Charakterystyka obecności genetycznych determinantów warunkujących oporność pałeczek *Y. enterocolitica* bioserotypu 1B/O8 izolowanych w Polsce w 2009 r. na wybrane antybiotyki β -laktamowe

Presence of β -lactamase encoding genes in clinical isolates of *Y. enterocolitica* bioserotype 1B/O8mm isolated in Poland in 2009

Katarzyna Zacharczuk

Zakład Bakteriologii i Zwalczania Skażeń Biologicznych Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny, Warszawa

Przeprowadzono analizę obecności genetycznych determinantów warunkujących oporność pałeczek *Y. enterocolitica* bioserotypu 1B/O8 izolowanych z materiału klinicznego w Polsce w 2009 r., na wybrane antybiotyki β -laktamowe (tikarcylinę i ampicylinę) z uwzględnieniem ustalenia wartości MIC szczepów opornych. Wszystkie badane izolaty *Y. enterocolitica* 1B/O8 wykazywały oporność na tikarcylinę, natomiast jedynie 9,5% drobnoustrojów z tej grupy było opornych na ampicylinę. W teście PCR stwierdzono również, iż badane izolaty charakteryzowały się obecnością genów *blaA* i *ampC* (*blaB*), warunkujących wytwarzanie enzymów rozkładających antybiotyki β -laktamowe. Obserwowane różnice w oporności na ampicylinę badanych izolatów przy ich przynależności do tego samego szczepu *sensu stricto* jak i wąskim przedziale czasowym ich izolacji mogą wskazywać na zmienną aktywność genetycznych determinant oporności na antybiotyki β -laktamowe pałeczek *Y. enterocolitica* 1B/O8.

Słowa kluczowe: *Yersinia enterocolitica*, bioserotyp 1B/O8, antybiotyki β -laktamowe, lekowrażliwość

ABSTRACT

Introduction: The intrinsic resistance to β -lactam antibiotics of *Y. enterocolitica* is mainly due to activity of two type β -lactamases, BlaA and BlaB, which are encoding by genes located on chromosome, *blaA* and *ampC*, respectively. High-pathogenicity bioserotype 1B/O8 of *Y. enterocolitica* has been isolated from clinical samples since 2004 year in Poland. The study shown that clinical isolates of *Y. enterocolitica* 1B/O8 collected from 2004 to 2009 in Poland constituted the same *sensu stricto* strain. The aim of present study was to determine the occurrence of genes encoding β -lactamases BlaA and BlaB with the MIC

value characterization for selected antibiotics in clinical isolates of *Yersinia enterocolitica* bioserotype 1B/O isolated in Poland in 2009.

Methods: Ampicilin and ticarcillin minimum inhibitory concentrations (MICs) for 64 clinical *Y. enterocolitica* bioserotype 1B/O8 isolates were determined by Etest and broth microdilution respectively. The *blaA* i *blaB* genes were detected by PCR.

Results: All investigated isolates were resistant to ticarcillin (MIC 16 – 128 mg/ml), whereas 9,5% to ampicilin (MIC 12 mg/l) according to EUCAST interpretive criteria. All isolates yielded the expected amplicons of *blaA* and *ampC* genes.

Conclusions: Observed differences in the resistance to ampicillin among analyzed isolates belonging to the epidemic *sensu stricto* strain can indicate the variable activity of genetic determinants of resistance to β -lactam antibiotics of *Y. enterocolitica* bioserotype 1B/O8.

Keywords: *Yersinia enterocolitica*, bioserotype 1B/O8, β -lactam antibiotics, antimicrobial susceptibility

WSTĘP

Większość zakażeń spowodowanych przez chorobotwórcze pałeczki z gatunku *Y. enterocolitica* ma charakter samoograniczający i wymaga głównie zastosowania leczenia objawowego, polegającego na przywróceniu równowagi wodno-elektrolitowej. Antybiotykoterapia jest zalecana w przypadkach zakażeń mających przebieg uogólniony (pozajelitowy), przewlekły, czy będących następstwem zakażenia, powikłań. Wskazane jest również rozpatrzenie włączenia antybiotyków do leczenia jersiniozy u osób z obniżoną odpornością lub chorobami towarzyszącymi (16, 33). Pałeczki *Y. enterocolitica* wykazują wrażliwość na szerokie spektrum antybiotyków oraz chemioterapeutyków stosowanych w terapii zakażeń ludzi i zwierząt (3, 14, 18). W leczeniu jersiniozy obecnie zaleca się stosowanie cefalosporyny III generacji, również w połączeniu z makrolidami, aminoglikozydami lub fluorochinolami (16).

Pałeczki *Y. enterocolitica* wykazują naturalną oporność na aminopenicyliny (w tym amoksycylinę), cefalosporyny I generacji i niekiedy także na sulfonamidy i antybiotyki z gr. cefamycyn (10, 17, 20, 25). Oporność na antybiotyki β -laktamowe jest związana z wytwarzaniem i aktywnością enzymów β -laktamaz: Bla-A (β -laktazmaza klasy A) i Bla-B B (β -laktamaza klasy C, AmpC) (22). Geny kodujące oba enzymy znajdują się na chromosomie. β -laktazmaza BlaA jest enzymem o szerokim spektrum działania wobec penicylin, wytwarzanym konstytutywnie. Natomiast enzym BlaB należy do klasy cefalosporynaz, a jego obecność w komórce bakteryjnej jest indukowana przez odpowiedni induktor (20, 21, 22, 27). Według piśmiennictwa większość szczepów *Y. enterocolitica* należących do wszystkich wyróżnionych biotypów oraz grup serologicznych: O1, O2, O3 i O9, posiada zdolność do wytwarzania obu β -laktamaz. U szczepów serotypu O5,27 stwierdzono tylko aktywność enzymu BlaB. Ponadto szczepy należące do biotypu 1A mogą produkować enzym BlaA oraz „Bla B-like” o podobnym spektrum działania co BlaB, ale różniący się wartością pI (punktu izoelektrycznego) (27). W przypadku pałeczek należących do bioserotypu 1B/O8 Pham i wsp., stwierdzili w grupie badanych szczepów aktywność en-

zymu BlaB oraz β -laktamazы podobnej do BlaA, „BlaA-like”, której aktywność wobec ampicyliny i karbapenicylin była znacząco niższa w porównaniu do tej jaką wykazywał enzym BlaA (22).

Zaobserwowano, iż pałeczki *Y. enterocolitica* w zależności od bioserotypu, typu fagowego czy subtypu wykazują zróżnicowany profil lekooporności. Wynika to przypuszczalnie z mutacji w genach kodujących te enzymy, które mogą prowadzić do braku wytwarzania lub zmian w ich aktywności wobec danych antybiotyków (27, 29, 30).

W Polsce wg danych literaturowych ogólny profil lekooporności pałeczek *Y. enterocolitica* bioserotypu 4/O3 izolowanych od ludzi do 2009 r., pozostawał bez zmian. Badane szczepy wykazywały oporność na penicyliny i cefalosporyny I generacji oraz wrażliwość na cefalosporyny III generacji, gentamicynę i ciprofloksacynę (25, 31). Jednakże w przypadku szczepów izolowanych w latach 2004-2009, około 12% należących do bioserotypu 4/O3 było opornych lub średnio wrażliwych na działanie amoksycyliny z inhibitorem β -laktamaz, kwasem klawulanowym. Wśród badanych szczepów, pięć o bioserotypie 4/O3 oraz 2/O9, zaliczono do grupy MDR czyli szczepów wielolekoopornych. Po raz pierwszy w Polsce Szych i wsp. (31) określili także lekowrażliwość szczepów *Y. enterocolitica* bioserotypu 1B/O8, wyhodowanych od ludzi w latach 2004-2009. Wykazywały one oporność na ampicylinę oraz tikarcylinę.

Oporność na antybiotyki inne niż β -laktamowe (tetracyklina, chloramfenikol, kotrimoksazol, streptomycyna, nitrofurantoina, trimetoprim - sulfametoksazol) wśród pałeczek *Y. enterocolitica* jest również obserwowana, aczkolwiek odsetek takich szczepów jest niewielki (4, 9, 10, 28, 31).

Wysoki wzrost odsetka szczepów *Y. enterocolitica* O3 opornych na kwas nalidyksowy (grupa antybiotyków: chinolony) zaobserwowano w Hiszpanii, w latach 1995-2000 sięgał on 5%, zaś w 2002 r. wzrósł do 23% (4, 5). Oporność pałeczek *Yersinia* na ten antybiotyk zwiększa prawdopodobieństwo ewentualnego niepowodzenia terapeutycznego przy antybiotykoterapii fluorochinolonami, w tym ciprofloksacyną.

Pałeczki *Y. enterocolitica* należące do bioserotypu 1B/O8 uznawane są za wysoce chorobotwórcze drobnoustroje (high-pathogenicity), ze względu na posiadane przez nie obok klasycznych czynników wirulencji charakterystycznych dla chorobotwórczych pałeczek *Y. enterocolitica* dodatkowe determinanty, tj. yersiniabaktyna Ybt, system sekrecji białek Ysa, fosfolipaza A (YplaA), YstI (chromosomalny system transportu białek typu II, (T2SS)). Drobnoustroje *Y. enterocolitica* z bioserotypu 1B/O8 są izolowane od ludzi w Polsce od 2004 r., podczas gdy na świecie przypadki jersiniozy wywołane przez tą grupę bakterii są rejestrowane bardzo rzadko. Przeprowadzone badania na grupie izolatów *Y. enterocolitica* 1B/O8 wyosobnionych w Polsce z materiału klinicznego w roku 2009 wykazały wysoką stabilność determinant chorobotwórczości oraz wysoki stopień genetycznego podobieństwa wśród tej grupy drobnoustrojów. Wyniki te potwierdziły wcześniejszą tezę, iż populacja pałeczek *Y. enterocolitica* bioserotypu 1B/O8 występująca na terenie Polski reprezentowana jest przez ten sam szczep *sensu stricto* (13, 35).

Celem prowadzonych badań było scharakteryzowanie obecności genetycznych determinantów warunkujących oporność badanych pałeczek *Y. enterocolitica* 1B/O8 na wybrane antybiotyki β -laktamowe z uwzględnieniem ustalenia wartości MIC szczepów opornych w odniesieniu do możliwości zastosowania profilu lekooporności jako elementu typowania tej grupy drobnoustrojów. Prezentowane wyniki stanowią część badań przepro-

wadzonych w ramach rozprawy doktorskiej pt.: ”Molekularna charakterystyka pałeczek *Yersinia enterocolitica* 1B/O8 wyizolowanych od ludzi w Polsce w 2009 roku” (35).

MATERIAŁY I METODY

Szczepy bakteryjne. Materiał do badań stanowiły 64 *Y. enterocolitica* należące do bioserotypu 1B/O8 wyosobnione z materiału klinicznego od ludzi w 2009 roku w Polsce. Szczepy pochodziły z kolekcji Zakładu Bakteriologii i Zwalczania Skażeń Biologicznych NIZP-PZH. Izolaty zostały wyosobnione w większości przypadków z próbek kału (n=42), wymazu z odbytu (n=5), krwi (n=3) oraz z wymazu z jamy brzusznej (n=2). Pojedyncze izolaty wyhodowano z materiału pobranego w formie wymazu: z gardła, rany pooperyacyjnej; z ropnia: pachwiny, przestrzeni zaotrzewnej; ropy (po operacji wyrostka robaczkowego) oraz z czyraka na czole. Dla 12 izolatów nie uzyskano informacji o rodzaju materiału, z którego zostały one wyosobnione. W badaniach posłużono się także szczepami referencyjnymi *Y. enterocolitica* 1B/O8 (n=9) z kolekcji Referencyjnego Ośrodka WHO ds. *Yersinia* (Instytut Pasteura, Francja).

Reidentyfikacja, biotypowanie i określenie grupy antygenowej. Reidentyfikację badanych szczepów przeprowadzano zgodnie z zaleceniami NIZP-PZH (32), biotypowanie przeprowadzano metodą wg *Wautersa* i wsp. (34). Określenie grupy antygenowej wykonywano przy użyciu testu lateksowego przygotowanego we własnym zakresie (11, 15).

Oznaczanie lekowrażliwości szczepów. Oznaczenie minimalnego stężenia antybiotyków hamujących wzrost drobnoustrojów (MIC) wykonano dla dwóch antybiotyków β -laktamowych: tikarcyliny oraz ampicyliny, zgodnie z zaleceniami EUCAST. W przypadku tikarcyliny (Sigma) zastosowano referencyjną metodą seryjnych rozcieńczeń antybiotyku w podłożu stałym. Dla oznaczenia wartości MIC dla ampicyliny użyto pasków Etest (Biomérieux) z gradientem stężeń antybiotyku. Interpretację wyników przeprowadzono zgodnie z zaleceniami EUCAST wg których wartości graniczne MIC (mg/L) określone dla drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae* dla tikarcyliny wynosiły: $S \leq 8$ mg/l oraz $R > 16$ mg/l, zaś dla ampicyliny $S \leq 8$ mg/l oraz $R > 8$ mg/l. Jako kontrolę stosowano szczep kontrolny *E. coli* ATCC2592.

Izolacja genomowego DNA. Izolację genomowego DNA badanych izolatów wykonano zgodnie z opisaną wcześniej procedurą (12).

Łańcuchowa reakcja polimerazy – PCR. Obecność fragmentów genów kodujących analizowane w pracy β -laktamazę pałeczek *Y. enterocolitica* określano w reakcji PCR typu duplex z użyciem genomowego DNA badanych izolatów przy użyciu starterów (Tabela 1.) Reakcję PCR przeprowadzano w końcowej objętości 25 μ l. Mieszanina reakcyjna zawierała: jałową wodę dejonizowaną; 2,5 μ l 10X buforu (Stratagene), 1 μ l 25 mM roztworu $MgCl_2$ (Fermentas), 0,5 μ l 10 mM mieszaniny dNTP (Sigma-Aldrich); 0,75 μ l 10mM każdego ze starterów; 0,75 U μ l polimerazy DNA (Paq5000 Stratagene) i 2 μ l matrycy DNA. Reakcję amplifikacji prowadzono w termocyklerze Mastercycler AG 22331 (Eppendorf) w następujących warunkach: 94°C przez 5 min., następnie 35 cykli: 94°C przez 45 s, 58°C przez 45 s i 72°C przez 45s, ostatni etap 72 °C, 5 min.. Produkty amplifikacji rozdzielano w 2% żelu agarozowym (MP Biomedicals) w buforze 1xTBE.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wszystkie badane izolaty *Y. enterocolitica* 1B/O8 (n=64) wyosobnione od ludzi na terenie Polski w 2009 r. wykazywały oporność na tikarcylinę, gdzie wartość graniczna dla szczepów opornych wynosi >16 mg/l. Oznaczona wartość MIC tikarcyliny dla 19%; 75% i 6% izolatów wynosiła odpowiednio 32, 64 i 128 mg/l. Odsetek izolatów *Y. enterocolitica* 1B/O8 opornych na ampicylinę wynosił 9.5% (MIC 12 mg/l). W przypadku szczepów *Y. enterocolitica* 1B/O8 (n=10) pochodzących z kolekcji zagranicznej Instytutu Pasteura wszystkie szczepy były oporne na tikarcylinę, oznaczona wartość MIC dla tego chemioterapeutyku wynosiła od 32 do 64 mg/l. Natomiast obserwowane u badanych szczepów wartości MIC dla ampicyliny były we wszystkich przypadkach niższe niż wartość graniczna (8 mg/l), powyżej której szczep uznawany jest za oporny. Pozytywny wynik testu PCR dla obu genów *blaA* i *ampC* stwierdzono u wszystkich badanych izolatów *Y. enterocolitica* 1B/O8.

Przeprowadzona przez Szych i wsp., (31), ocena lekowrażliwości metodą krążkowo-dyfuzyjną pałeczek *Y. enterocolitica* 1B/O8, izolowanych od ludzi w Polsce w latach 2004-2009 wykazała, iż drobnoustroje te były wrażliwe na antybiotyki z takich grup jak: aminoglikozydy, sulfonamidy, cefalosporyny III generacji, fluorochinolony czy tetracykliny. Natomiast w przypadku ampicyliny i tikarcyliny, wśród badanych szczepów wyróżniono szczepy oporne i średnio wrażliwe na powyższe substancje (31).

Ze względu na doniesienia innych autorów, wskazujące na ograniczoną przydatność metody dyfuzyjno - krążkowej w ocenie lekowrażliwości pałeczek *Y. enterocolitica*, w pracy zastosowano metodę podwójnych rozcieńczeń w celu dokładnego określenia stężenia danego antybiotyku, przy którym zachodzi zahamowanie wzrostu badanych drobnoustrojów. Uzyskane wyniki wykazały, iż wszystkie badane izolaty *Y. enterocolitica* 1B/O8 wykazywały oporność na tikarcylinę w zakresie 32 - 128 mg/l. Największy odsetek badanych izolatów (75%), wyosobnionych na terenie Polski w 2009 r., posiadał wartość MIC 64 mg/l. Natomiast jedynie 9,5% polskich izolatów było opornych na ampicylinę (MIC 12 mg/l), podczas gdy szczepy referencyjne były wrażliwe. W badaniach zaś przeprowadzonych przez Szych i wsp., (31), w przypadku tikarcyliny obserwowano wysoki odsetek (73,4%) średnio wrażliwych szczepów *Y. enterocolitica* 1B/O8. Należy jednak zaznaczyć, że uzyskane przez powyższych autorów wyniki wielkości stref zahamowania wzrostu były interpretowane według obowiązujących w tym czasie wytycznych CLSI (6). W Polsce od 2011 r., interpretacje wyników testu lekowrażliwości prowadzi się wg wytycznych EUCAST (7, 8), w których dokonano zmian wartości granicznych m.in.: dla ampicyliny i tikarcyliny. Uznane więc jako średnio wrażliwe izolaty bioserotypu 1B/O8 wobec tikarcyliny aktualnie byłyby sklasyfikowane jako oporne, co dodatkowo potwierdzałoby uzyskane w niniejszej pracy wyniki oznaczeń MIC.

Oznaczając lekowrażliwość drobnoustrojów należy mieć na uwadze możliwość wystąpienia błędnych wyników w zależności od zastosowanej metody. Meyer i wsp., (19) w swoich badaniach zauważyli, iż metoda dyfuzyjno-krążkowa jest obciążona większym prawdopodobieństwem otrzymania wyników fałszywych niż metoda kolejnych rozcieńczeń antybiotyku w podłożu (ang. MIC). Dużą ilość błędnie uznanych jako wrażliwe szczepów *Y. enterocolitica* otrzymano w przypadku ampicyliny (19).

Otrzymane wyniki oznaczeń MIC wskazują na znacznie większą wrażliwość pałeczek *Y. enterocolitica* należących do bioserotypu 1B/O8 niż do innych bioserotypów, dla których, wg piśmiennictwa odsetek szczepów opornych na ten antybiotyk mieścił się w zakresie od 77 % do 100% (1, 30). Zaobserwowana sytuacja może być prawdopodobnie wynikiem posiadania przez te drobnoustroje β -laktamazy typu „BlaA –like”. W badaniach przeprowadzonych przez Pham i wsp., (22), stwierdzono, że enzym typu „BlaA –like”, uznany jako specyficzny dla szczepów biotypu 1B, charakteryzuje się znacznie mniejszą efektywnością hydrolizy m.in. ampicyliny i karbapenicyliny niż enzym BlaA, czego wynikiem była obserwowana graniczna wrażliwość szczepów na powyższe substancje przeciwbakteryjne (2, 22). Oba enzymy mają podobne spektrum działania, ale różnią się wartością pI (punktu izoelektrycznego) i ta właściwość może być przyczyną ich różnej aktywności. Obecność β -laktamazy typu „BlaA –like” również mogłaby tłumaczyć niższe wartości MIC oznaczone dla tikarcyliny w przypadku pałeczek *Y. enterocolitica* 1B niż dla pałeczek należących do innych bioserotypów. Wspomniani wyżej autorzy dla 5 badanych izolatów *Y. enterocolitica* 1B określili wartość MIC na 32 mg/ml, podczas gdy dla pałeczek bioserotypu 2/O9; 2/O5,27; 4/O3; 3/O3, biotypu 1A i 5 zakres wartości MIC wynosił od 128 do 512 (22).

Mechanizm oporności na antybiotyki beta-laktamowe pałeczek *Y. enterocolitica* jest związany z wytwarzaniem β -laktamaz: BlaA i BlaB, oraz podtypów „BlaA-like” i „BlaB-like” (21). W pracy, w teście PCR stwierdzono obecność genów *blaA*, *ampC*, których występowanie wskazuje na posiadany przez te drobnoustroje potencjał do wytwarzania β -laktamaz. Jednakże obecność samych genów, nie świadczy o możliwości wytwarzania aktywnego enzymu. Jak wykazali de la Prieta i wsp., (23), mimo, iż u badanych szczepów należących do serotypu O5 i O5,27 wykryto geny *blaA* i *ampC*, tylko część szczepów wytwarzała jeden enzym, cefalosporynazę AmpC. Czynniki wpływającymi na brak aktywności enzymów hydrolizujących β -laktamowe antybiotyki są rearanżacje genetyczne, np. delecja 51 pz w genie *blaA*, zidentyfikowana w szczepie *Y. enterocolitica* 4/O3 IP97, prowadziła do całkowitej inaktywacji genu. Z kolei skutkiem mutacji w szczepie *Y. enterocolitica* 4/O3 Y56 była substytucja treoniny na alaninę, która powodowała zmniejszenie stopnia hydrolizy antybiotyku cefalotyny (24).

Profil lekowrażliwości pałeczek *Y. enterocolitica* na antybiotyki β -laktamowe jest zróżnicowany pomiędzy różnymi bioserotypami. Różnice w aktywności β -laktamaz BlaA oraz BlaB zostały również zaobserwowane w obrębie danego biotypu i były specyficzne dla grupy izolatów reprezentujących ten sam subtyp, typ fagowy czy miejsce (geograficzne) izolacji (21, 22). Szczepy *Y. enterocolitica* 4/O3 izolowane w różnych częściach świata, reprezentujące typ fagowy IXa wytwarzały obie laktamazy BlaA i BlaB podczas gdy szczepy *Y. enterocolitica* 4/O3 o typie fagowym IXb, izolowane w Australii i Nowej Zelandii tylko enzym BlaB (21, 22).

Obserwowane różnice w oporności na ampicylinę badanych izolatów *Y. enterocolitica* 1B/O8 przy ich przynależności do tego samego szczepu *sensu stricto* jak i wąskim przedziale czasowym ich izolacji (jeden rok) mogą wskazywać na zmienną aktywność genetycznych determinant oporności na antybiotyki β -laktamowe pałeczek *Y. enterocolitica* 1B/O8. Wyniki te mogą również świadczyć, iż profil lekooporności jako element typowania pałeczek tego bioserotypu może mieć ograniczoną przydatność.

Podziękowanie. Autor pracy składa podziękowania Dr. Elisabeth Carniel za udostępnienie szczepów *Y. enterocolitica* 1B/O8 pochodzących z kolekcji Ośrodka Referencyjnego WHO ds. *Yersinia*, Instytut Pasteura, Francja.

PIŚMIENNICTWO

1. Baumgartner A, Küffer M, Suter D i inni. Antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* strains from human patients, pigs and retail pork in Switzerland. *Int J Food Microbiol* 2007; 115: 110-4.
2. Bissett ML. *Yersinia enterocolitica* isolates from humans in California, 1968–1975. *J Clin Microbiol* 1976; 4: 137–44.
3. Bucher M, Meyer C, Grötzbach B i inni. Epidemiological data on pathogenic *Yersinia enterocolitica* in Southern Germany during 2000–2006. *Foodborne Pathog* 2008; 5: 273–80.
4. Capilla S, Goñi P, Rubio MC, Castillo i inni. Epidemiological study of resistance to nalidixic acid and other antibiotics in clinical *Yersinia enterocolitica* O:3 isolates. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 4876–8.
5. Capilla S, Ruiz J, Goñi P i inni. Characterization of the molecular mechanisms of quinolone resistance in *Yersinia enterocolitica* O:3 clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 2004; 53: 1068–71.
6. The Clinical Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disc Susceptibility Testing, 18th International Supplement. CLSI document M100-S18. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008.
7. EUCAST, Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości. Tabele interpretacji wartości granicznych minimalnych stężeń hamujących (MIC) oraz wielkości stref zahamowania wzrostu. Wersja 2.0, 2012. [Internet]. 2012.
8. EUCAST, Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości. Tabele interpretacji wartości granicznych minimalnych stężeń hamujących (MIC) oraz wielkości stref zahamowania wzrostu, wersja 1.3, 3, 2011. [Internet]. 2011.
9. Falcão JP, Falcão DP, Pitondo-Silva A i inni. Molecular typing and virulence markers of *Yersinia enterocolitica* strains from human, animal and food origins isolated between 1968 and 2000 in Brazil. *J Med Microbiol* 2006; 55: 1539–48.
10. Frazão MR, Andrade LN, Darini ALC, Falcão JP. Antimicrobial resistance and plasmid replicons in *Yersinia enterocolitica* strains isolated in Brazil in 30 years. *Braz J Infect Dis*. 2017; 4:477–80.
11. Gierczyński R. Ocena przydatności wybranych markerów wirulencji do identyfikowania chorobotwórczych szczepów pałeczek *Yersinia enterocolitica* izolowanych z materiału klinicznego od ludzi. Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Państwowy Zakład Higieny w Warszawie. 1999.
12. Gierczyński R, Szych J, Cieślík A i inni. The occurrence of the first two CTX-M-3 and TEM-1 producing isolates of *Salmonella enterica* serovar Oranienburg in Poland. *Int J Antimicrob Agents*. 2003; 21: 497–9.
13. Gierczyński R, Szych J, Rastawicki W i inni. Molecular characterization of human clinical isolates of *Yersinia enterocolitica* bioserotype 1B/O8 in Poland: emergence and dissemination of three highly related clones. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 1225–8.

14. Gumaste P, Boppana VS, Garcha AS, Blair D. Thigh Abscess Caused by *Yersinia enterocolitica* in an immunocompetent host. Case Rep Med 2012; 259475.
15. Jagielski M, Kochman M, Szych J i inni. Ocena przydatności odczynu lateksowego do wykrywania i identyfikacji O antygenów pałeczek *Yersinia enterocolitica* i *Yersinia pseudotuberculosis*. Med Dośw Mikrobiol 1996; 48: 31-7.
16. Jagielski M, Rastawicki W, Kałużewski S, Gierczyński R. Jersinioza – niedoceniana choroba zakaźna. Przegl Epidemiol 2002; 56: 57-64.
17. Janda JM i Abbot SL. The genus *Yersinia*, W: The Enterobacteria, Wydawnictwo: Lippincott-Raven, Philadelphia, New York 1998, 202-44.
18. Kay BA, Wachsmuth K, Gemski P i inni. Virulence and phenotypic characterization of *Yersinia enterocolitica* isolated from humans in the United States. J Clin Microbiol 1983; 17: 128-38.
19. Meyer C, Stolle A, Fredriksson-Ahomaa MC. Comparison of broth microdilution and disk diffusion test for antimicrobial resistance testing in *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 strains. Microb Drug Resist 2011; 17: 479-784.
20. Pham JN, Bell SM, Lanzarone JY. Biotype and antibiotic sensitivity of 100 clinical isolates of *Yersinia enterocolitica*. J Antimicrob Chemother 1991; 28: 13-8.
21. Pham JN, Bell SM, Hardy MJ i inni. Susceptibility to beta-lactam agents of *Yersinia enterocolitica* biotype 4, serotype O3 isolated in various parts of the world. J Med Microbiol 1995; 43: 9-13.
22. Pham JN, Bell SM, Martin L, Carniel E. The beta-lactamases and beta-lactam antibiotic susceptibility of *Yersinia enterocolitica*. J Antimicrob Chemother 2000; 46: 951-7.
23. de la Prieta MC, Seoame A, Díaz J i inni. Beta-lactamase genes and beta-lactamic susceptibility in *Yersinia enterocolitica*. Contrib Microbiol Immunol 1995; 13: 184-7.
24. de la Prieta MC, Francia MV, Seoane A, Lobo JM. Characterization of defective beta-lactamase genes in *Yersinia enterocolitica*. J Antimicrob Chemother 2006; 58: 661-4.
25. Rastawicki W, Gierczyński R, Jagielski M i inni. Susceptibility of Polish clinical strains of *Yersinia enterocolitica* serotype O3 to antibiotics. Int J Antimicrob Agents 2000; 13: 297-300.
26. Seoane A, Francia MV, García Lobo JM. Nucleotide sequence of the *ampC-ampR* region from the chromosome of *Yersinia enterocolitica*. Antimicrob Agents Chemother. 1992; 36:1049-52.
27. Sharma S, Ramnani P, Viridi JS. Detection and assay of beta-lactamases in clinical and non-clinical strains of *Yersinia enterocolitica* biovar 1A. J Antimicrob Chemother 2004; 54: 401-405.
28. Sihvonen LM, Toivonen S, Haukka K i inni. Multilocus variable-number tandem-repeat analysis, pulsed-field gel electrophoresis, and antimicrobial susceptibility patterns in discrimination of sporadic and outbreak-related strains of *Yersinia enterocolitica*. BMC Microbiol 2011; 11: 42. doi: 10.1186/1471-2180-11-42.
29. Stock I, Heisig P, Wiedemann B. Expression of β -lactamases in *Yersinia enterocolitica* strains of biovars 2, 4 and 5. J Med Microbiol 1999; 48: 1023-27.
30. Stock I, Heisig P, Wiedemann B. β -lactamase expression in *Yersinia enterocolitica* biovars 1A, 1B, and 3. J Med Microbiol 2000; 49: 403-8.

31. Szych J, Jakubczak A, Wardak S, Madajczak G. Ocena wrażliwości na wybrane antybiotyki pałeczek *Yersinia enterocolitica* i *Yersinia pseudotuberculosis* izolowanych z próbek materiału klinicznego w Polsce w latach 2004-2009. Med Dośw Mikrobiol 2009; 61: 311-9.
32. Szych J. Zakażenia i zatrucia pokarmowe, wywołane przez bakterie rosnące w warunkach tlenowych. Diagnostyka laboratoryjna W: Etiologia, obraz kliniczny i diagnostyka ostrych zakażeń i zarażeń pokarmowych oraz zatruc pokarmowych. Red. M. Jagielski, Fundacja Pro Pharmacia Futura, Warszawa 2010.
33. Szych J. Jersinioza –nowe zagrożenie mało znaną chorobą. Nowa Klinika 2011; 18: 4045-50.
34. Wauters G, Kandolo K, Janssens M. Revised biogrouping scheme of *Yersinia enterocolitica*. Contrib Microbiol Immunol. 1987; 9: 14-21.
35. Zacharczuk K. Molekularna charakterystyka pałeczek *Yersinia enterocolitica* 1B/O8 wyizolowanych od ludzi w Polsce w 2009 roku. Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych w zakresie biologii medycznej. Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny w Warszawie. 2013.

Otrzymano: 15 X 2018 r.

Adres Autora: 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24, Zakład Bakteriologii i Zwalczania Skazań Biologicznych Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny