

tom 28. nr 4. grudzień 2023
volume 28, no 4, December 2023

kwartalnik
quarterly

ISSN 1427-3101
eISSN 2083-2834

4/23

WYDANIE SPECJALNE

Alergia Astma Immunologia

przegląd kliniczny

IMPACT
FACTOR

0.2

PUNKTY
MEIN

20

Index
Copernicus
Value

101.15

KSIĄŻKA ABSTRAKTÓW SESJI PLAKATÓW NAUKOWYCH

II Sympozjum Naukowo-Szkoleniowe „Racjonalna Terapia Przeciwdrobnoustrojowa”
Łódź 2023

© Alergia Astma Immunologia 2023
www.alergia-astma-immunologia.pl



II Sympozjum Naukowo-Szkoleniowe
„Racjonalna Terapia Przeciwdrobnoustrojowa”

18 listopada 2023, Łódź

Książka abstraktów sesji plakatów naukowych

Komitety naukowy symposium

dr hab. Dorota Pastuszek-Lewandoska, prof. UM – przewodnicząca

dr Małgorzata Brauncajs

prof. dr hab. Ewa Brzezińska-Lasota

dr hab. Maciej Chałubiński, prof. UM

dr hab. Anna Lewandowska-Polak, prof. UM

dr hab. Waldemar Machała, prof. UM

dr hab. Monika Sienkiewicz, prof. UM

prof. dr hab. Piotr Sieroszewski

Komitety organizacyjny symposium

lek. Filip Bielec – przewodniczący

dr Małgorzata Brauncajs

Michalina Bawor

Stanisław Klimaszewski

Aleksandra Prusak



Program Sympozjum

- 9:00 Rozpoczęcie rejestracji uczestników
- 9:50-10:00 Otwarcie Sympozjum
dr hab. D. Pastuszek-Lewandoska, prof. UM
- 10:00-11:00 SESJA I – Immunologia i reumatologia**
Prowadzący:
dr hab. M. Chałubiński, prof. UM
dr hab. A. Lewandowska-Polak, prof. UM
- 10:00-10:20 – Racjonalna antybiotykoterapia u chorych na atopowe zapalenie skóry
dr hab. M. Chałubiński, prof. UM
- 10:20-10:40 – Immunosupresja a leczenie przeciwdrobnoustrojowe
dr hab. A. Lewandowska-Polak, prof. UM
- 10:40-11:00 – „Zasadność” antybiotykoterapii w infekcjach wirusowych
dr A. Gajewski
- 11:00-11:30 przerwa
- 11:30-12:50 SESJA II – Ginekologia i położnictwo**
Prowadzący:
prof. dr hab. A. Karowicz-Bilińska
dr K. Góralska
- 11:30-11:50 – Porównanie flory bakteryjnej ekosystemu jamy ustnej i pochwy w I trymestrze ciąży
lek. Hanna Klimek
- 11:50-12:10 – Wpływ infekcji HPV na przebieg wczesnej ciąży
dr Łukasz Bober
- 12:10-12:30 – T z zespołu TORCH – czyli trudności w diagnostyce i leczeniu toksoplazmozy
dr A. Bekier
- 12:30-12:50 – Zakażenia grzybicze pochwy – aktualny problem
dr K. Góralska
- 12:50-13:20 przerwa
- 13:20-14:30 SESJA III – Intensywna terapia**
Prowadzący:
dr hab. W. Machała, prof. UM
dr M. Brauncajs
- 13:20-13:40 – Wstrząs septyczny
dr Magdalena Korpas-Wasiak
- 13:40-14:00 – Wstrząs septyczny w przebiegu śródmiąższowego zapalenia płuc – takich chorych też dają się uratować
dr hab. W. Machała, prof. UM
- 14:00-14:20 – Szpitalne zapalenie płuc
dr M. Brauncajs
- 14:20-14:35 WYKŁAD SPONSORA – Biomerieux**
- 14:35-15:00 przerwa
- 15:00-16:20 SESJA IV – Choroby wewnętrzne**
Prowadzący:
dr hab. A. Gąsiorowska, prof. UM
dr hab. J. Kasznicki, prof. UM
- 15:00-15:20 – Rola czynników infekcyjnych w indukowaniu zaostrzeń nieswoistych chorób zapalnych jelit
dr hab. A. Gąsiorowska, prof. UM
- 15:20-15:40 – Profilaktyka infekcyjnego zapalenia wsierdza
dr E. Cieplucha
- 15:40-16:00 – Interakcje antybiotyków z innymi lekami
dr hab. J. Kasznicki, prof. UM
- 16:00-16:20 – Dlaczego dobra diagnostyka mikrobiologiczna jest ważna?
dr B. Zarzycka
- 16:20-16:30 Ogłoszenie zwycięzców sesji posterowej, zamknięcie sympozjum
dr hab. D. Pastuszek-Lewandoska, prof. UM

Sesja posterowa

- P.1** ZAHAMOWANIE PROCESÓW DEGRADACJI RNA JAKO NOWY CEL MOLEKULARNY W ZWALCZANIU LEKOOPORNYCH PAŁECZEK *HELICOBACTER PYLORI*
Jakub Skibiński, Przemysław Płociński, Yaroslav Lavrynychuk, Magdalena Mikołajczyk-Chmiela
- P.2** POKREWIEŃSTWO FILOGENETYCZNE SZCZEPÓW VRE IZOLOWANYCH Z ZAKAŻEŃ I KOLONIZACJI U PACJENTÓW Z POTWIERDZONYM COVID-19 HOSPITALIZOWANYCH W SPSK-2 W SZCZECINIE
Helena Masiuk, Sobstyl Martyna, Agata Pruss, Mutaz Saleem, Joanna Jursa-Kulesza, Anna Lichota, Monika Sienkiewicz
- P.3** BADANIA NAD BIAŁKAMI KOMPLEKSU DEGRADOSOMU RNA U *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* JAKO ŚCIEŻKA DO WYNALEZIENIA NOWYCH LEKÓW PRZECIWGRUŻLICZYCH
Yaroslav Lavrynychuk, Przemysław Płociński, Jakub Skibiński, Magdalena Mikołajczyk-Chmiela
- P.4** NATURALNE ŚRODKI PRZECIWDROBNOUSTROJOWE I ICH WYKORZYSTANIE W TERAPII PRZECIWKO PATOGENOM LEKOOPORNYM
Julia Gałęziwska, Weronika Kruczkowska, Barbara Zawada, Aleksandra Góralczyk-Bińkowska, Elżbieta Kozłowska, Paulina Żelechowska, Justyna Agier
- P.5** OLEJKI ETERYCZNE JAKO WSPARCIE MYKOSTATYKÓW W TERAPII PRZECIWDROŹDŻYCOWEJ
Urszula Grykin
- P.6** WPŁYW WYBRANYCH AGONISTÓW RECEPTORÓW TLR NA GENEROWANIE ODPOWIEDZI ZAPALNEJ I PRZECIWWIRUSOWEJ KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ PŁUCNYCH
Wojciech Karpik, Izabela Gulbas, Magdalena Mikołajczyk-Chmiela, Maciej Chałubiński
- P.7** KANNABINOIDY ROŚLINNE W WALCE Z PATOGENAMI
Weronika Kruczkowska, Julia Gałęziwska, Barbara Zawada, Aleksandra Góralczyk-Bińkowska, Elżbieta Kozłowska, Paulina Żelechowska, Justyna Agier
- P.8** WPŁYW KOSMETYKÓW EMOLIENTOWYCH NA NOSICIELSTWO *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NA SKÓRZE LUDZI Z ROZPOZNANIEM AZS
Paweł Lisiecki, Alicja Czekąła, Jarema Wódka
- P.9** CZY TOKSYNY BAKTERYJNE MODYFIKUJĄ EKSPRESJĘ WYBRANYCH RECEPTORÓW TOLL-PODOBNYCH W LIMFOCYTACH OSÓB ZDROWYCH?
Anna Michalak-Wikalińska, Małgorzata Szybka, Janina Ł. Grzegorzczak, Dorota Pastuszek-Lewandoska
- P.10** WARTOŚĆ CT GENU TOKSYNY B (TCDB) W PRÓBKACH KAŁU WOLNYCH OD TOKSYN W ZALEŻNOŚCI OD POCHODZENIA I CIĘŻKOŚCI ZAKAŻENIA *CLOSTRIDIODES DIFFICILE*
Sylwia Moskwa, Małgorzata Brauncajs, Beata Zarzycka, Dorota Pastuszek-Lewandoska
- P.11** PROCES AUTOIMMUNIZACJI TARCZYCY W KONTEKŚCIE ZAKAŻEŃ WIRUSEM SARS-COV-2
Gabriela Pawlak, Paulina Żelechowska, Anna Piłat
- P.12** ZAHAMOWANIE PROCESÓW DEGRADACJI RNA JAKO NOWY CEL MOLEKULARNY W ZWALCZANIU LEKOOPORNYCH PAŁECZEK *HELICOBACTER PYLORI*
Krzysztof Rus
- P.13** ZMIANY W LICZEBNOŚCI BAKTERII Z RODZAJU *STAPHYLOCOCCUS* U DZIECI W ZAOSTRZENIACH AZS PO ZASTOSOWANIU NIEANTYBIOTYKOWEJ TERAPII GENCJANĄ
Izabela Szczerba, Jolanta Żurawska-Olszewska, Joanna Krzysiek, Joanna Narbutt, Dorota Pastuszek-Lewandoska
- P.14** PROBLEM WIELOLEKOOPORNOŚCI U SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS HOMINIS* IZOLOWANYCH Z ZAKAŻEŃ KRWI
Magdalena Szemraj, Paulina Glajzner, Kamila Olszowiec, Monika Sienkiewicz
- P.15** MECHANIZMY OPORNOŚCI PRZECIWGRZYBICZEJ PRZEBIEGAJĄCE Z UDZIAŁEM MASTOCYTÓW
Paulina Żelechowska, Justyna Agier, Aleksandra Góralczyk-Bińkowska, Elżbieta Kozłowska
- P.16** ZASTOSOWANIE WODNEGO ROZTWORU GENCJANY JAKO NIEANTYBIOTYKOWEJ METODY ZMNIEJSZENIA LICZEBNOŚCI BAKTERII GRAM-DODATNICZYCH W ZAOSTRZENIACH AZS U DZIECI Z WOJEWÓDZTWA ŁÓDZKIEGO
Jolanta Żurawska-Olszewska, Izabela Szczerba, Joanna Krzysiek, Joanna Narbutt, Dorota Pastuszek-Lewandoska

Prace nagrodzone w sesji plakatów naukowych

NAGRODA GŁÓWNA

ZAHAMOWANIE PROCESÓW DEGRADACJI RNA JAKO NOWY CEL MOLEKULARNY
W ZWALCZANIU LEKOOPORNYCH PAŁECZEK *HELICOBACTER PYLORI*

JAKUB SKIBIŃSKI, PRZEMYSŁAW PŁOCIŃSKI, YAROSLAV LAVRYNCHUK, MAGDALENA MIKOŁJCZYK-CHMIELA

WYRÓŻNIENIE

POKREWIEŃSTWO FILOGENETYCZNE SZCZEPÓW VRE IZOLOWANYCH Z ZAKAŻEŃ
I KOLONIZACJI U PACJENTÓW Z POTWIERDZONYM COVID-19 HOSPITALIZOWANYCH
W SPSK-2 W SZCZECINIE

HELENA MASIUJ, SOBSTYL MARTYNA, AGATA PRUSS, MUTAZ SALEEM, JOANNA JURSA-KULESZA, ANNA LICHOTA, MONIKA SIENKIEWICZ

WYRÓŻNIENIE

BADANIA NAD BIAŁKAMI KOMPLEKSU DEGRADOSOMU RNA U *MYCOBACTERIUM
TUBERCULOSIS* JAKO ŚCIEŻKA DO WYNALEZIENIA NOWYCH LEKÓW
PRZECIWGRUŻLICZYCH

YAROSLAV LAVRYNCHUK, PRZEMYSŁAW PŁOCIŃSKI, JAKUB SKIBIŃSKI, MAGDALENA MIKOŁJCZYK-CHMIELA

ZAHAMOWANIE PROCESÓW DEGRADACJI RNA JAKO NOWY CEL MOLEKULARNY W ZWALCZANIU LEKOOPORNYCH PAŁECZEK *HELICOBACTER PYLORI*

JAKUB SKIBIŃSKI¹, PRZEMYSŁAW PŁOCIŃSKI²,
YAROSLAV LAVRYNCHUK¹, MAGDALENA
MIKOŁAJCZYK-CHMIELA²

¹Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Szkoła
Doktorska BioMedChem UŁ i Instytutów PAN
w Łodzi, Uniwersytet Łódzki

²Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra
Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Uniwersytet
Łódzki

Nawet połowa populacji ludzi na świecie może być zakażona Gram-ujemną pałeczką *Helicobacter pylori*. U około 20% osób, zakażenie prowadzi do zapalenia błony śluzowej żołądka, choroby wrzodowej żołądka czy owrzodzeń dwunastnicy. W konsekwencji przetrwałego zakażenia może dochodzić do rozwoju raka żołądka, który jest przyczyną około 1 mln zgonów rocznie. W obliczu narastającej oporności bakterii na antybiotyki, w tym izolatów klinicznych *H. pylori* (ok. 40% izolatów w Europie opornych na metronidazol), poszukuje się nowych celów molekularnych, których zaburzenie będzie prowadzić do eradykacji *H. pylori*. Synteza, jak również degradacja RNA, są kluczowymi dla przeżycia bakterii procesami, których zahamowanie moduluje profil oporności na antybiotyki i wpływa na zdolność do przeżywania drobnoustrojów w warunkach stresowych. Na podstawie danych literaturowych opisujących białka zaangażowane w metabolizm RNA u blisko spokrewnionych patogenów, zidentyfikowano fosforylase polinukleotydową (polynucleotide phosphorylase, PNP), jako innowacyjny cel molekularny do poszukiwania przyszłych chemioterapeutyków przeciwko *H. pylori*.

Celem pracy było Wyprodukowanie i oczyszczenie białka rekombinowanego PNP i przeprowadzenie testów enzymatycznych w celu wytypowania kandydatów związków chemicznych jako potencjalnych inhibitorów białka PNP *H. pylori*.

Białko PNP wyprodukowano w systemie ekspresyjnym *Escherichia coli* BL21 i oczyszczano metodami chromatografii: 1) metalopowinowactwa, 2) jonowymiennej oraz 3) separacji żelowej. W celu wytypowania związków chemicznych hamujących aktywność białka PNP wykorzystano komercyjnie dostępną bibliotekę ponad 8 tys. związków bioaktywnych z firmy MedChemExpress. Biblioteka składa się ze wstępnie scharakteryzowanych substancji chemicznych, spośród których znajdują się np. antybiotyki, chemioterapeutyki czy substancje pochodzenia naturalnego. Ponadto, opracowano test fluorymetryczny z wykorzystaniem Tioflawiny T w celu oceny stopnia zahamowania aktywności białka PNP, mierząc aktywność poliadenylacyjną PNP. Wyniki poddano analizie matematycznej i wstępnie wytypowano związki o charakterze hamującym aktywność białka PNP.

Wybrano 360 związków chemicznych, które w stężeniu 100 mM hamowały aktywność białka PNP *H. pylori in vitro* na poziomie >90%. Wśród potencjalnych inhibitorów znajdowały się następujące związki chemiczne: 1) wpływające na syntezę RNA/DNA tj. związki o aktywności przeciwwirusowej (np. atazanawir); 2) antybiotyki i chemioterapeutyki (np. cefepim, trimetoprim); 3) związki przeciwprątkowe (pochodne rifampicyny); 4) związki wpływające na szlaki metaboliczne komórki związane z apoptozą (np. mangiferin, licofelone) lub 5) związki o aktywności przeciwgrzybiczej (np. fluazinan).

Wstępnie zidentyfikowano substancje zdolne do hamowania aktywności białka PNP *H. pylori in vitro*. Dalsze badania posłużą zawężeniu puli inhibitorów do grupy związków o najlepszym potencjale aplikacyjnym oraz otrzymaniu pochodnych tych związków o najlepszych właściwościach hamujących. Zostaną wyznaczone wartości MIC i MBC względem szczepów referencyjnych *H. pylori* oraz wobec izolatów klinicznych. Badania będą poparte wykluczeniem toksyczności związków wobec ludzkiego białka PNP i wzorcowych linii komórek eukariotycznych.

POKREWIEŃSTWO FILOGENETYCZNE SZCZEPÓW VRE IZOLOWANYCH Z ZAKAŻEŃ I KOLONIZACJI U PACJENTÓW Z POTWIERDZONYM COVID-19 HOSPITALIZOWANYCH W SPSK-2 W SZCZECINIE

HELENA MASIUK¹, SOBSTYL MARTYNA¹, AGATA PRUSS², MUTAZ SALEEM¹, JOANNA JURSA-KULEZA¹, ANNA LICHOTA³, MONIKA SIENKIEWICZ¹

¹Samodzielna Pracownia Mikrobiologii Lekarskiej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

²Zakład Medycyny Laboratoryjnej, Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie

³Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Powaga sytuacji epidemiologicznej w dobie pandemii COVID-19 uniemożliwiła nadzór nad rozprzestrzenianiem się m. in. nie tylko SARS-CoV2, ale również wankomycynoopornych *Enterococcus* (VRE), należących do priorytetowych czynników etiologicznych zakażeń szpitalnych. VRE transmitowane są głównie poprzez ręce personelu od pacjentów skolonizowanych i aktualnie zakażonych oraz poprzez skontaminowany sprzęt medyczny.

Z wykorzystaniem metody PFGE określono pokrewieństwo filogenetyczne 45 szczepów VRE izolowanych z zakażeń i kontroli kolonizacji od pacjentów z COVID-19 hospitalizowanych w Samodzielnym Publicznym Szpitalu Klinicznym nr 2 w Szczecinie.

Wyodrębniono trzy typy genetyczne (A, B, C) i określono potencjalny charakter epidemiczny szczepów. Typy A, B, C reprezentowane były kolejno przez 31, 6 i 8 szczepów. U 16 pacjentów potwierdzono nosicielstwo VRE, u 10 z nich potwierdzono zakażenie VRE. U 3 pacjentów, u których nie wykonano badania przesiewowego wystąpiło zakażenie o etiologii VRE.

Uzyskane wyniki wskazują na rozprzestrzenienie się w okresie lat 2021-2022, na terenie SPSK 2 w Szczecinie trzech dominujących typów klonalnych VRE. Szczepy typu genetycznego A rozprzestrzeniły się wśród pacjentów wszystkich oddziałów. Typ genetyczny B został zidentyfikowany na przestrzeni 2 miesięcy u 3 pacjentów. Szczep typu genetycznego C potwierdzono tylko u pacjentów oddziału TCOVID. Rozprzestrzenianie się wyodrębnionych typów klonalnych VRE było najprawdopodobniej konsekwencją niesystematycznie przeprowadzanych procedur badań przesiewowych i ograniczonej lub niemożliwej izolacji skolonizowanych i zakażonych pacjentów. Identyfikacja i izolacja nosicieli, izolacja kontaktowa osób zakażonych i ochrona pozostałych pacjentów, dezynfekcja środowiska szpitalnego i prawidłowa higiena rąk są niezbędne w zapobieganiu rozprzestrzeniania się szczepów VRE. Sytuacja epidemiologiczna wpłynęła negatywnie na proces kontroli zakażeń szpitalnych.

BADANIA NAD BIAŁKAMI KOMPLEKSU DEGRADOSOMU RNA U *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* JAKO ŚCIEŻKA DO WYNALEZIENIA NOWYCH LEKÓW PRZECIWGRUŻLICZYCH

**YAROSLAV LAVRYNCHUK¹, PRZEMYSŁAW
PŁOCIŃSKI², JAKUB SKIBIŃSKI¹, MAGDALENA
MIKOŁAJCZYK-CHMIELA²**

¹Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Szkoła
Doktorska BioMedChem UŁ i Instytutów PAN
w Łodzi, Uniwersytet Łódzki

²Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra
Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Uniwersytet
Łódzki

Powszechne nabywanie oporności drobnoustrojów na obecnie stosowane antybiotyki jest poważnym problemem współczesnej medycyny. Najgroźniejsze jest rozprzestrzenianie się oporności wśród drobnoustrojów chorobotwórczych, zwłaszcza oporności wielolekowej, co znacznie komplikuje leczenie chorób zakaźnych. Jedną z takich chorób jest gruźlica, wywoływana przez prątek gruźlicy (*Mycobacterium tuberculosis*), który jest reprezentatywnym gatunkiem bakterii, u których obserwuje się narastanie lekooporności i występowanie oporności wielolekowej. Gruźlica od tysięcy lat pozostaje jednym z głównych problemów zdrowotnych ludzi, obecnie powodując ponad półtora miliona zgonów rocznie na całym świecie. Liczba ta jest to liczba porównywalna do rocznej liczby zgonów powodowanych przez Covid-19 podczas pandemii. Leczenie gruźlicy jest długie i skomplikowane, gdyż wymaga stosowania kilku różnych antybiotyków na raz przez okres co najmniej 6-9 miesięcy. Ze względu na nabywanie lekooporności przez prątki wobec leków pierwszego rzutu, nieustannie trwają badania nad nowymi sposobami zwalczania tych bakterii, pozostając ważnym wyzwaniem współczesnej mikrobiologii.

Najbardziej obiecujące strategie zwalczania gruźlicy opierają się na poszukiwaniu nowych bądź modyfikacji istniejących leków pierwszego rzutu. Jednym z leków obecnie powszechnie stosowanych w leczeniu gruźlicy jest pirazynamid, na który coraz częściej nabywają oporność prątki gruźlicy klasyfikowane jako wielolekooporne (z ang. *multi-drug resistant*, MDR) oraz ekstremalnie lekooporne (z ang. *extensively-drug-resistant*, XDR). Pomimo, że pirazynamid jest stosowany do leczenia gruźlicy od ponad 50 lat, to dokładny mechanizm jego działania oraz jego cel molekularny w komórkach prątków nie są dokładnie poznane. W literaturze naukowej można odnaleźć coraz więcej wskazówek, że jednym

z celów molekularnych pirazynamidu w komórkach *M. tuberculosis* może być kompleks degradosomu RNA, który bierze udział w degradacji RNA, regulacji ekspresji genów przy udziale małych niekodujących RNA, dojrzewaniu RNA czy w procesie trans-translacji – systemu naprawy błędów podczas procesu translacji. Biorąc pod uwagę powyższe głównym celem badań jest poznanie mechanizmu oddziaływania pirazynamidu na podstawowe białka degradosomu - helikazę RhlE oraz fosforylaze polinukleotydową (PNPażę), co umożliwiłoby zaburzenie niezbędnych dla przeżycia prątków gruźlicy procesów związanych z metabolizmem RNA, czy zablokowanie mechanizmu trans-translacji.

Prace eksperymentalne rozpoczęto od zbadania oddziaływania białko-białko pomiędzy RhlE a PNP. Wyprodukowano białka rekombinowane RhlE oraz PNP, które oczyszczono stosując techniki chromatograficzne. Mając do dyspozycji wysoce oczyszczone białka przeprowadzono eksperyment, w którym oceniano tworzenie się kompleksu z ich udziałem. Kolejnym zadaniem było zweryfikowanie oddziaływania pirazynamidu z badanymi składnikami degradosomu, a następnie przeprowadzenie badań przesiewowych z użyciem m.in. pochodnych pirazynamidu, oraz innych związków niskocząsteczkowych mogących wykazywać aktywność przeciwprątkową. Badania przesiewowe wobec biblioteki bioaktywnych związków chemicznych (MedChemExpress) pozwoliły zidentyfikować 370 substancji (spośród >8200) zdolnych do zahamowania aktywności poliadenylacyjnej PNP-azy do poziomu poniżej 90 % aktywności przy stężeniu 100 μ M. W dalszych etapach badań zostanie zweryfikowane działanie bakteriostatyczne /bakteriobójcze wyłonionych związków wobec żywych prątków *M. tuberculosis*. Ponadto, rozpoczęto badania zmierzające do określenia struktury przestrzennej białka PNP w celu poznania epitopów wiążących pochodne pirazynamidu i innych potencjalnych inhibitorów. Przeprowadzono próbę krystalizacji białka PNP w celu zbadania jego struktury za pomocą technik krystalografii. Struktura tego białka zostanie również zbadana techniką mikroskopii krioelektronowej, we współpracy z grupą biologów strukturalnych z Uniwersytetu Warszawskiego. Wiedza na temat struktury badanych białek pomoże w zaplanowaniu ukierunkowanej modyfikacji pochodnych pirazynamidu lub innych inhibitorów, w celu poprawy ich właściwości hamujących aktywność białka PNP i uzyskania maksymalnego efektu przeciwprątkowego.

Otrzymane wyniki badań przyczyniają się do zrozumienia biologicznych funkcji kompleksu degradosomu RNA - niezbędnego dla przeżycia prątków gruźlicy. Badania pozwolą na wytypowanie

niskocząsteczkowych związków bioaktywnych mających zdolność do zahamowania aktywności enzymatycznych białek degradosomu, bądź zaburzających oddziaływanie białko-białko pomiędzy składnikami kompleksu. Należy oczekiwać, że wielokierunkowe badania mikrobiologiczne, biochemiczne i strukturalne nad innowacyjnymi inhibitorami działającymi hamująco wobec degradosomu RNA, o najlepszej aktywności przeciwko żywym prątkom gruźlicy, pozwolą na opracowanie skutecznych terapii przeciwprątkowych w niedalekiej przyszłości. Ponadto, nasze badania pomogą wyjaśnić aktywność pirazynamidu wobec prątków gruźlicy na poziomie molekularnym.

NATURALNE ŚRODKI PRZECIWDROBNOUSTROJOWE I ICH WYKORZYSTANIE W TERAPII PRZECIWKO PATOGENOM LEKOOPORNYM

JULIA GAŁEZIEWSKA¹, WERONIKA
KRUCZKOWSKA¹, BARBARA ZAWADA¹,
ALEKSANDRA GÓRALCZYK-BIŃKOWSKA²,
ELŻBIETA KOZŁOWSKA², PAULINA
ŻELECHOWSKA², JUSTYNA AGIER²

¹Studenckie Koło Naukowe *Let's Talk Science!*
przy Zakładzie Mikrobiologii, Genetyki
i Immunologii Doświadczalnej Uniwersytetu
Medycznego w Łodzi, Centrum Badań
Molekularnych Chorób Cywilizacyjnych
MOLEcoLAB, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Mikrobiologii, Genetyki i Immunologii
Doświadczalnej, Centrum Badań Molekularnych
Chorób Cywilizacyjnych MOLEcoLAB,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Co roku na świecie obserwowany jest wzrost oporności drobnoustrojów na antybiotyki, co jest spowodowane ich nieodpowiednim, przede wszystkim nadmiernym stosowaniem. Według danych Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków, w 2021 r. zanotowano zwiększenie lekooporności m.in. szczepów należących do *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus spp.* a także *Streptococcus pneumoniae* oraz *Escherichia coli*. Z tego względu, naukowcy i lekarze coraz częściej podkreślają kluczową rolę substancji naturalnych we wspomaganie zwalczania drobnoustrojów patogennych.

Najczęściej wykorzystywanymi „naturalnymi antybiotykami”, inaczej nazywanymi fitofarmaceutykami, są substancje pochodzenia roślinnego podawane pacjentom w postaci płynnych ekstraktów, olejków, proszków lub tabletek. W większości, związki te są zaliczane do antyoksydantów i odznaczają się działaniem przeciwzapalnym oraz przeciwdrobnoustrojowym. Są przy tym mniej cytotoksyczne dla komórek budujących organizm człowieka. Najszerzej poznanymi i wykazującymi najlepsze efekty substancjami są eugenol, piperyna, berberyna oraz tomatydyna. Ich działanie przeciwdrobnoustrojowe w głównej mierze opiera się na inhibicji pompy wypływowej, syntezy enzymów odpowiedzialnych za dezaktywację antybiotyków, zwiększaniu przepuszczalności błony bakterii dla antybiotyków oraz usuwaniu i dezaktywacji plazmidu odpowiedzialnego za przenoszenie genów lekooporności.

Dalszy rozwój w zakresie wykorzystywania fitofarmaceutyków w terapiach przeciwdrobnoustrojowych może przynieść obiecujące wyniki w walce z lekoopornością. Można również wnioskować, że substancje te, ze względu na swoje naturalne pochodzenie, zachęcają sceptycznie nastawione do antybiotykoterapii społeczeństwo do wspomaganie zwalczania infekcji przy użyciu fitofarmaceutyków. Otwiera to nowe możliwości radzenia sobie z narastającym problemem zwiększania odsetku szczepów bakterii lekoopornych.

OLEJKI ETERYCZNE JAKO WSPARCIE MYKOSTATYKÓW W TERAPII PRZECIWDROŹDŻYCOWEJ

URSZULA GRYKIN

SKN Mykologów, Katedra Mikrobiologii
i Mykologii, Wydział Biologii i Biotechnologii,
Uniwersytet Warmiński – Mazurski w Olsztynie

Zakażenia drożdżami są trudne w leczeniu, a kuracja może trwać nawet kilka miesięcy. Używanie leków syntetycznych jest skuteczne, ale równocześnie istnieje prawdopodobieństwo negatywnych skutków na organizm pacjenta. Przyjmowanie antybiotyków może doprowadzić do obniżenia odporności, do licznych powikłań oraz oporności szczepów na leki. W celu wsparcia terapii mykostatykami, poszukuje się rozwiązań wśród środków naturalnych.

W celu sprawdzenia zahamowania wzrostu pięciu szczepów drożdży: *Pichia kudriavzevii*, (stadium teleomorficzne dla *Candida krusei*), zastosowano dwa olejki eteryczne – tymiankowy i cynamonowy, oraz porównawczo dwa mykostatyki – flukonazol i amfoterycynę.

W pierwszej części badań ustalono minimalne stężenie hamujące wykorzystując płytki titracyjne. Przygotowano szereg dwukrotnych rozcieńczeń olejków, a do każdego z dołków płytki dodawano zawiesinę drożdży, podłoże płynne oraz substancję potencjalnie drożdżobójczą. Wykonano próby kontrolne oraz takie, w których zastosowano nierozcieńczone olejki. Wyniki odczytano za pomocą czytnika płytek Tecan przy długości fali 600 nm.

W końcowej części badań wybrano trzy szczepy do wykonania metody dyfuzyjno-krażkowej. Na podłoża mikrobiologiczne z zawiesiną drożdży wyłożono krążki bibułowe nasączone olejkami eterycznymi i mykostatykami.

Porównując uzyskane wyniki z odczytu płytek titracyjnych, olejek cynamonowy nie okazał się dobrym środkiem drożdżobójczym, ponieważ reakcja próby negatywnej była na poziomie zastosowania nierozcieńczonej substancji. Analiza wyników z olejkami tymiankowymi wykazała, że im mniejsze jest jego stężenie, tym lepsze jest działanie drożdżobójcze. Wyniki metody dyfuzyjno-krażkowej wykazały, że oba olejki oraz mykostatyki całkowicie zahamowały wzrost drożdży.

Przeprowadzone badania mogą zostać wykorzystane w celu stworzenia naturalnych preparatów drożdżobójczych, które wsparłyby antybiotykoterapię klasyczną, co zmniejszyłoby niebezpieczeństwo powikłań po chorobie.

WPLYW WYBRANYCH AGONISTÓW RECEPTORÓW TLR NA GENEROWANIE ODPOWIEDZI ZAPALNEJ I PRZECIWWIRUSOWEJ KOMÓREK ŚRÓDBŁONKA NACZYŃ PŁUCNYCH

WOJCIECH KARPIK^{1,2}, IZABELA GULBAS²,
MAGDALENA MIKOŁAJCZYK-CHMIELA¹,
MACIEJ CHAŁUBIŃSKI²

¹Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Katedra Immunologii i Biologii Infekcyjnej, Uniwersytet Łódzki

²Klinika Immunologii i Alergii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Śródbłonek naczyniowy ma istotne znaczenie w chorobach układu oddechowego. Receptory Toll-podobne (TLR) wykazują ekspresję na wielu komórkach układu odpornościowego. Istnieją doniesienia o roli receptorów TLR w patogenezie schorzeń alergicznych.

Celem pracy była ocena wpływu agonistów receptorów TLR3 (poly (I:C)), TLR5 (FLA-ST) i TLR9 (ODN) na generowanie odpowiedzi zapalnej i przeciwwirusowej przez komórki śródbłonka naczyniowego płuc w warunkach *in vitro*.

Ludzkie komórki śródbłonka naczyniowego płuc (HMVEC-L) stymulowano przez 24 godziny stosując kolejno – kwas poly (I:C); flagellinę; CpG ODN. Po 24h w odpowiednich punktach czasowych – T0; T5h; T24h; T48h; T72h zabezpieczano supernatany i lizaty komórkowe. Ekspresję cytokin – IFN- β ; OAS1; RANTES; IL-8 oceniono w reakcji real-time PCR.

Ekspresja cytokin w czasie wykazywała się dużą zmiennością. Najsilniejszą aktywację komórek śródbłonka osiągnięto po stymulacji agonistą TLR3, wykazując wzrost ekspresji mRNA dla IFN- β , OAS1, RANTES i IL-8. Komórki śródbłonka stymulowane flagelliną lub CpG ODN wykazywały spadek ekspresji mRNA badanych cytokin. Komórki śródbłonka stymulowane ODN wykazywały najwyższy względem kontroli poziom ekspresji mRNA dla wszystkich badanych cytokin dopiero w 72h stymulacji.

Wyniki tych badań mogą pomóc zrozumieć zaangażowanie śródbłonka w generowanie odpowiedzi odpornościowej poprzez mechanizmy nieswoiste.

KANNABINOIDY ROŚLINNE W WALCE Z PATOGENAMI

WERONIKA KRUCZKOWSKA¹, JULIA GAŁEZIEWSKA¹, BARBARA ZAWADA¹, ALEKSANDRA GÓRALCZYK-BIŃKOWSKA², ELŻBIETA KOZŁOWSKA², PAULINA ŻELECHOWSKA², JUSTYNA AGIER²

¹Studenckie Koło Naukowe *Let's Talk Science!* przy Zakładzie Mikrobiologii, Genetyki i Immunologii Doświadczalnej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Centrum Badań Molekularnych Chorób Cywilizacyjnych MOLEcoLAB, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Zakład Mikrobiologii, Genetyki i Immunologii Doświadczalnej, Centrum Badań Molekularnych Chorób Cywilizacyjnych MOLEcoLAB, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Kannabinoidy roślinne to grupa związków otrzymywanych z różnych odmian konopi (łac. *cannabis*). Najlepiej opisanymi kannabinoidami pozyskiwanymi z roślin są CBD (ang. *cannabidiol*) oraz THC (ang. *tetrahydrocannabinol*) jednak grupa ta jest znacznie bardziej liczna i obejmuje około 100 różnych cząsteczek. Preparaty zawierające CBD są stosowane w celach medycznych ze względu na szerokie spektrum działania i wysoki potencjał terapeutycznych m.in. w łagodzeniu bólu (w tym migrenowego), redukcji stresu czy zwalczaniu bezsenności. W przeciwieństwie do THC związek ten nie ma właściwości odurzających.

Aktywacja szlaków zależnych od kannabinoidów jest warunkowana przez receptory CB1 (receptory kannabinoidowe typu 1) lub CB2 (receptory kannabinoidowe typu 2), które są zlokalizowane również na powierzchni komórek układu immunologicznego, zwłaszcza limfocytów typu B, makrofagów i monocytów oraz komórek NK. Stąd, sugeruje się, że aktywacja tych receptorów może modulować funkcje układu odpornościowego. Wykazano, że różne kannabinoidy roślinne wykazują bezpośrednie właściwości przeciwdrobnoustrojowe, głównie wobec bakterii Gram-dodatnich. Odnotowano także synergizm działania kannabinoidów pozyskiwanych z roślin z antybiotykami co wskazuje na możliwość zastosowania tych związków w terapii skojarzonej. Co ważne, doniesienia naukowe sugerują, że CBD może selektywnie zabijać patogeny klasyfikowane jako alarmowe. Liczne analizy dotyczące sposobu degradacji patogenów wskazują przede wszystkim na uszkodzenie błony komórkowej jako główny

mechanizm działania tej cząsteczki. Badania zależności struktura-aktywność wykazują potencjał udoskonalenia analogów CBD i stworzenia na ich podstawie nowej klasy antybiotyków.

Celem pracy jest zebranie dostępnych danych na temat mechanizmu działania kannabinoidów w walce z patogenami oraz przedstawienie ich potencjalnego wykorzystania w terapii przeciwbakteryjnej.

WPŁYW KOSMETYKÓW EMOLIENTOWYCH NA NOSICIELSTWO STAPHYLOCOCCUS AUREUS NA SKÓRZE LUDZI Z ROZPOZNANIEM AZS

PAWEŁ LISIECKI¹, ALICJA CZEKAŁA², JAREMA
WÓDKA²

¹Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej
i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet
Medyczny w Łodzi

²Koło Naukowe przy Zakładzie Mikrobiologii
Farmaceutycznej i Diagnostyki Mikrobiologicznej,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Atopowe zapalenie skóry (AZS) jest przewlekłą chorobą zapalną, dotykającą 10-20% populacji. Na rozwój choroby wpływają czynniki genetyczne i epigenetyczne. Zaostrzenie zmian w przebiegu AZS wiąże się także z zaburzeniami w mikrobiomie skóry i kolonizacją *Staphylococcus aureus*. Kosmetykom emolientowym, rekomendowanym w leczeniu AZS, przypisuje się właściwości przywracające funkcje ochronne bariery naskórkowej.

Celem pracy była ocena *in vivo* wpływu kosmetyków emolientowych (emulsja do ciała, krem do ciała) przy ich długoterminowym stosowaniu na zdolność do eradykacji *S. aureus* ze skóry probantów z rozpoznaniem AZS.

Do badań zakwalifikowano 10 probantów. U 4 z nich z potwierdzonym nosicielstwem *S. aureus* testowano badane kosmetyki. Z wymazów pobranych ze skóry przed i po 4-tygodniowym stosowaniu kosmetyków bakterie uwalniano do 1 ml 0,85%NaCl i posiewano na agar z krwią. Po inkubacji z kolonii podejrzanych o przynależność do *S. aureus* wykonywano próbę na koagulazę, przesiewano je na podłoże Baird-Parkera, Mannitol Salt Agar oraz wykonywano test lateksowy Staphytec plus (Oxoid). Oznaczono również wrażliwość szczepów na antybiotyki i chemioterapeutyki metodą dyfuzyjno-krażkową. Metycylinooporność szczepów określano krążkiem z cefoksytiną (30 µg) i posiewem na podłoże chromogenne (BD BBL™ CHROMagar).

Na skórze u trzech probantów po długoterminowym stosowaniu kosmetyków nie wykryto *S. aureus*. Wyizolowane ze skóry probantów szczepy *S. aureus* charakteryzowały się właściwościami proteolitycznymi, lipolitycznymi oraz opornością na ciprofloksacynę. Żaden z wyhodowanych szczepów nie był oporny na metycylinę.

W leczeniu AZS ważną rolę odrywają kosmetyki emolientowe, które pomagają w odbudowie warstwy hydrolipidowej naskórka i wspierają prawidłowy mikrobiom skóry, co mogło wpływać na eradykację nosicielstwa *S. aureus*. Jednak należy pamiętać, że na skład ilościowy i jakościowy mikrobiomu wpływa wiele innych czynników jak: nawyki higieniczne, tryb życia czy uwarunkowania genetyczne.

CZY TOKSYNY BAKTERYJNE MODYFIKUJĄ EKSPRESJĘ WYBRANYCH RECEPTORÓW TOLL- PODOBNYCH W LIMFOCYTACH OSÓB ZDROWYCH?

ANNA MICHALAK-WIKALIŃSKA¹, MAŁGORZATA
SZYBKA², JANINA Ł. GRZEGORCZYK², DOROTA
PASTUSZAK-LEWANDOSKA¹

¹Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej
Immunologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny
w Łodzi

²emerytowani pracownicy Uniwersytetu
Medycznego w Łodzi

Czynniki stanowiące bioaerozole mogą w znaczący sposób zakłócać działanie układu immunologicznego osób zdrowych i w konsekwencji być przyczyną podatności m.in. na infekcje bakteryjne i wirusowe. Bioaerozole stanowią do 34% zanieczyszczeń powietrza wewnętrznego. Stanowią one mieszaninę różnej wielkości cząsteczek biologicznych takich jak: wirusy, komórki bakteryjne, zarodniki grzybów oraz produkty ich metabolizmu: endotoksyny, enterotoksyny czy mykotoksyny. Endotoksyny stanowią jeden z głównych składników pyłów organicznych, posiadają one dużą aktywność biologiczną, zarówno w żywych jak i martwych komórkach bakteryjnych.

W momencie dostania się do naszego organizmu, układ odpornościowy rozpoznaje je jako substancje obce i zostaje wywołana reakcja zapalna. Lipopolisacharydy to grupa związków o zbliżonej strukturze, które stanowią główny składnik zewnętrznego listka błony zewnętrznej bakterii Gram-ujemnych. W toku ewolucji ich budowa została w znacznym stopniu zachowywana, stanowiąc modelowy przykład PAMP. Komórki wrodzonego układu odpornościowego LPS silnie aktywuje, wywołując odpowiedź zapalną. Nadmierna reakcja na LPS i obecność jego dużych stężeń może prowadzić do ogólnoustrojowej reakcji zapalnej zwanej sepsą. Spośród 20 enterotoksyn gronkowcowych, enterotoksyna gronkowcowa A (SEA) jest jedną z najlepiej scharakteryzowanych. Enterotoksyny gronkowcowe należą do tzw. superantygenów, ponieważ są zdolne do pobudzenia wielu klonów limfocytów. Superantygeny nie przyłączają się do znajdującego się wewnątrz miejsca wiążącego antygen receptora TCR limfocyту T utworzonego przez łańcuchy α i β , tylko do fragmentu łańcucha β znajdującego się na zewnętrznej powierzchni receptora. W normalnych

warunkach limfocyt T wymagałby prezentacji przyłączonego antygeny ze strony komórki APC, aby uzyskać sygnały do aktywacji. Jednak enterotoksyny będące superantygenami, w wyniku interakcji TCR - enterotoksyna - MHC kl. II powodują niekontrolowane uwalnianie przez limfocyt T oraz komórki APC różnych cytokin prozapalnych takich jak: IFN γ , TNF α , IL-6 i IL-1 β - cytokin odpowiedzialnych za powstanie ostrego stanu zapalnego i szoku septycznego. Receptory TLR mogą łączyć się z różnymi ligandami np. TLR-1 rozpoznaje pochodzące z mikroorganizmów: LPS, fibronektynę. Receptor TLR3 wykazuje ekspresję w wielu typach komórek, jego lokalizacja zależy od rodzaju komórki: w mieloidalnych komórkach dendrytycznych w endosomach, w makrofagach szpiku kostnego w lizosomach natomiast w fibroblastach zarówno w endosomach jak i na powierzchni komórek.

Celem badania była ocena ekspresji mRNA dla genów TLR1 i TLR3 limfocytów krwi obwodowej po 24h i 48h hodowli pod wpływem działania lipopolisacharydu (LPS) i enterotoksyny gronkowcowej (SEA).

Limfocyty krwi obwodowej wyizolowano metodą Boyůma i metodą separacji magnetycznej od 30 zdrowych osób, a następnie indukowano LPS (1 μ g/mL) i SEA (1 μ g/mL) przez 24h i 48h. Ekspresję mRNA genu TLR1 i TLR3 oznaczono metodą Real Time PCR z zastosowaniem aparatu Diagnostic Systems BD MAX, który cechuje się wysoką jakością i możliwością aplikacyjną w q(RT)PCR. Do oznaczenia relatywnej ekspresji wyżej wymienionych genów użyto metody podwójnej delty Ct ($\Delta\Delta$ Ct).

W przeprowadzonych badaniach wykazano istotny statystycznie wzrost ekspresji mRNA genu TLR1 i TLR3 po 24h hodowli limfocytów T, w próbach stymulowanych LPS i SEA w odniesieniu do próby spontanicznej SP. Wykazano istotne statystycznie obniżenie poziomu ekspresji mRNA genu TLR1 po 48h hodowli limfocytów T, w porównaniu do hodowli po 24h w próbach stymulowanych LPS i SEA. Nie wykazano istotności statystycznych wobec ekspresji mRNA genu TLR3 po 48h hodowli limfocytów T, w porównaniu do hodowli po 24h w próbach stymulowanych LPS i SEA.

Czynniki infekcyjne bakterii Gram-ujemnych i Gram-dodatnich mogą w znaczący sposób modulować działanie limfocytów krwi obwodowej w procesach zapalnych, poprzez wpływ na ekspresję mRNA genów dla receptorów TLR1 i TLR3.

WARTOŚĆ CT GENU TOKSYNY B (TCDB) W PRÓBKACH KAŁU WOLNYCH OD TOKSYN W ZALEŻNOŚCI OD POCHODZENIA I CIĘŻKOŚCI ZAKAŻENIA *CLOSTRIDIODES DIFFICILE*

SYLWIA MOSKWA¹, MAŁGORZATA BRAUNCAJS^{1,2}, BEATA ZARZYCKA^{1,2}, DOROTA PASTUSZAK-LEWANDOSKA¹

¹Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Medyczne Laboratorium Mikrobiologiczne, Centralny Szpital Kliniczny Uniwersytetu Medycznego w Łodzi,

Diagnostyka laboratoryjna zakażeń *Clostridioides difficile* (ang. *Clostridioides difficile infection*, CDI) opiera się na badaniach potwierdzających obecność toksycznego szczepu lub toksyn w próbce kału. Szybkie testy diagnostyczne wykrywają toksynę A i/lub B bezpośrednio w kale za pomocą testu immunoenzymatycznego (EIA) lub genu toksyny A (*tcdA*) i/lub genu toksyny B (*tcdB*) metodą PCR w czasie rzeczywistym.

Celem badania było wykrycie genu toksyny B *Clostridioides difficile* w próbkach kału wolnych od toksyn. Aby lepiej zrozumieć wpływ wartości Ct *tcdB* na przebieg infekcji, porównaliśmy je pomiędzy pacjentami z ciężkim i łagodnym/umiarkowanym (nieciężkim) CDI oraz pomiędzy pacjentami z zakażeniem związanym (ang. *healthcare associated infection*, HAI) i niezwiązanym z opieką zdrowotną (ang. *community-acquired infection*, CAI).

Badanie miało charakter retrospektywny i obejmowało 158 próbek kału od dorosłych pacjentów hospitalizowanych w Centralnym Szpitalu Klinicznym Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, których próbki kału przekazano do laboratorium w celu wykrycia genu toksyny B *C. difficile*.

Dwuetapowy algorytm opierał się na wykorzystaniu testu C.DIFF QUIK CHEK COMPLETE (TechLab, Blacksburg, VA, USA), szybkiego membranowego testu immunologicznego (RMEIA) do jednoczesnego wykrywania dehydrogenazy glutaminianowej (GDH) oraz toksyny A i B (tox) *Clostridioides difficile*. Pozytywne wyniki zarówno dla GDH, jak i toksyn (GDH+/tox+) zgłasza się jako wykrycie toksynotwórczego *C. difficile*. Uzyskanie negatywnych wyników zarówno dla GDH, jak i toksyn (GDH-/tox-) oznacza brak wykrycia *C. difficile*.

W przypadku dodatnich wyników GDH i ujemnych wyników na obecność toksyn (GDH+/tox) przeprowadzono PCR w czasie rzeczywistym przy użyciu systemu BD MAX (Becton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) ukierunkowanego na gen toksyny B (*tcdB*) *Clostridioides difficile*.

Do badania włączono ogółem 158 nieufornowanych próbek kału EIA GDH dodatnich i ujemnych pod względem toksyn od różnych pacjentów. Spośród pacjentów 53,8% (n=85) stanowiły kobiety, a mediana wieku wynosiła 72 lata (IQR 15,0). Gen toksyny B *C. difficile* wykryto w 112 ze 158 (70,9%) badanych próbek. W przypadku wykrycia zarówno GDH metodą EIA, jak i genu toksyny B metodą *real-time* PCR, zgłoszono zakażenie toksynotwórczym szczepem *C. difficile*.

Średnia wartość cyklu progowego (Ct) wyniosła 26,9 (±4,1) dla próbek *tcdB*-dodatnich. Wpierw, pacjentów z infekcją toksynotwórczym szczepem *C. difficile* podzielono ze względu na ciężkość choroby. Pacjenci z ciężkim przebiegiem CDI [n=40; średnia 25,71 (±4,10)] wykazali istotnie niższe wartości Ct (p=0,0236) w porównaniu do pacjentów bez ciężkiego przebiegu [n=72; średnia 27,53 (±3,97)]. Następnie, zakażenia *C. difficile* podzielono na związane (ang. *healthcare associated infection*, HAI) i niezwiązane z opieką zdrowotną (ang. *community-acquired infection*, CAI). Pacjenci z HAI [n = 67; średnia 27,8 (±4,1)] wykazali istotnie wyższe wartości Ct (p=0,0022) w porównaniu do pacjentów z CAI [n = 45; średnia 25,5 (±3,60)].

Wartości Ct genu toksyny B są powiązane z ciężkością zakażenia *C. difficile*. Pacjenci z ciężką postacią choroby związanej z *C. difficile* wykazują istotnie niższe wartości Ct *tcdB* w porównaniu do pacjentów z łagodną i umiarkowaną infekcją. Pacjenci z zakażeniem *C. difficile* związanym z opieką zdrowotną wykazują istotnie wyższe wartości Ct *tcdB*, co sugeruje, że do wywołania zakażenia u pacjentów hospitalizowanych wystarczający jest niższy poziom toksyny B. Różnica w wartościach Ct *tcdB* może wynikać z czasu trwania zakażenia *C. difficile*, czasu do rozpoznania i stanu klinicznego pacjenta.

PROCES AUTOIMMUNIZACJI TARCZYCY W KONTEKŚCIE ZAKAŻEŃ WIRUSEM SARS-COV-2

GABRIELA PAWLAK¹, PAULINA
ŻELECHOWSKA^{2,3}, ANNA PIŁAT¹

¹Medyczne Laboratorium Diagnostyki
Immunologicznej, Zakład Diagnostyki
Laboratoryjnej, Centralny Szpital Kliniczny
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi

²Zakład Mikrobiologii, Genetyki i Immunologii
Doświadczalnej, Centrum Badań Molekularnych
Chorób Cywilizacyjnych MOLECO LAB,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

³Pracownia Immunologii Transplantacyjnej,
Centralny Szpital Kliniczny Uniwersytetu
Medycznego w Łodzi

Wybuch pandemii COVID-19, wywołanej zakażeniami wirusem SARS-CoV-2 stał się przyczyną milionów zgonów na całym świecie. W literaturze opisano jak dotąd liczne przypadki niepożądanych następstw choroby, zarówno krótko- jak i długofalowych. Jedną z odległych konsekwencji przebytej infekcji mogą być odnotowane przypadki pojawienia się *de novo* chorób autoimmunologicznych lub ujawnienia choroby u osób predysponowanych. Istnieje wiele hipotez dotyczących autoimmunizacyjnego potencjału wirusa SARS-CoV-2. Jedną z nich jest hiperstimulacja układu odpornościowego, z powszechnie znanym zjawiskiem tzw. burzy cytokinowej, która w konsekwencji może prowadzić do rozwoju procesów autoagresji. Ponadto, zjawisko mimikry molekularnej może być jedną z przyczyn wyzwolenia w organizmie reakcji autoimmunologicznej. Do najbardziej powszechnych chorób o podłożu autoimmunizacyjnym należą zapalenie tarczycy Hashimoto i choroba Gravesa-Basedowa. Należy podkreślić, że w komórkach tarczycy, podobnie jak w kilku innych narządach wydzielania wewnętrznego, stwierdzono obecność receptora enzymu konwertującego angiotensynę 2 (ACE2). Wiadomo dobrze, że receptor ACE2 jest główną drogą, przez którą wirus SARS-CoV-2 może przedostać się do komórek gospodarza, a w konsekwencji prowadzić do uszkodzenia całego narządu. Niektóre dane wskazują także, że ekspresja ACE2 w tarczycy jest zwiększona u osób z nieprawidłową funkcją tego narządu, co w następstwie może intensyfikować ryzyko i ciężkość przebiegu zakażenia wywołanego SARS-CoV-2. Jednakże, ze względu na zbyt małą

ilość opisanych przypadków klinicznych i liczbę badań na dużych grupach pacjentów, na tę chwilę nie można jednoznacznie wykluczyć ani potwierdzić potencjału autoimmunizacyjnego wirusa SARS-CoV-2 oraz jego wpływu na funkcje tarczycy oraz działanie endokrynne tego narządu.

ZAHAMOWANIE PROCESÓW DEGRADACJI RNA JAKO NOWY CEL MOLEKULARNY W ZWALCZANIU LEKOOPORNYCH PAŁECZEK *HELICOBACTER PYLORI*

KRZYSZTOF RUS

Pracownia Diagnostyki Laboratoryjnej,
Wojewódzki Specjalistyczny Szpital im.
M. Madurowicza w Łodzi

Dwoinki zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (łac. *Neisseria meningitidis*), powszechnie nazywane meningokokami, występują w kilkunastu grupach serologicznych, z których najbardziej niebezpieczne w kontekście chorobotwórczości są serotypy A, B, C, W oraz Y. Zagrożenie uwarunkowane zakażeniem meningokokami jest związane z łatwością transmisji drobnoustrojów wraz z wydzieliną górnych dróg oddechowych i/lub śliną nosiciela lub osoby chorej, jak i wynikać może z błędnego rozpoznania początkowych objawów infekcji przypominających w wielu przypadkach grypę czy przeziębienie. Niewątpliwie, najcięższą postacią zakażeń meningokokowych jest inwazyjna choroba meningokokowa (IChM), która może mieć charakter zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i/lub mózgu, sepsy lub współistnienia obu stanów, stanowiąc potencjalnie bezpośrednie zagrożenie zdrowia, a nawet życia. Niezwykle wysokie ryzyko zgonu z powodu IChM jest związane przede wszystkim z gwałtownym przebiegiem posocznicy. Należy także podkreślić, że przebiecie IChM może wiązać się z rozwojem trwałych powikłań, w tym niewydolności nerek, upośledzenia słuchu czy zaburzeń neurologicznych. Dostępne dane epidemiologiczne z ostatnich lat wskazują, że w Polsce dochodzi do wzrostu liczby przypadków zachorowań na IChM, z niezmiennie najwyższą zapadalnością w grupie wiekowej dzieci do 11 miesięcy. Mimo, że wciąż za największą liczbę infekcji meningokokowych odpowiada serogrupa B, to obserwuje się także wyraźny wzrost ilości zakażeń wywołanych przez meningokoki serogrupy C w grupie wiekowej osób dorosłych od 25 do 44 lat. Jednocześnie, w ostatnim czasie stwierdza się mniej przypadków zakażeń wywołanych przez meningokoki serotypu W. Pomimo rozwoju metod diagnostycznych i postępów w terapii zakażeń meningokokowych, IChM stanowi wciąż poważne wyzwanie dla współczesnego zdrowia publicznego. Nie ulega zatem wątpliwości, że niezbędne jest stałe zwiększanie świadomości społecznej dotyczącej profilaktyki, jak i przebiegu tej choroby.

ZMIANY W LICZEBNOŚCI BAKTERII Z RODZAJU *STAPHYLOCOCCUS* U DZIECI W ZAOSTRZENIACH AZS PO ZASTOSOWANIU NIEANTYBIOTYKOWEJ TERAPII GENCJANĄ

IZABELA SZCZERBA¹, JOLANTA ŻURAWSKA-OLSZEWSKA¹, JOANNA KRZYSIEK², JOANNA NARBUTT², DOROTA PASTUSZAK-LEWANDOSKA¹

¹Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Klinika Dermatologii, Dermatologii Dziecięcej i Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Atopowe zapalenie skóry (AZS) to schorzenie, które u dzieci wywołuje przewlekłe i nawracające zmiany chorobowe przebiegające ze świądem. Zmiany te to utrata integralności bariery nabłonkowej skóry, zmiany we wrodzonej i nabytej odpowiedzi immunologicznej oraz dysbioza mikrobiomu skóry. Uszkodzenie bariery skórnej spowodowane jest zmianami w składzie lipidów warstwy rogowej naskórka, a także zakłóceniem kolonizacji skóry przez drobnoustroje. W przypadku atopowego zapalenia skóry mikrobiom ulega zmianie. Podczas zaostrzeń zwiększa się liczba bakterii oraz zmniejsza się różnorodność flory skóry. Bakterie należące do rodzaju *Staphylococcus* są jednymi z najbardziej wpływowych komensali, które bytują na skórze. Zmiany w liczebności gronkowców prawdopodobnie zmieniają mikrobiom skóry i modulują skórną odpowiedź immunologiczną, co może mieć potencjalne konsekwencje dla różnych chorób skóry związanych z zapaleniem.

Materiałem do badań były odciski skóry pobrane od dzieci w wieku 2-12 chorujących na atopowe zapalenie skóry w stopniu od umiarkowanego do ciężkiego. W grupie badanej znalazło się 30 dzieci z regionu łódzkiego, u których choroba występowała od 3 miesiąca życia albo od wczesnego dzieciństwa. Grupę odniesienia stanowiło 30 dzieci zdrowych (w podobnym wieku, z identycznym rozkładem wieku i płci), u których wykonano testy w tym samym czasie. Pacjenci byli wykluczani z udziału w badaniu, jeśli stosowali miejscowe lub ogólnoustrojowo

glikokortykosteroidy przez 2 tygodnie, miejscowe lub doustne antybiotyki przez 2 tygodnie lub jakiegokolwiek leczenia immunosupresyjnego przed badaniem. Wykluczono również pacjentów z nowotworami lub czynną chorobą zakaźną. Na dolną część odłokciową zastosowano 2% wodny roztwór fioletu goryczkowego. Barwnik stosowano dwa razy dziennie na ten sam obszar. Na badany obszar skóry nie nakładano emolientów w okresie badania. Po 3 dniach pobierano próbki od pacjentów metodą płytek kontaktowych. Odciski wykonano przykładając płytkę z jednakowym naciskiem. Płytki odciskowe mają wypukłe powierzchnie, ściśle przylegające do badanej powierzchni. Do określenia liczebności bakterii, izolacji i wstępnej identyfikacji *Staphylococcus aureus* z materiału klinicznego użyto chromogenego podłoża CHROMagar Staph aureus. Podłoża inkubowano zgodnie z zaleceniem producenta i standardami mikrobiologicznymi: 48 godzin w temperaturze 35,5° C. W kolejnym etapie określano ilość kolonii bakterii wytwarzających różny pigment. Spośród kolonii wytwarzających różowy pigment wybierano materiał do identyfikacji biochemicznej z zastosowaniem aparatu Phoenix BD. Różnice między grupami oceniano za pomocą testu U Manna-Whitneya.

Celem badania było rozpoznanie częstości występowania różnych gatunków w obrębie rodzaju *Staphylococcus* przed i po zastosowaniu wodnego roztworu gencjany.

Zastosowanie gencjany na zmienioną chorobowo skórę spowodowało znaczne zmniejszenie liczebności gronkowców na badanym obszarze skóry.

Roztwór gencjany podawany na skórę może być dobrą alternatywną terapią miejscową w leczeniu atopowego zapalenia skóry. Barwnik ten wykazuje aktywność w leczeniu AZS poprzez zmniejszenie kolonizacji gronkowców, a także redukcję stanu zapalnego. Zmniejszenie ilości bakterii z rodzaju *Staphylococcus*, zamieszkujących skórę do bezpiecznego poziomu w przypadku zmian wypryskowych, niski koszt i łatwość stosowania sugerują, że gencjana jest korzystna jako uzupełniająca terapia miejscowa u pacjentów z AZS.

PROBLEM WIELOLEKOOPORNOŚCI U SZCZEPÓW *STAPHYLOCOCCUS HOMINIS* IZOLOWANYCH Z ZAKAŻEŃ KRWI

MAGDALENA SZEMRAJ¹, PAULINA GLAJZNER²,
KAMILA OLSZOWIEC¹, MONIKA SIENKIEWICZ¹

¹Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej
i Diagnostyki Mikrobiologicznej, Uniwersytet
Medyczny w Łodzi

²Zakład Biofarmacji, Uniwersytet Medyczny
w Łodzi

Obecnie na świecie opisywanych jest coraz więcej przypadków zakażeń powodowanych przez *Staphylococcus hominis*, stanowiący element mikrobiomu skóry. Zakażenia te dotyczą głównie osób z obniżoną odpornością, w tym noworodków i małych dzieci, osób starszych oraz pacjentów poddawanych inwazyjnym zabiegom medycznym. *S. hominis* jest trzecim najczęściej izolowanym gatunkiem spośród gronkowców koagulazoujemnych z zakażeń krwi. Nie mniej w ostatnich latach wzrosła także ilość innych infekcji powodowanych przez te bakterie, takich jak zapalenie wsierdza, otrzewnej, kości czy stawów. Duże wyzwanie stanowi leczenie zakażeń powodowanych przez *S. hominis*, gdyż charakteryzują się one wielolekoopornością.

Celem pracy było oznaczenie wrażliwości na antybiotyki oraz poszukiwanie genów odpowiedzialnych za najczęściej występujące mechanizmy oporności u 45 szczepów gronkowców *S. hominis* izolowanych z zakażeń krwi pacjentów hospitalizowanych. Wrażliwość na antybiotyki: cefoksytynę, klindamycynę, erytromycynę, tetracyklinę, gentamycynę, ciprofloxacynę, tigecyklinę, linezolid, kotrimoksazol, rifampicynę i kwas fusydowy oznaczono metodą krążkową-dyfuzyjną. Dla wankomycyny i daptomycyny określono MIC z zastosowaniem E-testów. Wyniki interpretowano zgodnie z rekomendacjami EUCAST. Za pomocą PCR poszukiwano genów odpowiedzialnych za: oporność na metycylinę: *mecA*, mechanizm MLSB: *ermA*, *ermB*, *ermC*, oporność na aminoglikozydy: *aac(6′)-Ie aph(2′)*, *aph(3′)-IIIa*, *ant(4′)-Ia* oraz oporność na tetracykliny: *tetK*, *tetL*, *tetM*, *tetO*.

Z 45 szczepów badanych ponad 70% było metycylinoopornych i miało gen *mecA*. Były one odporne na co najmniej trzy antybiotyki z różnych grup (szczepy MDR) Fenotyp MLSB wykazało ponad 50% szczepów. Najczęściej występującym genem, determinującym oporność krzyżową na antybiotyki MLSB był *ermC*. Geny oporności na aminoglikozydy i tetracykliny były powszechne i występowały także u szczepów wrażliwych na te antybiotyki. Wszystkie szczepy badane zgodnie z rekomendacjami EUCAST były wrażliwe na wankomycynę i daptomycynę. Jednak 15 z nich charakteryzowało się obniżoną wrażliwością na wankomycynę (MIC=1-2 mg/L).

Przedstawione wyniki pokazały problem rosnącej oporności na antybiotyki u *S. hominis*. Co więcej bakterie te kumulują w komórkach wiele genów oporności, które mogą stanowić rezerwar dla bardziej chorobotwórczych bakterii, w tym *S. aureus*. Najbardziej niepokojący jest fakt obniżonej wrażliwości na wankomycynę, która jest głównym antybiotykiem stosowanym w leczeniu zakażeń krwi.

MECHANIZMY OPORNOŚCI PRZECIWGRZYBICZEJ PRZEBIEGAJĄCE Z UDZIAŁEM MASTOCYTÓW

PAULINA ŻELECHOWSKA, JUSTYNA AGIER,
ALEKSANDRA GÓRALCZYK-BIŃKOWSKA,
ELŻBIETA KOZŁOWSKA

Zakład Mikrobiologii, Genetyki i Immunologii
Doświadczalnej, Centrum Badań Molekularnych
Chorób Cywilizacyjnych MOLECO LAB,
Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Do królestwa grzybów należy wiele mikroorganizmów, do których zalicza się także te potencjalnie chorobotwórcze. Stałe narażenie na ich działanie jest związane z powszechną obecnością w środowisku, jak i wynikać może z zaburzeń ilościowych i/lub jakościowych komponenty grzybowej mikrobiomu (tj. mykobiomu). Mimo znacznej skali występowania zakażeń grzybiczych, dokładne mechanizmy obronne skierowane przeciw grzybom bądź ich strukturom nie są w pełni poznane. Skuteczna odpowiedź przeciwgrzybicza zależy od aktywacji mechanizmów odporności wrodzonej i nabytej, w których niewątpliwie uczestniczą komórki tuczne (mastocyty). Mastocyty lokalizują się przede wszystkim w miejscach stanowiących wrota zakażenia, co umożliwia im bezpośredni kontakt ze środowiskiem zewnętrznym i dostającymi się do organizmu gospodarza patogenami. Komórki te wykazują ekspresję receptorów rozpoznających cząsteczki PAMP (ang. *pathogen-associated molecular pattern*) pochodzenia grzybiczego, w tym głównie receptory CLR-podobne (Dektyna-1, Dektyna-2) i Toll-podobne (TLR2/6, TLR4). Dostępne dane wskazują, że w odpowiedzi na stymulację grzybami lub ich cząsteczkami, komórki tuczne uwalniają mediatory preformowane oraz syntetyzują *de novo* cytokiny, chemokiny czy eikozanoidy. Co więcej, mastocyty modulują odpowiedź przeciwgrzybiczą poprzez generację peptydów przeciwdrobnoustrojowych oraz reaktywnych form tlenu. Udokumentowano także, że w celu eliminacji patogennych grzybów, komórki te wykazują właściwości fagocytarne oraz są zdolne do uwalniania pułapek zewnątrzkomórkowych. Należy podkreślić, że mediatory wydzielane przez mastocyty pod wpływem grzybów indukują napływ i aktywację

innych komórek zaangażowanych w procesy odpornościowe oraz odgrywają rolę w procesie różnicowania limfocytów w kierunku fenotypu Th17. Nie ulega więc wątpliwości, że komórki tuczne stanowią ważne ogniwo w interakcji gospodarza z patogennymi grzybami poprzez aktywny udział w mechanizmach obronnych rozwijanych w przebiegu infekcji.

ZASTOSOWANIE WODNEGO ROZTWORU GENCJANY JAKO NIEANTYBIOTYKOWEJ METODY ZMNIEJSZENIA LICZEBNOŚCI BAKTERII GRAM-DODATNICH W ZAOSTRZENIACH AZS U DZIECI Z WOJEWÓDZTWA ŁÓDZKIEGO

JOLANTA ŻURAWSKA-OLSZEWSKA¹, IZABELA SZCZERBA¹, JOANNA KRZYSIEK², JOANNA NARBUTT², DOROTA PASTUSZAK-LEWANDOSKA¹

¹Zakład Mikrobiologii i Laboratoryjnej Immunologii Medycznej; Uniwersytet Medyczny w Łodzi

²Klinika Dermatologii, Dermatologii Dziecięcej i Onkologicznej; Wojewódzki Szpital Specjalistyczny im. Wł. Biegańskiego w Łodzi

Skórę człowieka pokrywają unikalne ekosystemy mikrobiologiczne. Wkład mikrobioty w zdrowie i chorobę człowieka ciągle pozostaje w sferze poznawczej. Wiadomo, że drobnoustroje stanowiące mikrobiom człowieka, są niezbędne do prawidłowego funkcjonowania, w tym utrzymania statusu immunologicznego makroorganizmu. Zmiana ekosystemu naskórka w zaostrzeniu atopowego zapalenia skóry (AZS) wpływa na zmianę ilościową i jakościową flory własnej pacjenta. Antygeny oraz metabolity bakterii wpływają na bezpośrednie działanie Limfocytów T indukujących produkcję prozapalnych cytokin i limfokin. Stan zapalny powstający w wyniku AZS stwarza dogodne warunki do zasiedlania i rozwoju różnorodnych i rzadko występujących mikroorganizmów. Bakterie i ich białka, metabolity oraz toksyny mogą podtrzymywać i stymulować procesy zapalne w przebiegu AZS.

Celem pracy była analiza zmian częstości występowania różnych rodzajów bakterii na skórze w obszarze zaostrzeń stanu zapalnego u dzieci z AZS przed i po zastosowaniu wodnego roztworu gencjany.

Do badań zakwalifikowano 40 dzieci z zaostrzeniami AZS z województwa łódzkiego w wieku 2-12 lat u których choroba występowała od wczesnych miesięcy życia. w stopniu od umiarkowanego do ciężkiego. Grupę odniesienia stanowiło 37 dzieci zdrowych (w podobnym wieku, z identycznym rozkładem wieku i płci), u których wykonano testy w tym samym czasie. Pacjenci byli wykluczani z udziału w badaniu, jeśli stosowali miejscowe lub ogólnoustrojowo glikokortykosteroidy przez 2 tygodnie, miejscowe lub doustne antybiotyki przez 2 tygodnie lub jakiegokolwiek leczenie immuno-

supresyjne przed badaniem. W badaniu nie wzięli udziału również pacjenci z nowotworami lub czynną chorobą zakaźną.

Materiał pobierano ze zmian skórnych przedramion lub dolnej części odłokciowej (u zdrowych pacjentów) stosując płytki odciskowe o powierzchni 25 cm² zawierające podłoże Chromagar Staph aureus firmy Biomaxima. Następnie nakładano 2% wodny roztwór fioletu goryczkowego. Barwnik stosowano dwa razy dziennie na ten sam obszar. Na badany obszar skóry nie nakładano emolientów w okresie badania. Po 3 dniach pobierano próbki. Odciski wykonano przykładając płytkę z jednakowym naciskiem. Podłoże inkubowano 48 godzin w temperaturze 35,5°C. Następnie zliczano wyrosłe kolonie w oparciu o ich pigmentację. Wykonano identyfikację biochemiczną przy użyciu aparatu Phoenix BD.

Łącznie wykryto: u dzieci z AZS aż 24 gatunki bakterii wśród 11 rodzajów gram-dodatnich, u dzieci zdrowych 15 gatunków z 7 rodzajów. Najliczniejszą grupę stanowiły ziarenkowce, a wśród nich rodzaj *Staphylococcus*. Ponadto stwierdzono duże różnice w ilości izolowanych bakterii z testowanych powierzchni. Odnotowano liczebność bakterii od pojedynczych do 10⁴ CFU.

U dzieci chorych w stosunku do grupy kontrolnej stwierdzono znacznie większą różnorodność gatunków zarówno przed jak i po zastosowaniu gencjany. Ponadto stwierdzono duże różnice w liczebności izolowanych bakterii z testowanych powierzchni. Odnotowano liczebność bakterii w pojedynczych przypadkach nawet do 10⁴ CFU/25 cm².

Zastosowanie na skórę wodnego roztworu gencjany u dzieci zdrowych nie zmieniło istotnie składu ani liczebności bakterii. U pacjentów z AZS liczba bakterii należących do rodzaju *Staphylococcus*, a szczególnie do gatunku *S. aureus* została zredukowana dziesięciokrotnie. Co ciekawe w obu grupach badanych pacjentów nie odnotowano redukcji mikrokoków. Badanie wykazało obniżenie liczebności bakterii o cały rząd wielkości, ze szczególnym uwzględnieniem gatunku *S. aureus*.

Wnioski: (1) Obniżenie liczebności potencjalnych patogenów, szczególnie w przypadku zmian atopowych, ma nie tylko znaczenie sanityzacyjne ale także obniżające możliwość rozwoju zmian infekcyjnych w obszarach zmienionych procesem zapalnym o etiologii immunologicznej. (2) Leczenie miejscowe za pomocą barwników charakteryzujące się umiarkowanymi zmianami w mikrobiocie, prostym wykonaniem i niskimi kosztami może być alternatywną opcją dla antybiotykoterapii.