Duffy L.B.: Comparative *in vitro* susceptibilities and bactericidal activities of investigational fluoroquinolone ABT-492 and other antimicrobial agents against human mycoplasmas and ureaplasmas. *Antimicrob. Agents Chemother.* **47**, 3973–3975 (2003)
114. Waites K.B., Crabb D.M., Duffy L.B., Jensen J.S., Liu Y., Paukner S.: *In vitro* activities of lefamulin and other antimicrobial agents against macrolide-susceptible and macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* from the United States, Europe, and China. *Antimicrob. Agents Chemother.* **61**, DOI: 10.1128/aac.02008-16 (2017)
115. Walkty A., Karlowsky J.A., Baxter M.R., Adam H.J., Golden A., Lagace-Wiens P., Zhanel G.G.: *In vitro* activity of imipenem-relebactam against various resistance phenotypes/genotypes of *Enterobacterales* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients across Canada as part of the CANWARD study, 2016–2019. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* **101**, DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2021.115418 (2021)
116. Wang L., Walsh T.R. i wsp.: Novel plasmid-mediated *tet(X5)* gene conferring resistance to tigecycline, eravacycline, and omadacycline in a clinical *Acinetobacter baumannii* isolate. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, DOI:10.1128/aac.01326-19 (2019)
117. Wang Z., Lin Z., Bai B., Xu G., Li P., Yu Z., Deng Q., Shang Y., Zheng J.: Eravacycline susceptibility was impacted by genetic mutation of 30S ribosome subunits, and branched-chain amino acid transport system II carrier protein, Na/Pi cotransporter family protein in *Staphylococcus aureus*. *BMC Microbiol.* **20**, DOI:10.1186/s12866-020-01869-6 (2020)
118. Wen Z., Shang Y., Xu G., Pu Z., Lin Z., Bai B., Chen Z., Zheng J., Deng Q., Yu Z.: Mechanism of eravacycline resistance in clinical *Enterococcus faecalis* isolates from China. *Front. Microbiol.* **11**, DOI:10.3389/fmicb.2020.00916 (2020)
119. Wilson B.R., Bogdan A.R., Miyazawa M., Hashimoto K., Tsuji Y.: Siderophores in iron metabolism: from mechanism to therapy potential. *Trends Mol. Med.* **22**, 1077–1090 (2016)
120. World Health Organization: 2020 antibacterial agents in clinical and preclinical development: an overview and analysis. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/340694> (16.07.2021)
121. World Health Organization: Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics

- for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/311820> (16.07.2021)
122. Wunderink R.G., Nagata T.D. i wsp.: Cefiderocol versus high-dose, extended-infusion meropenem for the treatment of Gram-negative nosocomial pneumonia (APEKS-NP): a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. *Lancet Infect. Dis.* **21**, 213–225 (2021)
123. Xiao X.Y., Sutcliffe J.A. i wsp.: Fluorocyclines. 7-fluoro-9-pyrrolidinoacetamido-6-demethyl-6-deoxytetracycline: a potent, broad spectrum antibacterial agent. *J. Med. Chem.* **55**, 597–605 (2012)
124. Young K., Motyl M.R. i wsp.: *In vitro* studies evaluating the activity of imipenem in combination with relebactam against *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol.* **19**, DOI:10.1186/s12866-019-1522-7 (2019)
125. Zhanel G.G., Baxter M.R., Adam H.J., Sutcliffe J., Karlowsky J.A.: *In vitro* activity of eravacycline against 2213 Gram-negative and 2424 Gram-positive bacterial pathogens isolated in Canadian hospital laboratories: CANWARD surveillance study 2014–2015. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* **91**, 55–62 (2018)
126. Zhanel G.G., Karlowsky J.A. i wsp.: Lefamulin: a novel oral and intravenous pleuromutilin for the treatment of community-acquired bacterial pneumonia. *Drugs*, **81**, 233–256 (2021)
127. Zhang F., Yu Z.J. i wsp.: Eravacycline activity against clinical *S. aureus* isolates from China: *in vitro* activity, MLST profiles and heteroresistance. *BMC Microbiol.* **18**, DOI:10.1186/s12866-018-1349-7 (2018)
128. Zheng J.X., Lin Z.W., Sun X., Lin W.H., Chen Z., Wu Y., Qi G.B., Deng Q.W., Qu D., Yu Z.J.: Overexpression of OqxAB and MacAB efflux pumps contributes to eravacycline resistance and heteroresistance in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*. *Emerg. Microbes Infect.* **7**, DOI:10.1038/s41426-018-0141-y (2018)
129. Zhou M., Yang Q., Lomovskaya O., Sun D., Kudinha T., Xu Z., Zhang G., Chen X., Xu Y.: *In vitro* activity of meropenem combined with vaborbactam against KPC-producing *Enterobacteriaceae* in China. *J. Antimicrob. Chemother.* **73**, 2789–2796 (2018)
130. Zhuchenko G., Schmidt-Malan S., Patel R.: Planktonic and bio-film activity of eravacycline against *Staphylococci* isolated from periprosthetic joint infections. *Antimicrob. Agents Chemother.* **64**, DOI:10.1128/aac.01304-20 (2020)

ACINETOBACTER BAUMANNII – CZYNNIKI WIRULENCJI I EPIDEMIOLOGIA ZAKAŻEŃ

Anna Marszałik¹, Karolina Sidor^{1,4}, Agnieszka Kraśnicka², Marta Wróblewska^{2,3},
Tomasz Skirecki⁴, Tomasz Jagielski⁵, Radosław Stachowiak^{1*}

¹Zakład Fizjologii Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

²Zakład Mikrobiologii, Centralny Szpital Kliniczny, Uniwersyteckie Centrum Kliniczne, Warszawski Uniwersytet Medyczny

³Zakład Mikrobiologii Stomatologicznej, Wydział Lekarsko-Stomatologiczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

⁴Pracownia Cytometrii Przepływowej, Centrum Medyczne Kształcenia Podyplomowego

⁵Zakład Mikrobiologii Medycznej, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Wpłynęło w styczniu, zaakceptowano we wrześniu 2021 r.

Streszczenie: Gram-ujemna pałeczka *Acinetobacter baumannii* jest drobnoustrojem saprofitycznym często zasiedlającym wilgotne nisze, potrafi też jednak przetrwać na powierzchniach suchych. Szerokie rozpowszechnienie w środowisku za sprawą minimalnych wymagań odżywczych oraz wyjątkowych zdolności adaptacyjnych przekłada się na możliwość opanowania nisz w środowisku szpitalnym, a tym samym na stwarzanie zagrożenia dla hospitalizowanych pacjentów. Bakteria ta może wchodzić w skład mikrobioty człowieka jako oportunistyczny patogen, który w chwili osłabienia organizmu gospodarza wywołuje poważne zakażenia. Pałeczka *A. baumannii* stanowi dominujący czynnik etiologiczny zapalenia płuc związanego z wentylacją mechaniczną, co jest szczególnie niebezpieczne dla pacjentów na oddziałach intensywnej terapii (w Polsce do takich zakażeń dochodzi u co piątego pacjenta). Przez wzgląd na narastającą wielolekooporność *A. baumannii* Światowa Organizacja Zdrowia zaliczyła tę bakterię do grupy patogenów priorytetowych. Zwalczanie takich drobnoustrojów jest wyjątkowo trudne ze względu na ich zarówno naturalną, jak i nabywaną zdolność szybkiego rozwijania różnorodnych mechanizmów oporności w odpowiedzi na zagrożenia ze strony środowiska. Wyjątkowa zdolność *A. baumannii* do wywoływania zakażeń i nabywania oporności na coraz większą liczbę leków implikuje konieczność wdrożenia szczególnej kontroli w profilaktyce zakażeń.

1. Wstęp. 2. Charakterystyka i taksonomia. 3. Występowanie i warunki hodowli. 4. Epidemiologia. 5. Czynniki wirulencji. 6. Zwalczanie. 7. Podsumowanie

ACINETOBACTER BAUMANNII – VIRULENCE FACTORS AND EPIDEMIOLOGY OF INFECTIONS

Abstract: *Acinetobacter baumannii* is a Gram-negative saprophytic rod inhabiting both moist niches and dry surfaces. The wide spread of the microbe in the environment by means of minimal nutritional requirements and exceptional survival capabilities give the opportunities to occupy hospital niches, and thus to create threats for hospitalized patients. This bacterium may be a part of the human microbiota as an opportunistic pathogen which upon the host's weakening, causes less or more serious diseases. *A. baumannii* is an etiological factor of ventilator-associated pneumonia, which is especially dangerous for patients in intensive care units (in Poland every fifth patient suffers from such infection). Due to the increasing multidrug resistance of *A. baumannii*, this bacterium belongs to the group of priority pathogens. Fighting such dangerous bacteria is difficult due to their natural resistance as well as acquired resistance mechanisms in response to environmental threats. The unique ability of *A. baumannii* to cause diseases and acquire resistance to numerous antibiotics, make it necessary to control and prevent these infections.

1. Introduction. 2. Characteristics and taxonomy. 3. Occurrence and growth conditions. 4. Epidemiology. 5. Virulence factors. 6. Control of infections. 7. Summary

Słowa kluczowe: *Acinetobacter baumannii*, ESKAPEE, VAP

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, ESKAPEE, VAP

1. Wstęp

Gram-ujemna pałeczka *Acinetobacter baumannii* to oportunistyczny patogen, posiadający potencjał epidemiczny i przyczyniający się do ognisk infekcji na całym świecie. Pałeczki *A. baumannii* są czynnikami etiologicznymi przede wszystkim zakażeń dolnych dróg oddechowych u pacjentów wentylowanych

mechanicznie, zakażeń krwi oraz zakażeń ran w szpitalach polowych. Narastająca lekooporność, wysoka śmiertelność wśród pacjentów zakażonych tym patogenem i trudność w leczeniu infekcji spowodowała wpisanie tego patogenu przez Światową Organizację Zdrowia (World Health Organization, WHO) na listę patogenów stanowiących największe wyzwanie obecnej dekady.

* Autor korespondencyjny: dr hab. Radosław Stachowiak, Zakład Fizjologii Bakterii, Instytut Mikrobiologii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, ul. Miecznikowa 1, 02-096 Warszawa; tel. 22 55 41 414; e-mail: r.stachowiak@uw.edu.pl

2. Charakterystyka i taksonomia

W 1911 roku mikrobiolog Martinus Beijerinck, wykorzystując pożywkę wzbogaconą o octan wapnia, wyizolował z gleby mikroorganizm, który nazwał *Micrococcus calcoaceticus*. Brak dokładnej charakterystyki spowodował nadanie nowej nazwy gatunkowi znanemu już jako *Bacterium anitratum* oraz *Moraxella lwoffii* var. *glucidolytica* – później *M. glucidolytica*. W 1953 roku Jean Brisou zaproponował włączenie *M. glucidolytica* do rodzaju *Achromobacter*, lecz rok później wraz z Andre-Romainem Prevotem doszedł do wniosku, że w celu odróżnienia ich od ruchliwych przedstawicieli *Achromobacter* warto utworzyć nowy takson, proponując nazwę *Acinetobacter* (*akinetos* – niezdolny do ruchu, *bactrum* – pałeczka). W 1968 zespół Paula Baumanna stwierdził ostatecznie, że powyższe taksony (wówczas uznawane za rozdzielne) należą do jednego rodzaju – *Acinetobacter*, co trzy lata później zostało sformalizowane decyzją Podkomisji do spraw Taksonomii *Moraxella* i Pokrewnych Bakterii [38, 52]. Ostateczna nazwa drobnoustroju – *Acinetobacter baumannii*, została nadana, aby uhonorować dwoje amerykańskich bakteriologów: Paula i Lindę Baumannów [39]. W latach 70. XX wieku uznano *A. baumannii* za patogen oportunistyczny. Początkowo do rodzaju *Acinetobacter* zaliczono dwa gatunki: *A. lwoffii* oraz *A. calcoaceticus* [72]. W 2015 roku rodzaj *Acinetobacter* obejmował 33 gatunki [21]. Obecnie w jego skład wchodzi ponad 50 gatunków, wśród których większość to gatunki środowiskowe [100]. Rodzaj *Acinetobacter* zaliczany jest do gamma-proteobakterii (nazwa ta nawiązuje do *Proteusa* – greckiego bożka potrafiącego zmieniać postać) [62]. Aktualną pozycję taksonomiczną gatunku *A. baumannii* przedstawiono na ryc. 1.

Typ: *Proteobacteria*
 Klasa: *Gammaproteobacteria*
 Rząd: *Pseudomonadales*
 Rodzina: *Moraxellaceae*
 Rodzaj: *Acinetobacter*
 Gatunek: *Acinetobacter baumannii*

Ryc. 1. Taksonomia gatunku *Acinetobacter baumannii*
 Na podstawie Szewczyk i wsp. [88].

Bakterie te są owalnymi, prawie kulistymi Gram-ujemnymi pałeczkami, czasem tworzącymi układy dwoninkowe. Mimo swej nazwy wskazującej na brak ruchliwości, pałeczka ta ma zdolność do ruchu. Organizmy te są oksydazo-ujemnymi bezwzględnie tlenowcami, w obrębie których można rozróżnić gatunki zdolne do utleniania glukozy (*A. baumannii*) oraz niezdolne do tego procesu (*A. lwoffii*, *A. haemolyticus*) [64, 88].

Ze względu na wysokie podobieństwo fenotypowe, a tym samym trudności z rozróżnieniem sześciu gatunków z rodzaju *Acinetobacter*: *A. calcoaceticus*, *A. nosoco-*

mialis, *A. pittii*, *A. seifertii*, *A. lactucae* (*A. dijkshoorniae*) oraz *A. baumannii*, utworzono dla nich grupę *A. calcoaceticus-baumannii* (*Acb*) kompleks [24, 68]. Gatunkiem z rodzaju *Acinetobacter* najczęściej wywołującym infekcje u ludzi jest *A. baumannii*, *A. calcoaceticus* pasuje się na miejscu drugim, zaś *A. lwoffii* na trzecim. Pozostałe gatunki *Acinetobacter* również mogą stanowić czynnik etiologiczny zakażeń, jednak znacznie rzadziej w porównaniu do powyższych trzech. Wyjątek stanowi *A. seifertii* (genetycznie blisko spokrewniony z *A. baumannii*), będący najczęstszą przyczyną zakażeń w Azji [100].

W obrębie rodzaju *Acinetobacter*, a zwłaszcza u *A. baumannii*, występują szczepy naturalnie kompetentne, tj. zdolne w warunkach naturalnych do pobierania DNA z otaczającego je środowiska w celu ewentualnego wykorzystania wolnych kwasów nukleinowych jako substratów do naprawy własnego materiału genetycznego bądź włączenia nowych fragmentów w obręb genomu. Proces nabywania nowych i modyfikacji już posiadanych cech jest uwarunkowany genetycznie i wymaga uczestnictwa produktów kilkunastu genów. Bakterie mogą też stosować pewien rodzaj drażnienia, polegający na doprowadzaniu do śmierci znajdujących się w pobliżu komórek, przynależących do niespokrewnionych gatunków w celu wzbogacenia puli genowej [91, 93]. Przykładowo *A. baumannii* potrafi doprowadzić do lizy komórki *K. pneumoniae* czy *S. aureus*, a następnie zintegrować pochodzące od nich fragmenty DNA z własnym genomem, co umożliwiło badanym szczepom nabycie oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe (β -laktamy, w tym karbapenemy) [91]. Naturalna transformacja istotnie wpływa na plastyczność genomu *A. baumannii*, a w rezultacie sprzyja pojawianiu się szczepów opornych na wiele leków. Warto podkreślić, że u *A. baumannii* dominuje tendencja do pozyskiwania niekodujących fragmentów DNA, zamiast sekwencji kodujących, co zwiększa pulę ruchomych elementów genetycznych, a ponadto stwierdzono, że preferowanym źródłem materiału genetycznego dla tej pałeczki jest DNA innych bakterii Gram-ujemnych [91, 93]. Dodatkowo, związki chemiczne zanieczyszczające środowisko mogą zwiększać potencjał komórek bakteryjnych do pobierania obcego DNA. Mechanizm molekularny tego zjawiska polega na wzmagananiu ekspresji genu *recA* (kodującego czynnik rekombinacji homologicznej) przez związki o potencjale mutagennym, co zwiększa (nawet dwukrotnie) częstotliwość integracji pobranego DNA z chromosomem, a tym samym wydajność transformacji genomowego DNA. Tym sposobem np. powszechnie stosowane chlorowanie wody, mające na celu zwiększenie bezpieczeństwa wody pitnej, może przyczynić się do wzrostu wydajności transformacji, a co za tym idzie do powstania nowego, potencjalnie niebezpiecznego szczepu [59]. Mechanizm ten może dodatkowo zwiększać wydajność koselekcji, zjawiska istotnie

przyczyniającego się do wzrostu antybiotykooporności u szczepów bytujących w środowiskach zanieczyszczonych w szczególności metalami ciężkimi [36].

W 2014 roku stwierdzono, że w genomie tej pałeczki sekwencje zidentyfikowane jako umiarkowane fagi są liczniejsze niż elementy koniugacyjne, co podkreśla ich istotną rolę jako wektorów horyzontalnego transferu genów. Dodatkowo zaobserwowano obecność złożonych, zmiennych systemów CRISPR-Cas (clustered regularly interspaced short palindromic repeats) w genomie *Acinetobacter*. Zebrane dane doprowadziły do sformułowania hipotezy, że obecna populacja *A. baumannii* mogła wyewoluować z pierwotnej, niewielkiej populacji tego gatunku w wyniku selekcji negatywnej [90].

3. Występowanie i warunki hodowli

Bakterie z rodzaju *Acinetobacter* to szeroko rozprzestrzenione saprofity, występujące na terenach podmokłych, w wilgotnej glebie, w stawach, ściekach, stacjach uzdatniania wody, w zbiornikach do hodowli ryb, a także w wodzie morskiej. Ponieważ w przyrodzie występują powszechnie w glebie i wodzie, ich izolacja jest stosunkowo łatwa. W laboratorium można otrzymać czystą hodowlę stosując podłoża wzbogacone octanem do zawartości 0,2% przy pH 5,5–6,0. Bakterie te są jednymi z dominujących w glebach tundry, a także należą do składowych mikrobioty warstwy tlenowej jezior słonych czy solanek. Ponadto mogą występować również w powietrzu (wykryto je np. w kurzu w czasie burzy piaskowej). Co istotne, w aerozolu powietrza okolic składowisk odpadów, kompostowni czy oczyszczalni ścieków, a także w pomieszczeniach biurowych pałeczki *Acinetobacter* spp. dominują ilościowo nad innymi rodzajami [8].

Wykazano, że dodatek etanolu do podłoża wzmacnia wzrost *A. baumannii*, a także zwiększa tolerancję tego drobnoustroju na zasolenie, dzięki czemu w obecności alkoholu etylowego (działającego jako cząsteczka sygnałowa) bakteria ta może przetrwać hamujące jej wzrost w normalnych warunkach stężenia soli. Z tego powodu również wspólna hodowla z drożdżami *Saccharomyces cerevisiae* wydzielającymi do podłoża etanol wzmacnia wzrost tej bakterii. Obecność tego związku wpływa na indukcję białek *A. baumannii*, m.in. zaangażowanych w anabolizm lipidów i węglowodanów, co nasila wytwarzanie biofilmu i zmniejsza ruchliwość bakterii. Obecność etanolu indukuje także produkcję kwasu indolilo-3-octowego (IAA), będącego hormonem roślinnym wzmagającym tolerancję roślin na obecność bakterii. Traktowane tym alkoholem *A. baumannii* wykazują się zwiększoną patogennością w modelu infekcji nicieni. Należy podkreślić, że u ludzi etanol predysponuje organizm do infekcji *A. baumannii*, sprzyjając adaptacji i przetrwaniu tego patogenu [69, 84].

Bakterie z gatunku *A. baumannii* posiadają duże zdolności przystosowawcze, co umożliwia im zasiedlanie środowisk szpitalnych. Zamieszkują tam nie tylko powierzchnie wilgotne (np. układy oddechowe respiratorów), ale także suche (np. sprzęt medyczny), co jest cechą nietypową u pałeczek Gram-ujemnych [1]. Wchodzą w skład fizjologicznej stałej lub przejściowej mikrobioty (skóry, błon śluzowych dróg oddechowych i moczowo-płciowych czy jelita grubego) zarówno pacjentów, jak i personelu medycznego [58].

Ciekawostką jest, że podczas montażu lądownika Mars Phoenix wyizolowano kilka szczepów *Acinetobacter* opornych na nadtlenek wodoru. Analiza proteomiczna ujawniła obecność katalazy oraz alkilowej reduktazy wodorotlenkowej. Ze względu na tak wysoką wytrzymałość z prawdopodobnie niezbędne będzie zaliczenie przedstawicieli tego rodzaju do obciążenia biologicznego statków kosmicznych podczas misji mających wykryć ślady życia poza naszą planetą [20].

4. Epidemiologia

Co niezwykle istotne z medycznego punktu widzenia, *A. baumannii* należy do najczęstszych patogenów wielolekoopornych (MDR, multidrug resistant), opornych na szeroką gamę leków (XDR, extensively drug resistant), a nawet opornych na wszystkie dostępne preparaty (PDR, pandrug-resistant), które są coraz częściej przyczynami infekcji wewnątrzszpitalnych [70]. Badania nad czynnikami etiologicznymi w oddziałach intensywnej terapii na pięciu kontynentach z 2007 roku wykazały, że *A. baumannii* był piątym patogenem pod względem częstości występowania [94]. W Europie jest on trzecim w kolejności patogenem powodującym zapalenia płuc związane z wentylacją mechaniczną (VAP), tuż po *S. aureus* i *P. aeruginosa* [48]. Szczególnym zagrożeniem dla pacjentów jest bakteryjne zapalenie płuc na oddziałach intensywnej terapii (OIT) [33].

Do rozwoju VAP dochodzi średnio u co piątego pacjenta (od 8 do 28%) wentylowanego mechanicznie. Śmiertelność w tej grupie chorych jest szczególnie wysoka i wynosi od 24% do aż 50%, a niekiedy może osiągnąć nawet 76% [16, 41]. Szacuje się, że każdego roku infekcje *A. baumannii* powodują około 15 tysięcy zgonów [85]. Głównymi czynnikami etiologicznymi szpitalnych zakażeń płuc są *S. aureus*, *Enterobacteriaceae*, *P. aeruginosa* oraz właśnie *A. baumannii*, przy czym rodzaj czynnika zależy zarówno od czasu pobytu pacjenta w szpitalu, jak też zastosowanego wcześniej leczenia przeciwdrobnoustrojowego. Należy podkreślić, że VAP wywołane przez *P. aeruginosa* i *Acinetobacter* spp. rozwinęło się u aż 65% pacjentów, których w ciągu dwóch tygodni poprzedzających zakażenie poddano terapii antybiotykiem o szerokim spektrum działania i jedynie u 19% tych, u których takiej terapii nie

zastosowano [16, 41]. Ryzyko nabycia VAP związanego z *Acinetobacter* spp. wzrasta też w obecności nadciśnienia tętniczego (40%), przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (28%), cukrzycy (23%), oraz procedur inwazyjnych: cewników moczowych (99%), centralnych cewników naczyniowych (głównie szyjnych i podobojczykowych) (83%), czy sond nosowo-żołądkowych (74%) [29].

W badaniu dotyczącym bakteryjnych zakażeń krwi (BSI) w 16 szpitalach w południowej Polsce w latach 2016–2019 stwierdzono, że bakterie Gram-ujemne odpowiadały za 27,8% przypadków BSI, spośród których oporny na karbapenemy *A. baumannii* odpowiedzialny był za 70,6% zakażeń na OIT. Pałeczka ta była obecna na oddziałach chirurgii we wszystkich 16 szpitalach [17]. Badania epidemiologiczne w Polsce i na Ukrainie pod kątem wywoływania VAP wykazały zróżnicowaną częstość występowania poszczególnych gatunków. Stwierdzono za to jednoznacznie, że jako czynniki etiologiczne tej jednostki chorobowej dominują bakterie Gram-ujemne. Co istotne, szczepy MDR *A. baumannii* okazały się znacznie częściej izolowane w Polsce (26,9%) niż na Ukrainie (14,6%), co może wynikać z różnic w strategii stosowania antybiotyków w obu krajach [37]. Ciężkie zakażenia MDR *A. baumannii* wiążą się z wysoką śmiertelnością, sięgającą 70% w VAP oraz 43% w przypadku zakażeń krwi. W odpowiedzi na narastający problem antybiotykooporności, rząd brytyjski w 2014 roku ogłosił, że niezahamowanie nadmiernego użycia antybiotyków spowoduje do 2050 roku 10 milionów zgonów rocznie z powodu infekcji bakteriami, a to więcej niż z powodu nowotworów, które odpowiadają za 8,2 miliony zgonów rocznie [70].

Bakteria *A. baumannii*, razem z *Enterobacter* spp., *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecium* i *Escherichia coli*, należy do patogenów wielolekoopornych, które Amerykańskie Towarzystwo Chorób Zakaźnych określiło akromimem ESKAPEE. Akronim ten oznacza „ucieczkę” (ang. escape), co nawiązuje do szczególnej oporności tych bakterii na skierowane przeciwko nim, dostępne obecnie antybiotyki [77, 78]. W 2017 roku WHO umieściła *A. baumannii* na liście patogenów antybiotykoopornych, dla których znalezienie skutecznych terapii przeciwdrobnoustrojowych uważa się za priorytetowe – *A. baumannii* oporny na karbapenemy został uznany za jeden z trzech patogenów o znaczeniu krytycznym [56, 89].

Bakteria *A. baumannii* to jeden z najczęściej izolowanych patogenów wśród pacjentów OIT. Za taki stan rzeczy odpowiadają szczególne cechy tego drobnoustroju, takie jak jego wysoka zdolność do akumulacji różnorodnych mechanizmów oporności (w wyniku mutacji oraz nabywania plazmidów, transpozonów, integronów, wysp oporności) oraz zdolność do przetrwania w niekorzystnych warunkach środowiskowych

(przesuszenie, kontakt ze środkami dezynfekcyjnymi), a także wytwarzanie biofilmu.

Szacuje się też, że rocznie dochodzi do ok. miliona zakażeń *A. baumannii* na świecie, w tym ok. 45 000 w USA, z czego połowa wywoływana jest szczepami opornymi na karbapenemy, powodując śmiertelność a poziomie blisko 20% [85]. Problem narastania lekooporności szczepów *A. baumannii* jest ogromny; jeden z raportów wskazuje, że w sumie na całym świecie w 2004 roku 23% izolatów klinicznych *A. baumannii* wykazywało się wielolekoopornością, zaś w 2014 roku było to już 63% [35]. Infekcje wywołane przez szczepy XDR charakteryzują się bardzo wysokim współczynnikiem śmiertelności sięgającym 70%, a w przypadku szczepów XDR wykazujących oporność na karbapenemy – nawet 88% [6]. Szczepy *A. baumannii* odporne na karbapenemy (CRAB, carbapenem-resistant *A. baumannii*) są obecnie przyczyną bardzo poważnych zakażeń szpitalnych, szczególnie w OIT. Za jeszcze większy problem uważa się wzrost liczby szczepów opornych na kolistynę (ABCR, *A. baumannii* colistin-resistant), będącą tzw. antybiotykiem ostatniego rzutu. Śmiertelność wśród pacjentów zakażonych szczepami ABCR wynosi około 85% i jest ponad dwukrotnie wyższa niż w przypadku infekcji szczepami wrażliwymi na ten antybiotyk [60].

WHO w 2017 roku podała, że w latach 2011–2014 w USA za infekcje związane z opieką zdrowotną odpowiedzialne było 45–65% szczepów *A. baumannii* opornych na karbapenemy oraz 40–70% szczepów MDR [85]. Wśród nielicznych krajów, które prowadzą nadzór nad występowaniem infekcji *A. baumannii* w społeczeństwie, znajdują się Stany Zjednoczone. Amerykańskie Centrum Kontroli i Zapobiegania Chorobom (CDC, Center for Disease Control and Prevention) podało w raporcie w 2013 roku, że szczepy MDR *A. baumannii* powodują rocznie w USA około 7 000 infekcji, co odpowiada około 10% wszystkich zakażeń szpitalnych w tym kraju, z czego 500 kończy się zgonami [141]. Nadzór taki prowadzony jest także w Anglii przez Public Health England, jednak w węższym zakresie – dotyczy tylko zakażeń krwi.

Pałeczki *A. baumannii* często są izolowane z próbek moczu, krwi, płynu mózgowo-rdzeniowego czy z ran pooperacyjnych pacjentów z zakażeniem szpitalnym. U niektórych pacjentów *A. baumannii* stanowi część naturalnej mikrobioty błon śluzowych i w odpowiednich warunkach może wywołać zakażenia ran, dróg oddechowych, moczowych (zakażenia odcewnikowe), otrzewnej czy opon mózgowo-rdzeniowych. Do grupy szczególnego ryzyka należą pacjenci krytycznie chorzy, wentylowani mechanicznie, po zabiegach chirurgicznych, osłabieni przedłużającą się hospitalizacją i związanym z tym leczeniem antybiotykami o szerokim spektrum działania [2, 28]. Głównym rezerwu-

arem szpitalnym *A. baumannii* są środowiska wilgotne: łazienki i kuchnie [43]. W odróżnieniu od wymienionych wyżej czynników ryzyka kolonizacji i zakażenia wielolekoopornymi *A. baumannii* nabytymi w szpitalu (hospital-acquired *A. baumannii* – HA-Ab), czynnikami ryzyka infekcji nabytych w społeczeństwie (community-acquired *A. baumannii* – CA-Ab) są: nadużywanie alkoholu, papierosów, klimat subtropikalny i tropikalny, ale też ogólny stan zdrowia, w tym niektóre choroby współistniejące takie jak cukrzyca czy przewlekłe choroby płuc. Wykazano, że ekspozycja makrofagów na działanie etanolu (w dawkach fizjologicznych, dostarczanych do organizmu przez osoby nadużywające alkoholu) znacząco zmniejsza zdolność komórek do fagocytozy (dawka 6,25 mmol/l o 23,4%, a 12,5 mmol/l o 51,7%). Efekt ten jest najprawdopodobniej wynikiem znacznego zmniejszenia ekspresji regulatora kaskady sygnalizacyjnej polimeryzacji aktyny (GTPazy-RhoA). Dodatkowo etanol inaktywuje syntazę NO, przez co zwiększa się przeżywalność *A. baumannii* w makrofagach. Ponadto alkohol modyfikuje produkcję cytokin (produkowanych głównie w komórkach nabłonkowych płuc), przez co znacząco zaostrza przebieg zakażeń [4]. Wśród pacjentów z zakażeniami CA-Ab w 2015 roku odnotowano śmiertelność wynoszącą aż 64%. Należy przy tym podkreślić, że trudno jest jednoznacznie stwierdzić, czy przyczyną tak wysokiego wskaźnika śmiertelności są jedynie cechy zjadliwości szczepów, czy też osłabiony organizm gospodarza [21, 101].

Również środowiskowe szczepy *Acinetobacter* bardzo często wytwarzają enzymy dające oporność na antybiotyki (np. karbapenemazy, beta-laktamazy o szerokim spektrum działania), co czyni je istotnym rezerwuarem antybiotykooporności w środowisku pozaszpitalnym [1]. Niestety *A. baumannii* staje się znaczącym czynnikiem etiologicznym chorób zwierząt. Do większości zakażeń tym patogenem dochodzi w klinikach weterynaryjnych, co powoduje takie choroby jak: pioderma psów, martwicze zapalenie powięzi u kotów, zakażenie dróg moczowych, zakrzepowe zapalenie żył koni i zakażenie dolnych dróg oddechowych, sepsa źrebiąt, zapalenie płuc u norek czy zmiany skórne u sokołów. Izolaty zwierzęce wykazują wysoką różnorodność genetyczną. Ponadto występują u nich inne typy sekwencyjne niż u ludzi. Wraz z transmisją bakterii zwierzęta mogą przyczyniać się do rozpowszechniania nowych karbapenemaz, a ryzyko takiej transmisji rośnie w przypadku zwierząt towarzyszących. Należy zauważyć, że bakterię tę identyfikuje się nie tylko u osobników chorych, ale również zdrowych, szczególnie na skórze psów. Nie można zatem wykluczyć, że zwierzęta mogą pełnić rolę rezerwuaru *A. baumannii* [80, 92].

W 2017 roku sprawdzono potencjalny rezerwuár *A. baumannii* u ptaków. Bakterie wyizolowano od różnych gatunków ptaków (kur – od 3%, gęsi – 8% i piskląt

bociana białego – 25%). Zjadliwość uzyskanych szczepów okazała się porównywalna z tą obserwowaną u szczepów klinicznych. Analiza sekwencji bakterii ujawniła bliskie pokrewieństwo pomiędzy izolatami kurzym z Niemiec oraz ludzkim klinicznym z Chin, a także powiązania między izolatami zwierząt hodowlanych z ludzkimi klinicznymi związanymi z międzynarodowymi liniami klonalnymi. Izolaty bocianie wykazały podobieństwo do ludzkiego klinicznego z USA. Badanie sugeruje, że *A. baumannii* może być uznany za patogen odzwierzęcy, który dodatkowo może przenosić się na zwierzęta gospodarskie [98].

Całościowa ocena sytuacji epidemiologicznej w Polsce wciąż wymaga dalszych, szeroko zakrojonych badań. W roku 2018 raport Narodowego Instytutu Leków, opracowany w ramach Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków (NPOA), podawał, że w niemal 32% hospitalizacji dochodziło do nabycia zakażeń w polskich OIT. Zapadalność na zapalenie płuc dotyczyła 50,7% zakażonych pacjentów (17% wszystkich hospitalizacji), zakażenie łożyska naczyniowego (w tym zakażenia odcewnikowe) 35,4% *A. baumannii* okazał się trzecim najczęstszym czynnikiem etiologicznym zapalenia płuc (13%, zaraz po *P. aeruginosa* – 25,5% i *Klebsiella* spp. – 22,8%) oraz szóstym w przypadku zakażeń łożyska naczyniowego (3,6%). Aż 61,8% wyizolowanych szczepów *A. baumannii* wykazywała oporność na karbapenemy [23].

Trwająca 6 lat obserwacja (2011–2016) na OIT w Szpitalu Uniwersyteckim we Wrocławiu wśród 2549 pacjentów, pokazała, że *A. baumannii* był odpowiedzialny za 31% zakażeń, przy czym 73,8% dotyczyło zapalenia płuc związanego ze sztuczną wentylacją. Odnotowano także wzrost zakażeń szpitalnych wywołanych przez *A. baumannii* na przestrzeni lat – w 2011 roku było to 16,5%, a w 2016 roku – 41%. Zbadane szczepy były wrażliwe na kolistynę, amikacynę, imipenem, meropenem i ciprofloksacynę odpowiednio w 100%, 10,7%, 12,3%, 11,5% i 2,4%, a wielolekoopornych szczepów było 98,36% [25]. Częstość występowania zakażeń *A. baumannii* była niższa w tym ośrodku niż w OIT Szpitala Klinicznego Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w pierwszych 12 miesiącach jego funkcjonowania, gdzie wynosiła ona 38,8%.

Badania 234 pacjentów hospitalizowanych w Klinice Intensywnej Opieki Medycznej Pomorskiej Akademii Medycznej Samodzielnego Publicznego Szpitala Klinicznego nr 1 w Szczecinie wykazały, że najczęstszym czynnikiem etiologicznym były *A. baumannii* (18,6%) oraz *P. aeruginosa* (16,9%). Za zapalenie płuc najczęściej odpowiedzialny był *A. baumannii* – w 23,09%, natomiast za zapalenie otrzewnej – *E. coli* (20,3%); *A. baumannii* powodował 17,4% zakażeń.

Retrospektywne badanie dorosłych pacjentów hospitalizowanych w OIT (2547 chorych) na terenie połu-

dniowej Polski, biorących udział w wielośrodkowym standaryzowanym programie kontroli zakażeń w latach 2013–2015, w ramach europejskiego systemu nadzoru nad zakażeniami szpitalnymi (Healthcare-associated Infections Surveillance Network – HAI-Net), pokazało, że *A. baumannii* był także dominującym czynnikiem etiologicznym wtórnych zakażeń krwi na OIT (34,5%). Spośród nich 78,8% szczepów wykazywała oporność na imipenem, 72,7% na meropenem i doripenem, a 57,6% na sulbaktam [95].

Głównym mechanizmem oporności szczepów klinicznych tej pałeczki na karbapenemy są karbapenemazy typu CHDL, na których ekspresję wpływa obecność sekwencji insercyjnych powyżej genów *blaCHDL*. Badanie szczepów wyizolowanych w jednym z warszawskich szpitali w latach 2009–2014 potwierdziło powszechność występowania powyższych mechanizmów oporności w polskich izolatach klinicznych [83]. W jednym z najnowszych badań wszystkie szczepy od pacjentów hospitalizowanych w oddziale chirurgii naczyniowej w Krakowie (SSI – surgical site infections, z zakażeń miejsc operowanych oraz z ran) okazały się XDR, odporne na karbapenemy. Wszystkie posiadały geny: *blaOXA-23*, *blaOXA-24* i *blaOXA-51* i wszystkie wytwarzały mniej obfity biofilm w stosunku do szczepu referencyjnego ATCC19606 [87].

W Polsce w OIT około 22% chorych jest hospitalizowanych z powodu sepsy i wstrząsu septycznego, a śmiertelność w tej grupie sięga aż 46%. W 2015 roku stwierdzono, że za 58% przypadków sepsy były odpowiedzialne bakterie Gram-ujemne, wśród których czwartą najczęściej izolowaną grupą były pałeczki z rodzaju *Acinetobacter* [49]. W podobnym badaniu przeprowadzonym na terenie Bośni i Hercegowiny *A. baumannii* okazał się przyczyną 4,5% przypadków sepsy [82]. Dodatkowo niedawne obserwacje prowadzone w OIT w Grecji pokazały, że u blisko 42% pacjentów, u których doszło do zakażenia *A. baumannii* o oporności XDR, rozwinęła się sepsa wywołana szczepami opornymi na kolistynę (antybiotyk ostatniego rzutu), prowadząc do wstrząsu septycznego; śmiertelność w tej grupie wyniosła 100%. Natomiast wśród pacjentów z zakażeniem krwi szczepami kolistynowrażliwymi przeżyło 50% osób [71]. Ponadto stwierdzono, że *A. baumannii* może bez przeszkód koegzystować w tych samych niszach z innymi bakteriami (np. ze *S. aureus*), co może pogarszać przebieg infekcji [13].

5. Czynniki wirulencji

Do najistotniejszych czynników patogenyzy *A. baumannii* należą: zdolność do ruchu, adhezji do kolonizowanej powierzchni oraz tworzenia biofilmu. Bakteria ta wykazuje ruchliwość w odpowiedzi na chelatację

żelaza. Deficyt żelaza jest uniwersalnym sygnałem dla bakterii wskazującym, że znalazły się wewnątrz żywiciela, na co reagują zwiększoną ekspresją czynników wirulencji. W przypadku *A. baumannii* stężenie żelaza wpływa na ekspresję genów *pil* oraz *com*, które umożliwiają ruch komórek [26]. Wyczuwanie liczebności (quorum sensing) także jest czynnikiem kontrolującym ruchliwość, czego dowodem jest zmniejszenie ruchliwości w wyniku inaktywacji genu *abaI* kodującego syntetazę induktora tego systemu [18]. Światło, zwłaszcza niebieskie, jest kolejnym induktorem ruchu *A. baumannii*, jednak mechanizm ten nie jest jeszcze w pełni wyjaśniony [65].

Kluczowa dla inwazyjności tego patogenu jest zdolność do kolonizacji powierzchni skóry czy błon śluzowych organizmu gospodarza. Opisano dwa typy adhezji *A. baumannii* do komórek nabłonka oskrzeli *in vitro*: przyleganie do komórki gospodarza w formie rozproszonej oraz przyleganie skupisk bakterii w zlokalizowanych obszarach komórki. Bakterie oddziaływały z komórkami nabłonkowymi poprzez fimbrie, przy czym w pierwszym przypadku były one dodatkowo zakleszczone przez wypukłości występujące na powierzchni tych komórek. Poszczególne szczepy różniły się między sobą pod względem ilościowym, jednak nie stwierdzono korelacji pomiędzy liczbą bakterii zasiedlających nabłonek a pochodzeniem szczepu. Zaobserwowano ją natomiast w kontekście linii klonalnej – klon II (europejskiego typu klonalnego) okazał się być znacznie bardziej adherentny niż klon I [51].

Przyleganie do powierzchni biotycznych i abiotycznych umożliwia rozwój biofilmów. Wytwarzanie biofilmu jest też istotnym czynnikiem zwiększającym tolerancję bakterii na środki przeciwdrobnoustrojowe [77]. Do tworzenia biofilmów na powierzchniach abiotycznych niezbędna jest synteza pilusa przez geny systemu CsuA/BABCDE, warunkujące syntezę fimbrii i białka OmpA. Oprócz tego ważne jest także konserwowane białko Bap, które wydaje się być niezbędne do komunikacji między komórkami bakteryjnymi tworzącymi biofilm, zaś mutacje kodujących je genów skutkują osłabieniem zdolności adherentnych, hamując wzrost struktury. Rozwój biofilmu zależy również od zdolności szczepów klinicznych do wytwarzania i wydzielania egzopolisacharydu poli- β -1-6-N-acetyloglukozaminy (PNAG) [54, 67]. Stwierdzono, że pod wpływem czynnika stresowego, jakim jest deficyt substancji odżywczych, *A. baumannii* wykazuje szybszy wzrost. Zaobserwowano przy tym znaczne obniżenie ekspresji genów aktywnych podczas formowania się biofilmu (*ompA*, *bfmR*, *csuAB*). Oznacza to, że presja w postaci deficytu substancji odżywczych powoduje zmniejszenie adhezji do stałych powierzchni, ale również ograniczenie formowania biofilmu, a co za tym idzie z kolonizacją powierzchni abiotycznych [9].

Dzięki otoczce *A. baumannii* posiada zdolność unikania reakcji odpornościowej (układu dopełniacza i fagocytozy). Pałeczka ta potrafi bowiem modyfikować strukturę fosfoetanolaminy lipopolisacharydu otoczkowego (LPS). Jest on głównym składnikiem zewnętrznej błony u bakterii Gram-ujemnych. Ten lipidowo-polisacharydowy heteropolimer zbudowany jest z endotoksycznego lipidu A, rdzenia oligosacharydu oraz antygeny O. Lipopolisacharyd jest częścią immunoreaktywną, ponieważ indukuje uwalnianie czynnika martwicy nowotworów (TNF) oraz interleukiny 8 (IL-8) w sposób zależny od receptora TLR-4 (Toll-like receptor 4) [50]. LPS odgrywa więc ważną rolę w zjadliwości komórek *A. baumannii*. Opisano, że mutacja polegająca na pozabawieniu bakterii glikozylotransferazy LpsB, która pełni rolę w biosyntezie LPS, powoduje obniżenie patogenności takich szczepów podczas infekcji tkanek miękkich [55, 61]. Także zahamowanie aktywności enzymu deacylasy UDP-3-O-acylo-N-acetylglukozaminy, kodowanego przez gen *LpxC*, spowodowało zmniejszoną aktywację TLR-4, obniżenie stanu zapalnego i zwiększoną aktywność fagocytów oraz, co najważniejsze, zwiększoną przeżywalność zainfekowanych myszy [53]. Infekcja wywołana przez *A. baumannii* może prowadzić do rozwoju sepsy, w czym kluczowe znaczenie ma stymulacja receptorów TLR-4 gospodarza przez LPS. W czasie wstrząsu septycznego LPS również upośledza funkcjonowanie układu odpornościowego gospodarza i jego zdolność do zwalczania infekcji w mechanizmie określanym jako immunoparaliż lub przeprogramowanie układu odpornościowego. Występowanie immunoparaliżu w trakcie sepsy upośledza produkcję cytokin prozapalnych w monocytach, zaburza zdolność do fagocytozy przez neutrofile, wywołuje anergię limfocytów T, a nawet ich apoptozę. Potencjalnie korzystne może być zatem wdrożenie terapii wzmacniającej układ odpornościowy gospodarza i umożliwiającej mu zahamowanie nadmiernego namnożenia się bakterii na samym początku infekcji [50, 100].

Systemy pobierania żelaza, w tym siderofory, również wpływają na wirulencję. Żelazo, chociaż występuje w środowisku dość powszechnie, jest niedostępne dla komórek głównie z powodu chelatowania przez hem oraz białek wiążących żelazo, takich jak laktoferyna. Większość bakterii tlenowych, w tym właśnie *A. baumannii*, w środowisku ograniczonego dostępu żelaza pozyskuje je za pomocą sideroforów. Najlepiej scharakteryzowanym sideroforem jest acinetobaktyna [50]. Układ, w którym pośredniczy acinetobaktyna, odgrywa kluczową rolę w zdolności szczepu referencyjnego ATCC 19606^T do kolonizacji, powodowania uszkodzeń komórek nabłonkowych oraz śmierci zakażonych zwierząt laboratoryjnych. Wskazuje to na fakt, że zdolności pozyskiwania żelaza ze środowiska odgrywają kluczową rolę w zjadliwości [31]. Przy ograniczonym dostępie

żelaza rozwój komórek bakteryjnych, u których nie dochodzi do ekspresji genów kodujących acinetobaktynę, możliwy jest dzięki sideroforam – baumannoferynom A i B [73]. Ponadto *A. baumannii* wychwytuje i wykorzystuje również hem będący produktem metabolizmu gospodarza, zwłaszcza obecny w miejscach uszkodzenia komórek i tkanek, w obrębie których doszło do infekcji (takich jak martwicze zapalenie powięzi) [19, 102]. Co więcej, bakteria ta potrafi wiązać cynk [66].

Wśród czynników wirulencji wyróżnia się porynę, w tym głównie białko OmpA – transbłonowe białko błony zewnętrznej. Białko to związane jest z układem pęcherzyków błony zewnętrznej (OMV – outer membranę vesicles), w skład którego wchodzi błona zewnętrzna, białka peryplazmatyczne, fosfolipidy oraz LPS. OMV przenoszą czynniki wirulencji (w tym OmpA) do wnętrza komórek gospodarza [50]. Lee i wsp. opisali, że mechanizmem, za pomocą którego *A. baumannii* wywołuje uszkodzenie ludzkich komórek dróg oddechowych w czasie infekcji, jest indukcja apoptozy [51]. Dodatkowo OMV biorą także udział w horyzontalnym transferze genu karbapenemazy OXA-24, co świadczy o możliwości udziału OMV w rozprzestrzeleniu antybiotykooporności wśród szczepów [50]. OmpA oprócz właściwości cytotoksycznych czy możliwości wiązania czynnika H układu dopełniacza, odgrywa znaczącą rolę w kolonizacji nabłonka płuc – promuje adhezję do białek zewnątrzkomórkowej macierzy, w tym fibronektyny [63].

Wśród systemów sekrecji białek, które przyczyniają się do patogenezы *A. baumannii*, oprócz OMV, należy wymienić systemy sekrecji typu II (T2SS), V (autotransportery) oraz VI (T6SS) [63, 73, 81, 96]. System sekrecji typu II bierze udział w przenoszeniu białek z przestrzeni peryplazmatycznej do środowiska pozakomórkowego. Proces ten jest dwuetapowy. W pierwszej kolejności białka docelowe przenoszone są do peryplazmy przez system Sec lub Tat, skąd białka są kolejno wydzielane z komórki przez T2SS [96]. Zauważono, że delecja genów *gspD* lub *gspE* układu T2SS powoduje niezdolność do wydzielania lipazy LipA, która jest substratem dla T2SS. To z kolei powoduje brak zdolności szczepów do wzrostu w obecności długołańcuchowych kwasów tłuszczowych jako jedynym źródle węgla. Inaktywacja układu T2SS i jego substratu – LipA, ma również negatywny wpływ na przeżywalność bakterii *in vivo* w neutropenicznym mysim modelu bakteriemii [45].

Innym czynnikiem wirulencji jest system sekrecji typu VI (T6SS), używany przez wiele bakterii do wprowadzania białek efektorowych w trakcie infekcji komórek eukariotycznych lub do wyeliminowania bakterii konkurencyjnych [7, 96]. Chociaż T6SS wydaje się istotnie przyczyniać do wzmaganie zjadliwości *A. baumannii* w sposób specyficzny dla danego szczepu, nie

u wszystkich badanych szczepów jego rola została określona. System ten pośredniczy w wydzielaniu różnych białek efektorowych, w tym białek toksycznych dla innych bakterii, umożliwiając zabijanie konkurujących bakterii [12, 76]. Co ciekawe, u niektórych szczepów stwierdzono związek między T6SS a opornością na antybiotyki. Duże, koniugacyjne plazmidy (*pAB04-1* lub *pAB3*) nadają oporność na wiele antybiotyków, ale jednocześnie kodują inhibitor T6SS. Dlatego też istnieje duża presja prowadząca do utraty tych plazmidów u niektórych komórek [97].

System sekrecji typu V (T5SS), nazywany również autotransporterowym, wykorzystuje system Sec do transportu białek poza wewnętrzną błonę komórkową. Wiadomo, że system ten pośredniczy w tworzeniu biofilmu oraz adhezji do składników macierzy pozakomórkowej. Ponadto uczestniczy w uzyskiwaniu zjadliwości, co zbadano w mysim modelu ogólnoustrojowego zakażenia *A. baumannii* [27].

Fosfolipaza jest kolejnym istotnym czynnikiem wirulencji *A. baumannii*. Enzym ten, metabolizując fosfolipidy obecne w błonach śluzowych, powoduje zmniejszenie stabilności błon komórek gospodarza, a przez to liżę eukariotycznych komórek błonowych ułatwiając inwazję [86]. Wyróżnia się trzy klasy fosfolipaz: fosfolipazę A, fosfolipazę C i fosfolipazę D, różniące się miejscem hydrolizy fosfolipidów, przy czym fosfolipaza A nie jest wymieniana jako czynnik wirulencji *A. baumannii* [11, 44, 86]. Aktywna fosfolipaza D przyczynia się do zwiększenia zdolności rozprzestrzeniania się zakażenia *A. baumannii* z płuc do innych organów, co wykazano w mysim modelu zapalenia płuc [3].

Chociaż białka wiążące penicylinę (PBP) u mikroorganizmów są głównie zaangażowane w końcowe etapy biosyntezy peptydoglikanu, to białko PBP6/8, kodowane przez gen *pbpG*, jest czynnikiem zjadliwości *A. baumannii*. Szczep, u którego doszło do mutacji genu *pbpG* charakteryzował się mniejszą przeżywalnością w szczurzym modelu infekcji tkanek miękkich i zapalenia płuc [50].

W modelu mysim opisano związane z płcią różnice we wrażliwości na niektóre szczepy *A. baumannii*. Stwierdzono, że w modelu zakażenia krwi samice myszy były około dwukrotnie wrażliwsze na hiperwirulentny szczep odporny na kolistynę (LAC-4 ColR uzyskany w wyniku spontanicznej mutacji) niż samce, ale ponad 10-krotnie bardziej odporne w modelu zakażenia płuc na inny szczep (VA-AB41, wyizolowany z płuc i skóry) [56]. Wykazano, że żeński hormon 17 β -estradiol jest odpowiedzialny za zmiany w populacjach makrofagów i neutrofilów płucnych, powodujące nasiloną odpowiedź zapalną i upośledzoną eradykację patogenu [74]. Badania prowadzone w modelu owadzie (larwa motyli, barciaka większego – *Galleria mellonella*) ujawniły aktywność 300 genów aktywnych podczas infekcji

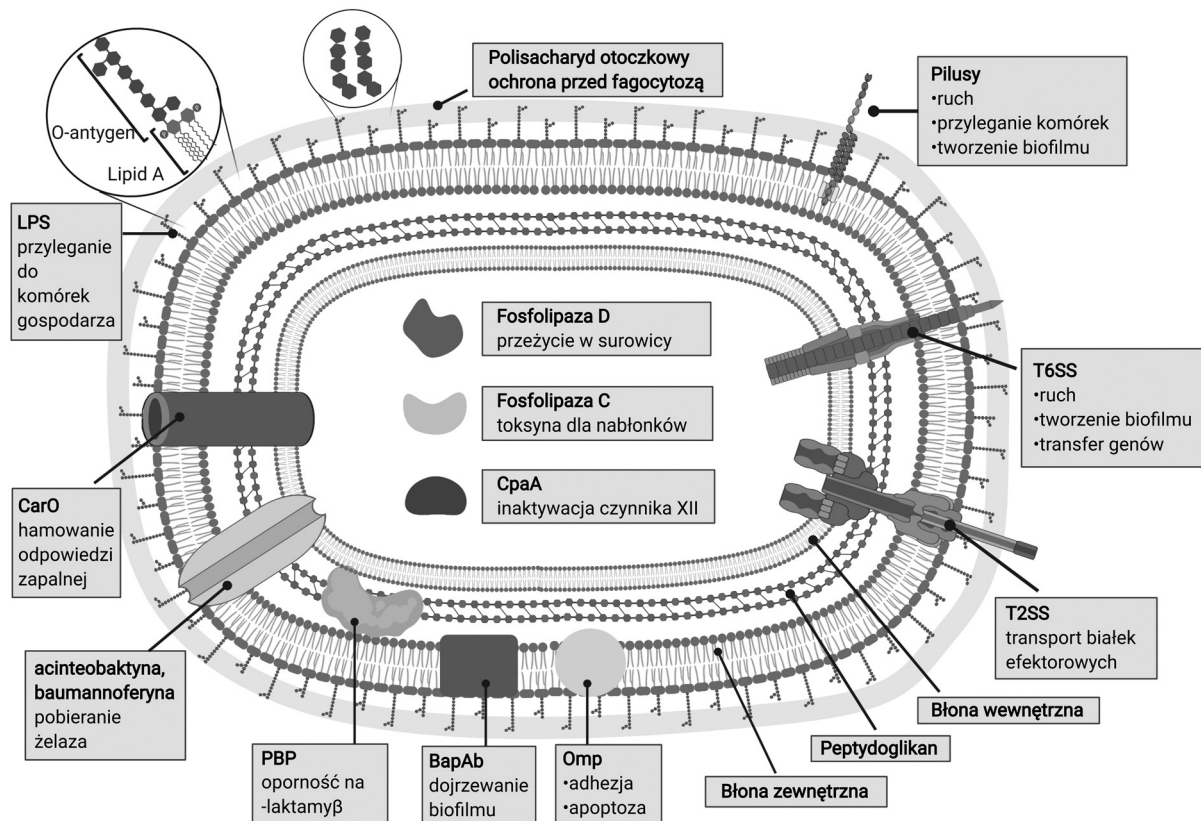
in vivo – genów zarówno dobrze już poznanych, jak i tych do tej pory niescharakteryzowanych [34].

Mechanizmy obronne organizmu przeciwko *A. baumannii* są coraz dokładniej wyjaśniane. Warto wspomnieć o niedawno opisanej roli inflamasomu w indukcji wczesnej odpowiedzi przeciw zakażeniu *A. baumannii*. Inflamasom to duży, wewnątrzkomórkowy kompleks złożony z białek uczestniczących w aktywacji kaskady prozapalnej. Wykazano, że chociaż inflamasom NLRP3 jest niezbędny do skutecznego zwalczania infekcji, to kliniczny szczep *A. baumannii* 8879 o fenotypie XDR, należący do klonu II (wywołujący bakteriemie u pacjentów z ranami pooperacyjnymi w OIT), za pośrednictwem inflamasomu NLRP3 indukuje wzmożoną produkcję cytokin IL-1 β i IL-18 oraz uszkodzenie płuc. Niewątpliwie dalsze badania nad znaczeniem aktywacji tego szlaku przez *A. baumannii* są konieczne [22]. Graficzne podsumowanie najważniejszych czynników patogenezы oraz mechanizmów ich działania przedstawiono na rycinie 2.

6. Kontrola zakażeń

Wzrost oporności szczepów *A. baumannii* na środki przeciwdrobnoustrojowe pozostawia coraz mniej opcji terapeutycznych. Nie istnieją niestety skuteczne schematy leczenia zakażenia wywołanego przez wielolekooporne szczepy *A. baumannii*. Brak dużych perspektyw badań klinicznych utrudnia ocenę terapii skojarzonej w przypadku infekcji szczepami MDR. Większość dostępnych danych dotyczących skuteczności poszczególnych terapii pochodzi z opisów serii przypadków (pozbawionych kontroli), obserwacji klinicznych, badań *in vitro* oraz modeli zwierzęcych. Różne badania wykazują sprzeczne wyniki dla tych samych kombinacji środków przeciwdrobnoustrojowych [10, 28].

Lekami pierwszego rzutu w terapii zakażeń wywołanych przez szczepy MDR zazwyczaj są karbapenemy. Jednak prawie połowa szczepów izolowanych od osób z zakażeniami związanymi z opieką zdrowotną, zgłoszonych do CDC National Healthcare Safety Network w 2014 roku, okazała się szczepami CRAB [10]. W zwalczaniu infekcji wywołanych przez *A. baumannii* stosuje się także inne antybiotyki β -laktamowe, w tym cefalosporyny o szerokim spektrum działania (ceftazydym lub cefepim). Wysoką aktywność bakteriobójczą względem izolatów *A. baumannii* wykazuje inhibitor β -laktamazy – sulbaktam. Jednak, zgodnie z doniesieniem Kanafani i wsp., nawet szczepy odporne na karbapenemy mogą wykazywać wrażliwość *in vitro* na ten związek [46]. Aminoglikozydy, takie jak tobramycyna i amikacyna, również są stosowane w przypadku infekcji MDR *A. baumannii*. Antybiotyki te są głównie stosowane w połączeniu z antybiotykami należącymi do



Ryc. 2. Czynniki wirulencji *Acinetobacter baumannii* oraz ich znaczenie w procesie patogenezy

innych grup. Liczne wielolekooporne izolaty zachowują jednak pośrednią wrażliwość na tę grupę leków [28].

W przypadku oporności na powyższe środki przeciwbakteryjne opcje terapeutyczne są ograniczone. W takich sytuacjach jako leki ostatniego rzutu stosuje się polimyksyny (kolistynę oraz polimyksynę B – nie jest stosowana klinicznie), a także tetracykliny (zwłaszcza minocyklinę i tygecyklinę). Nie ma randomizowanych badań dotyczących ich skuteczności, głównie dlatego, że są one zastrzeżone do stosowania w przypadku mikroorganizmów o wysokiej oporności. Wiadomo jednak, że kolistyna wykazuje znaczną nefro- i neurotoksyczność. W badaniach obserwacyjnych odnotowano 57–77% wyleczeń lub poprawy stanu zdrowia po zastosowaniu kolistyny wśród ciężko chorych pacjentów z zakażeniami szczepami MDR (w tym z zapaleniem płuc, bakteriecią, zakażeniem w obrębie jamy brzusznej i zakażeniem ośrodkowego układu nerwowego – OUN). W badaniach *in vitro* najwyższą aktywność przeciwdrobnoustrojową wykazują obie polimyksyny i, mimo że wykazują toksyczność wobec nerek, są często stosowane jako leki ratujące życie [28, 33].

Także APIC (Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology) podkreśla rolę kontroli ognisk infekcji Ab-MDR oraz ograniczania transmisji szczepów. Wśród sposobów kontroli wymienia się komunikację pomiędzy placówkami ochrony zdrowia,

w których przebywa zakażony pacjent. Każdy ośrodek powinien dokumentować pojawienie się Ab-MDR u takiego pacjenta. Podstawową jednak zasadą kontroli epidemii jest identyfikacja rezerwuaru szczepów oraz jego eliminacja (dekontaminacja sprzętu medycznego, w tym respiratora). Ponadto APIC wspomina także o edukowaniu nie tylko personelu medycznego na temat sposobów transmisji szczepów, ale także odwiedzających. Ważne jest także kohortowanie osób skolonizowanych lub zakażonych Ab-MDR oraz ich opiekunów medycznych [5]. W przypadku pojawienia się ognisk infekcji należy ograniczyć przyjmowanie do danej jednostki medycznej nowych pacjentów. W procesie wygaszania ogniska epidemicznego niezmiernie ważna jest edukacja personelu, skrupulatna higiena rąk oraz dekontaminacja środowiska szpitalnego [99].

Oporność szczepów *A. baumannii* na karbapenemy w niektórych częściach świata przekracza 90%, a śmiertelność w przypadku najczęstszych zakażeń o etiologii CRAB, tj. szpitalnego zapalenia płuc (HAP) i zakażeń krwi może zbliżać się do 60%. Obecnie stosowane w terapii zakażeń CRAB leki przeciwdrobnoustrojowe (tj. polimyksyny, tygecyklina, a czasem aminoglikozydy) są dalekie od doskonałych, ze względu na właściwości farmakokinetyczne tych związków oraz narastające wskaźniki oporności [42]. Biorąc zatem pod uwagę brak dobrych opcji terapeutycznych, niezbędny

jest rozwój nowych terapii, a także przeprowadzenie badań klinicznych, które pozwoliłyby na opracowanie i stosowanie skutecznego schematu leczenia. Do tego czasu kluczowe jest zapobieganie transferu szczepów *A. baumannii* w placówkach opieki medycznej.

Prowadzonych jest wiele badań mających na celu opracowanie skutecznych terapii zwalczania zakażeń *A. baumannii*. Jedne z nich opierają się na nowych, drobnocząsteczkowych antybiotykach o specyficznej aktywności przeciwko tej bakterii. Mogą to być m.in. nowe inhibitory β -laktamaz połączone z antybiotykiem bądź inhibitory syntezy białek w rybosomach (pirolocytozynowy antybiotyk RX-P873 o ogromnym potencjale przeciw klinicznym izolatom *A. baumannii*). Innym podejściem są nowe modyfikacje antybiotyków (np. cefalosporyny skoniugowane z sideroforem). Przykładem cefalosporyny sideroforowej jest cefiderokol. Podobne działanie mogą wykazywać przeciwbakteryjne peptydy (AMP, antimicrobial peptides), zaburzające funkcjonowanie błon bakteryjnych. Przykładem AMP jest bogaty w prolinę A3-APO, izolowany ze skóry żab i ropuch, wykazujący wysoki potencjał bakteriobójczy w przedklinicznych modelach zakażeń krwi i ran. Kolejną perspektywę stanowią przeżywające obecnie renesans terapie fagowe. Od 2010 roku identyfikuje się fagi specyficzne dla *A. baumannii* (pierwsze: AB1 i AB2) powodujące lizę tego gatunku lub przedstawicieli tego rodzaju. Na uwagę zasługuje wyizolowany w 2012 roku fag AP22, wykazujący najszerze działanie przeciwko klinicznym szczepom *A. baumannii* (zwalczający 68% szpitalnych izolatów) [30, 32, 100]. Gatunkowo specyficzne fagi mogą być także użyteczne do odkażania pomieszczeń, w których przebywają pacjenci. W 2013 roku na Tajwanie po raz pierwszy sprawdzono wpływ włączenia aerozolu zawierającego aktywne bakteriofagi (8 szczepów) skierowane przeciwko CRAB do standardowej procedury odkażania pomieszczeń szpitalnych w OIT. W ciągu 8-miesięcznego okresu badania stwierdzono spadek liczby izolatów CRAB o 41,69%, a także wzrost liczby szczepów karbapenemo-wrażliwych (prawdopodobnie z powodu skierowania badanych fagów przeciwko szczepom CRAB) [32, 40]. Potwierdzono znaczący potencjał fagów do dekolonizacji oraz zakłócania tworzenia biofilmu przez *A. baumannii* (fagi AB7-IBBI, AB7-ABB2). Ciekawą możliwością są również peptydy lityczne izolowane z tych fagów – np. endolizyna LysSS. W badaniu z 2020 roku wykazano zahamowanie rozwoju szczepów MDR *A. baumannii*, ponadto nie stwierdzono jej cytotoksycznego działania wobec komórek ludzkich (w badaniu na linii ludzkich komórek płucnych A549) [47]. Niektórzy badacze sięgają po bardziej tradycyjne metody, jak znane od starożytności olejki eteryczne. Wykazują one bardzo zróżnicowaną skuteczność, zależnie od szczepu bakterii oraz rośliny, z której zostały

wyzolowane. Substancje te prawdopodobnie nie będą na tyle skuteczne, by je stosować samodzielnie, ale mogą być użytecznym uzupełnieniem antybiotykoterapii. Zupełnie inne podejście wskazują prace nad fototerapią. Rozwiązanie to miałyby się opierać na miejscowym wytwarzaniu reaktywnych form tlenu, jednak niosłoby to ze sobą zagrożenie uszkodzenia pobliskich tkanek. Kolejną strategią są szczepienia (prewencyjne i terapeutyczne) przeciwko zakażeniom *Acinetobacter*. Trudnością jest to, że pośród szczepów *A. baumannii* stwierdza się około 40 serotypów, przez co szczepionki musiałyby być multiwalentne. Najbardziej obiecującymi celami wydają się być białko OmpA i konserwowana nukleaza NucAb. Jednak w praktyce klinicznej bardziej użyteczna mogłaby się okazać immunizacja bierna, polegająca na podawaniu pacjentowi gotowych przeciwciał. Ważne jest zatem opracowanie takiego przeciwciała monoklonalnego (lub mieszaniny przeciwciał), które byłoby w stanie inaktywować ponad 90% izolatów *A. baumannii*. Jeszcze jedną potencjalną opcją terapeutyczną jest wyłapywanie lub maskowanie jonów metali (Fe, Zn), albowiem ograniczenie dostępności tych jonów hamuje wzrost bakterii. Jednakże należy mieć na uwadze, że tego typu terapia mogłaby się okazać obusiecznym mieczem, ze względu na opisany wyżej wpływ deficytu metali na wirulencję [42, 57, 75, 79, 100]. Polepszenie perspektyw zwalczania *A. baumannii* wiąże się z lepszym poznaniem mechanizmów wirulencji i oporności tego gatunku na antybiotyki [6, 15].

7. Podsumowanie

Pałeczki *A. baumannii* to Gram-ujemne bakterie szeroko rozpowszechnione w środowisku. Są łatwo izolowane z terenów wilgotnych, niemniej są w stanie przetrwać również na powierzchniach suchych. Jako patogeny oportunistyczne często są składową fizjologicznej mikrobioty organizmów zwierzęcych oraz człowieka. Ze względu na szczególną zdolność *A. baumannii* do przetrwania niekorzystnych warunków, wyjątkową wytrzymałość, naturalną oporność na wiele grup antybiotyków, możliwość szybkiego nabywania i rozwijania różnorodnych mechanizmów oporności, zawężającą się gamę leków, które możemy zastosować w terapii oraz narastającą liczbę izolatów opornych na karbapenemy pałeczki te stanowią realny powód do niepokoju i wzmożonych poszukiwań skutecznych metod leczenia.

Podziękowania

Praca powstała w wyniku realizacji grantu Narodowego Centrum Nauki nr 2016/23/D/NZ6/02554 oraz projektu BOB-661-117/2019 realizowanego w ramach programu „mikro-grant” dotyczącego współpracy pomiędzy UW i WUM.

Konflikt interesów

Radosław Stachowiak jest członkiem redakcji *Postępów Mikrobiologii*. Redaktor R. Stachowiak deklaruje, że nie wywierał wpływu na proces recenzji i decyzyjny komitetu redakcyjnego podczas powstawania tej pracy.

Piśmiennictwo

- Al Atrouni A., Joly-Guillou M.L., Hamze M., Kempf M.: Reservoirs of non-baumannii *Acinetobacter* species. *Front. Microbiol.* **7**, 49 (2016)
- Amaya-Villar R., Garnacho-Montero J.: How should we treat *Acinetobacter* pneumonia? *Curr. Opin. Crit. Care*, **25**, 465–472 (2019)
- Antunes L.C., Imperi F., Towner K.J., Visca P.: Genome-assisted identification of putative iron-utilization genes in *Acinetobacter baumannii* and their distribution among a genotypically diverse collection of clinical isolates. *Res. Microbiol.* **162**, 279–284 (2011)
- Asplund M.B., Coelho C., Cordero R.J., Martinez L.R.: Alcohol impairs J774.16 macrophage-like cell antimicrobial functions in *Acinetobacter baumannii* infection. *Virulence*, **4**, 467–472 (2013)
- Association for professionals in infection control and epidemiology: guide to the elimination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* transmission in healthcare settings, <https://apic.org/wp-content/uploads/2019/02/APIC-AB-Guide.pdf> (2010)
- Ayoub Moubareck C. i Hammoudi Halat D.: Insights into *Acinetobacter baumannii*: a review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening nosocomial pathogen. *Antibiotics*, **9**, 119 (2020)
- Basler M., Ho B.T., Mekalanos J.J.: Tit-for-tat: type VI secretion system counterattack during bacterial cell-cell interactions. *Cell*, **152**, 884–894 (2013)
- Błaszczak M.K.: Mikrobiologia środowisk, red. Mostowik K., PWN, Warszawa (2014)
- Bravo Z., Orruño M., Parada C., Kaberdin V.R., Barcina I., Arana I.: The long-term survival of *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606T under nutrient-deprived conditions does not require the entry into the viable but non-culturable state. *Arch. Microbiol.* **198**, 399–407 (2016)
- Bulens S.N., Sarah H.Y., Walters M.S., Jacob J.T., Bower C., Reno J., Wilson L., Vaeth E., Bamberg W., Janelle S.J., Lynfield R., Snippes Vagnone P., Shaw K., Kainer M., Muleta D., Mounsey J., Dumyati G., Concannon C., Beldavs Z., Cassidy P.M., Phipps E.C., Kenslow N., Hancock E.B., Kallen A.J.: Carbapenem-non-susceptible *Acinetobacter baumannii*, 8 US metropolitan areas, 2012–2015. *Emerging infectious diseases*, **24**, 727 (2018)
- Camarena L., Bruno V., Euskirchen G., Poggio S., Snyder M.: Molecular mechanisms of ethanol-induced pathogenesis revealed by RNA-sequencing. *PLoS Pathog.* **6**, 4 (2010)
- Carruthers M.D., Nicholson P.A., Tracy E.N., Munson R.S. Jr.: *Acinetobacter baumannii* utilizes a type VI secretion system for bacterial competition. *PLoS ONE*, **8**, 3 (2013)
- Castellanos N., Nakanouchi J., Yüzen D.I., Fung S., Fernandez J.S., Barberis C., Tuchscher L., Ramirez M.S.: A study on *Acinetobacter baumannii* and *Staphylococcus aureus* strains recovered from the same infection site of a diabetic patient. *Curr. Microbiol.* **76**, 842–847 (2019)
- Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic resistance threats in the United States (2013) [cited 2017 Apr 24]
- Chakravarty B.: Genetic mechanisms of antibiotic resistance and virulence in *Acinetobacter baumannii*: background, challenges and future prospects. *Molecular biology reports*, **47**, 4037–4046 (2020)
- Chastre J., Fagon J.-Y.: Ventilator-associated pneumonia. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **165**, 867–903 (2002)
- Chmielarczyk A., Pomorska-Wesołowska M., Romaniszyn D., Wójkowska-Mach J.: healthcare-associated laboratory-confirmed bloodstream infections-species diversity and resistance mechanisms, a four-year retrospective laboratory-based study in the South of Poland. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **18**, 2785 (2021)
- Clemmer K.M., Bonomo R.A., Rather P.N.: Genetic analysis of surface motility in *Acinetobacter baumannii*. *Microbiology*, **157**, 2534–2544 (2011)
- Corradino B., Toia F., di Lorenzo S., Cordova A., Moschella F.: A difficult case of necrotizing fasciitis caused by *Acinetobacter baumannii*. *Int. J. Low Extrem. Wounds*, **9**, 152–154 (2010)
- Derecho I., McCoy K.B., Vaishampayan P., Venkateswaran K., Mogul R.: Characterization of hydrogen peroxide-resistant *Acinetobacter* species isolated during the Mars phoenix spacecraft assembly. *Astrobiology*, **14**, 837–847 (2014)
- Dexter C., Murray G.L., Paulsen I.T., Peleg A.Y.: Community-acquire *Acinetobacter baumannii*: clinical characteristics, epidemiology and pathogenesis. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **13**, 567–573 (2015)
- Dikshit N., Kale S.D., Khameneh H.J., Balamuralidhar V., Tang C.Y., Kumar P., Lim T.P., Tan T.T., Kwa A.L., Mortellaro A., Sukumaran B.: NLRP3 inflammasome pathway has a critical role in the host immunity against clinically relevant *Acinetobacter baumannii* pulmonary infection. *Mucosal Immunol.* **11**, 257–272 (2018)
- Dubiel G., Kozłowski B., Deptuła A., Hryniewicz W.: Raport NPOA z programu czynnego monitorowania zakażeń w oddziałach anestezjologii i intensywnej terapii w 2018 roku w Polsce (2018)
- Dunlap C.A., Rooney A.P.: *Acinetobacter dijkschoorniae* is a later heterotypic synonym of *Acinetobacter lactucae*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, **68**, 131–132 (2018)
- Duszynska W., Litwin A., Rojek S., Szczesny A., Ciasullo A., Gozdzik W.: Analysis of *Acinetobacter baumannii* hospital infections in patients treated at the intensive care unit of the University Hospital, Wrocław, Poland: a 6-year, single-center, retrospective study. *Infect Drug Resist.* **11**, 629–635 (2018)
- Eijkelkamp B.A., Hassan K.A., Paulsen I.T., Brown M.H.: Investigation of the human pathogen *Acinetobacter baumannii* under iron limiting conditions. *BMC Genomics*, **12**, 126 (2011)
- Elhosseiny N.M., Attia A.S.: *Acinetobacter*: an emerging pathogen with a versatile secretome. *Emerg. Microbes Infect.* **7**, 1–15 (2018)
- Eliopoulos G.M., Maragakis L.L., Perl T.M.: *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clinn. Infect. Dis.* **46**, 1254–1263 (2008)
- Erdem H., Cag Y., Gencer S., Uysal S., Karakurt Z., Harman R., Ulug M.: Treatment of ventilator-associated pneumonia (VAP) caused by *Acinetobacter*: results of prospective and multicenter ID-IRI study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **39**, 45–52 (2020)
- Flamm R.K., Rhomberg P.R., Jones R.N., Farrell D.J.: *In vitro* activity of RX-P873 against *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **59**, 2280–2285 (2015)
- Gaddy J.A., Actis L.A.: Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future Microbiol.* **4**, 273–278 (2009)
- García-Quintanilla M., Pulido M.R., López-Rojas R., Pachón J., McConnell M.J.: Emerging therapies for multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. *Trends in Microbiology*, **21**, 157–163 (2013)

33. Garnacho-Montero J, Timsit J-F: Managing *Acinetobacter baumannii* infections. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **32**, 69–76 (2019)
34. Gebhardt M.J., Gallagher L.A., Jacobson R.K., Usacheva E.A., Peterson L.R., Zurawski D.V., Shuman H.A.: Joint transcriptional control of virulence and resistance to antibiotic and environmental stress in *Acinetobacter baumannii*. *MBio*, **6**, 1–12 (2015)
35. Giammanco A., Cala C., Fasciana T., Dowzlcky M.: Global assessment of the activity of tigecycline against multidrug-resistant Gram-negative pathogens between 2004 and 2014 as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. *Mosphere*, **2**, 1 (2017)
36. Gorylik-Salmonowicz A., Popowska M.: Occurrence of the coselection phenomenon in non-clinical environments / Występowanie zjawiska koselekcji w środowiskach pozaklinicznych. *Advancements of Microbiology*, **58**, 433–446 (2019)
37. Grochowalska A., Koziół-Montewka M., Oliynyk O., Krasij N.: Ventilator-associated pneumonia (VAP) caused by *Acinetobacter baumannii* in view of the microbial properties of the ESKAPE group in neighbouring countries-Poland and Ukraine. *J. Pre-Clin. Clin. Res.* **11**, 111–115 (2017)
38. Henriksen S.D.: *Moraxella*, *Acinetobacter*, and the *Mimae*. *Bacteriol. Rev.* **37**, 522–561 (1973)
39. Henry R.: Etymologia: *Acinetobacter*. *Emerg. Infect. Dis.* **19**, 841 (2013)
40. Ho Y.H., Tseng C.C., Wang L.S., Chen Y.T., Ho G.J., Lin T.Y., Wang L.Y., Chen L.K.: Application of bacteriophage-containing aerosol against nosocomial transmission of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit. *PLoS One*, **11**, 12 (2016)
41. Inchai J., Pothirat Ch., Bumroongkit Ch., Limsukon A., Khositsakulchai W., Liwsrisakun Ch.: Prognostic factors associated with mortality of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ventilator-associated pneumonia. *J. Intensive Care*, **3**, 9 (2015)
42. Isler B., Doi Y., Bonomo R.A., Paterson D.L.: New treatment options against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* infections. *Antimicrob. Agents Ch.* **63**, 1 (2019)
43. Ivanković T., Goić-Barišić I., Hrenović J.: Reduced susceptibility to disinfectants of *Acinetobacter baumannii* biofilms on glass and ceramic. *Arh. Hig. Rada Toksiko.* **68**, 99–107 (2017)
44. Jacobs A.C., Hood I., Boyd K.L., Olson P.D., Morrison J.M., Carson S., Dunman P.M.: Inactivation of phospholipase D diminishes *Acinetobacter baumannii* pathogenesis. *Infect. Immun.* **78**, 1952–1962 (2010)
45. Johnson T.L., Waack U., Smith S., Mobley H., Sandkvist M.: *Acinetobacter baumannii* is dependent on the type II secretion system and its substrate LipA for lipid utilization and *in vivo* fitness. *J. Bacteriol.* **198**, 711–719 (2015)
46. Kanafani Z.A., Kanj S.S.: *Acinetobacter* infection: Treatment and prevention, <https://www.uptodate.com/contents/acinetobacter-infection-treatment-and-prevention> (20.11.2018)
47. Kim S., Lee D.W., Jin J.S., Kim J.: Antimicrobial activity of LysSS, a novel phage endolysin, against *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Global Antimicrob. Res.* **22**, 32–39 (2020)
48. Koulenti D., Lisboa T., Brun-Buisson Ch., Krueger W., Macor A., Sole-Violan J., Diaz E., Topeli A., DeWaele J., Carneiro A., Martin-Loeches I., Armaganidis A., Rello J.: Spectrum of practice in the diagnosis of nosocomial pneumonia in patients requiring mechanical ventilation in European intensive care units. *Critical care medicine*, **37**, 2360–2369 (2009)
49. Kubler A., Adamiak B., Durek G., Mayzner-Zawadzka E., Gaszyński W., Karpel E., Duszyńska W.: Results of the severe sepsis registry in intensive care units in Poland from 2003–2009, *Anaesthesia Intensive Ther.* **47**, 7–13 (2015)
50. Lee C.R., Lee J.H., Park M., Park K.S., Bae I.K., Kim Y.B., Cha C.J., Jeong B.C., Lee S.H.: Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanism, and prospective treatments options. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **13**, 7–55 (2017)
51. Lee J.C., Koerten H., Van den Broek P., Beekhuizen H., Wolterbeek R., Van den Barselaar M., van der Reijden T., van der Meer J., Dijkshoorn L.: Adherence of *Acinetobacter baumannii* strains to human bronchial epithelial cells. *Res. Microbiol.* **157**, 360–366 (2006)
52. Lessel E.F.: Subcommittee on nomenclature of *Moraxella* and allied bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **21**, 213–214 (1971)
53. Lin L., Tan B., Pantapalangkoor P., Ho T., Baquir B., Tomaras A., Fernandez L.: Inhibition of LpxC protects mice from resistant *Acinetobacter baumannii* by modulating inflammation and enhancing phagocytosis. *MBio*, **3**, e00312–12 (2012)
54. Longo F., Vuotto C., Donelli G.: Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiol.* **37**, 119–127 (2014)
55. Luke N.R., Sauberman S.L., Russo T.A., Beanan J.M., Olson R., Loehfelm T.W., Campagnari A.A.: Identification and characterization of a glycosyltransferase involved in *Acinetobacter baumannii* lipopolysaccharide core biosynthesis. *Infect. Immun.* **78**, 2017–2023 (2010)
56. Luna B.M., Yan J., Reyna Z., Moon E., Nielsen T.B., Reza H., Lu P., Bonomo R., Louie A., Drusano G., Bulitta J. She R., Spellberg B.: Natural history of *Acinetobacter baumannii* infection in mice. *PLoS One*, **14**, 7 (2019)
57. Mahboubi M., Feizabadi M.M.: Antimicrobial activity of some essential oils alone and in combination with amikacin against *Acinetobacter* sp. *J. Microbiol. Biot. Food Sci.* **5**, 412–415 (2016)
58. Manchanda V., Sanchaita S., Singh N.P.: Multidrug resistant *Acinetobacter*. *J. Glob. Infect. Dis.* **2**, 291 (2010)
59. Mantilla-Calderon D., Plewa M.J., Michoud G., Fodelianakis S., Daffonchio D., Hong P.Y.: Water disinfection byproducts increase natural transformation rates of environmental DNA in *Acinetobacter baylyi* ADP1. *Environ. Sci. Tech.* **53**, 6520–6528 (2019)
60. Mantzaris K., Makris D., Zakynthinos E.: Risk factors for the first episode of *Acinetobacter baumannii* resistant to colistin infection and outcome in critically ill patients. *J. Med. Microbiol.* **69**, 35–40 (2020)
61. McConnell M.J., Actis L., Pachón J.: *Acinetobacter baumannii*: human infections, factors contributing to pathogenesis and animal models. *FEMS Microbiol. Rev.* **37**, 130–155 (2013)
62. Mizerski W., Bednarczuk B., Kawalec M.: Słownik bakterii, red. Bednarczuk B., Adamantan, Warszawa (2008)
63. Morris F.C., Dexter C., Kostoulias X., Uddin M.I., Peleg A.Y.: The mechanisms of disease caused by *Acinetobacter baumannii*. *Front. Microbiol.* **10**, 1601 (2019)
64. Murray P.R., Rosenthal K.S., Pfaller M.A.: *Pseudomonas* i bakterie podobne (w) Mikrobiologia, red. Przonzo-Mordarska A., Martirosian G., Szkaradkiewicz A., Edra Urban & Partner, Wrocław, 325–332 (2016)
65. Mussi M.A., Gaddy J.A., Cabruja M., Viale A.M., Rasia R., Actis L.A.: Motility, virulence and biofilm formation by the human pathogen *Acinetobacter baumannii* are affected by blue light. *J. Bacteriol.* **192**, 6336–6345 (2010)
66. Nairn B.L., Lonergan Z.R., Wang J., Braymer J.J., Zhang Y., Calcutt M.W., Lisher J.P., Gilston B.A., Chazin W.J., de Crecy-Lagard V., Giedroc D.P.: The response of *Acinetobacter baumannii* to zinc starvation. *Cell Host Microbe*, **19**, 826–836 (2016)
67. Namysłowska A., Laudy A.E., Tyski S.: Mechanizmy oporności *Acinetobacter baumannii* na związki przeciwbakteryjne. *Post. Mikrobiol.* **54**, 392–406 (2015)
68. Nemeč A., Krizova L., Maixnerova M., Sedo O., Brisse S., Higgins P.G.: *Acinetobacter seifertii* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex

- isolated from human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Micr.* **65**, 934–942 (2015)
69. Nwugo C.C., Arivett B.A., Zimble D.L., Gaddy J.A., Richards A.M., Actis L.A.: Effect of ethanol on differential protein production and expression of potential virulence functions in the opportunistic pathogen *Acinetobacter baumannii*. *PLoS One*, **7**, 12 (2012)
 70. O'Neill J.: Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. The review on antimicrobial resistance (2014)
 71. Papathanakos G., Andrianopoulos I., Papatheanasiou A., Priavali E., Koulenti D., Koulouras V.: Colistin-resistant *Acinetobacter baumannii* bacteremia: a serious threat for critically ill patients. *Microorganisms*, **8**, 287 (2020)
 72. Pelag A.Y., Seifert H., Petwron D.L.: *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* **21**, 538–582 (2008)
 73. Penwell W.F., DeGrace N., Tentarelli S., Gauthier L., Gilbert C.M., Arivett B.A., Miller A.A., Durand-Reville T., Jourbran C., Actis L.A.: Discovery and characterization of new hydroxamate siderophores, baumannoferrin A and B, produced by *Acinetobacter baumannii*. *Chem. Biochem.* **16**, 1896–1904 (2015)
 74. Pires S., Peignier A., Seto J., Smyth D.S., Parker D.: Biological sex influences susceptibility to *Acinetobacter baumannii* pneumonia in mice. *JCI Insight*, **5**, e132223 (2020)
 75. Rafei R., Osman M., Dabboussi F., Hamze M.: Update on the epidemiological typing methods for *Acinetobacter baumannii*. *Future Microbiol.* **14**, 1065–1080 (2019)
 76. Repizo G.D., Gagne S., Foucault-Grunenwald M.L., Borges V., Charpentier X., Limansky A.S., Salcedo S.P.: Differential role of the T6SS in *Acinetobacter baumannii* virulence. *PLoS One*, **10**, 9 (2015)
 77. Reza A., Sutton J.M., Rahman K.M.: Effectiveness of efflux pump inhibitors as biofilm disruptors and resistance breakers in Gram-negative (ESKAPEE) bacteria. *Antibiotics*, **8**, 4 (2019)
 78. Rice L.B.: Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. *J. Infect. Dis.* **197**, 1079–1081 (2008)
 79. Roca Subirà I., Espinal P., Vila-Farrés X., Vila Estapé J.: The *Acinetobacter baumannii* oxymoron: commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace. *Front. Microbiol.* **3**, 148 (2012)
 80. Santaniello A., Sansone M., Fioretti A., Menna L.F.: Systematic review and meta-analysis of the occurrence of ESKAPE bacteria group in dogs, and the related zoonotic risk in animal-assisted therapy, and in animal-assisted activity in the health context. *Int. J. Env. Res. Public Health*, **17**, 3278 (2020)
 81. Schweppe D.K., Harding C., Chavez J.D., Wu X., Ramage E., Singh P.K., Manoel C., Bruce J.E.: Host-microbe protein interactions during bacterial infection. *Chem. Biol.* **22**, 1521–1530 (2015)
 82. Šiširak M., Hukić M.: *Acinetobacter baumannii* as a cause of sepsis. *MedGlas*, **9**, 311–316 (2012)
 83. Słoczyńska A., Wand M.E., Tyski S., Laudy A.E.: Analysis of blaCHDL Genes and Insertion Sequences Related to Carbapenem Resistance in *Acinetobacter baumannii* Clinical Strains Isolated in Warsaw, Poland. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 2486 (2021)
 84. Smith M.G., Des Etages S.G., Snyder M.: Microbial synergy via anethanol-triggered pathway. *Mol. Cell Biol.* **24**, 3874–3884 (2004)
 85. Spellberg B., Rex J.H.: The value of single-pathogen antibacterial agents. *Nat. Rev. Drug Discov.* **12**, 963 (2013)
 86. Stahl J., Bergmann H., Gottig S., Ebersberger I., Averhoff B.: *Acinetobacter baumannii* virulence is mediated by the concerted action of three phospholipases D. *PLoS One*, **10**, 9 (2015)
 87. Szczypta A., Talaga-Ćwiertnia K., Kielar M., Krzyściak P., Gajewska A., Szura M., Bulanda M., Chmielarczyk A.: Investigation of *Acinetobacter baumannii* Activity in Vascular Surgery Units through Epidemiological Management Based on the Analysis of Antimicrobial Resistance, Biofilm Formation and Genotyping. *Int. J. Env. Res. Pub. He.* **18**, 1563 (2021)
 88. Szewczyk E.M.: Zakażenia związane z opieką zdrowotną. (oraz) Sobiś-Glinkowska M., Różalska M.: Tlenowe pałeczki gram-ujemne (w) Diagnostyka bakteriologiczna, red. Szewczyk E.M., PWN, Warszawa (2019)
 89. Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A., Harbarth S., Mendelson M., Monnet D.L., Zorzet A.: Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.*, **18**, 318–327 (2018)
 90. Touchon M., Cury J., Yoon E.J., Krizova L., Cerqueira G.C., Murphy C., Feldgarden M., Wortman J., Clermont D., Lambert T., Grillot-Courvalin C., Nemeč A., Courvalin P., Rocha E.P.C.: The genomic diversification of the whole *Acinetobacter* genus: origins, mechanisms, and consequences. *Genome Biol. Evol.* **6**, 2866–2882 (2014)
 91. Traglia G.M., Place K., Dotto C., Fernandez J.S., Montaña S., dos Santos Bahiense C., Bonomo R.A.: Interspecies DNA acquisition by a naturally competent *Acinetobacter baumannii* strain. *Int. J. Antimicrob. Ag.* **53**, 483–490 (2019)
 92. Van der Kolk J.H., Endimiani A., Graubner C., Gerber V., Perreten V.: *Acinetobacter* in veterinary medicine, with an emphasis on *Acinetobacter baumannii*. *J. Glob. Antimicrob. Re.* **16**, 59–71 (2019)
 93. Veening J.W., Blokesch M.: Interbacterial predation as a strategy for DNA acquisition in naturally competent bacteria. *Nat. Rev. Microbiol.* **15**, 621 (2017)
 94. Vincent J., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C.D., Reinhart K.: International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA.* **302**, 2323–2329 (2009)
 95. Wałaszek M., Różańska A., Bulanda M., Wójkowska-Mach J.: Alarmujące wyniki występowania szpitalnych zakażeń krwi w wielośrodkowym programie nadzoru nad zakażeniami szpitalnymi w polskich oddziałach intensywnej terapii medycznej. *Przegląd Epidemiol.* **72**, 33–44 (2018)
 96. Weber B.S., Kinsella R.L., Harding C.M., Feldman M.F.: The secrets of *Acinetobacter* secretion. *Trends Microbiol.* **25**, 532–545 (2017)
 97. Weber B.S., Ly P.M., Irwin J.N., Pukatzki S., Feldman M.F.: A multidrug resistance plasmid contains the molecular switch for type VI secretion in *Acinetobacter baumannii*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **112**, 9442–9447 (2015)
 98. Wilharm G., Skiebe E., Higgins P.G., Poppel M.T., Blaschke U., Leser S., Jerzak L.: Relatedness of wildlife and livestock avian isolates of the nosocomial pathogen *Acinetobacter baumannii* to lineages spread in hospitals worldwide. *Env. Microbiol.* **19**, 4349–4364 (2017)
 99. Wilks M., Wilson A., Warwisk S., Price E., Kennedz D., Elz A., Millar M.R.: Control of an Outbreak of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus colonization and infection in an intensive care unit (ICU) without closing the ICU or placing patients in isolation. *Infect. Cont. Hosp. Ep.* **27**, 654–658 (2006)
 100. Wong D., Nielsen T.B., Bonomo R.A., Pantapalangkoor P., Luna B., Spellberg B.: Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges. *American Society for Microbiology. Clin. Microbiol. Rev.* **30**, 409–447 (2017)
 101. Xu A., Zhu H., Gao B., Weng H., Ding Z., Li M., He G.: Diagnosis of severe community-acquired pneumonia caused by *Acinetobacter baumannii* through next-generation sequencing: a case report. *BMC Infect. Dis.* **20**, 1–7 (2020)
 102. Zimble D.L., Penwell W.F., Gaddy J.A., Menke S.M., Tomaras A.P., Connerly P.L., Actis L.A.: Iron acquisition functions expressed by the human pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Biometals*, **22**, 23–32 (2009)

RANA OPARZENIOWA – PROCESY JEJ ROZWOJU ORAZ WYBRANE CZYNNIKI ETIOLOGICZNE ZAKAŻENIA

Kamila Korzekwa^{1*}, Kamil Sobolewski¹, Bartłomiej Sobolewski²

¹Uniwersytet Wrocławski, Wydział Nauk Biologicznych, Zakład Mikrobiologii

²Głogowski Szpital Powiatowy

Wpłynęło w kwietniu, zaakceptowano w październiku 2021 r.

Streszczenie: Choć tematyka oparzeń wydaje się być stosunkowo dobrze opracowana w piśmiennictwie, nadal istnieje potrzeba określenia związku patomechanizmu urazów termicznych z kluczową kwestią zakażeń w ich obrębie. Niezmiernie istotna w przypadku zakażeń ran oparzeniowych jest diagnostyka mikrobiologiczna. Prawidłowe pobranie materiału klinicznego i wykonanie badań mikrobiologicznych pozwala na ustalenie czynnika etiologicznego zakażenia i dobranie antybiotykoterapii celowanej. Jest to szczególnie istotne w dobie narastania oporności drobnoustrojów na antybiotyki i częstego izolowania szczepów wieloantybiotykoopornych. Oparzenie bowiem, zwłaszcza rozległe, stanowi unikalne środowisko, które – wraz z nieprzemyślaną, bądź niecelowaną terapią – determinuje u drobnoustrojów nabywanie oporności na antybiotyki. Fizjologiczna obrona organizmu przed urazem prowadzi do sytuacji, kiedy w ranie oparzeniowej środki przeciwdrobnoustrojowe mogą nie osiągać MIC/MBC, co drastycznie zmniejsza szanse powodzenia terapeutycznego.

1. Wstęp. 2. Patomechanizm rany oparzeniowej. 2.1. Powstawanie rany oparzeniowej. 2.2. Hemostaza. 2.3. Odpowiedź zapalna. 2.4. Przebudowanie (remodeling) rany i gojenie. 2.5. Wstrząs oparzeniowy. 3. Aspekt immunologiczny oparzeń. 4. Mikrobiota rany oparzeniowej. 5. Zakażenie rany oparzeniowej. 6. Przyczyny nieskuteczności antybiotykoterapii zakażenia rany oparzeniowej. 7. Podsumowanie

BURN WOUND – THE PROCESSES OF ITS DEVELOPMENT AND SELECTED ETIOLOGICAL FACTORS OF INFECTION

Abstract: Although the topic of burns appears to be relatively well understood in the literature, there is still an apparent discontinuity in the understanding of the correlation of the pathomechanism of thermal injury with the key issue of infection within it. From the analysis of the literature, an intriguing picture emerges for both clinicians and microbiologists. Microbiological diagnosis is extremely important in burn wound infections. The correct sampling and performance of microbiological cultures allows for the identification of the etiological agent of infection and the appropriate choice of targeted antibiotic therapy based on the results of microbiological tests. This is particularly important in the era of increasing resistance of microorganisms and frequent isolation of multi-drug resistant strains. A burn, especially extensive, is a unique environment which, together with ill-considered or ineffective therapy, determines the acquisition of antibiotic resistance in microorganisms. The consequence of physiological defense of the body against injury leads to a situation where in the center of the burn wound antimicrobials may not reach MIC/MBC, which drastically reduces the chances of therapeutic success.

Słowa kluczowe: drobnoustroje, oporność, patomechanizm, rana oparzeniowa, zakażenie

Keywords: microorganisms, drug resistance, pathomechanism, burn injury, infection

1. Wstęp

Zgodnie z definicją Światowej Organizacji Zdrowia (World Health Organization, WHO), oparzenie to uraz skóry i sąsiadujących tkanek wywołany przez promieniowanie lub ciepło, ale także chemikalia, łuk elektryczny, promieniowanie jonizujące lub tarcie. W tym kontekście do oparzenia zalicza się również uszkodzenie dróg oddechowych, spowodowane przez wdychanie dymu, par lub powietrza o wysokiej temperaturze [167]. Oparzenie to zespół zmian martwiczych i zapalnych w obrębie tkanek i powłok ciała, które to zmiany są powodowane przez działanie przede wszystkim energii cieplnej w dawce przekraczającej możliwości kompensacyjne organizmu. Różne czynniki wywołujące

oparzenie przyczyniają się do odmiennego obrazu urazu skóry i tkanek przyległych [69]. Łuk elektryczny powodować będzie z większym prawdopodobieństwem urazy tkanek położonych głęboko; skala oparzenia będzie korelować z opornością danych tkanek oraz parametrami prądu (napięciem i natężeniem). Oparzenie kwasami prowadzi do koagulacji tkanki przy jednoczesnym zachowaniu jej struktury; zasady będą powodować martwicę rozplywną. Zróznicowane mogą być również następstwa urazów termicznych, zależne od czynnika parzącego – działanie pary wodnej i wody o wysokiej temperaturze skutkuje początkowo oparzeniem powierzchniowym, działanie wrzących olejów lub bezpośrednio płomienia spowoduje niemalże natychmiastowe głębokie oparzenie. Zaliczane do urazów

* Autor korespondencyjny: dr Kamila Korzekwa, Zakład Mikrobiologii, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski, ul. Przybyszewskiego 63, 51-151, Wrocław; kamila.korzekwa@uwr.edu.pl

termicznych odmrożenia powodują bezpośrednio zniszczenie tkanek poprzez masyną lizę komórek w związku z krystalizacją wody w cytoplazmie oraz pośrednio poprzez niedokrwienie i reperfuzję, co prowadzi do penetracji odmrożenia w głąb tkanek [69].

Komórki w organizmie człowieka są w stanie wytrzymać temperaturę 42°C – powyżej której rozpoczyna się proces destabilizacji błony komórkowej i denaturacji termicznej białek. Głębokość i rodzaj oparzenia są zdeterminowane przede wszystkim przez czas i temperaturę działającego bodźca. Historyczne już badania Moritza i Henriques'a [103] dowodzą, że każdy bodziec termiczny powyżej 44°C działający przez odpowiedni czas, będzie prowadził do oparzenia skóry. Do wywołania oparzenia II–III stopnia przy wspomnianej wyżej temperaturze wymagane było aż 420 minut, jednak taki sam uraz powodował kontakt z ciałem o temperaturze 54°C działający przez 35 sekund i tylko 2 sekundy przy temperaturze 65°C [103, 152].

Oparzenie można potraktować także z termodynamicznego punktu widzenia. Tkanki bowiem, wysyczone wodą, będą posiadać właściwość magazynowania pewnej ilości energii cieplnej, a także oddawania jej dalej, celem wyrównania energii w układzie. Rozpatrując zatem oparzenie można wyróżnić w nim dwie zasadnicze fazy: nagrzewania – etap przekazywania energii cieplnej do tkanek w chwili działania czynnika parzącego oraz chłodzenia – kiedy przestaje działać element parzący, a tkanki będą oddawać stopniowo energię. W drugiej fazie, ciepło nie tylko jest wypromieniowywane do otoczenia przez powierzchnię skóry, ale także przekazywane w głąb tkanek, których temperatura jest niższa. Przegrzanie głębiej położonych tkanek spowodowane przeniesieniem energii cieplnej z wyższych warstw będzie warunkować konwersję oparzenia, czyli samoistne jego pogłębianie się, pomimo iż przestał działać czynnik parzący. Wymiana ciepła w powłokach będzie zachodzić, dopóki temperatura skóry i pobliskich tkanek nie spadnie poniżej 42°C. Szacuje się, że czas powstania indukowanej termicznie martwicy będzie oscylował w granicy 10 do 15 minut. W tym czasie schładzanie powierzchni oparzenia będzie efektywnie odbierać ciepło ze skóry i przeciwdziałać konwersji oparzenia i powstaniu martwicy w głębszych warstwach skóry. Po tym czasie, chłodzenie nie będzie skutkować zatrzymaniem procesu pogłębiania się urazu, będzie jednak poprawiać komfort pacjenta poprzez działanie przeciwbólowe [24, 152].

Oparzenie klasyfikuje się głównie przez dwa parametry – głębokość oraz powierzchnię. Do określania powierzchni oparzenia (total body surface area, TBSA) u dorosłych stosuje się najczęściej regułę ręki, według której powierzchnia dłoni to 1% powierzchni ciała lub regułę dziewiątek Wallace'a, gdzie powierzchnie: głowy i pojedynczej kończyny górnej wynoszą po 9%,

powierzchnie: pojedynczej kończyny dolnej, przedniej i tylnej powierzchni tułowia wynoszą po 18%, a powierzchnia krocza stanowi 1%. Do oceny TBSA użyteczne w praktyce są także tablice Lunda i Browdera. Głębokość oparzenia określa się wczterostopniowej skali według Artza i Reissa, która w 2001 roku została zastąpiona klasyfikacją opisową, opracowaną przez Shakespeare'a i przedstawioną w tabeli I [37, 63, 113, 115, 156].

2. Patomechanizm rany oparzeniowej

Patomechanizm rany oparzeniowej oraz jej gojenie można podzielić na 5 zasadniczych etapów. Punktem zero jest moment powstania urazu. W jego następstwie kolejną fazą jest hemostaza, która rozpoczyna się niemal natychmiast po zadziałaniu bodźca. Po około 24 godzinach pojawia się faza zapalna, która może trwać od kilku dni do wielu miesięcy, w zależności od powierzchni i głębokości oparzenia. Faza proliferacji rozpoczyna budowanie ziarniny i proces naprawy tkanek, angażujący keratynocyty i fibroblasty. W ostatniej fazie – przebudowania (remodeling) – następuje odtworzenie macierzy zewnątrzkomórkowej oraz odbudowanie struktury tkanek, bądź – w przypadku rozległych urazów – powstanie blizn przerostowych. Holistycznie proces naprawy tkanek zależy od wielu czynników – odpowiedzi immunologicznej, zdolności danego organizmu do gojenia, odżywienia, wieku, itd. [30, 37, 69, 139, 156].

2.1. Powstawanie rany oparzeniowej

Według koncepcji Jacksona, w oparzeniu po zadziałaniu czynnika parzącego, można wyróżnić trzy strefy, różniące się stopniem uszkodzenia tkanek [40, 63, 156]. W obszarze działania najsilniejszego bodźca znajduje się strefa koagulacji, która charakteryzuje się całkowitą denaturacją i zniszczeniem tkanek. Strefa zastoju obejmuje najbliższe tkanki otaczające strefę koagulacji. Jest to obszar umiarkowanie uszkodzony, o obniżonej perfuzji i silnie zapalny. W zależności od głębokości oparzenia oraz postępowania leczniczego strefa ta może ulec wygojeniu, stanowiąc podstawę do wytworzenia w obrębie rany zdrowej ziarniny, bądź przejść w martwicę. Z klinicznego punktu widzenia istotne jest, by rewaskularyzując obszar zastoju uzyskać możliwie szybko, w przeciągu kilku dni; w przeciwnym razie nieuniknione jest obumarcie tkanki [145, 165]. W piśmiennictwie opisywane są informacje o podatności strefy zastoju na stres oksydacyjny związany z reperfuzją, tj. pojawienie się zespołu poreperfuzyjnego. Wspomniana wcześniej martwica tkanki postępuje z powodu masowej indukcji apoptozy w komórkach, co prowadzi do

Tabela I
Charakterystyka morfologiczna rany oparzeniowej z uwzględnieniem jej głębokości

Klasyfikacja		Głębokość urazu	Morfologia rany	Zachowanie czucia w obrębie rany	Krążenie kapilarne	Gojenie
Artza-Reissa	Shakespeare'a					
Stopień I	Powierzchnowe	Naskórek	Zaczerwienienie, przesuszona powierzchnia	Zachowane	Zachowane, skóra blednie pod naciskiem	Całkowite
Stopień IIa	Powierzchnowe pośredniej grubości	Naskórek i część skóry właściwej	Zaczerwienienie, pęcherze, skóra wilgotna od treści surowiczej pęcherzy	Zachowane	Zachowane, skóra blednie pod naciskiem	Całkowite; z wzrastaniem głębokości urazu większa
Stopień IIb	Głębokie średniej grubości	Naskórek i skóra właściwa	Zaczerwienienie, pęcherze, powierzchnia wilgotna od treści surowiczej pęcherzy; przy rozleglejszych urazach powierzchnia woskowata, owrzodziała, w kolorze biało-żółtym	Zachowane	Nie zachowane, skóra nie blednie pod naciskiem	możliwość pojawienia się blizn
Stopień III	Pełnej grubości	Naskórek wraz ze skórą właściwą i tkanką podskórną	Powierzchnia woskowata, owrzodziała, w kolorze biało-żółtym, często zwęglona	Zniesienie czucia dotyku i bólu	Nie zachowane, skóra nie blednie pod naciskiem	Niecałkowite, z dużym udziałem blizn przerostowych, wymaga interwencji chirurgicznych
Stopień IV	Pełnej grubości, penetrujące głębiej położone tkanki	Naskórek wraz ze skórą właściwą, tkanką podskórną i głębiej położonymi tkankami, do kości włącznie	Jak w oparzeniach pełnej grubości	Całkowite zniesienie dotyku i bólu czucia	Nie zachowane, skóra nie blednie pod naciskiem	Brak gojenia

Na podstawie: [37, 69, 113, 115, 156].

zaostrenia się stanu zapalnego i samoistnego pogłębiania rany oparzeniowej. Strefa zastoju szczególnie uwidocznioma jest w głębokich oparzeniach skóry [80, 146]. Zewnętrznie od strefy zastoju wyróżnić można strefę przekrwienia, która charakteryzuje się rozszczerzeniem naczyń krwionośnych oraz reakcją zapalną, jednak bez widocznych uszkodzeń strukturalnych [37, 69, 138, 156].

2.2. Hemostaza

Po zadzianiu bodźca parzącego i rozproszeniu energii w powłokach, w miejscu urazu tworzy się skrzep fibrynowy, który stanowi pierwotną macierz do osadzania się fibroblastów, keratynocytów i komórek macierzystych. Powstanie skrzepu uwarunkowane jest poprzez agregację i aktywację płytek krwi oraz uwalnianie czynników wzrostu: naskórkowego czynnika wzrostu (epidermal growth factor, EGF), płytkopochodnego czynnika wzrostu (platelet-derived growth factor, PDGF) oraz transformującego czynnika wzrostu beta (transforming growth factor beta, TGF-beta) [70]. Równolegle zaczyna funkcjonować nieswoista odpowiedź komórkowa z udziałem neutrofilów i makrofagów,

które migrują do miejsca urazu i produkują cytokiny prozapalne. Proces ten oraz czynniki uwalniane ze zniszczonych tkanek warunkują indukcję stanu zapalnego. Obrzęk spowodowany stanem zapalnym umożliwia efektywną penetrację przestrzeni śródmiąższowej przez komórki układu odpornościowego, których zadaniem jest oczyszczenie rany z martwiczych resztek oraz ciał obcych [37, 69, 109, 115, 132, 139]. W kolejnym etapie lokalne fibroblasty i keratynocyty proliferują, by zastąpić pierwotne fibrynowe „rusztowanie” macierzą łącznotkankową – ziarniną. Rana oparzeniowa na tym etapie będzie zawierać w swej strukturze komórki układu odpornościowego, trombocyty, erytrocyty, fibroblasty i keratynocyty. Ich aktywność będzie modulowana neuroendokrynnie i przez wspomniane wyżej mediatory zapalenia. Najważniejsze molekularne modulatory rozwoju i gojenia rany oparzeniowej to: TGF-beta, który aktywuje fibroblasty do proliferacji, jednak jego przewlekłe działanie w ranie prowadzi do przykurczu tkanek i deformacyjnego gojenia, PDGF – niezbędny w angiogenezie oraz czynnik wzrostu śródbłonna naczyniowego (vascular endothelial growth factor, VEGF) będący również stymulatorem angiogenezy; i wspomagający migrację monocytów i makrofagów

[134, 143]. Kluczowe do prawidłowego wygojenia są: unaczynienie miejsca odbudowywanego (angiogeneza) oraz nabłonkowanie (epitelializacja) [61, 132].

2.3. Odpowiedź zapalna

W pierwszej fazie, zwanej fazą odpływu (ebb phase) następuje supresja reakcji metabolicznej, co objawia się przez obkurczenie naczyń krwionośnych, redukcję perfuzji tkanek i rzutu serca oraz – w konsekwencji – hipowolemię [3, 59, 71]. Stopniowo w organizmie dochodzi do przewagi procesów katabolicznych nad anabolicznymi, co nazywane jest fazą przyływu (flow phase). Charakteryzuje się ona zwiększeniem zapotrzebowania energetycznego, podwyższeniem temperatury ciała, silną indukcją odpowiedzi immunologicznej oraz wzrostem tempa pracy narządów centralnych (nerki, wątroba, serce, płuca) poprzez sekrecję różnych hormonów stresu: aldosteronu, wazopresyny, amin katecholowych i glukagonu [37, 59, 71, 139]. Pojawienie się ich w organizmie prowadzi także do zmian w gospodarce cytokinowej, a w rezultacie spowoduje modulację odpowiedzi immunologicznej. Uwolniona noradrenalina hamuje działanie limfocytów Th-1, przy braku oddziaływania na populację limfocytów Th-2 [76, 137]. Podwyższone stężenie glikokortykosteroidów we krwi prowadzi do zmniejszenia sekrecji IFN-gamma i IL-2, przy jednoczesnym braku inhibicji cytokin działających antagonistycznie do IFN-gamma (i ogólnie czynników prozapalnych), a więc IL-4 i IL-10 [146]. Spadek stężenia cytokin prozapalnych (IL-2 i IL-1) spowoduje aktywację limfocytów T supresorowych i zmniejszenie aktywności komórek NK (natural killer). Modulacja odpowiedzi immunologicznej skutkuje szeregiem zmian w subpopulacjach limfocytów T. Okres hipermetaboliczny jest znamienny u pacjentów rozlegle oparzonych, u których utrzymywać się może z malejącym natężeniem do 36. miesięcy po wystąpieniu urazu [24, 70, 71].

2.4. Przebudowa rany i gojenie

Gojenie *de facto* każdej rany ma na celu zamknięcie naturalnej bariery skórnej w sposób najbardziej zbliżony do naturalnego, a więc zapewniający maksymalne możliwe: ukrwienie, elastyczność i funkcjonalność [66]. Gojenie rany oparzeniowej zależy od jej głębokości oraz od odpowiedzi immunologicznej w jej obrębie [37, 63, 69, 73, 104, 131]. Naskórek, który stanowi zewnętrzną warstwę skóry, jako pochodzący z ektodermalnego listka zarodkowego, jest zdolny do regeneracji i proliferacji. Jeżeli więc oparzenie obejmuje tylko warstwę naskórka (stopień I), wówczas rana goi się całkowicie, nawet jeżeli oparzenie dotyczy znacznego obszaru [6, 20, 132]. Inny przebieg obserwuje się

w przypadku oparzeń głębokich, gdzie uszkodzeniu ulegają warstwa skóry właściwej i tkanka podskórna. W takiej sytuacji rana goi się powoli, od brzegów; zaś tempo gojenia będzie zależec od migracji keratynocytów z obszarów zdrowej tkanki oraz odkładania się w macierzy zewnątrzkomórkowej kolagenu i elastyny [69, 73, 132]. Najcięższe oparzenia (III i IV stopnia) wymagają interwencji chirurgicznej i pozostawiają trwałą bliznę przerostową [37, 63, 69, 132]. Oparzenia obejmujące skórę niepełnej grubości będą goić się z wytworzeniem ziarniny; ważna jest jednak synteza włókien kolagenowych przez odbudowującą się tkankę. Nieregularne utkanie sieci włókien kolagenowych warunkuje powstawanie blizny przerostowej, która w znaczący sposób ogranicza funkcjonalność skóry i aparatu ruchu w jej okolicy. Regularne, równoległe do prawidłowego ułożenie włókien ułatwia gojenie się rany, z powstaniem blizny nieprzerostowej. Oparzenia II stopnia z uszkodzeniem błony podstawnej i najwyższej położonej warstwy skóry właściwej ulegają wygojeniu bez ziarniny, za to z wytworzeniem blizny nieprzerostowej. Oparzenia lekkie (np. słoneczne) goją się bez śladu, z całkowitą regeneracją naskórka. Istotny w mechanizmie gojenia jest proces obkurczania się rany, który zachodzi naturalnie. Samoistne odgraniczenie strupa martwiczego w obrębie rany oparzeniowej (demarkacja) powoduje rozpoczęcie tworzenia ziarniny, przez co powierzchnia rany oparzeniowej zmniejsza się do 10% w ciągu 6. tygodni od urazu. Ma to związek z obecnymi w ziarninie miofibroblastami, które charakteryzują się kurczliwością, podobną do mięśni gładkich. Obkurczenie się rany wraz z ziarniną będzie prowadzić do lokalnych przykurczy skóry i okolicznych tkanek miękkich po wygojeniu, co jest zjawiskiem niepożądanym [37, 72, 132].

2.5. Wstrząs oparzeniowy

Jak wspomniano we wstępie, powstawanie rany oparzeniowej następuje etapami, co jest konsekwencją stopniowej progresji energii cieplnej w głąb tkanek ciała. Jednak sekwencja patomechanizmu oparzeń jest bezpośrednio powiązana z wielkością oparzenia. Urazy termiczne, które przekraczają 30% TBSA w konsekwencji uwolnienia z tkanek dużych ilości mediatorów zapalnych oraz wolnych rodników, doprowadzają do uogólnionej reakcji organizmu, zwanej wstrząsem oparzeniowym [31, 34, 37, 69, 80, 115].

Wszystkie komórki oddychające tlenowo wyrażają określone metaboliczne zapotrzebowanie na tlen. Ogólna definicja wstrząsu oparzeniowego opiera się na niedostatecznej podaży tlenu do tkanek, co prowadzi do niewydolności narządów. Rozwój niewydolności wielonarządowej (multiple organ dysfunction syndrome, MODS) zachodzi, gdy niewydolne stają się co najmniej dwa narządy lub układy. Zazwyczaj MODS jest efektem

wstrząsu septycznego lub niewydolności krążenia. Rozległe oparzenia, powodując wstrząs w związku z masowym uszkodzeniem tkanek oraz silnym pobudzeniem układu odpornościowego i endokrynnego, również warunkują powstanie niewydolności wielonarządowej [34, 127]. Mechanizm wstrząsu w przebiegu oparzenia uwarunkowany jest przede wszystkim przez rozległe uszkodzenie tkanki, co prowadzi do masowego wycieku płynu z naczyń włosowatych. Zniszczenie tkanki determinuje gwałtowną sekrecję mediatorów prozapalnych do krwioobiegu: prostaglandyn, leukotrienów i prostacyklin, kinin i cytokin – burzę cytokinową, która dodatkowo powoduje rozszczelnienie śródbłonna [34, 69, 146]. Wypływanie osocza do przestrzeni śródmiąższowej skutkuje znacznym ubytkiem płynu w łożysku naczyniowym (hipowolemia). Ogólnoustrojowy pierwotny efekt wstrząsu oparzeniowego opiera się na zaburzeniach czynności układu sercowo-naczyniowego (upośledzenia makro- i mikrokrażenia) oraz powstawania masowych obrzęków, związanych z utraceniem fizjologicznej równowagi między ciśnieniem onkotycznym a hydrostatycznym krwi [4, 31, 34, 41, 47, 164].

3. Aspekt immunologiczny oparzeń

Wśród przyczyn wstrząsu oparzeniowego zasadniczą rolę spełnia układ odpornościowy [51, 52, 69, 137]. Ze względu na swoistość, reakcja odpornościowa dzieli się na nieswoistą (wrodzoną) i swoistą (nabytą). Odpowiedź nieswoista stanowi „centrum szybkiego reagowania” i pojawia się w zasadzie natychmiast po urazie. Głównym jej celem jest rozpoznanie potencjalnych czynników patogennych, które mogłyby wnikać przez naruszone powłoki ciała. Kluczową rolę w rozpoznawaniu antygenów patogenów i odróżnianiu ich od antygenów autogenicznych pełnią receptory rozpoznające patogeny (pattern recognition receptors, PRR). Wyróżnić wśród nich można receptory toll-podobne (toll-like receptors, TLR) i receptory podobne do NOD (NOD-like receptors, NLR), które rozpoznają specyficzne wzorce antygenowe (pathogen associated molecular patterns, PAMP). Do komórek wykorzystujących receptory TLR zalicza się komórki nabłonka, śródbłonna, a także adipocyty i komórki układu odpornościowego (makrofagi, monocyty, limfocyty B, mastocyty, komórki dendrytyczne i neutrofile) [95, 149]. Ponadto neutrofile, makrofagi i monocyty wykazują zdolność rozpoznawania także endogennych wzorców molekularnych (danger/damage associated molecular patterns, DAMP) zwanych alarminami, które uwalniane są z komórek zniszczonych urazem [26, 69]. Wskutek działania PAMP na wspomniane wcześniej receptory, dochodzi do rozwoju kaskad metabolicznych skutku-

jących aktywacją kompleksu białkowego NF- κ B [26, 46]. Występuje on w większości komórek zwierzęcych i ludzkich, pełniąc rolę czynnika transkrypcyjnego, modulującego odpowiedź organizmu na stan zapalny, przede wszystkim poprzez uruchomienie sekrecji mediatorów prozapalnych – TNF- α oraz IL-1, IL-6 i IL-8 [46]. Wydzielanie dużej ilości cytokin prozapalnych prowadzi w krótkim czasie do ogólnoustrojowej odpowiedzi zapalnej.

Znaczącą fazą w odpowiedzi immunologicznej na oparzenie jest odpowiedź prozapalna. Pośredniczą w niej zarówno elementy układu odpornościowego, jak i zniszczone urazem komórki w obrębie skóry. Wiele różnych komórek (przede wszystkim leukocytów) w odpowiedzi na stres produkuje dwa główne czynniki prozapalne – TNF- α i IL-1. Ich obecność w miejscu poddanym urazowi i w organizmie powoduje pojawienie się objawów zapalenia: gorączki, obrzęku i zaczerwienienia. Z biochemicznego punktu widzenia jest to wynik zwiększenia produkcji białek ostrej fazy i reaktywnych form tlenu [137, 146, 150]. Odpowiedzią prozapalną kieruje także wiele innych cytokin, wśród których znaczącą rolę odgrywa IL-6. Wraz z TNF- α i IL-1, IL-6 pobudza limfocyty T poprzez indukcję wydzielania białek ostrej fazy [119, 168]. Kolejnym istotnym czynnikiem prozapalnym jest IFN- γ , który produkowany jest przez limfocyty Th-1 i komórki NK w następstwie urazu. IFN- γ pobudza działanie fagocytarne i wydzielnicze makrofagów, a także stymuluje różnicowanie limfocytów T CD4+ w limfocyty Th-1, uniemożliwiając jednocześnie różnicowanie do subpopulacji Th-2 [34, 129].

Po początkowym okresie silnej indukcji prozapalnej, w organizmie dotkniętym urazem termicznym stwierdza się działanie przeciwzapalne układu immunologicznego, wynikające z antagonizmu działania komponentów komórkowych i białkowych w różnych fazach odpowiedzi odpornościowej. Wraz z upływającym czasem od powstania urazu termicznego, w organizmie liczba makrofagów i monocytów zmniejsza się. W takiej sytuacji notuje się indukcję wydzielania prostaglandyny E₂ (PGE₂) przez makrofagi, która wraz ze spadkiem stężenia IL-12 warunkuje różnicowanie w obrębie populacji limfocytów T: limfocyty Th przekształcają się w Th-2, które mają działanie redukujące stan zapalny poprzez produkcję cytokin przeciwzapalnych (IL-4 i IL-10) [43, 47, 119].

Zmiany w odpowiedzi immunologicznej w przebiegu oparzenia dotyczą również odpowiedzi komórkowej. Aktywność podstawowych komórek układu odpornościowego – neutrofile – jest modulowana także przez oparzenie. Ich zdolność chemotaktyczna oraz możliwość fagocytozy i zabijania wewnątrzkomórkowego patogenów jest upośledzona w związku z gwałtownym uwalnianiem defensyn i czynników zapalnych

tuż po urazie i brakiem zdolności do odtworzenia ich później w wystarczającej ilości [49, 130].

Makrofagi po urazie termicznym wykazują zwiększoną produkcję PGE_2 , co zmniejsza odpowiedź komórkową limfocytów B i T. Dodatkowo obniża się ich zdolność do prezentowania antygeny przez kompleks MHC II. Prowadzi to w krótkim czasie do zaburzenia swoistej odpowiedzi immunologicznej opierającej się na specyficznych przeciwciałach, które mogą zostać wytworzone dzięki kaskadzie reakcji, w której MHC II odgrywa ważną rolę [134, 150].

Oparzenie wpływa na drogi aktywacji dopełniacza – głównie na drogę alternatywną. Stężenie białek dopełniacza obniża się tuż po oparzeniu, aby następnie osiągnąć stężenie powyżej normy [42]. Z biochemicznego punktu widzenia, uraz termiczny bezpośrednio wpływa na zwiększenie ilości C5a i C3a w osoczu, co prowadzi do aktywacji leukocytów i indukcji stanu zapalnego [13, 61]. Zwiększona produkcja kompleksu atakującego błonę (membrane attack complex, MAC) w następstwie pobudzenia kaskad dopełniacza może, jeśli w krwioobiegu znajduje się dużo drobnoustrojów zwłaszcza Gram-ujemnych, doprowadzić do masywnej lizy komórek bakteryjnych i potężnej toksemii, zwanej zespołem Jarischa-Herxheimera [12].

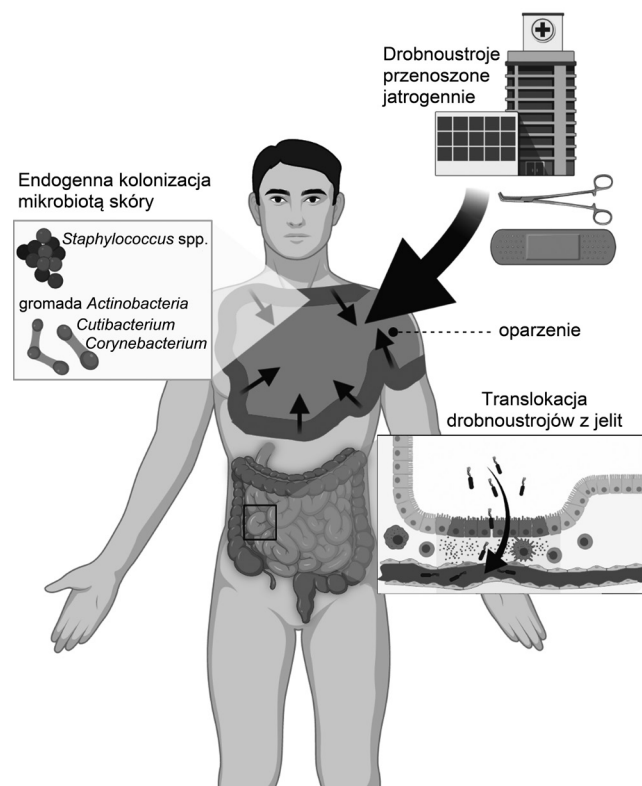
4. Mikrobiota rany oparzeniowej

Skóra jest zewnętrzną barierą chroniącą organizm w warunkach fizjologicznych przed urazami, skaleczeniem i zakażeniem; warunkuje także zachowanie odpowiedniej gospodarki wodno-elektrolitowej oraz pośredniczy w termoregulacji. Mikrobiota skóry jest wyspecjalizowanym ekosystemem, w którego skład wchodzi głównie bakterie (*Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Bacteroidetes* i *Proteobacteria*) [16, 96].

Na uwagę zasługuje fakt, iż mikrobiota każdego człowieka różni się i zależy od wieku, płci, promieniowania UV, miejsca zamieszkania, wykonywanego zawodu, stosowanej diety, zażywanych leków, rodzaju stosowanych kosmetyków. Liczność i różnorodność mikrobioty fizjologicznej skóry są regulowane przez cykliczne złuszczenie się warstwy rogowej naskórka, a także przez wydzielanie na powierzchnię skóry łoju działającego przeciwbakteryjnie i przeciwgrzybiczo. Lekko kwaśny odczyn skóry zapobiega nadmiernemu namnażaniu drobnoustrojów na jej powierzchni [171]. Naturalnie występująca mikrobiota skóry składa się z mikrobioty przejściowej oraz stałej. Mikrobiota przejściowa rezyduje na powierzchni tylko czasowo, a w jej skład wchodzi drobnoustroje z najbliższego otoczenia człowieka [131]. Najkorzystniejsze warunki do rozwoju bakterii w obrębie skóry są tam, gdzie jest względnie wysoka temperatura i wilgotność, a więc

w pachwinach, w okolicy zewnętrznych narządów układu moczowego i płciowego oraz w okolicy twarzy; zaś w najgłębszych jej warstwach umiejscawiają się bez-tlenowce [131].

W momencie działania czynnika parzącego mikrobiota skóry w okolicy urazu ulega eradykacji. Z tego powodu skóra natychmiast po oparzeniu jest jałowa. Jednak po 48 godzinach dochodzi do kolonizacji rany przez drobnoustroje endogenne, pochodzące z nieuszkodzonych obszarów skóry [69]. Ponadto źródłem zakażenia endogennego jest przewód pokarmowy, który w wyniku działania cytokin prozapalnych zwiększa zdolność bakterii do przemieszczania się przez nabłonek [69, 74]. Utrata funkcji ochronnej nabłonka jelitowego zachodzi w wyniku nadprodukcji w następstwie oparzenia tlenu azotu [107], hamującego działania układu współczulnego na perystaltykę jelit oraz zwiększonej ekspozycji na endotoksyny bakteryjne. W rezultacie dochodzi do translokacji drobnoustrojów ze światła jelita do krwioobiegu, co zaostrza stan zapalny i może prowadzić do wstrząsu septycznego. Gram-ujemne pałeczki z przewodu pokarmowego pojawiają się w ranie oparzeniowej średnio od 3. doby po urazie. W środowisku szpitalnym kontakt z patogenami może zachodzić poprzez urządzenia monitorujące i podtrzymujące parametry życiowe oraz personel – z tego powodu obecne w ranie są także drobnoustroje przeniesione jatrogennie (ryc. 1) [74, 102, 103, 124].



Ryc. 1. Drogi zakażenia rany oparzeniowej
Rycina stworzona przy pomocy programu BioRender.
Na podstawie [60, 64].

Najczęściej izolowane z zakażonych ran oparzeniowych są bakterie z gatunków: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, pałeczki Gram-ujemne z grupy KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*), *Proteus* spp., oraz drożdżaki *Candida* spp. [11, 37, 41, 114, 115, 159, 160, 161]. W ostatnich latach, dzięki doskonaleniu metod diagnostyki mikrobiologicznej oraz współpracy mikrobiologów i klinicystów poszerzyła się lista drobnoustrojów izolowanych z zakażeń ran oparzeniowych. Dla przykładu, metodami klasycznymi możliwe jest wyizolowanie z próbki średnio dwóch gatunków drobnoustrojów; stosując metody sekwencjonowania 16S liczba gatunków wykrytych drobnoustrojów zwiększa się średnio do 15 [144]. Jednak metody sekwencjonowania 16S nie są powszechnie stosowane w diagnostyce mikrobiologicznej. Co istotne, bardzo często są to szczepy wieloantybiotykooporne [2, 97, 161]. Coraz częściej w medycznych laboratoriach prowadzących diagnostykę mikrobiologiczną zastosowanie ma metoda spektrometrii MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization, desorpcja/ionizacja laserem wspomagana matrycą, MALDI; Time of Flight, pomiar czasu przelotu jonów, TOF; Mass Spectrometry, spektrometria masowa, MS), która pozwala na identyfikację w ciągu kilku do 15 minut szerokiego zakresu gatunków zarówno bakterii, jak i grzybów.

5. Zakażenie rany oparzeniowej

Obecność drobnoustrojów w ranie, nawet potencjalnie patogennych, nie jest równoznaczna z jej zakażeniem [7, 53, 75, 93, 111, 113, 115, 144]. Proces zakażenia rany rozpoczyna się zanieczyszczeniem tkanek po uszkodzeniu bariery obronnej skóry. Jednak sama kolonizacja nie powoduje odpowiedzi zapalnej *de novo* w ranie oparzeniowej.

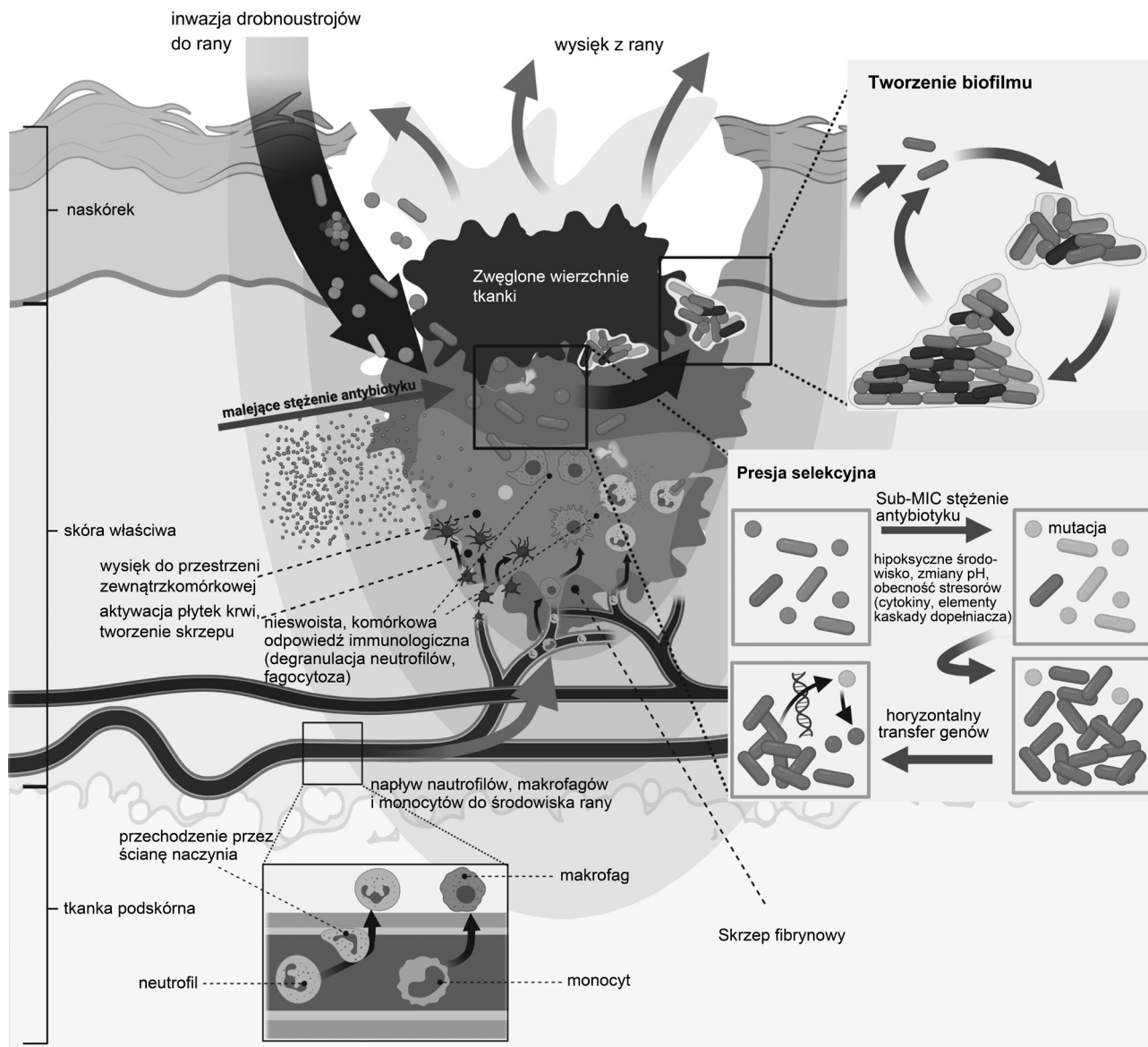
Formy planktoniczne drobnoustrojów swoiście adherują do powierzchni żywych i martwych tkanek w obrębie urazu. Związane jest to z odsłonięciem w zniszczonych tkankach białek macierzy zewnątrzkomórkowej i fibryny, będących receptorami dla bakteryjnych adhezyn [69]. Postępująca kolonizacja rany prowadzi do wnikania drobnoustrojów w głąb tkanki przyrannej i indukcji odpowiedzi prozapalnej, co prowadzi do rozwoju zakażenia miejscowego, które może rozwijać się ogólnoustrojowo [54, 144] (ryc. 2). Obecność drobnoustrojów na powierzchni i w łożysku przewlekłej rany, jaką jest oparzenie, prowadzi do tworzenia biofilmu który znacząco utrudnia proces gojenia i leczenie [53, 55]

Wytyczne IWII (International Wound Infection Institute) określają następujące etapy zakażenia rany:

kontaminacja, kolonizacja, zakażenie miejscowe, rozprzestrzenianie się oraz ogólnoustrojowe [54]. Wspomnieć należy o opisywanym w piśmiennictwie pojęciu krytycznej kolonizacji [9, 87] – obecnie już nie uwzględnianej. Pojęcie to charakteryzuje stan, w którym rana nie wykazuje typowych cech zakażenia, a goi się w sposób utrudniony, co wynika z obecności krytycznej liczby drobnoustrojów w łożysku rany. Przechodzenie rany przez wspomniane wcześniej etapy zakażenia jest płynne i zależy od wielu czynników, w tym od wieku i płci chorego, wydolności jego układu odpornościowego oraz wielkości i lokalizacji rany. Trudne w związku z tym jest ustalenie obiektywnej definicji krytycznej kolonizacji. Przy braku jasnych przesłanek w piśmiennictwie, eksperci IWII zdecydowali nie wyróżniać w wytycznych pojęcia krytycznej kolonizacji [54].

W 2011 roku do oceny ryzyka zakażenia ran opracowana została skala W.A.R. (wound at risk). Według najnowszych rekomendacji Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran z 2020 roku obejmuje ona szereg czynników ryzyka i predyspozycji, którym przypisana jest określona wartość parametryczna w wysokości jednego, dwóch lub trzech punktów. Jeżeli w ocenie określonej rany suma czynników jest większa bądź równa 3, ranę taką określa się jako zagrożoną zakażeniem. Stan rany określony skalą W.A.R. umożliwi dobranie preparatów przeciwbakteryjnych i opatrunków a także odpowiedniego algorytmu postępowania [7, 111, 144].

Wśród czynników ryzyka skali W.A.R., oparzenie powyżej 15% TBSA ma przypisaną wartość 3 punktów. Pozostałe czynniki towarzyszące oparzeniom – rozmiar rany przekraczający 10 cm² i głębokości powyżej 1,5 cm a także przedłużenie hospitalizacji powyżej trzech tygodni sklasyfikowane są w kategorii 1 punktu W.A.R. Oznacza to w praktyce, iż każda rana oparzeniowa wymagająca leczenia zamkniętego jest raną zagrożoną zakażeniem. W celu rozpoznania zakażenia rany oparzeniowej, należy wziąć pod uwagę także aspekt kliniczny i histopatologiczny. Ważna jest nie tylko obecność drobnoustrojów w ranie oparzeniowej, ale także ich lokalizacja oraz wywoływanie odpowiedzi immunologicznej. W tym kontekście zasadne jest histopatologiczne badanie tkanki zmienionej chorobowo, ponieważ pozwala ono rozpoznać drobnoustroje bytujące w żywej, nieuszkodzonej tkance, która bezpośrednio sąsiaduje z martwicą. Określa się również elementy charakterystyczne dla stanu zapalnego wywołanego zakażeniem – nacieki limfocytarne, poszerzenie naczyń, miejscowe martwice zakrzepowe i drobne wynaczynienia. Z tego powodu badanie histopatologiczne wycinka tkanki jest „złotym standardem” [7, 64, 111, 123, 126, 144]. Materiał do badań mikrobiologicznych należy pozyskiwać w postaci zeszkobin po mechanicznej abrazji (łyżeczkowaniu) dna rany. Tkanki



Ryc. 2. Mikrośrodowisko oparzenia w fazie zapalnej

Rycina stworzona przy pomocy programu BioRender. Na podstawie [28, 55].

pobrane w ten sposób umożliwiają ocenę mikrobioty rany pod względem jakościowym i ilościowym [67, 155]. Punktem odcięcia różnicującym kontaminację od zakażenia jest liczba bakterii powyżej 10^5 komórek w 1 g tkanki [7, 54, 111, 144].

Biofilm obecnie jest definiowany jako złożona, wielokomórkowa społeczność drobnoustrojów otoczona warstwą wytwarzanych przez nie substancji organicznych i nieorganicznych, wykazujących adhezję do powierzchni biologicznych i abiotycznych [25]. Jako wielokomórkowy „organizm” drobnoustroje wysyłają sygnały dla regulowania ekspresji genowej i różnicowania komórek [125]. Biofilm stanowi istotny czynnik utrudniający proces leczenia, gojenia się rany oraz istotnie zwiększający odsetek powikłań i wzrost śmiertelności pacjentów [23, 58, 84, 159, 160].

Drobnoustroje, które wchodzi w skład biofilmu, różnią się fenotypowo od komórek żyjących w formie planktonicznej. Gęstość komórek w danej niszy ekologicznej oraz ich kontakt z powierzchnią substratu stanowią specyficzne warunki występujące w środowisku biofilmu i mogą brać bezpośredni udział w indukcji fenotypu unikalnego dla biofilmu [160]. Komórki wchodzące w skład biofilmu charakteryzują się z reguły opornością na działanie środków powierzchniowo czynnych, preparatów dezynfekcyjnych oraz antybiotyków [8, 36, 91, 100, 125, 128, 133, 160]. Wykazano, że komórki te mogą być 1000 razy bardziej odporne na antybiotyki niż komórki planktoniczne [33, 45]. Istnieje wiele hipotez tłumaczących obniżoną wrażliwość bakterii w biofilmie na leki przeciwdrobnoustrojowe [100, 122]. Uważa się, że EPS (egzopolisacharyd) stanowi

fizyko-chemiczną barierę, co wpływa na dyfuzję leku, jak w przypadku aminoglikozydów [8, 122, 147]. Antybiotyki te źle penetrują do wnętrza biofilmu, ponieważ dodatkowo naładowana zjonizowana cząsteczka ulega związaniu z polianionowym polimerem [151]. Zarówno metabolizm, jak i wzrost drobnoustrojów w biofilmie, są w znacznym stopniu spowolnione [83, 100, 122, 125]. Najprawdopodobniej związane jest to z ograniczoną dostępnością substancji odżywczych i tlenu [100]. Wiele leków przeciwdrobnoustrojowych, np. beta-laktamy, działa na komórki, które są aktywne metabolicznie, dlatego przejście w fazę stacjonarną może być związane ze znacznym zmniejszeniem podatności na te substancje [100]. Komórki *P. aeruginosa* w biofilmie wykazują wrażliwość na fluorochinolony, ponieważ ich działanie nie ogranicza się jedynie do drobnoustrojów aktywnych metabolicznie [100, 147]. Uważa się, że aż 40% składu białek ściany komórkowej bakterii w biofilmie jest zmienionych w porównaniu do formy planktonicznej. Dzięki temu zwiększa się prawdopodobieństwo efektywnego wyrzutu ksenobiotyku z komórki oraz wzrostu oporności receptorowej związanej z modyfikacją białek ściany komórkowej [122]. Oporność na substancje przeciwdrobnoustrojowe tłumaczy się także szybką redukcją czynników przeciwbakteryjnych na zewnętrznych warstwach biofilmu, zanim ulegną one dyfuzji. Tak się dzieje w przypadku reaktywnych utleniaczy takich jak: podchloryn czy nadtlenek wodoru [100]. Biofilm stanowi doskonałą niszę dla transferu genów oporności na antybiotyki [125]. W jednej z hipotez przypuszcza się, że drobnoustroje żyjące w biofilmie są specyficznym, wysoce chronionym fenotypem, który stanowi odrębną fizjologicznie postać życiową drobnoustrojów, podobnie jak, np. przetrwalniki i zarodniki.

Zmniejszona podatność bakterii w biofilmie na antybiotyki może być związana z obecnością subpopulacji komórek przetrwałych (persisters cells). Komórki te nie giną w wyniku działania związków o charakterze bakteriobójczym [39, 44, 50, 68, 90]. Natomiast są one wrażliwe na związki o działaniu bakteriostatycznym, jednak po ustąpieniu ich działania zaczynają się ponownie namnażać. Bakterie przetrwałe nie są mutantami, dlatego że w populacji odtworzonej przez ich namnażanie odsetek komórek zdolnych do przetrwania nie ulega zmianie i jest taki sam, jaki był w populacji pierwotnej. Pojawienie się w populacji bakteryjnej komórek przetrwałych jest losowe, jednak w określonych warunkach fenotyp ten jest indukowalny [39, 44, 90]. Komórki przetrwałe charakteryzują się zwiększoną ekspresją czynników chroniących przed stresem środowiskowym – system naprawy indukowalnej (save our souls, SOS), system toksyny-antytoksyny (toxin-antitoxin system, TA) a także pomp wyrzutu (efflux pump) [44, 68, 90, 115].

Wykazano, że system quorum-sensing ma istotną rolę w patogenezie zakażenia rany oparzeniowej oraz horyzontalnej transmisji pałeczek ropy błękitnej w obrębie oparzonej skóry [29, 148]. Transmisja wertykalna drobnoustrojów z rany oznacza rozsiew ich przez tkankę łączną i limfoidalną pod raną oparzeniową [53]. Czynniki sygnałowe wytwarzane przez drobnoustroje przenikają swobodnie przez usieciowaną strukturę EPS i penetrują w głąb tkanek, modyfikując różne szlaki metaboliczne bakterii w obrębie biofilmu oraz odpowiedź immunologiczną gospodarza [49, 136, 148].

W ranie oparzeniowej, zwłaszcza w pierwszych dniach od powstania urazu, notuje się wysokie stężenia czynników wzrostu, białek macierzy zewnątrzkomórkowej oraz fibryny [69], które są receptorami dla bakteryjnych adhezyn, przede wszystkim gronkowcowych. Szczepy *S. aureus* izolowane z ran oparzeniowych charakteryzują się bogatą ekspresją MSCRAMM (microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules), zdolnością do wytwarzania hemolizyn (alfa, beta, gamma i delta), leukocydyny Panton-Valentine'a (PVL) i koagulaz (wolnej i związanej), toksyny – eksfoliatyny oraz toksyny wstrząsu toksycznego TSST-1 (toxic shock syndrome toxin) o właściwościach superantygeny, które umożliwiają im adhezję do komórek gospodarza, niszczenie struktur tkankowych i unikanie odpowiedzi układu odpornościowego [66, 80, 88]. Problemem staje się także coraz częściej stwierdzana oporność *S. aureus* na antybiotyki; przede wszystkim na metycylinę, krzyżowa oporność na makrolidy, lincozamidy i streptograminy oraz notowana niewrażliwość na antybiotyki ostatniego rzutu: oksazolidynony i glikopeptydy. Wszystko to powoduje, że zakażenia (z sepsą włącznie), których etiologią jest *S. aureus* są trudne w leczeniu [56, 66, 105].

W pierwszym etapie adhezji w środowisku rany gronkowce wytwarzają liczne MSCRAMM, wśród których najważniejsze są: białka wiążące fibronektynę FnA i FnB, białko Eno wiążące lamininę, proteiny Cna wiążące kolagen oraz białka EbpS wykazujące powinowactwo do elastyny, białko Fib wiążące fibrynogen oraz proteina Bap związana z biofilmem [66]. Ich ekspresja jest nasiloną w pierwszym etapie wytwarzania biofilmu. Po wstępnym etapie przyłączenia się komórek *S. aureus* do powierzchni podłoża rozpoczyna się faza dojrzewania. Na tym etapie następuje agregacja komórek z udziałem białek adhezyjnych oraz polisacharydowych egzopolimerów, tj. polisacharydowej adhezyny międzykomórkowej (PIA), która wraz z innymi polimerami, takimi jak kwasy tejchojowe i białka, tworzy główną, pozakomórkową macierz biofilmu gronkowcowego, zwaną także śluzem [10, 160]. W międzykomórkowej agregacji ziarenkowców oraz rozwoju biofilmu biorą także udział białka wiążące fibronektynę FnBPA oraz FnBPB [86].

Zwiększone stężenie reaktywnych form tlenu w środowisku rany oparzeniowej i surowicy pacjenta oparzonego związany jest z działaniem oksydazy ksantynowej oraz miejscowym zniszczeniem tkanek. Produkcja wolnych rodników jest proporcjonalna do ciężkości urazu [135]. Stąd, drobnoustroje kolonizujące ranę oparzeniową wykształcają mechanizmy obronne przeciwko stresowi oksydacyjnemu.

Jak wskazują badania prowadzone na modelu mysim przez Shupeng Yin i wsp. [170], *S. aureus* wystawiony na działanie surowicy organizmu poddanemu oparzeniu wykazuje większą zdolność do wytwarzania biofilmu [170]. Surowica taka indukuje także zdolność *S. aureus* do adhezji do ludzkiego fibrynogenu i fibronektyny. W wyniku badań genetycznych szczepów inkubowanych z surowicą wykazano wysoką ekspresję genów *sodA*, *katA* i *sodM*, związanych z syntezą katalazy gronkowcowej, genu *ahpC* warunkującego syntezę hydroksyperoksydaz a także genów *icaA* oraz *sarA* związanych z wytwarzaniem biofilmu. Wykazano także spadek ekspresji genów odpowiadających za modulację gronkowcowego systemu agr (accessory gene regulator). Wyniki te sugerują silną odpowiedź *S. aureus* na stres oksydacyjny [170].

Kluczowe znaczenie w patomechanizmie zakażenia rany oparzeniowej ma synergizm *S. aureus* i *P. aeruginosa*. U pacjentów chorych na mukowiscydozę, fakt prekolonizacji dolnych dróg oddechowych przez *S. aureus* stanowi istotny czynnik ryzyka późniejszą kolonizacją *P. aeruginosa* i gorszego rokowania w terapii [1, 92, 112]. Istota synergizmu *S. aureus* i *P. aeruginosa* u pacjentów z mukowiscydozą jest dobrze poznana, jednak na chwilę obecna słabo scharakteryzowana w piśmiennictwie. Alves i wsp. [1] podjęli próbę opisanego synergistycznego oddziaływania gronkowca złocistego i pałeczki ropy błękitnej w środowisku rany przewlekłej. Wykazano, że *S. aureus* jako drobnoustrój pionierski wspomaga adhezję *P. aeruginosa* do keratynocytów i tworzenie biofilmu; jednak w przypadku wzrostu gronkowca w dojrzałym biofilmie *P. aeruginosa*, obserwowane jest działanie inhibicyjne gronkowca na wzrost pałeczek [1, 118]. Koegzystencja *P. aeruginosa* ze *S. aureus* w łożysku rany prowadzi do zwiększenia ekspresji gronkowcowych genów *hla* i *pvl*, kodujących α -hemolizynę i leukocydyę Panton-Valentine'a oraz zwiększenie wytwarzania stafilokszantyny [1]. W łożysku rany oba gatunki bakterii nie konkurują o adhezję do białek osocza. Wydzielanie cytokin prozapalnych przez keratynocyty w środowisku synergistycznie działających obu gatunków bakterii jest upośledzone w porównaniu do oddziaływania *P. aeruginosa* w monokulturze na keratynocyty. W rezultacie działanie takie sprzyja utrudnionemu gojeniu się rany i zwiększa prawdopodobieństwo wystąpienia przewlekłego zakażenia [1]. Inne badania wykazują, że biofilm utworzony przez *S. aureus* i *P. aeruginosa* prowadzi do

upośledzenia gojenia rany w takim samym stopniu, jak biofilm jednogatunkowy [117].

P. aeruginosa należy do patogenów inwazyjnych, mających czynniki wirulencji związane z komórką bakteryjną oraz wytwarzających białka o działaniu toksycznym i litycznym – (tab. II). Pierwszy etap zakażenia to adhezja, w której znaczącą rolę odgrywają adhezyny umiejscowione na powierzchni komórki drobnoustroju kolonizującego, oddziałujące swoiście z ligandami na powierzchni komórek lub macierzy pozakomórkowej gospodarza [25, 32, 100, 122]. Etapy adhezji można podzielić na adhezję odwracalną i nieodwracalną. W przypadku adhezji odwracalnej (nieswoistej) komórki bakterii są związane z powierzchnią przede wszystkim za pośrednictwem oddziaływań fizycznych, tj.: sił Van der Waalsa, oddziaływania grawitacyjnego, ruchów Browna, a także elektrostatycznych napięć powierzchniowych [8, 100, 125, 160]. Natomiast w adhezji nieodwracalnej (swoistej), kiedy komórki bakteryjne trudniej usunąć z powierzchni, wytwarzają one zewnątrzkomórkowe EPS i białka tworzące macierz silnie związaną z substratem [25]. Zasadnicze znaczenie w fazie adhezji nieodwracalnej mają oddziaływania nieswoiste: wiązania hydrofobowe, wodorowe i jonowe oraz oddziaływania swoiste: adhezyny, które łączą się z ligandem ekspozowanym na powierzchni komórek eukariotycznych [8, 125, 160]. Pałeczki *P. aeruginosa* mogą wiązać się z cząsteczkami mucyny, lamininy, kolagenu typu I i II oraz cząsteczkami proteoglikanów substancji pozakomórkowej tkanek gospodarza. Możliwe jest także utworzenie połączenia między komórką bakteryjną a docelowym ligandem poprzez wykorzystanie białek osocza gospodarza [160]. Kolejnym etapem następującym po adhezji jest kolonizacja, namnażanie się komórek bakteryjnych, tworzenie mikrokolonii, rozpraszanie się po powierzchni i powstawanie biofilmu. Proces ten następuje po osiągnięciu przez bakterie nieodwracalnego kontaktu z powierzchnią. Na tym etapie duże znaczenie odgrywają fimbrie typu IV (TFP) [9, 15, 160].

W przetrwaniu drobnoustrojów w środowisku rany oparzeniowej istotne jest oddziaływanie patogenów z płynem wysiękowym rany. Gonzalez i wsp. [48] badali wpływ płynu wysiękowego pobranego z oparzeń na wzrost i ekspresję czynników wirulencji szczepu *P. aeruginosa* PAO1. Inkubacja badanego szczepu w płynie wysiękowym prowadziła do pobudzenia sekrecji piocyjaniny, piowerdyny oraz elastazy, co zostało dodatkowo potwierdzone poprzez monitorowanie stopnia ekspresji genów przy użyciu metody qPCR. W odniesieniu do kontrolnej hodowli w LB (Luria Broth), szczep PAO1 inkubowany w płynie wysiękowym charakteryzował się zwiększoną ekspresją genów: *phzA1*, *phzS* oraz *phzM*, związanych z biosyntezą piocyjaniny oraz *pvdS* i *pvdL*, warunkujących syntezę piowerdyny. Wykazano także zwiększenie ekspresji genu *rhlA*, warunkującego syn-

Tabela II
Najważniejsze czynniki wirulencji *Pseudomonas aeruginosa*

Struktury i składniki komórkowe	Fimbrie typu IV (TFP – type four pili)	<ul style="list-style-type: none"> • Powodują ruch komórek zwany drgającym (twitching), ułatwiając adhezję do komórek gospodarza lub powierzchni abiotycznych: • Biorą udział w tworzeniu mikrokolonii biofilmu: • Ułatwiają przyleganie do galaktozowych, mannozowych i sialowych receptorów na komórkach nabłonkowych układu oddechowego
	Adhezyny niefimbrialne	Biorą udział we wstępnej kolonizacji błony śluzowej
	Rzęski	Odpowiedzialne za ruch, mogą brać udział w adhezji do komórek nabłonkowych
	Otoczka alginianowa	<ul style="list-style-type: none"> • Wykazuje szczególne powinowactwo do komórek nabłonkowych płuc • Ułatwia unikanie odpowiedzi immunologicznej
	LPS	<ul style="list-style-type: none"> • Endotoksyna, oddziałuje z wieloma receptorami (m.in. TLR4/MD2) zakażonego organizmu, aktywując system odpornościowy • Powoduje stan zapalny, wstrząs septyczny
Hemolizyny	Fosfolipaza C	<ul style="list-style-type: none"> • Ciepłochwiejna hemolizyna • Uszkadza fosfolipidy (glicerofosforany) występujące w błonie komórkowej pneumocytów • Rozkłada lecytynę
Biosurfaktanty	Ramnolipid	<ul style="list-style-type: none"> • Nieenzymatyczny glikolipid rozpuszczający fosfolipidy, co ułatwia hydrolizę • Bierze udział w hamowaniu aktywności leukocytów penetrujących utworzony biofilm
Enzymy proteolityczne	Elastaza LasA i LasB Alkaliczna proteaza Kolagenaza Żelatynaza Fibrylizyna	Hydrolizują składniki macierzy zewnątrzkomórkowej (m.in. elastynę, kolagen)
Toksyny	Egzotoksyna A (exoT)	Warunkuje hamowanie biosyntezy białka w zakażonej komórce i w konsekwencji prowadzi do jej lizy
	Egzoenzym S (exoS)	<ul style="list-style-type: none"> • Substancja białkowa wydzielana zewnątrzkomórkowo, pełniąca podobną funkcję jak egzotoksyna A: • Wykazuje zdolność łączenia się do glikolipidów
	Enterotoksyna	Odpowiada za zatrucia pokarmowe
	Leukocydyna	Uwalniana po lizie komórki, działa cytotoksycznie na ludzkie leukocyty
Piocyanina		Wykazuje działanie prozapalne i cytotoksyczne; katalizuje przechodzenie tlenu w reaktywne jony nadtlenkowe
Siderofory		Pobierają żelazo z hemoporfirynowych związków kompleksowych

Na podstawie [5, 17, 77 – 79, 81, 113, 138, 163, 164, 169].

tezę ramnolipidu. W poszukiwaniu przyczyn wspomnianej zmienności fenotypowej badano pobrany płyn wysiękowy [48]. Badanie wykazało obniżone stężenie białka i jonów żelaza w porównaniu do wartości referencyjnych osocza, stężenie elektrolitów w granicach normy oraz podwyższone stężenia mleczanów oraz pirogronianu. W celu pozyskania żelaza, które jest niezbędne w procesach metabolicznych i podziału komórek bakteryjnych [19], *P. aeruginosa* wytwarza barwniki o właściwościach sideroforów oraz elastazę, które przyczyniają się do zniszczenia komórek w sąsiedztwie bakterii i uwolnienia do środowiska pożądanego jonów. Jak wynika z badań na nicieniach *Caenorhabditis elegans*, zaburzenie homeostazy w gospodarce żelaza poprzez działanie enzymów i sideroforów *P. aeruginosa* może prowadzić do gwałtownej hipoksji u gospodarza [82]. Podwyższone stężenie mleczanów i pirogronianu generuje nie tylko stres osmotyczny, ale może świad-

czyć także o rozwijającej się hipoksji, która stanowi stresor dla drobnoustrojów [48, 50].

Szczepy *P. aeruginosa*, szczególnie szpitalne, charakteryzuje wieloraka oporność na antybiotyki i środki dezynfekcyjne [36, 155, 157, 166]. Pałeczki te wykazują naturalną oporność na wiele antybiotyków, niektóre beta-laktamy (penicyliny, cefalosporyny I i II generacji), makrolidy tetracykliny, trimetoprim-sulfametoksazol [36, 60, 155]. Przyczyną tego jest zwiększona ekspresja genów kodujących pompy wyrzutu typu MDR (multi-drug resistance), modyfikacje miejsc wiązania antybiotyków oraz blokada systemów kanałów, przez które cząsteczki antybiotyków dostają się do wnętrza komórki [65].

W tabeli III przedstawiono czynniki wirulencji wybranych drobnoustrojów izolowanych z ran oparzeniowych, innych niż najczęściej izolowane, tj. *S. aureus* i *P. aeruginosa*.

Tabela III

Najważniejsze czynniki wirulencji wybranych patogenów innych niż *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z ran oparzeniowych

Drobnoustroj	Charakterystyka	Najważniejsze czynniki wirulencji	Piśmiennictwo
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Patogen oportunistyczny. Może występować na skórze. Wywołuje zapalenie płuc, zakażenie krwi, zakażenia dróg moczowych, zakażenia ran pooperacyjnych, przewlekłych i oparzeń. Szczepy <i>A. baumannii</i> cechują się wieloantybiotykoopornością lub opornością na wszystkie antybiotyki dostępne w medycynie.	Otoczka <ul style="list-style-type: none"> • LPS • Pili typu IV • Adhezyny fimbrialne • Białka błony zewnętrznej • Glukozamina poli-β-(1-6)-<i>N</i>-acetylowa • Systemy pozyskiwania mikroelementów (siderofory, transportery) • Systemy wydzielania białek • Pęcherzyki błonowe • Enzymy zewnątrzkomórkowe (fosfolipazy, lecytynazy, lipazy, proteazy) • Niska wrażliwość na wysychanie i stres oksydacyjny 	[57, 89]
<i>Escherichia coli</i>	Składnik mikrobioty przewodu pokarmowego, patogen oportunistyczny. Najczęstsza etiologia zakażeń dróg moczowych, biegunek bakteryjnych, sepsy. Drugi najczęściej izolowany patogen u noworodków z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych	Mikrootoczka <ul style="list-style-type: none"> • LPS • Adhezyny fimbrialne i niefimbrialne • Białka błony zewnętrznej • Hemolizyny • Egzotoksyny • Enterotoksyny • Toksyna typu <i>Shiga</i> 	[21, 27, 85, 158]
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Składnik mikrobioty przewodu pokarmowego oraz skóry. Patogen oportunistyczny; wywołujący najczęściej zapalenie płuc, zakażenia dróg moczowych, zakażenia ran przewlekłych i oparzeń. Wieloantybiotykooporne szczepy są jednym z głównych patogenów wywołujących zakażenia szpitalne.	Otoczka <ul style="list-style-type: none"> • LPS • Adhezyny fimbrialne • Białka błony zewnętrznej 	[27, 35, 121, 154]
<i>Proteus spp.</i>	Wywołuje zakażenia dróg moczowych oraz ran przewlekłych i oparzeń.	LPS <ul style="list-style-type: none"> • Adhezyny fimbrialne i niefimbrialne • Hemolizyna, proteazy, ureaza • Zdolność do ruchu 	[27, 36, 98]
<i>Candida spp.</i>	Patogen oportunistyczny, składnik mikrobioty przewodu pokarmowego. Ryzyko kandydozy wzrasta w przypadku immunosupresji (AIDS, przyjmowanie steroidów), rozległych urazów, chorób metabolicznych (przede wszystkim cukrzycy) i zaburzeń w składzie mikrobioty organizmu gospodarza	Adhezja do nabłonka, białek macierzy zewnątrzkomórkowej i innych drobnoustrojów <ul style="list-style-type: none"> • Proteazy • Pleomorfizm 	[18, 94, 108]

6. Przyczyny nieskuteczności antybiotykoterapii zakażenia rany oparzeniowej

W leczeniu zakażonej rany oparzeniowej istotne jest, by podawany antybiotyk osiągnął stężenie terapeutyczne w tkance/narządzie, wykazywał skuteczność przeciwko drobnoustrojom wywołującym zakażenie oraz działał odpowiednio długo, by leczenie było skuteczne [153]. Aktywność antybiotyków w organizmie jest określona poprzez parametry farmakokinetyczno-farmakodynamiczne [PK/PD].

Patomechanizm rany oparzeniowej oraz metaboliczne konsekwencje leczenia wpływają w wielu aspektach na wskaźniki PK/PD podawanych antybiotyków, co przekłada się na zmniejszenie skuteczności leczenia

przeciwdrobnoustrojowego i większe prawdopodobieństwo powikłań. Choroba oparzeniowa w przebiegu rozległych urazów dotyka praktycznie wszystkich układów w organizmie ludzkim [3, 59, 69, 162]. Najważniejsze w aspekcie PK/PD są zmiany hemodynamiczne oraz metaboliczne – wypływ treści surowiczej z rany, rozszczelnienie śródłonka, masywne obrzęki związane z wydostawaniem się zwiększonej objętości wody do przestrzeni śródmiąższowej, hipoalbuminemia, zwiększenie rzutu serca oraz klirensu nerkowego [3, 59, 62, 69, 141, 162]. W pierwszych etapach odpowiedzi zapalnej wszystkie wspomniane wyżej zmiany metaboliczne prowadzić mogą do zwiększonego wydalania niektórych grup antybiotyków z organizmu, zwłaszcza przez nerki. W kolejnych etapach postępujący stan zapalny i roz-

wijający się MODS prowadzi do upośledzenia funkcji narządów, co oznacza zmniejszenie klirensu nerkowego niektórych antybiotyków, wydłużenie czasu działania i gromadzenia w organizmie [120, 141, 162].

Jednym z kluczowych parametrów farmakokinetycznych oceny skuteczności działania antybiotyków jest ich objętość dystrybucji (Vd). Jest to hipotetyczna objętość płynów ustrojowych, w której lek po równomiernej dystrybucji osiągnie takie samo stężenie jak we krwi [153, 162]. Antybiotyki lipofilne, takie jak: makrolidy, linkozamidy, tetracykliny, fluorochinolony, charakteryzują się dużą objętością dystrybucji, co oznacza dobrą penetrację w obrębie tkanek [110]. Antybiotyki hydrofilne, do których zalicza się beta-laktamy, aminoglikozydy oraz związki peptydowe działają z kolei lepiej w łożysku naczyniowym i słabiej penetrują do przestrzeni śródmiąższowej, co związane jest z mniejszą objętością dystrybucji [116, 140, 162]. Masywny stan zapalny w obrębie oparzenia, prowadzący do rozległego wynaczynienia płynów do przestrzeni śródmiąższowej oraz procedury postępowania z chorym, warunkujące podaż dużej ilości płynów dożylnie, generują znaczne zmiany w farmakokinetyce antybiotyków hydrofilnych, zwiększając ich objętość dystrybucji, co przy niezmodyfikowanej dawce prowadzi do spadku ich stężenia we krwi. Przedkłada się to na większe prawdopodobieństwo zaistnienia sytuacji, w której we krwi osiągnane będzie stężenie antybiotyku poniżej wartości minimalnego stężenia hamującego (minimum inhibitory concentration, MIC), co zmniejsza szanse powodzenia terapeutycznego i może prowadzić do narastania antybiotykooporności drobnoustrojów. Sytuacja taka może zajść podczas podawania niektórych antybiotyków beta-laktamowych, do których należą karbapenemy uważane za antybiotyki ostatniego rzutu. Opisywane są wartości Vd piperacyliny, ceftazydymu, meropenemu, imipenemu u pacjentów z ranami oparzeniowymi, w porównaniu do osób zdrowych [141]. Wzrost objętości dystrybucji skorelowany ze spadkiem stężenia maksymalnego w osoczu określono w przypadku daptomycyny i amikacyny [101, 162].

Większość leków w układzie krwionośnym wiąże się z białkami osocza. Do najważniejszych białek wiążących leki zalicza się alfa-1-kwaśną glikoproteinę, alfa, beta i gamma-globuliny, albuminy i lipoproteiny [142], przy czym w kontekście antybiotykoterapii szczególnie istotne są albuminy, wiążące leki o odczynie kwaśnym, np. ceftriakson, teikoplanina czy daptomycyna [101, 162] oraz alfa-1-kwaśna glikoproteina, która wiąże leki o odczynie zasadowym [141, 142, 162]. W przebiegu choroby oparzeniowej notuje się hipoalbuminemię, która wynika z sumarycznej utraty białek osoczowych poprzez intensywny wyciek z rany, zwiększony katabolizm oraz zmniejszenie ich syntezy w wątrobie [38, 99, 141, 162]. Hipoalbuminemia jest charakterystyczna

w ostrej fazie zapalenia i nasiloną jest u chorych rozległe oparzonych [99, 162]. W związku ze spadkiem stężenia albumin, antybiotyki które mają do nich powinowactwo, przechodzą z fazy związanej do wolnej, co oznacza zwiększenie stężenia wolnej postaci leku. Dodatkowo, wzrost stężenia bilirubiny będzie skutkować dodatkowym wypieraniem przez bilirubinę antybiotyków związanych z albuminami. Takie działanie prowadzi do wzrostu objętości dystrybucji dla tych leków [99, 141]. Dla antybiotyków wydalanych przez nerki warunkuje to szybszą ich eliminację z krwi, szczególnie w pierwszej fazie zapalenia, co związane jest ze zwiększonym klirensem nerkowym [141]. Zwiększające się stężenie alfa-1-kwaśnej glikoproteiny w osoczu wiąże więcej cząsteczek antybiotyków wykazujących do niej powinowactwo, co przełoży się na spadek wartości wolnej frakcji leku [141, 162].

Eliminacja antybiotyków w organizmie może zachodzić dwójako – drogą nerkową i pozanerkową. Czynność nerek w przebiegu oparzeń jest zmienna, stwierdza się jednak zwiększony klirens nerkowy (augmented renal clearance, ARC) oraz ostre uszkodzenie nerek (acute kidney injury, AKI) w przebiegu MODS. ARC jest zjawiskiem stosunkowo niedawno opisanym i dotyczy pacjentów krytycznie chorych w przebiegu, m.in., mukowiscydozy, sepsy, urazów mózgu, gorączki neutropenicznej, urazów wielonarządowych, czy krwawienia podpajęczynówkowego. Zmierzony klirens kreatyniny jest znacząco większy niż fizjologiczny, obliczony wzorem Cockcrofta-Gaulta, może osiągać wartości 325 ml/min/1,73 m² i dotyczy 30–100% populacji pacjentów w stanie krytycznym [22, 141, 162]. ARC znacząco wpływa na farmakokinetykę antybiotyków hydrofilnych – ich zwiększone wydalanie może prowadzić do osiągnięcia subinhibicyjnych stężeń w osoczu, co prowadzi do generowania antybiotykooporności i niepowodzenia terapeutycznego [14, 162]. Z kolei AKI, w związku z degradacją aparatu filtracyjnego nerki, prowadzi do obniżenia klirensu nerkowego. Ogranicza to możliwość usuwania antybiotyków tą drogą, co prowadzi do ich gromadzenia w organizmie [106]. Z tego powodu AKI jest bezwzględnym wskazaniem do ciągłej terapii nerkozastępczej (continuous renal replacement therapy, CCRT) [162].

Pozanerkowe usuwanie antybiotyków obejmuje natomiast metabolizm wątrobowy i usuwanie z żółcią, dezaktywację przez enzymy w organizmie, a także ciągłe wypływanie leku wraz z sączącą się z rany treścią [162].

Wspomniane wcześniej efekty metaboliczne i hemodynamiczne u pacjentów oparzonych drastycznie zwiększają szansę na utrzymywanie się subinhibicyjnego stężenia podawanych antybiotyków we krwi, które wywierają na obecny w ranach mikrobiom presję selekcyjną. Oznacza to wyselekcjonowanie mutantów wykazujących ekspresję genów oporności na antybiotyki

a także charakteryzujących się zwiększoną ekspresją genów kodujących wybrane czynniki wirulencji czy szlaki metaboliczne [28]. Ponadto zróżnicowanie fenotypowe drobnoustrojów pod względem antybiotykooporności związane jest także z odpowiedzią drobnoustrojów na stres środowiskowy inny niż presja selekcyjna – hipoksja, zmiany pH oraz niedobór składników pokarmowych [50].

7. Podsumowanie

Oparzenie to uszkodzenie skóry i innych tkanek spowodowane przez działanie wysokiej temperatury, prądu elektrycznego, promieniowania jonizującego i chemikaliów. Najczęściej spotyka się oparzenia termiczne. Leczenie zależy od stopnia oparzenia oraz jego powierzchni. W związku ze zniszczeniem ciągłości skóry, rana oparzeniowa powoduje nieustanny wypływ treści surowiczej, co prowadzi do odwodnienia i wstrząsu hipowolemicznego. Wszystko to sprzyja intensywnej kolonizacji rany oparzeniowej przez drobnoustroje. Najczęściej izolowane są: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *S. pyogenes*, *E. coli*. Bakterie z rany dostają się do krwi pacjenta; w konsekwencji, prócz wstrząsu oparzeniowego, wykształca się także wstrząs septyczny. Czynniki to oparzenia trudnymi w leczeniu, obciążonymi dużym odsetkiem powikłań i śmiertelnością. Mikrobiom rany oparzeniowej jest dynamiczny i zróżnicowany. Drobnoustroje w ranie oparzeniowej aktywnie migrują a ich lokalizacja zmienia się w czasie. Konsekwencją migracji drobnoustrojów są zmiany w procencie powierzchni rany skolonizowanej przez określone gatunki bakterii. Początkowo w ranie oparzeniowej obecne są bakterie gram-dodatnie. Wraz z postępem czasu i leczenia, mikrobiom ulega zmianie – rana kolonizowana jest wtórnie przez bakterie gram-ujemne. W ranie oparzeniowej, z postępem czasu i leczenia, może dochodzić u kolonizujących ją drobnoustrojów do indukcji oporności na antybiotyki i chemioterapeutyki.

Piśmiennictwo

- Alves P.M., Al-Badi E., Withycombe C., Jones P.M., Purdy K.J., Maddocks S.E.: Interaction between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is beneficial for colonisation and pathogenicity in a mixed biofilm. *Pathog. Dis.* DOI: 10.1093/femspd/fty003 (2018)
- Armour A.D., Swanson T. i wsp.: The impact of nosocomially-acquired resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection in a burn unit. *J. Trauma*. **63**, 164–171 (2007)
- Arnold J., Little R.A.: Stres i odpowiedź metaboliczna na uraz u chorych w stanie krytycznym. *Prz. Now. Anest.* **3**, 161–170 (1993)
- Aulick L.H., Wilmore D.W., Mason A.D., Pruitt B.A.: Influence of the burn wound on peripheral circulation in thermally injured patients. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* **233**, 520–526 (1977)
- Baj J., Markiewicz Z. i wsp.: *Biologia molekularna bakterii*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2006, s. 114–115; 120–121; 126–130; 519; 555–556; 592–597
- Bannister B.A., Begg N.T., Gillespie S.H.: *Choroby zakaźne*. Wydawnictwo Medyczne Urban & Partner, Wrocław 1998, s. 161–194
- Bartoszewicz M.: Biofilm jako patomechanizm zakażeń odczynnikowych – metody prewencji. Sympozjum „Biofilm tworzony przez drobnoustroje w patogenezie zakażeń”, Polanica (2007)
- Bartoszewicz M., Junka A., Smutnicka D., Przondo-Mordarska A.: Mikrobiologiczny aspekt skali oceny rany zagrożonej ryzykiem infekcji WAR. *Forum Zakażeń*, **2**, 85–88 (2011)
- Bartoszewicz M., Paweł M. i wsp.: Zasady postępowania miejscowego i ogólnego w ranach/owrzodzeniach przewlekłych objętych procesem infekcji. *Forum Zakażeń*. **10**, 1–30 (2019)
- Beatson S.A., Whitchurch C.B., Sargent J.L., Levesque R.C., Mattick J.S.: Differential Regulation of Twitching Motility and Elastase Production by Vfr In *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **184**, 305–361 (2002)
- Becker W.K., Cioffi W.G., Jr., McManus A.T., Kim S.H., McManus W.F., Mason A.D., Pruitt B.A., Jr.: Fungal burn wound infection. A 10-year experience. *Arch. Surg.* **126**, 44–48 (1991)
- Belum G.R., Belum V.R., Arudra S.K.C., Reddy B.S.N.: The Jarisch-Herxheimer reaction: Revisited. *Trav. Med. Infect. Dis.* **11**, 231–237 (2013)
- Bengtson A., Heideman M.: Anaphylatoxin formation in plasma and burn bullae fluid in the thermally injured patient. *Burns*, **13**, 185–189 (1987)
- Bergen P.J., Bulitta J.B., Kirkpatrick C.M.J., Rogers K.E., McGregor M.J., Wallis S.C., Paterson D.L., Lipman J., Roberts J.A., Landersdorfer C.B.: Effect of different renal function on antibacterial effects of piperacillin against *Pseudomonas aeruginosa* evaluated via the hollow-fibre infection model and mechanism-based modelling. *J. Antimicrob. Chemother.* **71**, 2509–2520 (2016)
- Branda S.S., Vik A., Friedman L., Kolter R.: Biofilms: the matrix revisited. *Trends Microbiol.* **13**, 20–25 (2005)
- Byrd A., Belkaid Y., Segre J.: The human skin microbiome. *Nat. Rev. Microbiol.* **16**, 143–155 (2018)
- Caiazza N.C., Merritt J.H., Brothers K.M., O’Toole G.A.: Inverse Regulation of Biofilm Formation and Swarming Motility by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *J. Bacteriol.* **189**, 3603–3612 (2007)
- Cavalheiro M., Teixeira M.C.: *Candida* biofilms: Threats, Challenges, and Promising Strategies. *Front. Med. (Lausanne)* **5**, 28 (2018)
- Caza M., Kronstad J.W.: Shared and distinct mechanisms of iron acquisition by bacterial and fungal pathogens of humans. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* DOI: 10.3389/fcimb.2013.00080 (2013)
- Chen M., Przyborowski M., Berthiaume F.: Stem Cells for Skin Tissue Engineering and Wound Healing. *Crit. Rev. Biomed. Eng.* **37**, 399–421 (2010)
- Cisowska A.: Polisacharydowa otoczka K1 pałeczek *Escherichia coli* i jej znaczenie w chorobotwórczości tych drobnoustrojów. *Postep. Mikrobiol.* **42**, 3–23 (2003)
- Cook A.M., Hatton-Kolpek J.: Augmented Renal Clearance. *Pharmacotherapy*, **39**, 346–354 (2019)
- Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M.: Microbial Biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* **49**, 711–745 (1995)
- Cuttle L., Kempf M., Kravchuk O., Phillips G.E., Mill J., Wang X.Q., Kimble R.M.: The optimal temperature of first aid treatment for partial thickness burn injuries. *Wound Repair Regen.* **16**, 626–634 (2008)
- Czaczyk K.: Czynniki warunkujące adhezję drobnoustrojów do powierzchni abiotycznych. *Postep. Mikrobiol.* **43**, 267–283 (2004)

26. D'Arpa P., Leung K.P.: Toll-Like Receptor Signaling in Burn Wound Healing and Scarring. *Adv. Skin Wound Care.* **6**, 330–343 (2017)
27. Dauda M.M.: Enterobacteria in drinking water: a public health hazard. *R.I.F.* **1**, 224–230 (2010)
28. Davies J., Spiegelman G.B., Yim G.: The world of subinhibitory antibiotic concentrations. *Curr. Opin. Microbiol.* **9**, 445–453 (2006)
29. Delden C.V., Iglewski B.H.: Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg. Infect. Dis.* **4**, 551–560 (1998)
30. Demidova, Rice T.N., Hamblin M.R., Herman I.M.: Acute and Impaired Wound Healing. *Adv. Skin Wound Care.* **25**, 304–314 (2012)
31. Demling R.H.: Fluid Replacement in Burned Patients. *Surg. Clin. North Am.* **67**, 15–30 (1987)
32. Donlan R.M.: Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *E.I.D.* **8**, 881–888 (2002)
33. Drenkard E.: Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes. Infect.* **5**, 1213–1219 (2003)
34. Drożdż Ł., Madry R., Strużna J.: Burn shock, diagnostics, monitoring and fluid therapy of severe burns-new look. *Wiad. Lek.* **64**, 288–293 (2011)
35. Dunne W.M.: Bacterial adhesion: Seen Any Good Biofilms Lately? *Clin. Microbiol. Rev.* **15**, 155–166 (2002)
36. Dzierżanowska D.: Zakażenia szpitalne. α-Medica press, Bielsko-Biała, 2008, s. 48–51.
37. Evers L.H., Bhavsar D., Mailänder P.: The biology of burn injury. *Exp. Dermatol.* **19**, 777–783 (2010)
38. Finfer S., Bellomo R., McEvoy S., Lo S.K., Myburgh J., Neal B., Norton R.: Effect of baseline serum albumin concentration on outcome of resuscitation with albumin or saline in patients in intensive care units: analysis of data from the saline versus albumin fluid evaluation (SAFE) study. *BMJ*, **333**, 1044 (2006)
39. Fisher R.A., Gollan B., Helaine S.: Persistent bacterial infections and persister cells. *Nat. Rev. Microbiol.* **15**, 453–464 (2017)
40. Forage A.V.: The diagnosis of the depth of thermal burns in children. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* **35**, 341–361 (1964)
41. Frame J.D., Kangesu L., Malik W.M.: Changing Flora in Burn and Trauma Units: Experience in the United Kingdom. *JBCR.* **13**, 281–286 (1992)
42. Gallinaro R., Cheadle W.G., Applegate K., Polk H.C.: The role of the complement system in trauma and infection. *Surg. Gynaeco. Obstet.* **174**, 435–440 (1992)
43. Gamelli R.L., He L.K., Liu H.: Marrow granulocyte-macrophage progenitor cell response to burn injury as modified by endotoxin and indomethacin. *J. Trauma. Acute. Care. Surg.* **37**, 339–346 (1994)
44. Gefen O., Balaban N.Q.: The importance of being persistent: heterogeneity of bacterial populations under antibiotic stress. *FEMS Microbiol. Rev.* **33**, 704–717 (2009)
45. Gillis R.J., White K.G., Choi K.H., Wagner V.E., Schweizer H.P., Iglewski B.H.: Molecular Basis of Azithromycin-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *Antimicrob. Agents Ch.* **49**, 3858–3867 (2005)
46. Gilmore T.D.: Introduction to NF-κB: players, pathways, perspectives. *Oncogene*, **25**, 6680–6684 (2006)
47. Göebel A., Kavanagh E., Lyons A., Saporoschetz I.B., Soberg C., Lederer J.A., Mannick J.A., Rodrick M.L.: Injury Induces Deficient Interleukin-12 Production, But Interleukin-12 Therapy After Injury Restores Resistance to Infection. *Ann. Surg.* **231**, 253–261 (2000)
48. Gonzalez M.R., Fleuchot B., Lauciello L., Jafari P., Applegate L.A., Raffoul W., Que Y.A., Perron K.: Effect of Human Burn Wound Exudate on *Pseudomonas aeruginosa* Virulence. *mSphere*, **1**, 2 (2016)
49. Gospodarek E., Zalas P.: Ingerencja człowieka w komunikowanie się drobnoustrojów. *Postep. Mikrobiol.* **47**, 365–370 (2008)
50. Grant S.S., Hung D.T.: Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence*, **4**, 273–283 (2013)
51. Grazul-Bilska A.T., Johnson M.L., Bilski J.J., Redmer D.A., Reynolds L.P., Abdullah A., Abdullah K.M.: Wound healing: The role of growth factors. *Drugs Today*, **39**, 787 (2003)
52. Griswold J.A.: White blood cell response to burn injury. *Semin. Nephrol.* **13**, 409–415 (1993)
53. Grzybowski J.: Zakażenie rany oparzeniowej – kolonizacja, inwazja, patogeniza. Biologia rany oparzeniowej, α-Medica press, Bielsko-Biała 2001, s. 98–101
54. Haesler E., Ousey K.: Evolution of the wound infection continuum. *Wounds International*, **9**, 6–10 (2018)
55. Hammond A.A., Miller K.G., Kruczek C.J., Dertien J., Colmer-Hamood J.A., Griswold J.A., Horswill A.R., Hamood A.N.: An in vitro biofilm model to examine the effect of antibiotic ointments on biofilms produced by burn wound bacterial isolates. *Burns*, **37**, 312–321 (2011)
56. Haraga I., Nomura S., Fukamachi S., Ohjimi H., Hanaki H., Hiramatsu K., Nagayama A.: Emergence of vancomycin resistance during therapy against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a burn patient-importance of low-level resistance to vancomycin. *Int. J. Infect. Dis.* **6**, 302–308 (2002)
57. Harding C.M., Hennon S.W., Feldman M.F.: Uncovering the mechanisms of *Acinetobacter baumannii* virulence. *Nat. Rev. Microbiol.* **16**, 91–102 (2018)
58. Harrison-Balestra C., Cazzaniga A.L., Davis S.C., Mertz P.M.: A Wound Isolated *Pseudomonas aeruginosa* Grows a Biofilm In Vitro Within 10 Hours and Is Visualized by Light Microscopy. *Dermatol. Surg.* **29**, 631–635 (2003)
59. Hasiak J.: Stres okołoperacyjny – operacja. Część II – Geneza. *Prz. Urol.* **73**, 9–15 (2012)
60. Hsueh P.R., Teng L.J., Yang P.C., Chen Y.C., Ho S.W., Luh K.T.: Persistence of a Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Clone in an Intensive Care Burn Unit. *J. Clin. Microbiol.* **36**, 1347–1351 (1998)
61. Hugli T.E.: Complement and cellular triggering reactions. Introductory remarks. *Federation proceedings*, **43**, 2540–2542 (1984)
62. Investigators S.S., Finfer S., Bellomo R., McEvoy S., Lo S.K., Myburgh J., Neal B., Norton R.: Effect of baseline serum albumin concentration on outcome of resuscitation with albumin or saline in patients in intensive care units: analysis of data from the saline versus albumin fluid evaluation (SAFE) study. *BMJ*. **333**, 1044 (2006)
63. Jackson D.M.: The diagnosis of the depth of burning. *Br. J. Surg.* **40**, 588–596 (1953)
64. James G.A., Swogger E., Wolcott R., Pulcini E.d., Secor P., Sestrich J., Costerton J.W., Stewart P.S.: Biofilms in chronic wounds. *Wound Repair Regen.* **16**, 37–44 (2008)
65. Jarmuła A., Obłąk E., Wawrzycka D., Gutowicz J.: Oporność wielolekowa związana z aktywnym usuwaniem leków z komórek drobnoustrojów. *Postep. Hig. Med. Dosw.* **65**, 216–227 (2011)
66. Jarraud S., Mougel C., Thioulouse J., Lina G., Meugnier H., Forey F., Nesme X., Etienne J., Vandenesch F.: Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect. Immun.* **70**, 631–41 (2002)
67. Jawień A., Bartoszewicz M., Przondo-Mordarska A. i wsp.: Wytyczne postępowania miejscowego i ogólnego w ranach objętych procesem infekcji. *Leczenie Ran*, **9**, 59–75 (2012)
68. Jayaraman R.: Bacterial persistence: some new insights into an old phenomenon. *J. Biosci.* **33**, 795–805 (2008)

69. Jeschke M.G., Baar M.E.v., Choudhry M.A., Chung K.K., Gibran N.S., Logsetty S.: Burn injury. *Nat. Rev. Dis. Primers*. **6**, 11 (2020)
70. Jeschke M.G., Gauglitz G.G., Kulp G.A., Finnerty C.C., Williams F.N., Kraft R., Suman O.E., Mlcak R.P., Herndon D.N.: Long-Term Persistence of the Pathophysiologic Response to Severe Burn Injury. *Plos One*, **6**, e21245 (2011)
71. Jeschke M.G., Gauglitz G.G., Song J., Kulp G.A., Finnerty C.C., Cox R.A., Barral J.M., Herndon D.N., Boehning D.: Calcium and ER stress mediate hepatic apoptosis after burn injury. *J. Cell. Mol. Med.* **13**, 1857–1865 (2009)
72. Jethon J.: Chirurgiczne leczenie rany oparzeniowej – współczesne postępowanie. *Post. Nauk Med.* **2**, 3 (2005)
73. Johnson T.R., Gómez B.I., McIntyre M.K., Dubick M.A., Christy R.J., Nicholson S.E., Burmeister D.M.: The Cutaneous Microbiome and Wounds: New Molecular Targets to Promote Wound Healing. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 2699 (2018)
74. Jones W.G., Minel J.P., Barber A.E., Rayburn J.L., Fahey T.J., Shires G.T., Shires G.T.: bacterial translocation and intestinal atrophy after thermal injury and burn wound sepsis. *Ann. Surg.* **211**, 399–405 (1990)
75. Jr B.A.P., McManus A.T., Kim S.H., Goodwin C.W.: Burn Wound Infections: Current Status. *World J. Surg.* **22**, 135–145 (1998)
76. Kato Y., Nagai A., Saito M., Ito T., Koga M., Tsuboi R.: Food dependent exercise induced anaphylaxis with a high level of plasma noradrenaline. *J. Dermatol.* **34**, 110–113 (2007)
77. Kayser F.H., Bienz K.A., Eckert J., Zinkernagel R.M.: Mikrobiologia lekarska. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2007. s. 255–280
78. Kędzia W.B. i wsp.: 1982. Pałeczki *Pseudomonas* właściwości, zakażenia, profilaktyka. PZWL, Warszawa, 1982, s. 11–153
79. Kędzia W.: Diagnostyka mikrobiologiczna w medycynie, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa, 1990, s. 91–93; 129–132; 182; 183
80. Kennedy P., Brammah S., Wills E.: Burns, biofilm and a new appraisal of burn wound sepsis. *Burns*, **36**, 49–56 (2010)
81. Kiratisin P., Tucker K.D., Passador L.: LasR a Transcriptional Activator of *Pseudomonas aeruginosa* Virulence Genes, Functions as a Multimer. *J. Bacteriol.* **184**, 4912–4919 (2002)
82. Kirienko N.V., Kirienko D.R., Larkins-Ford J., Wählby C., Ruvkun G., Ausubel F.M.: *Pseudomonas aeruginosa* disrupts *Caenorhabditis elegans* iron homeostasis, causing a hypoxic response and death. *Cell Host Microb.* **13**, 406–416 (2013)
83. Kirov S., Webb J., O'May C., Reid D., Woo J., Rice S., Kjelleberg S.: Biofilm differentiation and dispersal in mucoid *Pseudomonas aeruginosa* isolates from patients with cystic fibrosis. *Microbiology*, **153**, 3264–3274 (2007)
84. Klausen M., Heydorn A., Ragas P., Lambertsen L., Aaes Jørgensen A., Molin S., Tolker Nielsen T.: Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Mol. Microbiol.* **48**, 1511–1524 (2003)
85. Klein J., Marcy S.: Bacterial sepsis and meningitis (w) Infectious diseases of the fetus and newborn infant, red. Remington J. Klein, Saunders., 2001, s. 943–998
86. Kowalska-Krochmal B.: Mukowiscydoza – problem terapeutyczny i diagnostyczny. Sympozjum „Biofilm tworzony przez drobnoustroje w patogenezie zakażeń” Polanica (2007)
87. Kramer A., Dissemond J., Kim S., Willy C., Mayer D., Papke R., Tuchmann F., Assadian O.: Consensus on Wound Antisepsis: Update 2018. *Skin Pharmacol. Physiol.* **31**, 28–58 (2018)
88. Kulhankova K., King J., Salgado-Pabón W.: *Staphylococcal* toxic shock syndrome: superantigen-mediated enhancement of endotoxin shock and adaptive immune suppression. *Immunol. Res.* **59**, 182–187 (2014)
89. Lee C.R., Lee J.H., Park M., Park K.S., Bae I.K., Kim Y.B., Cha C.J., Jeong B.C., Lee S.H.: Biology of *Acinetobacter baumannii*: Pathogenesis, Antibiotic Resistance Mechanisms, and Prospective Treatment Options. *Front. Cell. Infect. Mi.* DOI:10.3389/fcimb.2017.00055 (2017)
90. Lewis K.: Persister Cells. *Microbiology*, **64**, 357–372 (2010)
91. Lim C.S.Y., Rosli R., Seow H.F., Chong P.P.: *Candida* and invasive candidiasis: back to basics. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **31**, 21–31 (2012)
92. Limoli D.H., Whitfield G.B., Kitao T. i wsp.: *Pseudomonas aeruginosa* alginate overproduction promotes coexistence with *Staphylococcus aureus* in a model of cystic fibrosis respiratory infection. *mBio*. **8**, 186–17 (2017)
93. Luterma A., Dacso C.C., Curreri P.W.: Infections in burn patients. *Antimicrob. Agents Ch.* **81**, 45–52 (1986)
94. Macura A.B.: Przyleganie – jedna z determinant patogenności grzybów *Candida*. *Mikol. Lek.* **1**, 73–79 (1994)
95. Majewska M., Szczepanik M.: The role of Toll-like receptors (TLR) in innate and adaptive immune responses and their function in immune response regulation. *Postępy Hig. Med. Dośw.* **60**, 52–63 (2006)
96. Malinowska M., Tokarz-Deptuła B., Deptuła W.: Mikrobiom człowieka. *Postępy Mikrobiol.* **56**, 33–42 (2017)
97. Markiewicz Z., Kwiatkowski Z. A.: Bakterie, antybiotyki, lekooporność. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2006, s. 121, 131
98. Matusiak D.M.: Zakażenia układu moczowego z udziałem *Proteus mirabilis* – rola biofilmu i inkrustacji cewnika urologicznego. *Post. Mikrobiol.* **53**, 173–181 (2014)
99. Melinyshyn A., Callum J., Jeschke M.C., Cartotto R.: Albumin Supplementation for Hypoalbuminemia Following Burns. *JBCR. (Oxford Academic)*. **34**, 8–17 (2013)
100. Meszaros J.: Czy biofilmy stanowią zagrożenie dla człowieka? *Ter. Lek.* **30**, 20–25 (2002)
101. Mohr J.F., Ostrosky-Zeichner L., Wainright D.J., Parks D.H., Hollenbeck T.C., Ericsson C.D.: Pharmacokinetic Evaluation of Single-Dose Intravenous Daptomycin in Patients with Thermal Burn Injury. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**, 1891–1893 (2008)
102. Mooney D.P., Gamelli R.L.: Sepsis following thermal injury. *Compr. Ther.* **15**, 22–29 (1989)
103. Moritz A.R., Henriques F.C.: Studies of Thermal Injury: II. The Relative Importance of Time and Surface Temperature in the Causation of Cutaneous Burns. *Am. J. Pathol.* **23**, 695–720 (1947)
104. Muthu K., He L.K., Melstrom K., Szilagyi A., Gamelli R.L., Shankar R.: Perturbed Bone Marrow Monocyte Development Following Burn Injury and Sepsis Promote Hyporesponsive Monocytes. *JBCR.* **29**, 12–21 (2008)
105. Mutnick A.H., Enne V., Jones R.N.: Linezolid Resistance since 2001: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Ann. Pharmacother.* **37**, 769–774 (2003)
106. Myśliwiec M., Drabczyk R.: Medycyna Praktyczna: Ostre uszkodzenie nerek (10.08.2020): <https://www.mp.pl/interna/chapter/B16.II.14.1> (11.10.2020)
107. Nadler E.P., Upperman J.S., Dickinson E.C., Ford H.R.: Nitric Oxide and Intestinal Barrier Failure. *Semin. Pediatr. Surg.* **8**, 148–154 (1999)
108. Naglik J., Albrecht A., Bader O., Hube B.: *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, **6**, 915–926 (2004)
109. Nielson C.B., Duethman N.C., Howard J.M., Moncure M., Wood J.G.: Burns. *J. Burn Care Res.* **38**, 469–481 (2017)
110. Nix D.E., Goodwin S.D., Peloquin C.A., Rotella D.L., Schentag J.J.: Antibiotic tissue penetration and its relevance: impact of tissue penetration on infection response. *Antimicrob. Agents Ch.* **35**, 1953–1959 (1991)
111. Norbury W., Herndon D.N., Tanksley J., Jeschke M.G., Finnerty C.C.: Infection in Burns. *Surg. Infect.* **17**, 250–255 (2016)

112. Ohman D.E., Chakrabarty A.M.: Utilization of human respiratory secretions by mucoid *Pseudomonas aeruginosa* of cystic fibrosis origin. *Infect. Immun.* **37**, 662–669 (1982)
113. Oleksy-Wawrzyniak M., Junka A., Bartoszewicz M.: Zastosowanie antyseptyków w leczeniu zakażeń ran oparzeniowych. *Chirurgia Plastyczna i Oparzenia*, **5**, 53–58 (2017)
114. Omar A., Wright J.B., Schultz G., Burrell R., Nadworny P.: Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms*, **5**, 9 (2017)
115. Paleczny J., Junka A., Bartoszewicz M.: Postępowanie przeciwbakteryjne (antyseptyka) u pacjentów oparzonych. *Chirurgia Plastyczna i Oparzenia*, **7**, 91–100 (2019)
116. Patel B.M., Paratz J., See N.C., Muller M.J., Rudd M., Paterson D., Briscoe S.E., Ungerer J., McWhinney B.C., Lipman J. et al: Therapeutic Drug Monitoring of Beta-Lactam Antibiotics in Burns Patients – A One-Year Prospective Study. *TDM*. **34**, 160–164 (2012)
117. Pastar I., Nusbaum A.G., Gil J. i wsp.: Interactions of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in polymicrobial wound infection. *Plos One*, **8**, e5684 (2013)
118. Pihl M., Arvidsson A., Skepo M. i wsp.: Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* on peritoneal dialysis catheters and the effects of extracellular products from *Pseudomonas aeruginosa*. *FEMS Path. Dis.* **67**, 192–198 (2013)
119. Pileri D., Palombo A.A., D'Amelio L., D'Arpa N., Amato G., Masellis A., Cataldo V., Mogavero R., Napoli B., Lombardo C. i wsp.: Concentrations of cytokines IL-6 and IL-10 in plasma of burn patients: their relationship to sepsis and outcome. *Ann. Burns Fire Disasters*. **21**, 182–185 (2008)
120. Pinder M., Bellomo R., Lipman J.: Pharmacological Principles of Antibiotic Prescription in the Critically Ill. *Anaesth. Intensive Care*. **30**, 134–144 (2001)
121. Podschun R., Ullmann U.: *Klebsiella spp.* as Nosocomial Pathogens: Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods and Pathogenicity Factors. *Clin. Microbiol. Rev.* **11**, 589–603 (1998)
122. Prakash B., Veeragowda B.M., Krishnappa G.: Biofilms: A survival strategy of bacteria. *Curr. Sci.* **85**, 1299–1307 (2003)
123. Pruitt B.A., Foley F.D.: The use of biopsies in burn patient care. *Surgery*, **73**, 887–897 (1973)
124. Pruitt B.A., Jr., McManus A.T., Kim S.H., Goodwin C.W.: Burn wound infections: current status. *World J. Surg.* **22**, 135–145 (1998)
125. Przondo-Mordarska A.: Społeczności bakteryjne w organizmie ludzkim. Sympozjum „Biofilm tworzony przez drobnoustroje w patogenie zakażeń” Polanica (2007)
126. Pudelewicz A., Lisiecka M.: Wymazy z rany oparzeniowej – analiza mikrobiologiczna. *Hir. Plast. Oparzenia*. **5**, 7–13 (2017)
127. Rae L., Fidler P., Gibran N.: The Physiologic Basis of Burn Shock and the Need for Aggressive Fluid Resuscitation. *Crit. Care Clin.* **32**, 491–505 (2016)
128. Ramage G., Coco B., Sherry L., Bagg J., Lappin D.F.: *In Vitro* Biofilm Induced Proteinase Activity and SAP8 Expression Correlates with *In Vivo* Denture Stomatitis Severity. *Mycopathologia*, **174**, 11–19 (2012)
129. Ramírez F., Fowell D.J., Puklavec M., Simmonds S., Mason D.: Glucocorticoids promote a TH2 cytokine response by CD4+ T cells in vitro. *J. Immunol.* **156**, 2406–2412 (1996)
130. Rich, R.R.: Clinical immunology principles and practices, Mosby, Baltimore, 2001, s. 44–141
131. Roth R.R., James W.D.: Microbiology of the skin: resident flora, ecology, infection. *JAAD*, **20**, 367–390 (1989)
132. Rowan M.P., Cancio L.C., Elster E.A., Burmeister D.M., Rose L.F., Natesan S., Chan R.K., Christy R.J., Chung K.K.: Burn wound healing and treatment: review and advancements. *Crit. Care Clin.* **19**, 243 (2015)
133. Różalska B., Walencja E.: Alternatywne do antybiotykoterapii sposoby eradykacji biofilmów. *Postep. Mikrobiol.* **47**, 371–378 (2008)
134. Rudensky A.Y., Preston-Hurlburt P., Hong S.C., Barlow A., Janeway C.A.: Sequence analysis of peptides bound to MHC class II molecules. *Nature*, **353**, 622–627 (1991)
135. Sahib A.S., Al-Jawad F.H., Alkaisy A.A.: Effect of antioxidants on the incidence of wound infection in burn patients. *Ann. Burns Fire Disasters*. **23**, 199–205 (2010)
136. Sakuragi Y., Kolter R.: Quorum-Sensing Regulation of the Biofilm Matrix Genes (*pel*) of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* **189**, 5383–5386 (2007)
137. Sanders V.M., Baker R.A., Ramer-Quinn D.S., Kasprovicz D.J., Fuchs B.A., Street N.E.: Differential expression of the beta2-adrenergic receptor by Th1 and Th2 clones: implications for cytokine production and B cell help. *J. Immunol.* **158**, 4200–4210 (1997)
138. Schlegel H. G.: Mikrobiologia ogólna. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2005, s. 136–137
139. Shupp J.W., Nasabzadeh T.J., Rosenthal D.S., Jordan M.H., Fidler P., Jeng J.C.: A review of the local pathophysiologic bases of burn wound progression. *J. Burn Care Res.* **31**, 849–873 (2010)
140. Smith B.S., Yogaratnam D., Levasseur-Franklin K.E., Forni A., Fong J.: Introduction to drug pharmacokinetics in the critically ill patient. *Chest*, **141**, 1327–1336 (2012)
141. Smuszkiewicz P., Szalek E., Tomczak H., Trojanowska I., Blaszyk M.: Pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations of antimicrobial therapy in sepsis. *Anest. Intens. Ter.* **39**, 136–143 (2007)
142. Sochacka J., Lipska I.: Rola α 1-kwaśnej glikoproteiny surowicy krwi ludzkiej w procesie wiązania leków. *Farm. Pol.* **70**, 55–62 (2014)
143. Sood R.F., Gibran N.S., Arnoldo B.D., Gamelli R.L., Hendon D.N., Tompkins R.G.: Early leukocyte gene expression associated with age, burn size, and inhalation injury in severely burned adults. *J. Trauma Acute. Care. Surg.* **80**, 250–257 (2016)
144. Sopata M. i wsp.: “Wytyczne postępowania miejscowego w ranach niezakażonych, zagrożonych infekcją oraz zakażonych – przegląd dostępnych substancji przeciwdrobnoustrojowych stosowanych w leczeniu ran. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Leczenia Ran. *Leczenie Ran*, **17**, 1–21 (2020)
145. Sorrentino E.A., Mayrovitz H.N.: Skin capillary reperfusion after regional ischemia. *Int. J. Microcirc Clin. Exp.* **10**, 105–115 (1991)
146. Sparkes B.G.: Immunological responses to thermal injury. *Burns*, **23**, 106–113 (1997)
147. Spoering A.L., Lewis K.: Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. *J. Bacteriol.* **183**, 6746–6751 (2001)
148. Stańkowska D., Kaca W.: Systemy komunikacji międzykomórkowej bakterii gram-ujemnych i ich znaczenie w ekspresji cech fenotypowych. *Post. Mikrobiol.* **44**, 99–111 (2005)
149. Steintraesser L., Oezdogan Y., Wang S.C., Steinau H.U.: Host defense peptides in burns. *Burns*, **30**, 619–627 (2004)
150. Stephan R.N., Ayala A., Harkema J.M., Dean R.E., Border J.R., Chaudry I.H.: Mechanism of immunosuppression following hemorrhage: Defective antigen presentation by macrophages. *J. Surg. Res.* **46**, 553–556 (1989)
151. Stewart P.S., Costerton J.W.: Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*, **358**, 135–138 (2001)
152. Strużyńska J.: Wczesne leczenie oparzeń. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2006, s. 15–21
153. Szalek E., Tomczak H., Smuszkiewicz P., Kamińska A., Grześkowiak E., Skóra M.: Podstawowe wskaźniki PK/PD stosowane w antybiotykoterapii. *Anest. Ratow.* **3**, 88–93 (2006)

154. Szewczyk E.M.: Diagnostyka bakteriologiczna. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2005
155. Szewczyk M.T., Gospodarek E., Mościcka P., Jawień A., Cwajda-Białasik J., Cierzniakowska K., Hancke E.: Zakażenia ran przewlekłych – poważny problem medyczny. *Pielęgniarstwo Chirurgiczne i Angiologiczne*, 1–6 (2015)
156. Tiwari V.K.: Burn wound: How it differs from other wounds? *Indian J. Plast. Surg.* **45**, 364–373 (2012)
157. Todar K.: Online Textbook of Bacteriology. Opportunistic Infections Caused by *Pseudomonas aeruginosa*, 1–4: <http://www.textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html> (11.10.2020)
158. Topley N., Steadman R., Mackenzie R., Knowlden J.M., Williams J.D.: Type 1 fimbriate strains of *Escherichia coli* initiate renal parenchymal scarring. *Kidney Int.* **36**, 609–616 (1989)
159. Trafny E.A.: Susceptibility of adherent organisms from *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* strains isolated from burn wounds to antimicrobial agents. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **10**, 223–228 (1998)
160. Trafny E.A.: Powstawanie biofilmu *Pseudomonas aeruginosa* i jego znaczenie w patogenezie zakażeń przewlekłych. *Post. Mikrobiol.* **39**, 55–71 (2000)
161. Tredget E.E., Shankowsky H.A., Rennie R., Burrell R.E., Logsetty S.: *Pseudomonas* infections in the thermally injured patient. *Burns*, **30**, 3–26 (2004)
162. Udy A.A., Roberts J.A., Lipman J., Blot S.: The effects of major burn related pathophysiological changes on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of drug use: An appraisal utilizing antibiotics. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* **123**, 65–74 (2018)
163. Van Delden C., Iglewski B.H.: Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *EID.* **4**, 551–560 (1998)
164. Vaughn L., Beckel N.: Severe burn injury, burn shock, and smoke inhalation injury in small animals. Part 1: burn classification and pathophysiology. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* **22**, 179–186 (2012)
165. Vo L.T., Papworth G.D., Delaney P.M., Barkla D.H., King R.G.: A study of vascular response to thermal injury on hairless mice by fibre optic confocal imaging, laser doppler flowmetry and conventional histology. *Burns*, **24**, 319–324 (1998)
166. Wolska K., Kot B., Piechota M., Aneta E.: Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics. *Postepy. Hig. Med. Dosw.* **67**, 1300–1311 (2013)
167. World Health Organization: Burns – fact sheet (06.03.2018): <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns> (11.10.2020)
168. Xing Z., Gauldie J., Cox G., Baumann H., Jordana M., Lei X.F., Achong M.K.: IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J. Clin. Investig.* **101**, 311–320 (1998)
169. Xu K.D., Stewart F.S., Xia F., Huang C.T., McFeters G.A.: Spatial Physiological Heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Is Determined by Oxygen Availability. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 4035–4039 (1998)
170. Yin S., Jiang B., Huang G. i wsp.: Burn serum increases *Staphylococcus aureus* biofilm formation via oxidative stress. *Front Microbiol.* **8**, (2017)
171. Zabel M.: Histologia – Podręcznik dla studentów medycyny i stomatologii; Elsevier Urban & Partner, Wrocław, 2013, s. 9, 173–188

SYSTEMATYKA I ANALIZY GENOMICZNE BAKTERII Z RODZAJU AZOTOBACTER

Monika Kozieł*, Anna Gałązka

Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Państwowy Instytut Badawczy

Wpłynęło w październiku 2020 r., zaakceptowano we wrześniu 2021 r.

Streszczenie: Bakterie z rodzaju *Azotobacter* są przedmiotem wielu badań prowadzonych zarówno w Polsce jak i za granicą. Zainteresowanie tą grupą bakterii w dużej mierze związane jest z ich właściwościami, które mogą być wykorzystywane w rolnictwie. Najnowsze badania opierają się na zaawansowanych metodach molekularnych i bazują na poznanej sekwencji genomów dwóch gatunków: *Azotobacter vinelandii* i *Azotobacter chroococcum*. W 2009 roku Setubal i in. opublikowali pełną sekwencję genomu *Azotobacter vinelandii* DJ, z kolei pełną sekwencję genomu *Azotobacter chroococcum* 8003 opublikowali Robson i in. w pracy z 2015 roku. Obie bakterie mają pojedynczy, kolisty chromosom o wielkości odpowiednio 5,365,318 pz. i 5,192,291 pz. Poznanie i porównanie sekwencji genomów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003 pozwoliło odpowiedzieć na wiele pytań dotyczących ewolucji, różnorodności i miejsca tych bakterii w środowisku. Zsekwencjonowanie większej liczby genomów innych szczepów *A. chroococcum* i *A. vinelandii* przyniosłoby wiele korzyści i pozwoliłoby uporządkować dotychczasową wiedzę na ich temat.

1. Wstęp. 2. Pozycja taksonomiczna *Azotobacter* spp. 2.1. Bliskie pokrewieństwo bakterii z rodzajów *Azotobacter* i *Pseudomonas*. 2.2. Metody molekularne porównywania i grupowania bakterii w obrębie rodzaju/gatunków *Azotobacter*. 3. Analizy genomiczne przedstawicieli *Azotobacter* spp. – szczepów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003. 3.1. Porównanie genomów szczepów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003. 3.2. Ruchome elementy genetyczne szczepów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003. 3.3. Charakterystyka wybranych genów szczepów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003. 4. Podsumowanie

SYSTEMATICS AND GENOMIC ANALYSIS OF BACTERIA OF THE GENUS AZOTOBACTER

Abstract: Bacteria belonging to the genus *Azotobacter* are the subject of many studies conducted both in Poland and around the world. The interest in this group of bacteria is largely related to their properties being very useful for agriculture. Recent studies are based on advanced molecular methods and genomic sequence of the two species: *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter chroococcum*. In 2009, Setubal et al. published the complete genome sequence of *Azotobacter vinelandii* DJ, while the full sequence of *Azotobacter chroococcum* 8003 genome was published by Robson et al. in publication from 2015. Both bacteria have a single, circular chromosome of 5,355,318 bp and 5,192,291 bp respectively. Understanding and comparing the genome sequence of *Azotobacter vinelandii* DJ and *Azotobacter chroococcum* 8003 answered many questions about the evolution, diversity and location of these bacteria in the environment. The sequencing of a larger number of genomes of other *A. chroococcum* and *A. vinelandii* strains would bring many benefits and would help to organize the existing knowledge about them.

1. Introduction. 2. Taxonomic position of *Azotobacter* spp. 2.1. The close relationship of bacteria of the genera *Azotobacter* and *Pseudomonas*. 2.2. Molecular methods for comparison and grouping of bacteria in the genus/species *Azotobacter*. 3. Genomic analysis of representatives of *Azotobacter* spp. – *Azotobacter vinelandii* DJ and *Azotobacter chroococcum* 8003 strains. 3.1. Comparison of genomes of *Azotobacter vinelandii* DJ and *Azotobacter chroococcum* 8003 strains. 3.2. Mobile genetic elements of *Azotobacter vinelandii* DJ and *Azotobacter chroococcum* 8003 strains. 3.3. Characteristics of selected genes of *Azotobacter vinelandii* DJ and *Azotobacter chroococcum* 8003 strains. 4. Summary

Słowa kluczowe: *Azotobacter* spp., taksonomia, identyfikacja genetyczna, sekwencja genomu

Keywords: *Azotobacter* spp., taxonomy, genetic identification, genome sequence

1. Wstęp

Azotobacter spp. to wolno-żyjące, ściśle aerobowe, heterotroficzne bakterie Gram-ujemne. Należą one do rodziny *Pseudomonadaceae*, zaliczanej do klasy γ -Proteobacteria. W 1901 roku Martinus Beijerinck wyizolował, oznaczył i opisał pierwszy gatunek należący do tego rodzaju taksonomicznego – *Azotobacter chroococcum* [82]. Obecnie rodzaj ten grupuje łącznie

osiem gatunków. Thompson i Skerman [84] przeprowadzili pierwsze szczegółowe badania taksonomiczne i ekologiczne *Azotobacter* spp., obejmujące również analizę wielu właściwości morfologicznych, fizjologicznych i biochemicznych tych bakterii. *Azotobacter* spp. charakteryzuje wiele ciekawych cech, takich jak zdolność do wiązania azotu atmosferycznego [56], wytwarzanie odpornych na wysychanie cyst [82], produkcja licznych związków stymulujących wzrost i rozwój roślin

* Autor korespondencyjny: mgr Monika Kozieł, Zakład Mikrobiologii Rolniczej, Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa, Państwowy Instytut Badawczy, ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy; tel. 81 478 69 52; e-mail: mmaczka@iung.pulawy.pl

(np. auksyn, cytokin, giberelin, witamin, czy sideroforów) [1, 3, 5, 23, 47, 70], a także produkcja polihydroksymaślanu [22, 57, 61, 71, 79] i zewnątrzkomórkowych polisacharydów (tj. alginianów, celulozy).

Bakterie *Azotobacter* sp. były wielokrotnie wykorzystywane jako organizmy modelowe w badaniach niektórych podstawowych procesów życiowych, np. procesów wykorzystywania różnych źródeł węgla i energii (węglowodany, kwasy organiczne, alkohole), procesów oddychania komórkowego (cykl kwasów trikarboksylowych, łańcuch transportu elektronów), biosyntezy nitrogeazy i regulacji wiązania azotu atmosferycznego, procesów wytwarzania cyst, produkcji pigmentów czy zdolności poruszania się [53, 68]. Badania prowadzone z udziałem *Azotobacter vinelandii* i *A. chroococcum* pozwoliły na lepsze zrozumienie fizjologicznych, biochemicznych i genetycznych podstaw wiązania N₂ i metabolizmu H₂ [8, 32, 34].

Przedstawiciele *Azotobacter* spp. zasiedlają wiele środowisk, takich jak: gleba, woda, osady ściekowe, ryzosfera i fytosfera roślin. Bakterie te występują w różnych strefach klimatycznych, liczne szczepy izolowane są nawet z rejonów tropikalnych i polarnych [4, 6, 18, 27]. Preferują one gleby o odczynie neutralnym i lekko zasadowym, natomiast rzadko występują w glebach kwaśnych o pH poniżej 6 [49, 51]. Zaobserwowano, że występowanie i liczebność populacji tej grupy bakterii jest często skorelowana z innymi czynnikami środowiskowymi, tj. właściwościami gleby (np. zawartością materii organicznej, wilgotnością, żyznością, stosunkiem C/N, pH) i warunkami klimatycznymi [83].

Zainteresowanie badaczy od dawna budzi ekologiczna rola *Azotobacter* spp. oraz możliwość praktycznego wykorzystania tych bakterii w wytwarzaniu biopreparatów stosowanych jako nawozy. Wyniki badań potwierdzają, że inokulacja nasion bakteriami *Azotobacter* spp. zwiększa wydajność plonowania roślin uprawnych, w tym: kukurydzy [25], pszenicy [9, 38] i ryżu [33]. Prowadzone są również badania molekularne *Azotobacter* spp., w których planowaniu pomocne są poznane sekwencje genomów szczepów *A. vinelandii* i *A. chroococcum* [68, 73]. Aspekty związane z genomiką bakterii z rodzaju *Azotobacter* zostały dość szczegółowo opisane w literaturze [35, 64, 68, 73, 74].

Niniejsza praca systematyzuje aktualne doniesienia z zakresu taksonomii i genomiki *Azotobacter* spp., a także przedstawia, w syntetycznej formie, aktualny stan wiedzy w tym zakresie.

2. Pozycja taksonomiczna *Azotobacter* spp.

Rodzaj *Azotobacter* pierwotnie zaliczono do rodziny *Azotobacteraceae* [76], jednak po przeprowadzeniu szczegółowych analiz filogenetycznych został on prze-

klasyfikowany do rodziny *Pseudomonadaceae* [36]. W obrębie rodzaju *Azotobacter* wyróżniono 8 gatunków i 4 podgatunki:

- *Azotobacter armeniacus* [84],
- *Azotobacter beijerinckii* [44],
- *Azotobacter bryophylli* [45],
- *Azotobacter chroococcum* [10] (subsp. *chroococcum* [29] i subsp. *isscasi* [29]),
- *Azotobacter nigricans* [39] (subsp. *achromogenes* [84] i subsp. *nigricans* [24]),
- *Azotobacter paspali* [17],
- *Azotobacter salinestrus* [56],
- *Azotobacter vinelandii* [43].

Śród wyżej wymienionych gatunków, *Azotobacter chroococcum* jest najbardziej rozpowszechniony w glebach całego świata i dominuje on również w glebach Polski [19, 41, 48]. Kolonie tych bakterii mają nieregularny kształt, wzniesienie wypukłe, są śluzowate, dość duże, a po kilkudniowej hodowli na podłożu stałym zmieniają barwę na ciemną, co związane jest z produkcją ciemnobrunatnego pigmentu melaninowego. Komórki bakterii *A. chroococcum* są ruchliwe dzięki obecności peritrichalnych rzęsek [3, 82]. Innymi gatunkami bakterii rodzaju *Azotobacter* występującymi tylko w glebach są *Azotobacter beijerinckii*, *A. nigricans* oraz *A. salinestrus*, z czego dwa pierwsze są nieruchliwe. Komórki *Azotobacter beijerinckii* tworzą gładkie kolonie, większe od kolonii *A. chroococcum*, Ponadto, wytwarzają nieprzenikający do podłoża pigment o barwie od żółtej do jasnobrązowej [82]. *Azotobacter nigricans* również tworzy gładkie kolonie i wytwarza pigment o barwie od brązowo-czarnej do czerwono-fioletowej [82]. Z kolei gatunek *A. salinestrus* wytwarza ciemnobrunatny pigment niedyfundujący do podłoża [56]. Bakterie tego gatunku rosną w postaci dużych, owalnych kolonii o nieregularnych brzegach. Poruszają się za pomocą peritrichalnie ułożonych rzęsek. Podczas aktywnego wzrostu komórki mogą występować w parach, czasami tworzą różnej długości łańcuchy. Gatunek ten wyizolowany został z lekko kwaśnych gleb zachodniej Kanady.

Bakterie klasyfikowane w obrębie rodzaju *Azotobacter* spotykane są również w wodach. Gatunkami występującymi zarówno w glebie, jak i w wodzie są *A. armeniacus* i *A. vinelandii*. Oba gatunki poruszają się za pomocą peritrichalnie ułożonych rzęsek. *A. armeniacus* rośnie w postaci dużych, gładkich, wypukłych, błyszczących i śluzowatych kolonii. Gatunek ten wytwarza brązowo-czarny barwnik niedyfundujący do podłoża [3, 82]. Z kolei kolonie wytwarzane przez *A. vinelandii* są okrągłe, słabo śluzowate, mniejsze w porównaniu z komórkami *A. chroococcum*. Gatunek ten wytwarza żółto-zielony fluoryzujący pigment dyfundujący do podłoża [3, 82].

Nietypowym środowiskiem występowania bakterii *Azotobacter* jest ryzosfera trawy gatunku *Paspalum*

notatum [3, 82]. Występuje tam gatunek *Azotobacter paspali* poruszający się za pomocą peritrichalnych rzęsek. Na podłożach stałych tworzy kolonie szorstkie, matowe z pofalowanymi brzegami. Bakterie należące do tego gatunku są zdolne do produkcji brązowo-czarnego pigmentu i występują jedynie w ryzosferze trawy

Najpóźniej poznany gatunek rodzaju *Azotobacter* to *A. bryophylli*, który został opisany przez Liu i wsp. w 2019 roku [45]. Szczep typowy dla tego gatunku to *A. bryophylli* L461^T, wyizolowano w Chinach z liści rośliny żyworódki pierzastej (*Bryophyllum pinnatum*). W przeciwieństwie do większości przedstawicieli rodzaju *Azotobacter*, *A. bryophylli* L461^T nie produkuje żadnego pigmentu. Szczep ten wykorzystuje jako źródło węgla i energii m.in.: L-arabinozę, ester metylowy kwasu pirogronowego, kwas α -ketoglutarynowy, mleczan, kwas bursztynowy i kwas bromobursztynowy, a ponadto wykazuje oporność na spektynomycynę, streptomycynę, chloramfenikol, tetracyklinę, cefotaksym i karbenicylinę. Zawartość par zasad G+C w sekwencji nukleotydowej genomu szczepu L461^T wynosi 64,9 mol%, co mieści się w zakresie charakterystycznym dla rodzaju *Azotobacter* (63–67,5 mol%) [84].

Ostatnie lata pokazują, iż bakterie *Azotobacter* spp. są nadal ważnym przedmiotem wieloaspektowych badań, a charakterystyka nowo wyizolowanego gatunku, *A. bryophylli* poszerza wiedzę na temat tych bakterii.

2.1. Bliskie pokrewieństwo bakterii z rodzajów *Azotobacter* i *Pseudomonas*

Bakterie z rodzajów *Azotobacter* i *Pseudomonas* charakteryzuje duża plastyczność struktury genomów oraz zdolność adaptacji do różnych warunków bytowania. Bakterie te nie tylko zasiedlają podobne środowiska, lecz również mają wiele wspólnych cech, czego przykładem jest zdolność do wiązania azotu atmosferycznego i produkcji alginianu [12, 88]. Pierwotnie uważano, że bakterie należące do rodzaju *Pseudomonas* nie wiążą azotu [58], jednak w toku badań wykazano, że niektóre szczepy mają tę zdolność, a geny odpowiedzialne za ten proces są bardzo podobne do genów występujących u *A. vinelandii* [88, 90]. Alginiany wytwarzane są zarówno przez bakterie *Azotobacter* spp., jak i przez kilka gatunków z rodzaju *Pseudomonas*, a przykład stanowi *Pseudomonas aeruginosa*, u którego alginiany są produktem ubocznym metabolizmu i odkładane są w płucach ludzi chorych na mukowiscydozę [26]. Do cech odróżniających te dwa rodzaje można zaliczyć morfologię i ruchliwość komórek [58]. Pewne różnice w fenotypach tych bakterii wynikają prawdopodobnie ze specyficznych właściwości adaptacyjnych, na co wskazuje obecność w genomach pokrewnych zestawów genów metabolizmu podstawowego oraz genów kon-

Tabela I
Cechy charakterystyczne dla genomów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Pseudomonas stutzeri* A1501

Cecha charakterystyczna	<i>Azotobacter vinelandii</i> DJ	<i>Pseudomonas stutzeri</i> A1501
Wielkość genomu (pz)	5 365 318	4 567 418
%GC	65,7	63,9
Całkowita liczba genów kodujących białka	5 051	4 128
Liczba operonów rRNA	6	4
tRNA	64	61
16S rRNA	6	4

Na podstawie [57, 77, 78].

serwatywnych, zachowanych w obu grupach bakterii w toku ewolucji [90].

Liczne badania, oparte m.in. na analizach sekwencji genów metabolizmu podstawowego i genu 16S rRNA bakterii potwierdzają bliskie pokrewieństwo rodzajów *Azotobacter* i *Pseudomonas*. Rediers i wsp. [64] badali zależności filogenetyczne pomiędzy *A. vinelandii* a bakteriami z rodzaju *Pseudomonas*, opierając się na wynikach sekwencjonowania fragmentu genu 16S rRNA tych bakterii. Na podstawie uzyskanych danych stwierdzono, że szczep *A. vinelandii* OP należy do tej samej grupy genetycznej co *Pseudomonas aeruginosa* PAO1, a poziom identyczności sekwencji badanego fragmentu genu 16S rRNA obu szczepów wynosił 96%. Anzai i wsp. [2] na podstawie wyników uzyskanych z podobnych analiz również odnotowali bliskie pokrewieństwo bakterii *Azotobacter* spp. i *Pseudomonas* spp. Young i Park [90] analizując sekwencje genów 16S rRNA tych bakterii zauważyli, że badane gatunki *Azotobacter* (*A. beijerinckii*, *A. chroococcum*, *A. paspali* i *A. vinelandii*) są najbliższymi spokrewnionymi z *P. aeruginosa* i *P. resinovorana*. Co więcej, analiza sekwencji genów *atpD*, *carA* i *recA* wykazała, że szczepy należące do rodzaju *Azotobacter* stanowią pojedynczą, niejednorodną grupę na drzewie filogenetycznym, bardzo blisko spokrewnioną z ww. gatunkami. Do podobnych wniosków doszli Özen i Ussery [55], którzy przeprowadzili szczegółowe analizy porównawcze stopnia genetycznego podobieństwa pomiędzy *A. vinelandii*, a szczepami bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Wyniki tych analiz potwierdziły, że wysoki poziom podobieństwa pomiędzy szczepami może świadczyć o przynależności tego gatunku do rodzaju *Pseudomonas*. Setubal i wsp. [73] opierając się na wynikach analiz filogenetycznych i poznanej sekwencji genomu *A. vinelandii* DJ wykazali, że gatunek ten jest najbliższymi spokrewnionymi z bakteriami z rodziny *Pseudomonadaceae*, a najbliższym krewnym okazał się gatunek wiążący azot atmosferyczny – *Pseudomonas stutzeri* A1501. W 2015 roku Setubal i Almeida [74], wykorzystując zdeponowane w bazie GenBank sekwencje

genomowe wybranych szczepów bakterii z rodzaju *Azotobacter* i *Pseudomonas*, uzyskali drzewa filogenetyczne obrazujące genetyczne podobieństwo pomiędzy badanymi szczepami. Analiza uzyskanych dendrogramów wyraźnie pokazała, że bakterie z rodzaju *Azotobacter* tworzą odrębną grupę genetyczną. Bliskie pokrewieństwo bakterii należących do rodzajów *Azotobacter* oraz *Pseudomonas* potwierdziła również niedawno wykonana analiza porównawcza sekwencji genu 16S rRNA szczepu *Azotobacter bryophylli* L461^T. Wykazano jej najwyższe podobieństwo (97,82%) do homologicznej sekwencji *A. beijerinckii* JCM 20725^T, a także *A. chroococcum* ATCC 9043^T (97,34%), *Pseudomonas guguanaensis* CC-G9A^T (96,84%), *Pseudomonas panipatensis* Esp-1^T (96,77%), *A. paspali* ATCC 23833^T (96,16%) i *A. nigricans* subsp. *nigricans* IAM 15005^T (95,98%). Wyniki przeprowadzonych analiz wskazują, że szczep *A. bryophylli* L461^T usytuowany jest na oddzielnej gałęzi drzewa filogenetycznego rodzaju *Azotobacter*, w bliskim sąsiedztwie *A. beijerinckii* JCM 20725^T i *A. chroococcum* ATCC 9043^T [45]. Wyniki te wskazują także na bliskie pokrewieństwo bakterii z rodzajów *Azotobacter* i *Pseudomonas*, które klasyfikowane są wspólnie w rodzinie *Pseudomonadaceae*.

2.2. Metody molekularne porównywania i grupowania bakterii w obrębie rodzaju/gatunków *Azotobacter*

Szybki rozwój metod biologii molekularnej przyczynił się do usprawnienia procesu identyfikacji mikroorganizmów, w tym także bakterii z rodzaju *Azotobacter*. Autorzy publikacji naukowych, wykorzystując różne metody molekularne, podejmują próby identyfikacji i oceny zróżnicowania genetycznego szczepów bakterii *Azotobacter* spp. izolowanych z próbek środowiskowych.

W roku 2012 Lenart [41] zbadała zróżnicowanie genetyczne 43 szczepów bakterii, wstępnie zaklasyfikowanych do gatunku *Azotobacter chroococcum*, wyizolowanych ze 100 próbek glebowych pobranych na terenie województwa małopolskiego i śląskiego. W celu potwierdzenia pozycji taksonomicznej tych izolatów przeprowadzono analizę restrykcyjną bakteryjnego regionu ITS (internal transcribed spacer) położonego między genami 16S i 23S rRNA. Wykorzystano technikę ITS-RFLP (ITS Restriction Fragment Length Polymorphism). Analiza restrykcyjna amplifikowanych fragmentów 16S-23S rDNA badanych szczepów nie wykazała jednak zróżnicowania izolatów, zatem, wykorzystano dwie inne metody genetycznego odcisku palca (fingerprinting) – PCR MP (PCR Melting Profile) i RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Metody te bardzo często stosowane są w ocenie zmienności mikroorganizmów, a do ich zalet można zaliczyć: wysoką siłę dyskryminacji, powtarzalność i łatwość interpretacji

wyników. Wyniki uzyskane tymi metodami okazały się porównywalne i wykazały wysoki stopień zróżnicowania bakterii *A. chroococcum*. Porównując technikę ITS-RFLP z metodami typowania genetycznego – MP PCR oraz RAPD stwierdzono, że dwie ostatnie metody są bardziej użyteczne w przypadku różnicowania wewnątrzgatunkowego *A. chroococcum*, natomiast pierwsza z wymienionych może być stosowana do szybkiej identyfikacji tych bakterii na poziomie gatunku.

W 2014 roku Lenart-Boroń i wsp. [42] określili przynależność gatunkową szczepów *Azotobacter* spp. wyizolowanych z gleb przemysłowych i rolniczych pobranych z terenów Nowej Huty w Krakowie. Identyfikacja taksonomiczna izolatów wykazała obecność w pobranych próbkach glebowych trzech gatunków – *A. chroococcum*, *A. salinestrus* i *A. vinelandii*. Różnorodność bakterii należących do wyżej wymienionych gatunków określono przy użyciu metod – RAPD i Rep-PCR (BOX). Przeprowadzone badania wykazały wysokie zróżnicowanie wewnątrzgatunkowe bakterii. Metodę RAPD wykorzystali również w swoich badaniach Marwa i wsp. [50], w celu oceny stopnia zróżnicowania szczepów *A. chroococcum* wyizolowanych w Egipcie. Zastosowanie tej metody pozwoliło na określenie stopnia genetycznego podobieństwa pomiędzy wyizolowanymi szczepami *A. chroococcum*, a także szczepem referencyjnym użytym w doświadczeniu. Z kolei metodę Rep-PCR wykorzystali Rubio i wsp. [69]. Potwierdzili, iż Rep-PCR jest odpowiednią metodą do klasyfikacji taksonomicznej izolatów *Azotobacter* spp. i oceny różnorodności genetycznej pomiędzy gatunkami *A. chroococcum*, *A. salinestrus* i *A. armeniacus*.

Kolejną metodą służącą do określenia zróżnicowania szczepów *Azotobacter* spp. jest technika ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) zastosowana w 2014 roku przez Mazinani i Asgharzadeh [51]. Materiałem do badań była gleba ryzosferowa pobrana na terenach środkowego Iranu. Na podstawie uzyskanych wyników, naukowcy stwierdzili, że metoda ARDRA, charakteryzująca się odpowiednio wysoką siłą dyskryminacji, jest użyteczna do identyfikacji bakterii z rodzaju *Azotobacter*, a także do oceny poziomu podobieństwa pomiędzy wyodrębnionymi grupami genetycznymi. Wykorzystując tę metodę również Aquilanti i wsp. [3] określili przynależność gatunkową 196 szczepów bakterii wyizolowanych z 35 próbek glebowych pobranych we Włoszech. Zastosowanie dwóch enzymów restrykcyjnych, RsaI i HhaI, pozwoliło na wyraźne zróżnicowanie wszystkich badanych szczepów bakterii na podstawie porównania profili genetycznych charakterystycznych dla poszczególnych gatunków. Otrzymane wyniki pozwoliły stwierdzić, że wśród wyizolowanych bakterii przeważał gatunek *A. chroococcum*. Tę samą metodę zastosowali ponownie Aquilanti i wsp. [4] do oceny zmienności 76 szczepów środowiskowych. W obrębie

analizowanych bakterii znalazło się 28 szczepów referencyjnych z rodzajów: *Azotobacter*, *Azomonas*, *Azospirillum*, *Beijerinckia*, *Agrobacterium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium* i *Pseudomonas*, a także 48 izolatów pozyskanych z gleb środkowych Włoch. Analizując dendrogram wykreślony na podstawie wyników uzyskanych z wykorzystaniem metody ARDRA, naukowcy zaobserwowali wyraźne podobieństwo między rodzajami: *Azotobacter*, *Azomonas*, *Azospirillum* i *Beijerinckia*. Gatunkami najbardziej podobnymi w obrębie rodzaju *Azotobacter* okazały się: *A. vinelandii* i *A. paspali*. Jiménez i wsp. [28] również wykorzystali technikę ARDRA do identyfikacji i oceny zróżnicowania genetycznego szczepów bakterii należących do rodzaju *Azotobacter* wyizolowanych z gleb spod upraw warzyw w Kolumbii.

W roku 2020 ukazała się praca Khosravi i Dolatabad [37], w której porównano kilka metod molekularnych oznaczania różnorodności bakterii. Analizie poddano 12 izolatów *Azotobacter* spp. zaliczonych na podstawie cech morfologicznych i fizjologicznych, do gatunku *A. chroococcum*. Badania wykonano z użyciem technik: Rep-PCR, ERIC-PCR, BOX-PCR, a także ARDRA, z zastosowaniem 3 enzymów restrykcyjnych HpaII, RsaI i AluI. Na podstawie przeprowadzonych analiz stwierdzono, że tylko 4 z 12 izolatów należą do gatunku *A. chroococcum*, a pozostałe zidentyfikowano jako *A. salinestris*. Wykazano, że trawienie regionu 16S rDNA enzymem restrykcyjnym HpaII pozwala na rozróżnienie tych gatunków. Ponadto metody Rep-PCR i BOX-PCR skutecznie różniły *A. chroococcum* i *A. salinestris*. Markery BOX i REP pozwoliły także zróżnicować izolaty należące do tego samego gatunku, dlatego zalecane są do określania zmienności wewnątrzgatunkowej *A. chroococcum* i *A. salinestris*.

Jeszcze jedną, często stosowaną metodą służącą do identyfikacji i sprawdzania stopnia genetycznego podobieństwa między szczepami *Azotobacter* spp., jest sekwencjonowanie genu 16S rRNA. Obele i wsp. [54] wyizolowali i zidentyfikowali przy użyciu standardowych metod mikrobiologicznych 8 szczepów z rodzaju *Azotobacter*. Analiza sekwencji genu 16S rRNA jednego z nich wykazała 96% stopień podobieństwa genetycznego w stosunku do szczepu referencyjnego *A. chroococcum* zdeponowanego w bazie RDP Gen Bank. Z kolei, Liu i wsp. [45] bazując na wynikach sekwencjonowania genów 16S rRNA znanych gatunków bakterii należących do rodzaju *Azotobacter* i *Pseudomonas* określili poziom podobieństwa genetycznego pomiędzy tymi bakteriami, a nowo wyizolowanym gatunkiem *A. bryophylli*.

Dynamiczny rozwój technik biologii molekularnej przyczynia się do ciągłego rozwoju i udoskonalania metod typowania molekularnego. Wśród opisywanych w literaturze metod różnicowania bakterii *Azotobacter* spp. trudno jest znaleźć metodę idealną. Z badań wynika, że najlepsze rezultaty można otrzymać sto-

sując jednocześnie dwie lub trzy metody molekularnego odcisku palca. Do najważniejszych parametrów, którymi powinny charakteryzować się metody genotypowania należą: duża moc dyskryminacyjna, jednoznaczność otrzymanych wyników, prostota wykonania, szybkość wykonania oraz powtarzalność wyników [40].

3. Analizy genomiczne przedstawicieli *Azotobacter* spp. – szczepów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003

Pełną sekwencję genomu bakterii należących do rodzaju *Azotobacter* poznano jedynie dla dwóch gatunków – *A. chroococcum*, szczep NCIMB 8003 i *A. vinelandii*, szczep DJ. Dokładne poznanie i porównanie sekwencji genomów tych szczepów dostarczyło wielu ciekawych informacji na temat ewolucji i zróżnicowania tej grupy bakterii.

3.1. Porównanie genomów szczepów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003

Gatunek *A. vinelandii* od wielu lat jest przedmiotem badań i można go uznać za modelowy mikroorganizm w badaniach nad biochemią wiązania N₂, strukturą przestrzenną i funkcjonowaniem nitrogenazy oraz genetyczną regulacją biologicznego wiązania azotu atmosferycznego [53, 59]. Aktualnie prowadzone badania bazujące na metodach molekularnych opierają się na poznanej w roku 2009 pełnej sekwencji genomu *A. vinelandii* DJ [73, 74]. Szczep ten ma pojedynczy, kolisty chromosom o wielkości 5 365 318 pz. Chromosom *A. vinelandii* DJ zawiera 6 kompletnych operonów rRNA, a także 64 genów tRNA. Zawartość par zasad G+C w sekwencji nukleotydowej chromosomu wynosi 65,7%. Badania genomu *A. vinelandii* DJ pozwoliły jak dotąd zidentyfikować 5051 genów kodujących białka spośród których 46% wykazuje podobieństwo do genów *Pseudomonas stutzeri* A1501 [73, 74].

Z kolei przedstawiciel gatunku *Azotobacter chroococcum*, szczep *A. chroococcum* NCIMB 8003, został wyizolowany w USA w 1934 roku [77]. Pierwsze badania, w których wykorzystano ten szczep, dotyczyły zapotrzebowania bakterii z rodzaju *Azotobacter* na pierwiastki śladowe [78]. Szczep ten został szczegółowo opisany przez Thomsona i Skermana [84] i jest prawdopodobnie najlepiej dotąd scharakteryzowanym szczepem gatunku *A. chroococcum*. Wykorzystany został w badaniach nad budową i funkcjonowaniem nitrogenazy zawierającej jako kofaktor molibden [30, 31, 89] i wanad [66, 67], poznaniem fizjologicznych mechanizmów chroniących nitrogenazę przed szkodliwym wpływem O₂ *in vivo* [14, 15, 20, 62, 65], syntezą poli-β-hydroksymaślanu [80] oraz syntezą alginanu

Tabela II
Porównanie genomów *Azotobacter chroococcum* 8003 i *Azotobacter vinelandii* DJ

Szczep <i>Azotobacter</i>	Wielkość (pz)	GC %	Geny kodujące białka	Geny kodujące rRNA	Geny kodujące tRNA	Non-coding RNA	Pseudo-geny	Total functional Genes
Ac-8003								
Chromosom	4 591 803	66,3	3 959	18	66	44	72	4 087
Plazmid pAcX50f	311 724	62,7	292	0	0	4	13	296
Plazmid pAcX50e	132 372	61,9	111	0	0	4	10	115
Plazmid pAcX50d	69 317	59,2	55	0	0	3	7	58
Plazmid pAcX50c	62 783	56,7	49	0	0	1	2	50
Plazmid pAcX50b	13 852	55,3	10	0	0	2	0	12
Plazmid pAcX50a	10 435	58,1	9	0	0	1	0	10
Ac-8003 (całkowity genom)	5 192 291	65,7	4 485	18	66	59	104	4 628
Av-DJ								
Chromosom	5 365 318	65,7	4 660	18	64	47	64	4 789

Na podstawie [72].

[60]. W 2015 roku Robson i wsp. [68] opublikowali pełną sekwencję genomu *A. chroococcum* NCIMB 8003 (ATTC 4412). Genom tej bakterii składa się z 7 kolistych replikonów o sumarycznej wielkości 5 192 291 pz obejmujących: kolisty chromosom (4 591 803 pz) oraz sześć plazmidów oznaczonych symbolami pAcX50 a-f o wielkości w zakresie od 10 kb do 311,7 kb. Chromosom *A. chroococcum* NCIMB 8003 zawiera 6 kompletnych operonów rRNA, podobnie jak chromosom *A. vinelandii* DJ, a także 66 genów tRNA, zatem o dwa więcej niż omawiany szczep *A. vinelandii* (jeden z tych genów znajduje się w obrębie profaga). Zawartość par zasad G+C w sekwencji nukleotydowej chromosomu wynosi 66,27%, natomiast w przypadku plazmidów zawiera się w zakresie od 58,12% do 62,67%. Wyróżniono 4 628 genów kodujących białka spośród których 568 (12,2%) to geny plazmidowe. Około 65% genomu (3 048 genów kodujących białka) wykazuje wysoki stopień identyczności sekwencji (85%) z sekwencją genów *A. vinelandii* DJ, a około 23% genomu (1 071 genów kodujących białka) wykazuje podobieństwa z genami różnych gatunków z rodzaju *Pseudomonas*, 43 geny z gatunkami z rodzaju *Burkholderia* i mniejsza liczba genów z przedstawicielami rodzajów: *Halomonas*, *Escherichia*, *Azoarcus*, *Singulospharea*, *Aromatoleum*, *Ralstonia*, *Cuprividus*, *Polaromas* i *Acidovorax* [68].

W wyniku analizy porównawczej dwóch dostępnych sekwencji genomowych stwierdzono, że genom rdzeniowy, wspólny dla obu *Azotobacter* spp., obejmuje około 3000 genów. W genomie *A. vinelandii* DJ znajduje się około 2000 genów unikatowych dla tego szczepu, które nie występują w NCIMB 8003, a w genomie *A. chroococcum* NCIMB 8003 takich specyficznych dla szczepu genów jest nieco mniej – 1700. Genom rdzeniowy obejmuje geny niezbędne dla przebiegu

wielu szlaków metabolicznych, zawiera również geny odpowiadające za charakterystyczne cechy fenotypowe *Azotobacter* spp., np. determinujące zakres wykorzystanych przez te bakterie źródeł węgla i energii, a także wysoce konserwatywne i dobrze przebadane grupy genów *nif* i *vnf* kodujące nitrogenazę, odpowiednio, typu I i II. Geny te usytuowane są w kilku regionach genomów tych bakterii. *A. vinelandii* posiada również geny *anf*, specyficzne dla nitrogenazy III, zawierającej jako kofaktor tylko jony żelaza [68].

3.2. Ruchome elementy genetyczne szczepów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003

Szczep *Azotobacter vinelandii* DJ nie zawiera plazmidów. Nie należy jednak wykluczyć, iż gatunek pozbawiony jest całkowicie plazmidom, ponieważ w roku 1988 badacze Maia i wsp. [46] z wykorzystaniem 32 szczepów *A. vinelandii* wykazali, że w 6 z nich występowały plazmidy, o wielkości w zakresie od 13 kb do 78 kb. Z kolei, w genomie *A. chroococcum* NCIMB 8003 występuje duża liczba różnorodnych plazmidów oraz elementów transpozycyjnych – sekwencji inercyjnych (IS) i transpozonów (Tn). Badając fragmenty IS w ponad 100 genomach bakteryjnych Touchon i Rocha [87] doszli do wniosku, że wielkość genomu i warunki środowiskowe, były głównymi czynnikami, które pozytywnie korelowały z liczbą IS w genomach bakteryjnych. Potwierdziło to fakt, że rodziny IS nie są na ogół specyficzne dla danego taksonu bakterii i są często nabywane oraz tracone w toku ewolucji. Elementy te mogą odgrywać istotną rolę w determinowaniu zmienności i ewolucji genomu poprzez promowanie rearanżacji i mutacji, np. typu delecji i duplikacji [75]. Inne

badania wykazały, iż w obrębie ruchomych elementów genetycznych *Azotobacter* mogą występować takie, których aktywność prowadzi do powstania białek lub związków, wydalanych przez bakterie do środowiska. Może to mieć korzystny lub szkodliwy wpływ na inne współwystępujące organizmy [63]. Na przykład występowanie na plazmidzie pAcX50f szczepu NCIMB 8003 genów kompletnego szlaku syntezy pierścienia korynowego może być korzystne nie tylko dla komórek gospodarza, lecz także, dla organizmów, które muszą pozyskiwać witaminę B12 ze środowiska. El-Essawy i wsp. [21] opisali naturalny szczep *A. chroococcum* nadprodukcujący witaminę B12. Warto również zauważyć, że obecność zależnej od witaminy B12 reduktazy rybonukleotydowej, zarówno w genomie *A. chroococcum* NCIMB 8003, jak i *A. vinelandii* DJ, a także w genomach 3 z 8 gatunków bakterii z rodzaju *Pseudomonas* [91], mogłoby umożliwić syntezę deoksyrybonukleotydów, zwłaszcza w warunkach tlenowych [86], co dodatkowo potwierdza, że bakterie należące do rodzaju *Azotobacter* są typowymi aerobami [73].

Analiza plazmidomu szczepu *A. chroococcum* NCIMB 8003 wykazała, że w większości przypadków geny plazmidowe kodują białka podobne do tych, spotykanych u bakterii z rodzaju *Pseudomonas*. Jedynie plazmid pAcX50c wykazał cechy charakterystyczne dla plazmidów spotykanych u bakterii *Burkholderia*. Wielkości plazmidów wahają się od największego pAcX50f, 311 724 pz, zawierającego 292 geny kodujące białka, do najmniejszego pAcX50a, 10 435 pz, na którym zlokalizowano 9 genów kodujących białka.

3.3. Charakterystyka wybranych genów szczepów *Azotobacter vinelandii* DJ i *Azotobacter chroococcum* 8003

Najszerzej scharakteryzowaną grupą genów występujących u przedstawicieli rodzaju *Azotobacter* są geny związane z mechanizmem wiązania azotu atmosferycznego [13, 16, 52, 68, 85]. Enzymem mającym decydujące znaczenie w tym procesie jest nitrogenaza. *A. vinelandii* może wytwarzać aż trzy rodzaje nitrogenazy, w zależności od warunków środowiskowych:

- nitrogenazę I (geny *nifD*, *nifK*, *nifH*), zawierającą koenzym Fe-Mo-Co (jest wytwarzana, gdy w środowisku występują jony molibdenu),
- nitrogenazę II (geny *vnfD*, *vnfK*, *vnfH*), zawierającą jako kofaktor Fe-V-Co (powstaje w warunkach deficytu molibdenu, gdzie pierwiastek ten zastępowany jest cząsteczką wanadu),
- nitrogenazę III (geny *anfD*, *anfK*, *anfH*), w której kofaktorem jest jedynie jony żelaza [7].

W wyniku porównania pełnej sekwencji genomów szczepów *A. chroococcum* NCIMB 8003 i *A. vinelandii* DJ stwierdzono, iż geny *anf* są specyficzne jedynie dla

szczepu DJ. Z kolei geny *nif* *A. chroococcum* 8003 wykazują wysoki stopień identyczności sekwencji z sekwencją genów *A. vinelandii* DJ, a jedną z różnic jest obecność w genomie szczepu 8003 genu kodującego ferrodoksynę 4Fe-4S. Poza strukturalnymi genami kodującymi reduktazę dinitrogenazy (*nifH*) i dinitrogenazę (*nifD*, *nifK*), do istotnych genów *nif* należą geny regulatorowe *nifL* i *nifA* oraz geny biorące udział w transporcie molibdenu i biosyntezie kofaktora nitrogenazy (*nifB*, *nifQ*) [68]. Wśród genów związanych z aktywnością nitrogenazy znalazły się również geny *alg* kodujące alginiany. Alginiany odgrywają istotną rolę w ochronie nitrogenazy przed szkodliwym wpływem tlenu oraz w procesie tworzenia cyst [11, 71, 72]. W genomach obu szczepów potwierdzono obecność 12 genów *alg* uczestniczących w syntezie alginianu, liniowego kopolimeru kwasu β -D-mannuronowego i kwasu α -L-guluronowego. W przypadku *A. vinelandii* DJ, siedem spośród tych genów koduje epimerazy mannuronanowe C-5 (*algE1*, *algE2*, *algE3*, *algE4*, *algE5*, *algE6* i *algE7*), które modyfikują polimer poza komórkami bakterii. Z kolei pięć innych genów koduje regulatory syntezy alginianu (*algR*, *algB*, *algP*, *algQ* i *amrZ*). W genomie *A. chroococcum* NCIMB 8003 wykryto jedynie cztery geny *algE* (*algE1*, *algE2*, *algE3* i *algE4*). Do innych regulatorów syntezy alginianu należą: operon *algU-mucABCD*, geny proteazy *algW*, *mucP* i *prc* oraz gen cykazy diguanylanowej *mucR* [73]. Geny *mucABCD* są takie same u obu szczepów, natomiast w genie *algU* *A. vinelandii* DJ wykryto sekwencję insercyjną o długości około 1 kb zlokalizowaną blisko regionu kodującego N-terminalny region białka [68].

Inną ważną grupą genów występujących u omawianych szczepów bakterii, są geny zaangażowane w produkcję sideroforów biorących udział w wychwytywaniu żelaza. Pozyskiwanie Fe ze środowiska jest ważnym czynnikiem wpływającym na wzrost i rozwój drobnoustrojów, w tym także tych z rodzaju *Azotobacter* [52]. *A. vinelandii* w warunkach niedoboru żelaza w środowisku wydziela żółtozielone fluorescencyjne siderofory (azotobaktynę), należące do rodziny piowerdyn [16]. Szczepy *A. vinelandii* DJ są również znane z produkcji różnych sideroforów katecholowych [13, 85]. Z kolei w genomie *A. chroococcum* NCIMB 8003 nie wykryto genów odpowiadających genom *ent* *A. vinelandii* DJ, co świadczy o tym, że szczep ten nie wytwarza sideroforu typu katecholowego. Warto jednak zauważyć, że w genomach obu szczepów obecny jest wysoce konserwatywny zespół pięciu genów, wykazujących wysoki stopień homologii do genów operonu *pvsABCDE* odpowiedzialnych za syntezę sideroforu polihydroksykarboksylanu, zwanego u *Vibrio parahaemolyticus* vibrioferyną [81]. Synteza azotobaktyny jest determinowana przez grupę 12 genów *pvd* o sumarycznej długości ok. 60 kb. W tej grupie genów występują geny kodujące: cztery nierybosomalne syntetazy peptydowe,

6-monoxygenazę ornityny, tioesterazę, transaminazę diaminomaślano-2-oksoglutaranową, receptor sideroforowy TonB, regulator transkrypcji z rodziny TauD/TfdA i czynnik głodu żelazowego PvdS [68].

Szczep *A. chroococcum* NCIMB 8003 nie wytwarza fluorescencyjnych sideroforów. Genom NCIMB 8003 zawiera jednak kilka zespołów genów potencjalnie zaangażowanych w produkcję sideroforów. Największy z nich (41 kb) obejmuje 19 genów chromosomalnych, kodujących białka, które prawdopodobnie biorą udział w tworzeniu sideroforu podobnego do piowerdyny. Klaster ten zawiera geny dla: czterech nierybosomalnych syntetaz peptydowych, syntazy poliketydowej, tioesterazy, dwóch transporterów wypływu, L-ornityno-5-monooksygenazy, dwóch zależnych od żelaza receptorów sideroforowych TonB i czynnika Sigma 70. Genom tej bakterii zawiera także dwa inne *loci*, które mogą być zaangażowane w syntezę sideroforów peptydowych. Jedna grupa 8 genów znajduje się na plazmidzie pAcX50f, a druga (10 genów) na chromosomie i koduje stosunkowo niewielką nierybosomalną syntetazę peptydową oraz kilka pomp wyrzutu (efflux pump), których komponenty wykazują najwyższy stopień identyczności sekwencji z pompami bakterii z gatunku *Pseudogulbenkia* (klasa β -*Proteobacteria*). Dwa geny, z których jeden koduje receptor sideroforowy podobny do TonB, wykazują najwyższy stopień identyczności sekwencji z genami *A. vinelandii* DJ [68].

4. Podsumowanie

Bakterie z rodzaju *Azotobacter* są przedmiotem wielu badań prowadzonych zarówno w Polsce jak i za granicą. Zainteresowanie tymi bakteriami w dużej mierze związane jest z ich właściwościami, pozwalającymi na wykorzystywanie tych drobnoustrojów w rolnictwie. Dzięki zdolności do wiązania azotu atmosferycznego i udostępniania go roślinom wyższym w formie przyswajalnej, produkcji substancji stymulujących wzrost i rozwój roślin, a także zdolności do produkcji związków hamujących rozwój patogenów, są one wykorzystywane w produkcji doglebowych szczepionek bakteryjnych.

Ponadto, bakterie te są doskonałym wskaźnikiem żyzności gleby, dlatego często wykorzystywane są jako mikroorganizmy modelowe w wielu badaniach. Przez wiele lat identyfikacja tych bakterii opierała się na metodach hodowlanych. Rozwój technik molekularnych umożliwił precyzyjne klasyfikowanie i właściwe identyfikowanie omawianych drobnoustrojów. Obecnie taksonomia *Azotobacter* spp. opiera się na badaniach wielokierunkowych, które bazują na danych uzyskanych z analizy cech fenotypowych, genomowych, a także z analiz filogenetycznych. Poznanie i porównanie sekwencji genomów *A. chroococcum* NCIMB 8003

i *A. vinelandii* DJ przynosi wiele wartościowych informacji, jednocześnie nasuwa wiele pytań, na które odpowiedzi pozwoliłyby zrozumieć ewolucję, różnorodność i miejsce tych bakterii w środowisku. Poznanie sekwencji genomowych innych szczepów *A. chroococcum* i *A. vinelandii* z pewnością przyniosłoby wiele korzyści i pozwoliłoby pełniej określić strukturę i właściwości genomów tych bakterii. Niezbędne jest również poznanie sekwencji innych gatunków tego rodzaju, a zwłaszcza *A. paspali* (bakterii o właściwościach halofilnych).

Piśmiennictwo

- Ahemad M., Kibret M.: Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *J. King Saud. Univ. Sci.* **26**, 1–20 (2014)
- Anzai Y., Kim H., Park J.Y., Wakabayashi H., Oyaizu H.: Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **50**, 1563–1589 (2000)
- Aquilanti L., Favilli F., Clementi F.: Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. *Soil Biol. Biochem.* **36**, 1475–1483 (2004)
- Aquilanti L., Mannazzu I., Papa R., Cavalca L., Clementi F.: Amplified ribosomal DNA restriction analysis for the characterization of *Azotobacteraceae*: a contribution to the study of these free-living nitrogen-fixing bacteria. *J. Microbiol. Methods.* **57**, 197–206 (2004)
- Azcon R., Barea J.M.: Synthesis of auxin, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter vinelandii* and *Azotobacter beijerinckii* related to effects produced on tomato plants. *Plant Soil.* **43**, 609–619 (1975)
- Bag P.B., Bappa Paramanik P.P., Ashok Choudhury B.M.: Atmospheric nitrogen fixing capacity of *Azotobacter* Isolate from Cooch Behar and Jalpaiguri Districts Soil of West Bengal, India. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* **6**, 1775–1788 (2017)
- Baj J.: Metabolizm (w) *Biologia molekularna bakterii*, red. J. Baj, Z. Markiewicz, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2007, s. 141
- Becking J.H.: The family *Azotobacteraceae* (w) *The Prokaryotes*, red. M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K.H. Schleifer, E. Stackebrandt, Springer, New York, 2006, p. 759–783
- Behl R., Narula N., Vasudeva M., Sato A., Shinano T., Osaki M.: Harnessing wheat genotype X *Azotobacter* strain inter-actions for sustainable wheat production in semi arid tropics. *Tropics*, **15**, 121–133 (2006)
- Beijerinck M.W.: Über ologonitrophile mikroben. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. II Abt.* **9**, 561–582 (1901)
- Brown M., Walker N.: Indolyl-3-acetic acid formation by *Azotobacter chroococcum*. *Plant Soil.* **72**, 250–253 (1970)
- Clementi F.: Alginate production by *Azotobacter vinelandii*. *Crit. Rev. Biotechnol.* **17**, 327–361 (1997)
- Cornish A.S., Page W.J.: The catecholate siderophores of *Azotobacter vinelandii*: their affinity for iron and role in oxygen stress management. *Microbiology*, **144**, 1747–1754 (1998)
- Dalton H., Postgate J.R.: Effect of oxygen on the growth of *Azotobacter chroococcum* in batch and continuous culture. *J. Gen. Microbiol.* **54**, 463–473 (1968).
- Dalton H., Postgate J.R.: Growth and Physiology of *Azotobacter chroococcum* in continuous culture. *J. Gen. Microbiol.* **56**, 307–319 (1969).
- Demange P., Wendenbaum S., Bateman A., Dell A., Meyer J.M., Abdallah M.A.: Bacterial siderophores: structures of pyover-

- dins and related compounds (w) Iron, Siderophores, and Plant Diseases, red. T.R. Swinburne, Plenum Press, New York, 1986, p. 131–147
17. Döbereiner J.: *Azotobacter paspali* sp. nov., umabactéria fixadora de nitrogênio na rizosfera dePas-palum. *Pesq. Agropec. Bras.* **1**, 357–365 (1966)
 18. Döbereiner J.: Non-symbiotic nitrogen fixation in tropical soils. *Pesq. Agropec. Bras.* **3**, 1–6 (1968)
 19. Döbereiner J.: Isolation and identification of aerobic nitrogen-fixing bacteria from soil and plants (w) *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, red. K. Alef, P. Nannipieri, Academic Press, London, 1995, p. 134–141
 20. Drozd J., Postgate J.R.: Effects of oxygen on acetylene reduction, cytochrome content and respiratory activity of *Azotobacter chroococcum*. *J. Gen. Microbiol.* **63**, 63–73 (1970)
 21. El-Essawy A.A., El-Sayed M.A., Mohamed Y.A.: Production of cyanocobalamin by *Azotobacter chroococcum*. *Zentralblatt für Mikrobiologie*, **139**, 335–342 (1984)
 22. Gacsa P: Bacterial alginate biosynthesis – recent progress and future prospects. *Microbiology*, **144**, 1133–1143 (1998)
 23. Gonzales-Lopez J., Martinez Toledo M.V., Reina S., Salmeron V.: Root exudates of maize on production of auxins, gibberellins, cytokinins, amino acid and vitamins by *Azotobacter chroococcum* chemically defined media and dialysed soil media. *Toxicol. Environ. Chem.* **33**, 69–78 (1991)
 24. Howey R.T., Lock C.M., Moore L.V.H.: Subspecies names automatically created by Rule 46. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **40**, 317–319 (1990)
 25. Hussain A., Arshad M., Hussain A., Hussain E.: Response of maize (*Zea mays*) to *Azotobacter* inoculation under fertilized and unfertilized conditions. *Biol. Fert. Soils.* **4**, 73–77 (1987)
 26. Jelsbak L., Johansen H.K., Frost A.L., Thogersen R., Thomsen L.E., Ciofu O. i in.: Molecular epidemiology and dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* populations in lungs of cystic fibrosis patients. *Infect. Immun.* **75**, 2214–2224 (2007)
 27. Jensen V., Petersen E.J.: Taxonomic studies on *Azotobacter chroococcum* Beijerinck and *Azotobacter beijerinckii* Lipman. *J. R. Vet. Agric. Coll.* **84**, 107–126 (1995)
 28. Jiménez D.J., Montaña J.S., Martínez M.M.: Characterization of free nitrogen fixing bacteria of the genus *Azotobacter* in organic vegetable-grown Colombian soils. *Brazilian Journal of Microbiology*, **42**, 846–858 (2011)
 29. Jin H., Wang H., Zhang Y., Hu T., Lin Z., Liu B., Ma J., Wang X., Liu Q., Lin., X., Xie Z.: Description of *Azotobacter chroococcum* subsp. *isscasi* subsp. nov. isolated from paddy soil and establishment of *Azotobacter chroococcum* subsp. *chroococcum* subsp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **70**, 2124–2131 (2020)
 30. Kelly M.: The kinetics of the reduction of isocyanides, acetylenes and the cyanide ion by nitrogenase preparations from *Azotobacter chroococcum* and the effects of inhibitors. *Biochem. J.* **107**, 1–6 (1968)
 31. Kelly M.: Some properties of purified nitrogenase of *Azotobacter chroococcum*. *Biochim. Biophys. Acta*, **171**, 9–22 (1969)
 32. Kennedy C.J., Toukdarian A.: Genetics of *Azotobacters*: applications to nitrogen fixation and related aspects of metabolism. *Ann. Rev. Microbiol.* **41**, 227–258 (1987)
 33. Kennedy I.R., Choudhury A.T.M.A., Kecskés M.L.: Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop-farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited? *Soil Biol. Biochem.* **36**, 1229–1244 (2004)
 34. Kennedy C.J., Rudnick P., MacDonald M.L., Melton T.: Genus III. *Azotobacter* Beijerinck 1901 (w) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*: 2: Part B The Gammaproteobacteria, red. G. Garrity, D.J. Brenner, N.R. Kreis, J.R. Staley, Springer, New York, London, 2007 s. 385–409
 35. Kennedy C., Dean D.R., Goodner B., Goldman B., Setubal J., Slater S., Wood D.: Full genome sequence of *Azotobacter vinelandii*: preliminary analysis (w) *Biological Nitrogen Fixation: Towards Poverty Alleviation through Sustainable Agriculture*, red. F.D. Dakora, S.B.M. Chimphango, A.J. Valentine, C. Elmerich, W.E. Newton, Springer Science+Business Media B.V., 2008, p. 297–298
 36. Kennedy C., Rudnick P.L.: *Azotobacter* (w) *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, red. W.B. Whitman, F. Rainey, P. Kämpfer, M.E. Trujillo, J. Chun, Hoboken, Wiley, 2015, p. 1–33
 37. Khosravi H., Dolatabad H.K.: Identification and molecular characterization of *Azotobacter chroococcum* and *Azotobacter salinestris* using ARDRA, REP, ERIC, and BOX. *Molecular Biology Reports*, **47**, 307–316 (2020)
 38. Kizilkaya R.: Yield response and nitrogen concentrations of spring wheat (*Triticum aestivum*) inoculated with *Azotobacter chroococcum* strains. *J. Ecol. Eng.* **3**, 150–156 (2008)
 39. Krasil'nikov N.A.: Guide to the bacteria and actinomycetes, red. Akademia Nauk SSSR, Moscow, 1949.
 40. Krawczyk B.: Diagnostyka molekularna w zakażeniach szpitalnych. *Post. Mikrobiol.*, **46**, 367–378 (2007)
 41. Lenart A.: Occurrence, characteristics, and genetic diversity of *Azotobacter chroococcum* in various soils of southern Poland. *Pol. J. Environ. Stud.* **21**, 415–424 (2012)
 42. Lenart-Boroń A.M., Wolny-Kołodka K.A., Boroń P.M., Mitka J.R.: The molecular marker-based comparison of *Azotobacter* spp. populations isolated from industrial soils of Cracow-Nowa Huta steelworks (southern Poland) and the adjacent agricultural soils. *J. Environ. Sci. Health, Part A*, **49**, 1054–1063 (2014).
 43. Lipman J.G.: Experiments on the transformation and fixation of nitrogen by bacteria. *Report on the New Jersey Agricultural Experiment Station*, **24**, 217–285 (1903)
 44. Lipman J.G.: Soil bacteriological studies. Further contributions to the physiology and morphology of members of the *Azotobacter* group. *Report on the New Jersey Agricultural Experiment Station*, **25**, 237–289 (1904)
 45. Liu L., Yuan T., An Q., Yang M., Mao X., Mo C., Tan Z., Peng G.: *Azotobacter bryophylli* sp. nov., isolated from the succulent plant *Bryophyllum pinnatum*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **69**, 1986–1922 (2019)
 46. Maia M., Sanchez J.M., Vela G.R.: Plasmids of *Azotobacter vinelandii*. *J. Bacteriol.* **170**, 1984–1985 (1988)
 47. Martinez Toledo M.V., Moreno J., De la Rubia T., Gonzalez-Lopez J.: Root exudates of *Zea mays* and production of auxins, gibberellins and cytokinins by *Azotobacter chroococcum*. *Plant Soil.* **110**, 149–152 (1989)
 48. Martyniuk S., Martyniuk M.: Occurrence of *Azotobacter* spp. in some Polish soils. *Pol. J. Envir. Stud.*, **12**, 371–374 (2003)
 49. Martyniuk S.: Znaczenie procesu biologicznego wiązania azotu atmosferycznego w rolnictwie ekologicznym. *J. Res. Appl. Agric. Eng.* **53(4)**, 9–14 (2008)
 50. Marwa S. Abdel-Hamid, Elbaz A.F., Ragab A.A., Hamza H.A., El Halafawy K.A.: Identification and characterization of *Azotobacter chroococcum* isolated from some Egyptian soils. *J. Agric. Chem. and Biotechn.* **1**, 93–104 (2010).
 51. Mazinani Z., Asgharzadeh A.: Genetic diversity of *Azotobacter* strains isolated from soils by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *Cytol. Genet.* **48**, 293–301 (2014)
 52. Neilands J.B.: Siderophores: structure and function of microbial iron transport compounds. *J. Biol. Chem.* **45**, 26723–26726 (1995)
 53. Noar J.D., Bruno-Bárcena J.M.: *Azotobacter vinelandii*: the source of 100 years of discoveries and many more to come. *Microbiology*, **164**, 421–436 (2018)

54. Obele I.I., Danladi M.M., Akwashiki O., Owuna G., Peter O.E., Obiekezie S., Paul T., Kenneth E.I., Olokunle A.A.: Isolation, identification and screening for nitrogen fixing activities by *Azotobacter chroococcum* isolated from soil of Keffi, Nigeria as agent for bio-fertilizer production. *Frontiers in Environmental Microbiology*, **5**, 70–76 (2019)
55. Özen A.I., Ussery D.W.: Defining the *Pseudomonas* genus: where do we draw the line with *Azotobacter*? *Microb. Ecol.* **63**, 239–248 (2012)
56. Page W., Shivprasad S.: *Azotobacter salinestris* sp. nov., a sodium-dependent, microaerophilic, and aeroadaptive nitrogen-fixing bacterium. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **41**, 369–376 (1991)
57. Page W.J., Tindale A., Chandra M., Kwon E.: Alginate formation in *Azotobacter vinelandii* UWD during stationary phase and the turnover of poly- β -hydroxybutyrate. *Microbiology*, **147**, 483–490 (2001)
58. Palleroni N.J.: Genus I. *Pseudomonas* Migula 1894, 237^{AL} (w) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, red. D.J. Brenner, N.R. Krieg, J.T. Staley, G.M. Garrity, D.R. Boone, P. Vos i in., Sprinber, Boston, 2005
59. Paul E.A., Clark F.E.: Mikrobiologia i biochemia gleb, red. M. Jędrych, Wydawnictwo Uniwersytetu Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin, 2000, s. 400
60. Peciña A., Pascual A., Paneque A.: Cloning and expression of the *algI* gene, encoding the *Azotobacter chroococcum* alginate lyase: purification and characterization of the enzyme. *J. Bacteriol.* **181**, 1409–1414 (1999)
61. Pettinari M.J., Vazquez M.J., Silberschmidt D., Rehm B., Steinhel A., Mendez B.S.: Poly (3-hydroxybutyrate) synthesis genes in *Azotobacter* sp. strain FA8. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 5331–5334 (2001)
62. Ramos J.L., Robson R.L.: Lesions in citrate synthase that affect aerobic nitrogen fixation by *Azotobacter chroococcum*. *J. Bacteriol.* **162**, 746–751 (1985)
63. Rankin D.J., Rocha E.P.C., Brown S.P.: What traits are carried on mobile genetic elements and why? *Heredity*, **106**, 1–10 (2011)
64. Rediers H., Vanderleyden J., De Mot R.: *Azotobacter vinelandii*: A *Pseudomonas* in disguise? *Microbiology*, **150**, 1117–1119 (2004)
65. Robson R.L.: Characterization of an oxygen-stable nitrogenase complex isolated from *Azotobacter chroococcum*. *Biochem. J.* **181**, 569–575 (1979)
66. Robson R.L., Eady R.R., Richardson T.H., Miller R.W., Hawkins M., Postgate J.R.: The alternative nitrogenase of *Azotobacter chroococcum*, is a vanadium enzyme. *Nature*, **322**, 388–390 (1986)
67. Robson R.L., Woodley P.R., Pau R.N., Eady R.R.: Structural genes for the vanadium nitrogenase from *Azotobacter chroococcum*. *EMBO J.* **8**, 1217–1224 (1989)
68. Robson R.L., Jones R., Robson R.M., Schwartz A., Richardson T.H.: *Azotobacter* Genomes: The Genome of *Azotobacter chroococcum* NCIMB 8003 (ATCC 4412). *PLOS ONE*, **10**, 1–35 (2015)
69. Rubio E.J., Montecchia M.S., Tosi M., Cassán F.D., Peticari A., Correa O.S.: Genotypic characterization of *Azotobacteria* isolated from Argentinean soils and plant-growth-promoting traits of selected strains with prospects for biofertilizer production. *Sci. World J.*, 1–12 (2013)
70. Salmeron V., Martinez Toledo M.V., Gonzalez-Lopez J.: Nitrogen fixation and production of auxins, gibberellins and cytokinin by *Azotobacter chroococcum* strain isolated from root of *Zea mays* in presence of insoluble phosphate. *Chemosphere*, **20**, 417–422 (1990)
71. Saude N., Cheze-Lange H., Beunard D., Dhulster P., Guillochon D., Caze A.M., Morcellet M., Junter G.A.: Alginate production by *Azotobacter vinelandii* in a membrane bioreactor. *Process Biochem.* **38**, 273–278 (2002)
72. Segura D., Cruz T., Espin G.: Encystment and alkylresorcinol production by *Azotobacter vinelandii* strains impaired in poly-beta-hydroxybutyrate synthesis. *Arch. Microbiol.* **179**, 4370–443 (2003)
73. Setubal J.C., Wood D. i wsp.: Genome sequence of *Azotobacter vinelandii*, an obligate aerobe specialized to support diverse anaerobic metabolic processes. *J. Bacteriol.* **191**, 4534–4545 (2009)
74. Setubal J.C., Almeida N.F.: The *Azotobacter vinelandii* genome: an update (w) Biological Nitrogen Fixation vol.1, red. B.J. de Bruijn, John Wiley & Sons, New Jersey, 2015, p. 225–234.
75. Shapiro J.A.: Transposable elements as the key to a 21st century view of evolution. *Genetica*, **107**, 171–179 (1999)
76. Skerman V.B.D., McGowan V., Sneath P.H.A.: Approved Lists of bacterial names. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **30**, 225–420 (1980)
77. Smith N.R.: The occurrence of a strain of *Azotobacter chroococcum* which does not ferment mannitol. *J. Bacteriol.* **30**, 323–328 (1935)
78. Steinberg R.A.: Applicability of nutrient-solution purification to the study of trace-element requirements of *Rhizobium* and *Azotobacter*. *J. Agric. Res.* **57**, 461–476 (1938)
79. Stevenson L.H., Socolofsky M.D.: Cyst formation and poly- β -hydroxybutyric acid accumulation in *Azotobacter*. *J. Bacteriol.* **91**, 304–310 (1966)
80. Stockdale H., Ribbons D.W., Dawes E.A.: Occurrence of poly-beta hydroxybutyrate in the Azotobacteraceae. *J. Bacteriol.* **95**, 1798–803 (1968)
81. Tanabe T., Funahashi T., Nakao H., Miyoshi S., Shinoda S., Yamamoto S.: Identification and characterization of genes required for biosynthesis and transport of the siderophore vibrioferrin in *Vibrio parahaemolyticus*. *J. Bacteriol.* **185**, 6938–6949 (2003)
82. Tchan Y.T., New P.B.: *Azotobacteraceae* (w) Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol. 1, red. Kreig N.R., Holt J.G., Williams and Wilkins, Baltimore, 1984, s. 220–229
83. Tejera N., Lluch C., Martinez-Toledo M.V., Gonzalez-Lopez J.: Isolation and characterization on *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from the sugarcane rhizosphere. *Plant Soil.* **270**, 223–232 (2005)
84. Thompson J.P., Skerman V.B.D.: *Azotobacteraceae*: The Taxonomy and Ecology of the Aerobic Nitrogen-Fixing Bacteria. Academic Press London, New York, Toronto, Sydney, San Francisco, 1979
85. Tindale A.E., Mehrotra M., Ottem D., Page W.J.: Dual regulation of catechol siderophore biosynthesis in *Azotobacter vinelandii* by iron and oxidative stress. *Microbiology*, **146**, 1617–1626 (2000)
86. Torrents E.: Ribonucleotide reductases: essential enzymes for bacterial life. *Frontiers Cell Infect Microbiol.* **4**, 1–9 (2014)
87. Touchon M., Rocha E.P.C.: The small, slow and specialised CRISPR and anti-CRISPR of *Escherichia* and *Salmonella*. *PLOS ONE*, **5**, 1–14 (2010)
88. Yan Y., Yang J., Dou Y., Chen M., Ping S., Peng J. i in.: Nitrogen fixation island and rhizosphere competence traits in the genome of root-associated *Pseudomonas stutzeri* A1501. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **105**, 7564–7569 (2008)
89. Yates MG, Planqué K.: Nitrogenase from *Azotobacter chroococcum*. *Eur. J. Biochem.* **60**, 467–476 (1975)
90. Young J.M., Park D.C.: Probable synonymy of the nitrogen-fixing genus *Azotobacter* and the genus *Pseudomonas*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **57**, 2894–2901 (2007)
91. Zhang Y., Rodionov D.A., Gelfand M.S., Gladyshev V.N.: Comparative genomic analysis of nickel, cobalt and vitamin B12 utilization. *BMC Genomics*, **10**, 78 (2009)

WPLYW HIGIENY RĄK PERSONELU MEDYCZNEGO NA TRANSMISJĘ CZYNNIKÓW ETIOLOGICZNYCH ZAKAŻEŃ ZWIĄZANYCH Z OPIEKĄ ZDROWOTNĄ

Klaudia Szarek*, Monika Kabała, Gajane Martirosian

Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

Wpłynęło w lipcu, zaakceptowano we wrześniu 2021 r.

Streszczenie: Prawidłowo przeprowadzona procedura mycia i dezynfekcji rąk, wśród pracowników jednostek medycznych jest jedną z podstawowych zasad zapobiegania zakażeniom związanym z opieką zdrowotną, które znacznie wydłużają hospitalizację, generując większe koszty. Celem pracy było dokonanie przeglądu dostępnej literatury na temat źródeł szerzenia się zakażeń szpitalnych w kontekście higieny rąk personelu. Ocena, czy procedury te są wykonywane prawidłowo oraz czy ręce i paznokcie mają wpływ na rozprzestrzenianie się drobnoustrojów w środowisku szpitalnym. Literatury szukano w bazach danych PubMed oraz Google Scholar, wpisując odpowiednie słowa kluczowe. Zebrane dane literaturowe jednoznacznie wskazują jak istotną rolę w przerwaniu łańcucha epidemiologicznego zakażeń szpitalnych ma prawidłowa procedura mycia rąk; krótkie oraz niepomalowane paznokcie a także brak biżuterii na rękach personelu szpitalnego.

1. Wstęp 2. Cel 3. Wyniki przeglądu 4. Podsumowanie

THE IMPACT OF HAND HYGIENE OF HEALTHCARE PROFESSIONALS ON THE TRANSMISSION OF ETIOLOGICAL AGENTS OF HEALTHCARE ASSOCIATED INFECTIONS – HAI

Abstract: Appropriate hand washing and disinfection procedures among medical employees are one of the basic principles of preventing healthcare-associated infections (HAI), which can significantly extend hospitalization and generate higher costs. The aim of the study was to review the available literature on the sources and transmission of HAI in the context of medical staff hand hygiene, to evaluate, whether these procedures are performed correctly and whether the hands and nails contribute to the transmission of microorganisms in the hospital environment. Medical literature was searched in PubMed and Google Scholar databases by entering appropriate keywords. The collected literature clearly show how important is the correct hand washing procedure, short and unpainted nails and no jewellery on the hands of hospital staff in breaking the chain of nosocomial infections.

1. Introduction. 2. Aim 3. Results of the review. 4. Summary

Słowa kluczowe: biżuteria i sztuczne paznokcie w środowisku szpitalnym, dezynfekcja rąk, higiena rąk, zakażenia związane z opieką szpitalną

Keywords: jewellery and artificial fingernails in a hospital environment, hand disinfection, hand hygiene, healthcare-associated infections

1. Wstęp

Zgodnie z definicją Encyklopedii PWN, higiena, to nauka zajmująca się badaniem wpływu czynników środowiska naturalnego, sztucznego i społecznego, na człowieka, jego zdrowie i życie [28]. Termin ten wywodzi się z greckiego *hygieinós* i oznacza „zdrowy, zdrowotny”; bądź pochodzi od rzymskiej bogini Higieii, córki Asklepiosa – boga sztuki lekarskiej [29]. Współcześnie, pojęcie to jest używane w szerokim kontekście, mówimy o bezpieczeństwie i higienie pracy, higienie zdrowia psychicznego, osobistej czy intymnej.

Osobnym, bardzo ważnym zagadnieniem jest higiena szpitalna, związana nieodłącznie z pojęciem higieny rąk. Zaniedbania higieny szpitalnej mogą prowadzić do rozwoju zakażeń związanych z opieką szpitalną/zdrowotną HAI (Hospital Acquired Infections). Według Światowej Organizacji Zdrowia (WHO – World Health Organization) są to zakażenia głównie pojawiające się podczas leczenia szpitalnego ale też ambulatoryjnego [30]. Zgodnie z raportem Stowarzyszenia Epidemiologii Szpitalnej, w Polsce zakażeniom związanym z opieką zdrowotną może ulegać rocznie 5% hospitalizowanych pacjentów [2].

* Autor korespondencyjny: Klaudia Szarek, Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, Wydział Nauk Medycznych, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach ul. Medyków 18, 40-752 Katowice; e-mail: klaudia.szarek@sum.edu.pl

Źródeł występowania HAI jest wiele, najczęściej wymienia się farmakoterapię, zabiegi chirurgiczne oraz kontaminację środowiska szpitalnego [2, 9]. Pracownicy medyczni mogą również przyczyniać się do rozprzestrzeniania zakażeń szpitalnych wśród pacjentów na przykład poprzez zaniedbanie procedur mycia dłoni.

Zastosowanie pierwszej procedury prawidłowego mycia dłoni zawdzięczamy Ignazowi Semmelweisowi, lekarzowi o pochodzeniu węgiersko-niemieckim. Pracując w Klinice Położniczej w Wiedniu, zaobserwował, że studenci po opuszczeniu prosektorium udawali się prosto do położnic, wśród których stwierdzono znacznie wyższą śmiertelność z powodu gorączki połogowej, w porównaniu do pacjentek w drugiej klinice, badanych i obsługiwanych przez położne, a także rodzących w domu czy nawet na ulicy [24]. Dnia 15.05.1847 roku, zaordynował studentom medycyny mycie rąk z zastosowaniem podchlorynu wapnia. Jak czytamy w „Stuleciu chirurgów” Thorwald’a, pomysły Semmelweisa spotkały się z niezrozumieniem, drwinami, sam był mocno za nie szykanowany. Swoim uporem, dalszymi obserwacjami i zaleceniami (mycie rąk przed badaniem każdej pacjentki, stosowanie czystych narzędzi, pościeli itp.) doprowadził do spadku śmiertelności wśród pacjentek, co niestety nie przełożyło się na pełne zaakceptowanie jego teorii. 15 lat później, w 1863 roku Pasteur odkrywa i opisuje bakterie, Lister wykorzystując odkrycie Lemaire’a proponuje karbol do dezynfekcji, potem następują kolejne odkrycia Roberta Kocha i wielu innych znakomych naukowców.

Profesjonalne procedury mycia rąk zostaną jednak opracowane dopiero w wieku XX, natomiast na początku XXI w okazuje się, że dalej konieczne są szkolenia, warsztaty mające na celu przekonanie personelu medycznego co do zasadności ich wykonywania.

17.11.2019 w mieście Wuhan, w prowincji Hubei, w Chinach rozpoczyna się epidemia COVID-19 wywoływana przez SARS-CoV-2, która 11 marca 2020 została uznana przez WHO za pandemię. Jednym z głównych zaleceń, profilaktycznych podczas pandemii jest prawidłowa higiena rąk. Czy po ponad 170-u latach od odkrycia Semmelweisa dalej musimy się jej uczyć? Czy procedury medyczne są przestrzegane przez pracowników, czy personel medyczny zawsze jest przekonany do celowości zaleceń, by ograniczyć liczbę zakażeń szpitalnych?

2. Cel

Celem pracy było dokonanie przeglądu dostępnej literatury na temat źródeł zakażeń związanych z opieką zdrowotną w kontekście higieny rąk personelu medycznego; aby ocenić, czy procedury te są wykonywane prawidłowo oraz czy po zastosowaniu odpowiednich proce-

dur ręce i paznokcie mają wpływ na rozprzestrzenianie się drobnoustrojów w środowisku szpitalnym. Literatury szukano głównie w bazie PubMed, ale też Google Scholar wpisując hasła: „hand hygiene”, „healthcare-associated infections”, „jewellery and artificial fingernails in a hospital environment” oraz „hand disinfection”. Starano się wybierać artykuły z ostatnich lat. Z największym zainteresowaniem odniesiono się do znaczenia paznokci jako elementu łańcucha epidemiologicznego przenoszenia czynników etiologicznych zakażeń.

3. Wyniki przeglądu

Prawidłowa higiena rąk jest niezwykle istotnym czynnikiem ograniczającym występowanie zakażeń szpitalnych czy zakażeń miejsc operowanych. Według wytycznych WHO aby skuteczność higieny rąk była możliwie najwyższa, skóra nie powinna mieć uszkodzeń, paznokcie powinny być niepomalowane oraz krótkie ($\leq 0,5$ cm). Ręce natomiast powinny być pozbawione biżuterii oraz odsłonięte wraz z przedramionami [30].

Na skórze człowieka znajduje się wiele bakterii, jest to głównie mikroflora fizjologiczna. Nabiera to szczególnego znaczenia w przypadku skóry dłoni personelu medycznego. Istnieje wiele udokumentowanych przypadków endemicznych zakażeń szpitalnych wywołanych przez niedokładną higienę rąk lub jej całkowity brak. Mikroflora kolonizująca skórę może być przenoszona na pacjentów, jeżeli nie stosuje się odpowiednich procedur higieny.

W 2018 roku zostało przeprowadzone badanie w dwóch warszawskich szpitalach na 7 oddziałach o drugim i trzecim stopniu referencyjności, celem określenia bakteryjnej mikroflory obecnej na rękach personelu medycznego. Materiał pobierano zwilżoną w 0,9% NaCl wymazówką z wewnętrznej strony dominującej dłoni, kierując wymazówkę w kierunku dystalnej części palców, łoży paznokci, wzdłuż linii papilarnych dłoni oraz do przestrzeni między palcami. W badaniu wzięło udział 106 osób. Z 85 prób (21 – brak wzrostu) wyhodowano 139 różnych szczepów bakterii, z dominacją w 42/85 szczepu *Bacillus* spp. W 23/85 wyizolowano metycylinowrażliwy szczep gronkowca koagulazo-ujemnego (MSCNS), natomiast w 15/85 metycylinooporny szczep gronkowca koagulazo-ujemnego (MRCNS). Szczepy te można zaliczyć do mikroflory fizjologicznej lub kolonizującej (*Bacillus* spp.). Niepokojącym jest natomiast wyhodowanie metycylinowrażliwego szczepu *Staphylococcus aureus* (MSSA) w 4/85 przypadków. Wyhodowano również pałeczki Gram-ujemne niefermentujące, których wzrost stwierdzono w 6/85 przypadków, oraz pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* w 2/85 próbach (bez mechanizmów oporności nabytej). Stwierdzono także obecność: pałeczki Gram-ujemnej z rodziny *Ente-*

robacteriaceae, wytwarzającej beta-laktamazę o rozszerzonym spektrum substratowym (ES β L) oraz Gram-ujemne ziarniako-pałeczki *Moraxella* spp. i bakterie należące do gatunku *Bordetella bronchiseptica*. W dwóch próbkach wykryto bakterie z rodziny *Micrococcus* [18].

Obecnie głównym patogenem odpowiedzialnym za HAI jest *Clostridioides difficile*, beztlenowa, sporulująca pałeczka (d. laseczka), powodująca 15% przypadków HAI w Stanach Zjednoczonych oraz będąca głównym patogenem wywołującym ogniska epidemiczne w Polsce [3, 5, 6, 15]. *C. difficile* w środowisku szpitalnym wytwarza spory (przetrwalniki) – wysoce odporne na działanie środków do dezynfekcji i nawet środków przeznaczonych do dezynfekcji struktur przetrwalnikowych posiadających DNA bakterii. Spory potrafią przeżyć w środowisku szpitalnym od kilku miesięcy do lat, stanowiąc zagrożenie dla pacjentów i personelu [19, 26].

Ragusa i wsp. przeprowadzili badanie, które umożliwiło ocenę wpływu prawidłowej higieny rąk pracowników ochrony zdrowia na zakażenia krzyżowe, czyli zakażenia egzogenne, przenoszone przez personel medyczny. Badano wówczas pacjentów u których wystąpiła biegunka w celu potwierdzenia lub wykluczenia infekcji *C. difficile* (CDI). Na podstawie zebranych danych wykonano analizę statystyczną. Stwierdzono liniową korelację ujemną, czyli im gorsza higiena rąk personelu medycznego, tym więcej przypadków CDI [21].

W wyniku przeprowadzonego przeglądu literatury zwrócono uwagę także na opisane przypadki kliniczne zakażeń personelu medycznego na skutek kontaminacji dłoni i braku ich prawidłowej higieny. Strimling i wsp. opisują przypadek szerzenia się zakażenia szczepem *C. difficile* z pacjenta na trzy zdrowe pielęgniarki (brak antybiotykoterapii) [12, 14]. Drugi przypadek opisali Spencer i wsp. u 53-letniego mężczyzny pracującego w pracowni endoskopii i stacji dializ, gdzie miał regularny kontakt z pacjentami oraz sprzętem skolonizowanym szczepami *C. difficile*. Mężczyzna cierpiał na bóle zatok, lekarz pierwszego kontaktu, podejrzewając ostre zapalenie zatok zlecił 10-dniową antybiotykoterapię amoksycyliną z kwasem klawulonowym. Po leczeniu u mężczyzny pojawił się ból w jamie brzusznej oraz luźne stolce. Badanie toksyn *C. difficile* w kale wykazało dodatni wynik [23]. Podobny przypadek opisali Kaplan i wsp.: pracownik medyczny miał pod opieką 45 pacjentów na oddziale chirurgicznym, w tym dwóch z objawowym zakażeniem *C. difficile*. Po 2 dniach od pierwszego kontaktu z pacjentami pracownik zanotował biegunki, próbka kału pobrana tego samego dnia na obecność toksyny *C. difficile* była dodatnia. Pracownik szpitala wcześniej był leczony amoksycyliną, ponieważ cierpiał na infekcję dróg oddechowych [14]. Antybiotyki, które zostały przepisane w obu tych przypadkach [14, 23] prawdopodobnie przyczyniły się do naruszenia mikrobioty jelitowej, co doprowadziło do zakażenia *C. difficile*.

Przypuszcza się, że istotne znaczenie w rozwoju zakażeń szpitalnych ma także biżuteria noszona na rękach personelu medycznego. Pierścionki powodują zatrzymanie wilgoci, co umożliwia stworzenie odpowiednich warunków rozwoju mikroorganizmów, dodatkowo bakterie mogą gromadzić się pod biżuterią, co znacząco utrudnia ich usunięcie podczas standardowej procedury mycia rąk. Pod biżuterią może również gromadzić się puder z rękawiczek, który wraz z potem predysponuje do podrażnienia skóry, a to z kolei do wnikięcia drobnoustrojów i wywołania infekcji [16, 27]. W 2007 roku Yildirima i wsp. przeprowadzili badanie wśród 84 pielęgniarek, które zajmowały się pacjentami na oddziale intensywnej terapii w szpitalu pediatrycznym. Stworzono trzy grupy po 28 osób. Jedna grupa miała nosić zwykłą obrączkę, druga pierścionki z kamieniami, natomiast trzecia została poproszona o pozbycie się wszelkiej biżuterii z dłoni. Próbkę pobierano po 8 godzinnym dyżurze. Do pobrania próbek służyły jałowe rękawice wypełnione PBS, do których wkładana była lewa ręka każdej z pielęgniarek biorących udział w badaniu. Następnie zawartość rękawiczek była przelewana do jałowego pojemnika, z którego po wirowaniu, z osadu wysiewano materiał na różne podłoża wybiórcze w celu identyfikacji bakterii. Na podstawie uzyskanych danych przeprowadzono analizę statystyczną porównującą liczbę kolonii bakterii Gram-dodatnich oraz Gram-ujemnych obserwowanych po posiewach materiału z rąk pielęgniarek. U kobiet noszących pierścionki stwierdzono znamienne większą liczbę kolonizujących rękę bakterii w porównaniu do personelu medycznego nie noszącego żadnej biżuterii ($p=0,001$). Liczba wyhodowanych kolonii bakteryjnych z rąk pielęgniarek noszących obrączkę czy pierścionek z kamieniem nie różniła się znamienne [31].

Field i wsp. pobierali wymazy ze skóry spod zegarka, pierścionka jednej ręki oraz tych samych miejsc na drugiej ręce (grupa kontrolna) wśród grupy lekarzy stomatologów oraz personelu nieklinicznego. Pobrany materiał wysiewano i inkubowano w warunkach tlenowych przez 24 h w 37°C. W dwóch grupach uczestniczących w badaniu, z pobranego materiału wyizolowano spod noszonej na rękach biżuterii znamienne większą liczbę kolonii bakteryjnych w porównaniu z grupą kontrolną (dentyści, $p=0,01$ i personel niemedyczny $p=0,003$) [4]. Z kolei Al-Allak i wsp. badali grupę 10 chirurgów i anestezjologów. Wymazy były pobrane jałowym gazikiem z wewnętrznej części obrączki każdego z uczestników, po wcześniejszym dokładnym umyciu dłoni. Materiał następnie wysiewano na odpowiednie podłoża i inkubowano. Po 24 h dokonano odczytu liczby kolonii oraz ich identyfikacji [1]. Tylko u jednego chirurga, którego obrączka była nieregularnych kształtów wyhodowano gronkowca koagulazo-ujemnego. Przytoczone powyższe publikacje [1, 4] dowodzą, że uzasadnione

jest zrezygnowanie z biżuterii podczas pracy w szpitalu, przy czym Al-Allak i wsp. zwrócili uwagę, że klasyczna gładka obrączka nie musi stanowić istotnego źródła zakażenia pod warunkiem dokładnie przeprowadzonej procedury mycia rąk [1].

WHO zwraca szczególną uwagę na kondycję paznokci (krótkie, bez lakieru) [30]. Paznokcie długie i pomalowane mogą gorzej poddawać się procedurom dezynfekcyjnym. Współcześnie dużą uwagę przywiązujemy do zadbanych dłoni i paznokci. Do stylizacji paznokci stosowana jest cała paleta produktów, począwszy od klasycznego lakieru przez lakiery hybrydowe czy żelowe utwardzane światłem UV lub LED. Przypuszcza się, że lakiery mogą mieć istotny wpływ na rozwój oraz rozprzestrzenianie się infekcji szpitalnych, ponieważ w ich skład wchodzi oligomery oraz monomery akrylu. Niedostateczne ich utwardzenie powoduje przenikanie w niewielkim stopniu cząsteczek przez płytkę paznokcia lub w obrębie skórek powodując podrażnienie [22]. Ułatwia to z kolei wnikanie drobnoustrojów kolonizujących dłoń w głębsze warstwy skóry. Odprysk sztucznego paznokcia umożliwia uniesienie warstwy lakieru nad płytkę co stanowi idealne miejsce do rozwoju bakterii. Sztuczne paznokcie o kształtach z ostrym wykończeniem mogą powodować także rozerwanie rękawiczek oraz unikanie ich noszenia przez zwiększoną trudność z ich zakładaniem [27].

Wałaszek i wsp. przeprowadzili analizę mającą na celu ocenę działania środków do dezynfekcji na paznokcie pokryte różnego rodzaju lakierami. Badanie przeprowadzono wśród 188 pielęgniarek pracujących na różnych oddziałach tarnowskiego szpitala. Uwzględniono rodzaj powłoki pokrywającej płytkę i na tej podstawie utworzono 4 grupy – pierwsza używała odżywki, druga – zwykłego lakieru, trzecia – lakieru utwardzonego światłem LED lub UV stosowanego na naturalną płytkę, a czwarta grupa stosowała lakier hybrydowy przeznaczony do powierzchni płytki utwardzonej żelom. Grupę kontrolną stanowiły 24 pielęgniarki z naturalną płytką paznokcia. Oceny skuteczności dezynfekcji dokonano na podstawie liczby oraz rodzaju kolonii wyhodowanych z pobranego materiału. Każda z osób biorących udział w badaniu miała pobrane 3 próbki bezpośrednio po dezynfekcji rąk. Pierwsza próbka pobierana była na jałowy bulion tryptonowo-sojowy (TSB) poprzez zanurzenie w nim palca wskazującego. Do pobrania z powierzchni płytki i skóry otaczającej paznokcie wykorzystano sterylną gąbeczkę zwilżoną wcześniej roztworem soli fizjologicznej oraz 1 µl eżę. Bezpośrednio po pobraniu zarówno eżę jak i gąbeczkę umieszczono w bulionie TSB. Trzecia próbka pobierana była 1 µl eżę oraz zwilżoną, jałową wymazówką spod paznokcia, a potem także umieszczana w bulionie TSB. Uzyskane wyniki posiewów opracowano i poddano analizie statystycznej.

U pielęgniarek z naturalnymi paznokciami i pomalowanymi jedynie odżywką po dezynfekcji rąk posiew był dodatni, stwierdzono wzrost mikroflory fizjologicznej. Z powierzchni płytki paznokcia pokrytej lakierem klasycznym oraz hybrydowym na naturalnej płytce oraz lakieru hybrydowego nałożonego na bazę żelową wyizolowano *Acinetobacter* spp., *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus*, gronkowce koagulazo-ujemne i *Bacillus* spp. Zanurzenia palca wskazującego, którego płytka paznokcia była pokryta lakierem hybrydowym oraz żelom i lakierem hybrydowym w TSB pozwoliło na stwierdzenie obecności *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. oraz gronkowców koagulazo-ujemnych i *Bacillus* spp. Z kolei spod płytki paznokcia wyizolowano *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus* spp., *Escherichia coli*, *Pasteurella canis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Streptococcus* spp. gronkowce koagulazo-ujemne i *Bacillus* spp. Na podstawie powyższego badania autorzy wyciągnęli następujące wnioski: pokrycie płytki paznokciowej różnego rodzaju lakierami może wpływać na skuteczność dezynfekcji. Osłabieniu dezynfekcji sprzyja zwiększona długość paznokcia oraz pokrycie płytki popularnymi hybrydami [25]. Do podobnych wniosków doszli Hewlett i wsp. artykułu opublikowanego w grudniu 2018 roku [11]. Zaobserwowali oni większą liczbę bakterii z wymazów pobranych z paznokci pokrytych lakierem hybrydowym i żelom, w porównaniu z płytką naturalną. Z kolei w 2010 roku Hautemaniere i wsp. wykazali nieskuteczność dezynfekcji w przypadku paznokci przedłużanych żelom [10].

Posiadanie sztucznych paznokci może również być źródłem powstawania ognisk epidemicznych zakażeń na oddziałach szpitalnych.

Gordin i wsp. opisali przypadek pielęgniarki, która do otwierania fiolek z heparyną używała sztucznego paznokcia i z tej fiołki wyhodowano *Serratia marcescens*. Po genotypowaniu tego szczepu stwierdzono, że jest on identyczny z 5 innymi szczepami, izolowanymi od pacjentów poddawanych hemodializie [7]. Kolejny przypadek epidemii za którą odpowiada *S. marcescens* odnotowano w Kalifornii. Źródłem kontaminacji ran po zabiegach sercowo-naczyniowych były sztuczne paznokcie pielęgniarki. Z kremu złuszczonego tej pielęgniarki wyizolowano szczep *S. marcescens*, co prawdopodobnie było przyczyną zakażeń pacjentów [20, 27]. Inne publikacje donoszą o przypadkach przenoszenia przez pielęgniarki ze sztucznymi paznokciami zakażeń bakteriami Gram-ujemnymi (*Klebsiella pneumoniae*) w szpitalu dziecięcym, doprowadzając do choroby inwazyjnej niemowląt [8]. Kolonizacja rurki dotchawiczej pacjenta przez *Pseudomonas aeruginosa* została powiązana z długimi paznokciami pielęgniarki, a także sztucznymi paznokciami innej pielęgniarki [17].

4. Podsumowanie

W środowisku szpitalnym jest obecnych wiele drobnoustrojów, w tym wysoce patogenne bakterie jak *C. difficile*, *Acinetobacter baumannii*, wankomycynooporne szczepy *Enterococcus* spp. (VRE), czy MRSA. Patogeny, źródłem których są głównie dłonie (paznokcie) perso-

nelu medycznego i pomocniczego, przyczyniają się do powstawania ognisk epidemicznych [13]. Raport Głównego Inspektoratu Sanitarnego: „Stan sanitarny kraju” za rok 2018, wskazuje na *A. baumannii* jako przyczynę 53 ognisk epidemicznych w polskich szpitalach, co plasuje ten drobnoustrój jako drugi, zaraz po *C. difficile* [5]. Inne niepokojące dane raportu GIS z 2019 roku mówią

Tabela I
Przegląd publikacji o znaczeniu rąk i paznokci personelu medycznego w łańcuchu epidemiologicznym zakażeń szpitalnych

Autor	Rok publikacji	Tytuł, czasopismo
Właszczek M., Kwapniewska W., Jagiencarz-Starzec B., Kołpa M., Wolak Z., Wójkowska-Mach J., Różańska A.	2021	Effectiveness of hand disinfection depending on the type of nail plate coating – a study among nurses working in a specialist hospital; <i>Medycyna Pracy</i>
Kabała M., Aptekorz M., Martirosian G.	2019	The role of hospital environment and the hands of medical staff in the transmission of the <i>Clostridioides (Clostridium) difficile</i> infection; <i>Medycyna Pracy</i>
Niecwietajewa I., Prac W., Giemza M., Jakubiak J., Szymańczak M., Marusza W.	2018	Hand hygiene microbiological control as an important part of multimodal approach for HAI prevention; <i>Zakażenia XXI wieku</i>
Ragusa R., Giorgianni G., Lupo L., Sciacca A., Rametta S., La Verde M., Mulè S., Marranzano M.	2018	Healthcare-associated <i>Clostridium difficile</i> infection: role of correct hand hygiene in cross-infection control, <i>Journal of Preventive Medicine and Hygiene</i>
Hewlett A.L., Hohenberger H, Murphy C.N., Helget L., Hausmann H., Lyden E., Fey P.D., Hicks R.	2018	Evaluation of the bacterial burden of gel nails, standard nail polish, and natural nails on the hands of health care workers; <i>American Journal of Infection Control</i>
Jullian-Desayes I., Landelle C., Mallaret M., Brun-Buisson Ch., Barbut F.	2017	<i>Clostridium difficile</i> contamination of health care worker's hands and its potential contribution to the spread of infection: Review of the literature, <i>American Journal of Infection Control</i>
Hautemaniere A., Cunat L., Diguio N., Vernier N., Schall C., Daval M.C., Ambrogi V., Tousseul S., Hunter P.R., Hartemann P.	2010	Factors determining poor practice in alcoholic gel hand rub technique in hospital workers; <i>Journal of Infection and Public Health</i>
Spencer D. D.	2009	<i>Clostridium difficile</i> colitis in a health care worker: case report and review of the literature; <i>Digestive Diseases and Sciences</i>
Yildirim I., Ceyhan M., Bulent-Cengiz A., Bagdat A., Barin C., Kutluk T., Gur D.	2008	A prospective comparative study of the relationship between different types of ring and microbial hand colonization among pediatric intensive care unit nurses; <i>International Journal of Nursing Studies</i>
Al-Allak A., Sarasin S., Key S., Morris-Stiff G.	2008	Wedding rings are not a significant source of bacterial contamination following surgical scrubbing; <i>Annals of The Royal College of Surgeons of England</i>
Shemer A., Trau H., Davidovici B., Grunwald M.H., Amichai B.	2008	Onychomycosis due to artificial nails; <i>Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology</i>
Gordin F.M., Schultz M.E., Huber R., Zubairi S., Stock F., Kariyil J.	2007	A cluster of hemodialysis-related bacteremia linked to artificial fingernail; <i>Infection Control & Hospital Epidemiology</i>
Gupta A., Della-Latta P., Todd B., San Gabriel P., Haas J., Wu F., Rubenstein D., Saiman L.	2004	Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase producing <i>Klebsiella pneumoniae</i> in a neonatal intensive care unit linked to artificial nails, <i>Infection Control & Hospital Epidemiology</i>
Moolenaar R, Crutcher J.M., Venusto H.S.J., Lucille V.S.	2000	A prolonged outbreak of <i>pseudomonas Aeruginosa</i> in a neonatal intensive care unit did staff fingernails play a role in disease transmission; <i>Infection Control & Hospital Epidemiology</i>
Passaro D.J., Vugia D.J. i wsp.	1997	Postoperative <i>Serratia marcescens</i> wound infections traced to an out-of-hospital source. <i>Journal of Infectious Diseases</i>
Kaplan N., Davies A., Davies P.	1996	<i>Clostridium difficile</i> in a healthcare worker, <i>Journal of Hospital Infection</i>
Field E.A., McGowan P., Pearce P.K., Martin M.V.	1996	Rings and watches: should they be removed prior to operative dental procedures?; <i>Journal of Dentistry</i>

o rozprzestrzenianiu się pałeczek m.in. *K. pneumoniae* typu New Delhi (NDM) w środowisku szpitalnym. Wytwarzane przez nie karbapenemazy oraz beta-laktamazy typu ESβL utrudniają skuteczną antybiotykoterapię. W 2019 odnotowano 92 ognisk wywołanych przez *K. pneumoniae*, a zakażonych zostało 518 osób. Z kolei 295 osób zostało zakażonych *K. pneumoniae* wytwarzających metallo-beta-laktamazy (MBL) w 59 ogniskach szpitalnych [6]. Dokonany przegląd literatury jednoznacznie wskazuje na istotną rolę prawidłowej procedury mycia rąk, krótkich i naturalnych paznokci oraz ściąganie biżuterii w pracy przez personel medyczny (Tab. I) w zapobieganiu zakażeń związanych z opieką zdrowotną. Wiele danych wskazuje jednak, że problem wciąż jest bagatelizowany. Średni czas mycia dłoni często wynosi około 5 sekund, chociaż aktualne dane CDC mówią o co najmniej 20 sekundach. W celu ulepszenia kontroli higieny rąk tworzone zostają różne wynalazki jak np. inteligentny pierścień. Ma on wymiary klasycznego pierścienia, który rozpoznaje mydło czy środki do dezynfekcji, a także kontroluje utrzymywanie odpowiedniego czasu mycia rąk [32].

Ciągle monitorowanie procesu mycia rąk, utrzymanie krótkich naturalnych paznokci oraz brak biżuterii na dłoniach może mieć kluczowe znaczenie w przerwaniu łańcucha epidemiologicznego zakażeń i uniknięcie zakażeń pacjentów a także przedłużenia hospitalizacji z tym związanych. Jest to bardzo ważne zwłaszcza podczas trwającej pandemii COVID-19, która przypominała o konieczności prawidłowego mycia rąk.

Finansowanie

Praca częściowo finansowana w ramach środków projektu Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach [projekt nr KNW-2-050/D/9/N].

PIŚMIENNICTWO

- Al-Allak A., Sarasin S., Key S, Morris-Stiff G.: Wedding rings are not a significant source of bacterial contamination following surgical scrubbing; *Ann. R. Coll. Surg. Engl.* **90**, 133–135 (2008)
- Bulanda M., Żukowska A. i wsp.: System kontroli zakażeń związanych z opieką zdrowotną w Polsce, 2016, http://www.ses.edu.pl/files/download/system_kontroli_zakazen_szpitalnych_w_polsce_0.pdf (20.06.2021)
- Czepiel J., Drózd M., Pituch H., Kuijper E.J., Perucki W., Mielimonka A., Goldman S., Wultańska D., Garlicki A., Biesiada G.: *Clostridium difficile* infection: review. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **38**, 1211–1221 (2019)
- Field E.A., McGowan P., Pearce P.K., Martin M.V.: Rings and watches: should they be removed prior to operative dental procedures? *J. Dent.* **24**, 65–69 (1996)
- Główny Inspektorat Sanitarny. Stan sanitarny kraju w roku 2018, czerwiec 2019, <https://www.gov.pl/web/gis/raport---stan-sanitarny-kraju> (20.06.2021)
- Główny Inspektorat Sanitarny. Stan sanitarny kraju w roku 2019, wrzesień 2020, <https://www.gov.pl/web/gis/raport---stan-sanitarny-kraju> (20.06.2021)
- Gordin F.M., Schultz M.E., Huber R., Zubairi S., Stock F., Kariyil J.: A cluster of hemodialysis-related bacteremia linked to artificial fingernails; *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **28**, 743–744 (2007)
- Gupta A., Della-Latta P., Todd B., San Gabriel P., Haas J., Wu F., Rubenstein D., Saiman L.; Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit linked to artificial nails. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **25**, 210–215 (2004)
- Haque M., Sartelli M., McKimm J., Abu Bakar M.: Health care-associated infections – an overview. *Infect. Drug. Resist.* **11**, 2321–2333 (2018)
- Hautemaniere A., Cunat L., Diguio N., Vernier N., Schall C., Daval M.C., Ambrogi V., Tousseul S., Hunter P.R., Hartemann P.: Factors determining poor practice in alcoholic gel hand rub technique in hospital workers. *J. Infect. Public. Health.* **3**, 25–34 (2010)
- Hewlett A.L., Hohenberger H., Murphy C.N., Helget L., Hausmann H., Lyden E., Fey P.D., Hicks R.: Evaluation of the bacterial burden of gel nails, standard nail polish, and natural nails on the hands of health care workers. *Am. J. Infect. Control.* **46**, 1356–1359 (2018)
- Jullian-Desayes I., Landelle C., Mallaret M., Brun-Buisson Ch., Barbut F.: *Clostridium difficile* contamination of health care workers' hands and its potential contribution to the spread of infection. Review of the literature. *Am. J. Infect. Control.* **45**, 51–58 (2017)
- Kabała M., Aptekorz M., Martirosian G.: The role of hospital environment and the hands of medical staff in the transmission of the *Clostridioides (Clostridium) difficile* infection. *Med. Pr.* **70**, 739–745 (2019)
- Kaplan N., Davies A., Davies P.: *Clostridium difficile* in a health-care worker; *J. Hosp. Infect.* **32**, 322 (1996)
- Marra A.E., Schweizer M.L. i wsp.: Incidence and outcomes associated with *Clostridium difficile* infections: A systematic review and meta-analysis. *JAMA Netw. Open.* **3**, e1917597 (2020)
- Misiak B., Sierżantowicz R., Lewko J.: How to minimize the risk of SSI? Role of medical staff; *Zakażenia XXI wieku*, **2**, 279–284 (2019)
- Moolenaar R.L., Crutcher J.M., San Joaquin V.H., Sewell L.V., Hutwagner L.C., Carson L.A., Robison D.A., Smithee L.M., Jarvis W.R.: A prolonged outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit did staff fingernails play a role in disease transmission? *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.*, **21**, 80–85 (2000)
- Niecwietajewa I., Pracz W., Giemza M., Jakubiak J., Szymańczak M., Marusza W.: Hand hygiene microbiological control as an important part of multimodal approach for HAI prevention. *Zakażenia XXI wieku*, **1**, 209–215 (2018)
- Otter J.A., French G.L.: Survival of nosocomial bacteria and spores on surfaces and inactivation by hydrogen peroxide vapor. *J. Clin. Microbiol.* **47**, 205–207 (2009)
- Passaro D.J., Vugia D.J. i wsp.: Postoperative *Serratia marcescens* wound infections traced to an out-of-hospital source. *J. Infect. Dis.* **175**, 992–995 (1997)
- Ragusa R., Giorgianni G., Lupo L., Sciacca A., Rametta S., La Verde M., Mulè S., Marranzano M.: Healthcare-associated *Clostridium difficile* infection: role of correct hand hygiene in cross-infection control. *J. Prev. Med. Hyg.* **59**, E145–E152 (2018)

22. Shemer A., Trau H., Davidovici B., Grunwald M.H., Amichai B.: Onychomycosis due to artificial nails. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **22**, 998–1000 (2008)
23. Spencer D.D.: *Clostridium difficile* colitis in a health care worker: case report and review of the literature. *Dig. Dis. Sci.* **54**, 178–180 (2009)
24. Vermeil T., Peters A., Kilpatrick C., Pires D., Allegranzi B., Pittet D.: Hand hygiene in hospitals: anatomy of a revolution. *J. Hosp. Infection*, **101**, 383–392 (2019)
25. Wałaszek M., Kwapniewska W., Jagiencarz-Starzec B., Kołpa M., Wolak Z., Wójkowska-Mach J., Rożańska A.: Effectiveness of hand disinfection depending on the type of nail plate coating – a study among nurses working in a specialist hospital. *Med. Pr.* **72**, 29–37 (2021)
26. Weinstein R. A., Hota B.: Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin. Infect. Dis.* **39**, 1182–1189 (2004)
27. White J.: Jewelry and artificial fingernails in the health care environment: infection risk or urban legend? *Clin. Microbiol. Newsl.* **35**, 61–67 (2013)
28. Wikipedia, <https://encyklopedia.pwn.pl/haslo/higiena;3911648.html> (20.06.2021)
29. Wikipedia, <https://pl.wikipedia.org/wiki/Higiena> (20.06.2021)
30. World Health Organization: WHO guidelines on hand hygiene in health care, 15.01.2009, <https://www.who.int/publications/i/item/9789241597906> (20.06.2021)
31. Yildirim I., Ceyhan M., Bulent-Cengiz A., Bagdat A., Barin C., Kutluk T., Gur D.: A prospective comparative study of the relationship between different types of ring and microbial hand colonization among pediatric intensive care unit nurses. *Int. J. Nurs. Stud.* **45**, 1572–1576 (2008)
32. Zhang X., Kadimisetty K., Yin K., Ruiz C., Mauk M., Liu Ch.: Smart ring: a wearable device for hand hygiene compliance monitoring at the point-of-need. *Microsystem Technologies*, **25**, 3105–3110 (2019)

INFORMACJE Z POLSKIEGO TOWARZYSTWA MIKROBIOLOGÓW

Od ostatniej informacji o działalności Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, zamieszczonej w zeszytach nr 3 z 2021 r. kwartalników Advancements of Microbiology – Postępy Mikrobiologii i Polish Journal of Microbiology, ZG PTM zajmował się następującymi sprawami:

I. Informacja o Ogólnopolskim XXIX Zjeździe PTM.

- a) W dniu 30.09.2021 r. odbyło się zabranie Komitetu Organizacyjnego XXIX Ogólnopolskiego Zjazdu PTM z firmą, która od strony logistycznej pomogła by zebrać odpowiednie fundusze i zorganizować nasz Zjazd. Na rynku konferencyjnym nadal panuje ogromna niepewność i wstrzemięźliwość co do organizacji dużych spotkań. Zakładamy, że nasz Zjazd będzie przebiegać w formie tradycyjnej – kontaktowej, z tym związane koszty są większe niż przy organizacji konferencji on-line. Po rozeznaniu rynku – nawiązano kontakt z ponad 200 firmami z obszaru mikrobiologicznego. Bardzo niewiele firm aktualnie deklaruje chęć uczestnictwa w Zjeździe i organizację stoiska firmowego. W tej sytuacji postanowiono skrócić zjazd do 3 dni, zorganizować uroczystą kolację na miejscu w Sangate w pierwszym dniu zjazdu. Walne Zebranie Delegatów PTM i wybory członków Prezydium ZG PTM i Głównej Komisji Rewizyjnej PTM odbyły by się w drugim dniu, a w trzecim zakończenie Zjazdu i ceremonia wyróżniania najlepszych plakatów. Planuje się, że każdego dnia odbywać się będzie 6 sesji tematycznych. W dniu 19.11.2021 r. odbyło się kolejne zabranie Komitetu Organizacyjnego XXIX Ogólnopolskiego Zjazdu PTM z firmą MediCare S. C., która zdecydowała się zaangażować od strony logistycznej w organizację naszego Zjazdu. Po przeanalizowaniu możliwości lokalowych i finansowych, zdecydowano, że Zjazd odbędzie się w ciągu 3 dni od 15.09.2022 r. (czwartek) do 17.09.2022 r. (sobota), w pierwotnie planowanej lokalizacji – SANGATE HOTEL AIRPORT ul. Komitetu Obrony Robotników 32. Przygotowano nowy program ramowy. Podjęto **Uchwałę nr 21-2021** w sprawie terminu Zjazdu.
- b) Złożono aneks do umowy z Ministerstwem Nauki i Edukacji z prośbą o przedłużenie z 12 do 24 miesięcy okres realizacji zadania – Organizacja Zjazdu, z podaniem nowego terminu Zjazdu, uwzględniono zmianę firmy logistycznej oraz niższy kosztorys.
- c) Zmieniono i uaktualniono adres internetowy Ogólnopolskiego XXIX Zjazdu PTM: <https://zjazdptm2022.pl/> oraz podano nowe daty Zjazdu na banerze i plakacie Zjazdu PTM.
- d) Dalsze informacje na temat Zjazdu, w tym terminów nadsyłania streszczeń, zostaną przedstawione w okresie wiosennym 2022 r.

II. PTM udzielił patronatu honorowego akcji edukacyjnej „Antybiotykoterapia pod lupą farmaceuty” organizowana przez Polskie Towarzystwo Studentów Farmacji. Akcja odbyła się w dniach 25–29.10.2021 r. w każdym z 11 miast, gdzie znajdują się oddziały Stowarzyszenia: Białymstoku, Bydgoszczy, Gdańsku, Krakowie, Lublinie, Łodzi, Poznaniu, Sosnowcu, Szczecinie, Warszawie i Wrocławiu. Wydarzenie to jest cykliczną akcją edukacyjną organizowaną przez Polskie Towarzystwo Studentów Farmacji i skierowana jest głównie do uczniów szkół.

III. W dniu 04.10.2021 r. w wersji on-line odbyła się konferencja „V Mazowieckie Spotkanie Mikrobiologów i Epidemiologów organizowana przez Wiceprezes PTM, Konsultanta Wojewódzkiego w dziedzinie Mikrobiologia Lekarska Panią Prof. dr hab. Ewę Augustynowicz-Kopec. Konferencja była objęta patronatem PTM (**Uchwała nr 17-2021**).

IV. Sprawy Oddziału Terenowego w Rzeszowie.

- a) Ukonstytuował się Zarząd Oddziału Terenowego PTM w Rzeszowie w składzie: Przewodniczący – dr n. biol. Mariusz Worek, Zastępca Przewodniczącego – dr n. med. Marta Musz-Kawecka, Sekretarz – dr hab. n. med. Anna Żaczek, prof. URZ, Członek Zarządu – dr n. biol. Justyna Ruchała, Członek Zarządu – dr n. biol. Dorota Grabek-Lejko, Przewodnicząca Komisji Rewizyjnej – mgr Anna Nowakowska, Sekretarz KR – mgr Anna Koziół, Członkowie KR – mgr Małgorzata Błaziejowska i mgr Małgorzata Janicka-Szpond.
- b) W dniu 27.10. 2021 r. w Sali Seminaryjnej Zakładu Mikrobiologii Uniwersytetu Rzeszowskiego odbyło się pierwsze posiedzenie naukowo-szkoleniowe nowego Oddziału Terenowego PTM w Rzeszowie,
- c) W dniu 02.12.2021 r. odbyło się on-line drugie posiedzenie naukowo-szkoleniowe organizowane przez Zarząd Oddziału Rzeszowskiego PTM na tematy związane z racjonalną antybiotykoterapią oraz szybkimi testami PCR do diagnostyki chorób zakaźnych.

V. W dniu 05.11.2021 r. w Sali Senatu Uniwersytetu Szczecińskiego (Rektorat Uniwersytetu Szczecińskiego), odbyło się posiedzenie Szczecińskich Oddziałów: Polskiego Towarzystwa Immunologii Doświadczalnej i Klinicznej oraz Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów.

VI. W dniu 17.12.2021 r. odbyło się posiedzenie naukowo-szkoleniowe on-line organizowane przez Krakowski Oddział Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów, z wykładami na temat:

„Pandemia COVID-19, a zakażenia bakteryjne, specyfika pacjenta, a antybiotykoterapia”
oraz „Wykorzystanie szybkich testów multiplex PCR w diagnostyce i leczeniu zakażeń”

VII. Godnym uwagi jest planowana aktywność Sekcji Mikrobiologii Środowiskowej PTM. Przewodnicząca Sekcji Pani dr hab. Katarzyny Piwosz zgłosiła szereg pomysłów, które miałyby rozpropagować i uatrakcyjnić działalność tej Sekcji. Po przeanalizowaniu zgłoszonych przez Panią Przewodniczącą propozycji, Prezydium ZG PTM w większości poparło utworzenie profili Sekcji Mikrobiologia Środowiskowa PTM na kanałach społecznościowych pod warunkiem, że będą prowadzone i kontrolowane przez Zarząd Sekcji. Za profil na twitterze będzie odpowiedzialna Przewodnicząca Sekcji, a za profil na facebooku Wiceprzewodnicząca Sekcji. Zachęcamy wszystkich członków PTM związanych z mikrobiologią środowiskową do zapoznania się z informacjami Sekcji Mikrobiologii Środowiskowej PTM na stronie internetowej PTM i na prowadzonych przez nią profilach społecznościowych. Zapraszamy do aktywności w ramach nowopowstałej Sekcji.

VIII. Sprawy czasopism PTM

- a) W związku z podniesieniem rangi czasopisma Polish Journal of Microbiology i wzrostu wskaźników oceny (m.in. IF = 1,280, 5-letni IF = 1,352, CiteScore = 1.8), podjęto **Uchwałę nr 16-2021** w sprawie **zwiększenia opłat redakcyjnych za publikacje w Polish Journal of Microbiology z 350 USD do 500 USD + 23% VAT dla autorów korespondencyjnych – członków PTM** i z 700 USD do 800 USD + 23% VAT (jeżeli się stosuje) dla autorów korespondencyjnych nie będących członkami PTM. **Zwiększona opłata dotyczyć będzie manuskryptów przysyłanych do Redakcji PJM od 01.01.2022 r.**
- b) W związku z ciężką chorobą Pana Dawida Ceculi, Prezesa firmy Exeley, która wydaje on-line nasze czasopisma, zdecydowano, że od 2022 r. Advancements of Microbiology – Postępy Mikrobiologii i Polish Journal of Microbiology będą wydawane on-line przez firmę Sciendo, <https://www.sciendo.com/pl>, która stanowi część dużej firmy wydawniczej De Gruyter, <https://www.degruyter.com> publikującej książki i czasopisma od 270 lat i mającej swoje przedstawicielstwa w Berlinie, Bostonie, Pekinie, Bazylei, Wiedniu, Monachium i Warszawie. Podpisano umowę trójstronną przez: De Gruyter, Exeley i PTM o przejęciu wydawania on-line czasopism PTM przez Sciendo. Aktualnie następuje transfer czasopism z platformy Exeley na platformę Sciendo, co nie powinno zaburzyć wydania zeszytów AM-PM i PJM w 2022 r. Umowa wydawnicza dotycząca AM-PM wygasa z końcem 2021 r. i zostanie przedłużona na 2022 r. przez Sciendo na dotychczasowych warunkach.

IX. Podjęto **Uchwałę nr 19-2021** w sprawie nominacji Pana prof. dr hab. Grzegorza Węgrzyna przez PTM na Kandydata do Europejskiej Akademii Mikrobiologii (EAM) organizowanej przez FEMS.

X. PTM poparł Apel Zarządu Głównego Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych do Władz Państwowych o podjęcie pilnych prac legislacyjnych oraz działań zmierzających do ograniczenia rozprzestrzeniania się wirusa SARS-CoV-2 (treść Apelu dostępna na stronie internetowej PTM).

XI. Mamy przykrą wiadomość, że nasz Złoty Członek Wspierający Polskie Towarzystwo Mikrobiologów, firma HCS Europe – Hygiene & Cleaning Solutions, wspierająca finansowo PTM od 27.03.2017, ze względu na trudności w funkcjonowaniu firmy powstałe w wyniku pandemii COVID-19, podjęła decyzję o rezygnacji z członkostwa w PTM w końcu roku.

XII. FEMS zakłada, że pandemia SARS-CoV-2 wkrótce wygaśnie i zaprasza do udziału w konferencji organizowanej w formie klasycznej – stacjonarnej „Conference on Microbiology 2022” w dniach 30 czerwca – 2 lipca 2022 r. w Belgradzie, Serbia. Informacje na stronie <https://www.femsbelgrade2022.org/>. Prezes PTM został zaproszony do Komitetu Naukowego konferencji, a Pani prof. dr hab. Elżbieta A. Trafny do Conference Grants Committee Belgrade 2022.

XIII. Przypominamy o **edycji 2022 Nagrody Naukowej Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów im. prof. Edmunda Mikulaszka**. Nagroda jest przyznawana co dwa lata za opublikowane prace doświadczalne z zakresu szeroko pojętej mikrobiologii, wykonane przez młodych pracowników nauki, członków PTM, którzy w chwili wnioskowania o nagrodę nie przekroczyli 35 roku życia i nie byli w tym okresie samodzielnymi pracownikami naukowymi.

Edycja Konkursu 2022 dotyczyć będzie prac opublikowanych w latach 2020–2021.

Przewidziane są nagrody pieniężne w wysokości:

I stopnia – 5.000 zł; II stopnia – 3.000 zł; III stopnia – 2.000 zł

Szczegółowe informacje dotyczące zasad Konkursu przedstawia Regulamin Nagrody Naukowej PTM im. prof. Edmunda Mikulaszka oraz załączniki zamieszczone na stronie internetowej PTM.

XIV. Podjęło **Uchwały: nr 15-2021, nr 18-2021 i nr 22-2021** w sprawie przyjęcia nowych członków zwyczajnych PTM.

XV. Podjęto **Uchwałę nr 20-2021** w sprawie przedłużenia umowy z Panią Moniką Kucharską pełniącą obowiązki sekretarki w biurze ZG PTM na okres do 31.10.2022 r.

XVI. Przypominamy o obowiązku uiszczenia składki członkowskiej PTM za 2021 r., osobom które tego jeszcze nie uczyniły.

XVII. Z okazji nadchodzących Świąt Bożego Narodzenia i roku 2022 dziękujemy wszystkim członkom PTM za współpracę w minionym okresie oraz życzymy dużo zdrowia, pomyślności, sukcesów oraz rychłego zakończenia pandemii COVID-19, co wreszcie umożliwi nam spotkanie na XXIX Zjeździe PTM.

Warszawa, 14.12.2021 r.

SEKRETARZ
Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów

A. Laudy
dr hab. n. farm. Agnieszka E. Laudy

PREZES
Polskiego Towarzystwa Mikrobiologów

Stefan Tyski
prof. dr hab. Stefan Tyski



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



XXIX OGÓLNOPOLSKI ZJAZD POLSKIEGO TOWARZYSTWA MIKROBIOLOGÓW

15-17 WRZEŚNIA 2022,
WARSZAWA



Miejsce Zjazdu:

Sangate Hotel Airport
Warszawa, ul. Komitetu Obrony Robotników 32
(dawniej 17 Stycznia, róg ul. Żwirki i Wigury)

Główny Organizator Zjazdu:

Polskie Towarzystwo Mikrobiologów
ul. Stefana Banacha 1b, 02-097 Warszawa
ptm.zmf@wum.edu.pl, www.microbiology.pl

CZŁONKOWIE WSPIERAJĄCY PTM

**Członek Wspierający PTM – Srebrny
od 12.09.2017 r.**

The logo for Ecolab, featuring the word "ECOLAB" in a bold, sans-serif font. The letter "O" is replaced by a stylized circular icon containing a starburst or sunburst pattern.

Firma Ecolab Sp. z o.o. zapewnia: najlepszą ochronę środowiska pracy przed patogenami powodującymi zakażenia podczas leczenia pacjentów, bezpieczeństwo i wygodę personelu, funkcjonalność posiadanego sprzętu i urządzeń. Firma jest partnerem dla przemysłów farmaceutycznego, biotechnologicznego i kosmetycznego.

**Członek Wspierający PTM – Zwyczajny
od 12.09.2017 r.**

The logo for Merck, featuring the word "MERCK" in a bold, stylized, sans-serif font.

Merck Sp. z o.o. jest częścią międzynarodowej grupy Merck KGaA z siedzibą w Darmstadt, Niemcy i dostarcza na rynek polski od roku 1992 wysokiej jakości produkty farmaceutyczne i chemiczne, w tym podłoża mikrobiologiczne

SPIS TREŚCI

J. Krajewska, A.E. Laudy – Nowości w lekach przeciwbakteryjnych zarejestrowanych przez Europejską Agencję Leków – odpowiedź na raport WHO z 2017 r. o globalnym problemie wielolekooporności	249
A. Marszałik, K. Sidor, A. Kraśnicka, M. Wróblewska, T. Skirecki, T. Jagielski, R. Stachowiak – <i>Acinetobacter baumannii</i> – czynniki wirulencji i epidemiologia zakażeń	267
K. Korzekwa, K. Sobolewski, B. Sobolewski – Rana oparzeniowa – procesy jej rozwoju oraz wybrane czynniki etiologiczne zakażenia	281
M. Kozieł, A. Gałązka – Systematyka i analizy genomiczne bakterii z rodzaju <i>Azotobacter</i>	299
PUBLIKACJE METODYCZNE I STANDARDY	
K. Szarek, M. Kabała, G. Martirosian – Wpływ higieny rąk personelu medycznego na transmisję czynników etiologicznych zakażeń związanych z opieką zdrowotną	309
KOMUNIKATY, INFORMACJE	317

CONTENTS

J. Krajewska, A.E. Laudy – The European Medicines Agency approved the new antibacterial drugs – response to the 2017 WHO report on the global problem of multi-drug resistance	249
A. Marszałik, K. Sidor, A. Kraśnicka, M. Wróblewska, T. Skirecki, T. Jagielski, R. Stachowiak – <i>Acinetobacter baumannii</i> – virulence factors and epidemiology of infections ...	267
K. Korzekwa, K. Sobolewski, B. Sobolewski – Burn wound – the processes of its development and selected etiological factors of infection	281
M. Kozieł, A. Gałązka – Systematics and genomic analysis of bacteria of the genus <i>Azotobacter</i> ...	299
METHODS AND STANDARDS	
K. Szarek, M. Kabała, G. Martirosian – The impact of hand hygiene of healthcare professionals on the transmission of etiological agents of healthcare associated infections – HAI	309
NEW REPORTS, INFORMATION	217

Warunki prenumeraty

Zapytania o warunki prenumeraty oraz zamówienia proszę kierować do Wydawcy
Roma Walendzewicz
tel. 607 217 879
e-mail: roma.walendzewicz@gmail.com

Wpłaty należy dokonywać na rachunek bankowy
Bank BGŻ 57 2030 0045 1110 0000 0261 2550
Polskie Towarzystwo Mikrobiologów
ul. Banacha 1 b, 02-097 Warszawa

Cena 1 zeszytu 40 zł + VAT 8%