

MARZENNA BARTOSZEWICZ¹, JOANNA NOWICKA¹, WOJCIECH KUSTRZYCKI²,
MAREK PELCZAR²

Charakterystyka gronkowców koagulazoujemnych kolonizujących cewniki naczyniowe u pacjentów leczonych kardiochirurgicznie

Characteristics of Coagulase-Negative Staphylococci Colonizing Catheters Among Cardiosurgical Patients

¹ Katedra i Zakład Mikrobiologii AM we Wrocławiu

² Katedra i Klinika Chirurgii Serca AM we Wrocławiu

Streszczenie

Wprowadzenie. Na zakażenia gronkowcami koagulazoujemnymi (CNS) najbardziej są narażeni pacjenci z wszczepionymi ciałami obcymi (cewnikami naczyniowymi, moczowymi, zastawkami serca, rozrusznikami, protezami stawowymi, przetokami ośrodkowego układu nerwowego, rurkami intubacyjnymi). Najlepiej opisaną cechą chorobotwórczą CNS jest adhezja do powierzchni syntetycznych. Następnym etapem wstępnej odwracalnej adhezji może być swoisty (nieodwracalny) mechanizm, uwarunkowany procesami polegającymi na wiązaniu struktur na komórce bakteryjnej (adhezyny, lektyny) z odpowiednimi białkowymi ligandami (receptory komórkowe). Ścisłe przyleganie cienkiej warstwy skupionych komórek bakteryjnych połączonych śluzem do powierzchni objawia się tworzeniem biofilmu. W procesie istotne znaczenie przypisuje się śródkomórkowemu antygenowi polisacharydowemu (PIA – *polysaccharide intercellular antigen*). Jego wytwarzanie wiąże się z ekspresją operonu, w skład którego wchodzi geny *icaABCD*. Badania wskazują, że kodowana przez gen *icaA* N-acetylotransferaza jest kluczowym enzymem biorącym udział w syntezie PIA.

Cel pracy. Charakterystyka wybranych mechanizmów warunkujących przyleganie gronkowców koagulazoujemnych do biomateriałów przez: badanie stopnia adherencji do cewników naczyniowych i zdolności wytwarzania śluzu, oznaczenie obecności *icaA* i *icaD* oraz ocenę hydrofobowości.

Materiał i metody. Badania przeprowadzono na 17 szczepach CNS izolowanych od pacjentów Kliniki Kardiochirurgii. Zdolność wydzielania śluzu oceniano w teście płytkowym według Christensena oraz oceniając wzrost na Congo Red Agar. Stopień adhezji do cewnika żylnego z politetrafluoroetylenem *in vitro* oceniano według metody Richardsa. Izolację genomowego DNA przeprowadzono według de Bruijn et al. W celu detekcji genów *icaA* i *icaD* genomowe DNA analizowanych szczepów amplifikowano metodą PCR. Po przeprowadzeniu łańcuchowej reakcji polimeryzacji próbki poddawano elektroforezie analitycznej. Odmienną ruchliwość elektroforetyczną produktów PCR określano na podstawie rozdziału markera mas (100 bp Gene Ruler, Fermentans). Właściwości hydrofobowe komórek oceniano na podstawie agregacji zawiesiny bakterii w roztworach $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Wyniki. Wśród 17 badanych szczepów oboma metodami, płytkową i hodowli na CRA, 23,5% oznaczono jako wytwarzające śluz. 23,5% szczepów redukowało TTC na 4+, 29,5% na 2+ i 29,5% na 1+. Wśród analizowanych szczepów 29,5% nie redukowało TTC. Oba geny *icaA* i *icaD* wykryto jedynie u *S. epidermidis* geny *icaA* u *S. capitis* i *S. hominis*, a gen *icaD* tylko u *S. capitis*, *S. hominis* i *S. chromogenes*.

Wnioski. Dokładne poznanie mechanizmów i czynników warunkujących adhezję u *S. epidermidis* i innych coraz częściej izolowanych gatunków CNS może przyczynić się do zmniejszenia liczby zakażeń wywoływanych przez te drobnoustroje (Adv Clin Exp Med 2005, 14, 2, 287–292).

Słowa kluczowe: gronkowce koagulazoujemne, zakażenia odcewnikowe, adhezja, śluz.

Abstract

Background. The highest exposure to CNS infections is observed in patients with artificial implants intravascular catheters, prosthetic heart valves, prosthetic joints, cerebrospinal fluid shunts, artificial pacemakers, chronic ambulatory peritoneal dialysis catheters. The best characterized CNS pathogenic factors are ability to adhesion to the synthetic surfaces. Adhesins whose structure and function is similar to the fimbrial one belong to other extracellu-

lar formations. There are specific relations between structures from the bacterial cell surface (adhesions, lectins) and protein ligands (host cell receptors). Those bacteria adherence to biomaterial surfaces is caused by thin layer formation from the condensed bacteria and by the slime synthesis. Polysaccharide intercellular antigen (PIA) is found to be very important for biofilm formation.

Objectives. Our research group will realize intended aims through the following studies: ability to adhesion and slime production, detection of the *icaA* and *icaD* gene in CNS and characteristics of surface of bacterial cells.

Material and Methods. The research has been done on CNS strains isolated from cardio-surgical patients. Slime production ability was evaluated using plate method according to Christensen and Congo Red Agar method. Adherence of bacterial strains to intravenous catheter (polytetrafluoroethylene) *in vitro* was determined using the method of Richards. Isolation of the genomic DNA was carried out according to de Bruijn et al. Hydrophobicity of surface cells was determined on the basis of aggregation in $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Results. Out of the 17 strains 23.5% were labeled with the use of both methods as slime producing. 23.5% of analyzed strains were found to have TTC reduction of 4+, 29.5% of 2+ and 29.5% of 1+. Among these 29.5% of the assessed strains did not reduce TTC. Both the *icaA* and *icaD* gene was determined only at *S. epidermidis* strains, the *icaA* gene at *S. capitis* and *S. hominis* and only *icaD* gene at *S. capitis*, *S. hominis*, *S. chromogenes*.

Conclusions. A detailed study into the mechanism and adhesion factors of CNS staphylococci can help prevent infections caused by these microorganism (*Adv Clin Exp Med* 2005, 14, 2, 287–292).

Key words: coagulase-negative staphylococci, adhesion, biofilm formation, slime production.

Zakażenia wywołane przez gronkowce koagulazoujemne (CNS) pozostają w ścisłym związku z interwencją chirurgiczną, wprowadzaniem lub wszczepianiem ciał obcych, takich jak: cewniki żyłne, moczowe, zastawki naczyniowe, sztuczne zastawki serca, dreny, protezy naczyniowe lub ortopedyczne. Najczęściej są wynikiem kontaminacji biomateriału w momencie jego implantacji lub następstwem przejściowej bakteriemii [1, 2]. Objawy zakażeń BAI (*biomaterial-associated infection*) mogą wystąpić w krótkim czasie po wykonaniu implantacji, ale zdarzają się również po upływie kilku tygodni, miesięcy lub lat.

Adhezja gronkowców koagulazoujemnych do powierzchni cewników to pierwszy etap utrwalania się infekcji, zapoczątkowany najczęściej w miejscu zetknięcia się biomateriału ze skórą. Opłaszczanie polimeru przez składniki krwi gospodarza (adsorpcja wody, albumin, lipidów, cząsteczek zewnątrzkomórkowej matrix, fibronektyny, soli nieorganicznych) powoduje zmiany w strukturze jego powierzchni [3, 4].

Wyróżniono dwa główne etapy adhezji drobnoustrojów. Wstępny etap przylegania jest odwracalny i zachodzi z udziałem sił fizycznych. Na ostateczny efekt tego procesu ma wpływ wypadkowy rozkład sił przyciągania i odpychania. Należy pamiętać, że oddziaływania elektrostatyczne sprzyjają odpychaniu, co wynika z ujemnego ładunku zgromadzonego na powierzchni komórki [3]. Nieodwracalny etap przylegania zachodzi dzięki obecności na komórce bakteryjnej adhezyn łączących się swoiście z receptorami na powierzchni biomateriału [5, 6]. W wyniku tego procesu na powierzchni cewnika dochodzi do wytworzenia biofilmu, czyli struktury złożonej z komórek gronkowców koagulazoujemnych połączonych zewnątrzkomórkowym śluzem [7–9].

Główną rolę w akumulacji agregatów komórkowych odgrywa polisacharydowy antygen PIA (PIA – *polysaccharide intercellular antigen*) związany z trwałą i okresową implantacją, będący produktem ekspresji operonu *icaADBC* [10]. Ekspresja genów *icaA*, *icaD* oraz *icaC* jest absolutnie konieczna do syntezy PIA, *icaA* koduje enzym N-acetyloglukozotransferazę, katalizujący reakcję tworzenia PIA [11].

Badania dotyczące adhezji CNS do biomateriałów podjęto ze względu na wyraźny wzrost częstości zakażeń odcewnikowych oraz związanych ze stosowaniem biomateriałów.

Celem pracy była charakterystyka wybranych mechanizmów warunkujących przyleganie CNS do biomateriałów. W pracy analizowano: zdolność wytwarzania śluzu dwiema metodami, stopień adhezji szczepów do cewnika żylnego, detekcję genów *icaA* i *icaD* odpowiedzialnych za wytwarzanie PIA oraz hydrofobowość powierzchni komórki bakteryjnej.

Material i metody

Badania przeprowadzono na 17 szczepach CNS (*S. epidermidis* – 7, *S. capitis* – 4, *S. haemolyticus* – 2, *S. chromogenes* – 2, *S. hominis* – 2) izolowanych z powierzchni cewników naczyniowych od pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chirurgii Serca AM we Wrocławiu.

Zdolność wytwarzania śluzu oceniano w teście płytkowym według Christensena [6] z zastosowaniem safraniny jako znacznika barwnego oraz przez ocenę wzrostu na Congo Red Agar.

Stopień adhezji do cewnika żylnego z politetrafluoroetylenem *in vitro* oceniano według metody Richardsa [12]. W metodzie określano stopień re-

dukcji TTC do formazanu według następującej skali: 1+ – lekkie punktowe zaróżwienie biomateriału; 2+ – zaczerwienienie całej powierzchni; 3+ – zaczerwienienie powierzchni i wnętrza cewnika; 4+ – zaczerwienienie całego biomateriału, zmętnienie i czerwona barwa podłoża.

Izolację genomowego DNA przeprowadzono według de Bruijn et al. [13]. W celu detekcji genów *icaA* i *icaD* genomowe DNA analizowanych szczepów amplifikowano metodą PCR. Po przeprowadzeniu łańcuchowej reakcji polimeryzacji próbki poddawano elektroforezie analitycznej. Odmianą ruchliwość elektroforetyczną produktów PCR określano na podstawie rozdziału markera mas (100 bp Gene Ruler, Fermentans).

Właściwości hydrofobowe komórek oceniano na podstawie agregacji zawiesiny bakterii w roztworach $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ [14]. Szczepy o bardzo silnie hydrofobowej powierzchni komórki ulegały agregacji w 3% NaCl (autoagregacja), szczepy o silnie hydrofobowej powierzchni agregowały w stężeniu soli 0,4–1,0 M, a szczepy o hydrofobowej powierzchni agregowały w stężeniu 1,2–1,6 M. Szczepy o hydrofilowej powierzchni komórki agregowały w stężeniu $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 > 1,8$ M.

Wyniki

Wśród 17 zbadanych szczepów (obiema metodami, płytkową i hodowli na CRA), 23,5% oznaczono jako wytwarzające śluz. 23,5% szczepów redukowało TTC na 4+, 29,5% na 2+ i 29,5% na 1+. Wśród analizowanych szczepów 29,5% nie redukowało TTC (ryc. 1). 47% analizowanych szczepów ulegało autoagregacji, 29,5% szczepów wykazywało właściwości hydrofobowe powierzchni komórki, a 23,5% właściwości hydrofilowe (ryc. 2).

Oba geny *icaA* i *icaD* wykryto jedynie u *S. epidermidis*, geny *icaA* u *S. capitis* i *S. hominis* a gen *icaD* tylko u *S. capitis*, *S. hominis* i *S. chromogenes*.

Zależność między stopniem adhezji, zdolno-

ścią wydzielania śluzu, obecnością genów i hydrofobowością powierzchni komórki bakteryjnej przedstawiono w tabeli 1.

Omówienie

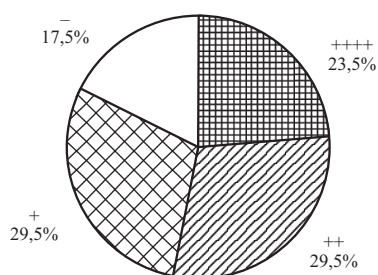
Znaczny postęp diagnostycznych i leczniczych technik medycznych spowodował zwiększenie częstości zakażeń odcewnikowych wywołanych przez gronkowce koagulazoujemne (CNS). Jednym z czynników warunkujących kolonizację cewników naczyniowych jest zdolność przylegania bakterii do biomateriałów [15–17].

Szczepy wyizolowane z powierzchni cewników naczyniowych od pacjentów hospitalizowanych w Klinice Chirurgii Serca należą do 5 gatunków, przy czym na uwagę zasługuje pojawienie się aż 4 szczepów *S. capitis*. Różnorodność badanych gatunków gronkowców koagulazoujemnych świadczy o heterogenności tej populacji, co sugeruje odmienne pochodzenie badanych szczepów. Ich źródłem może być endogenna flora bakteryjna pacjentów lub flora wewnątrzszpitalna.

Adherencja do powierzchni z tworzyw sztucznych stosowanych we współczesnej medycynie jest jednym z najważniejszych mechanizmów zjadliwości CNS [3].

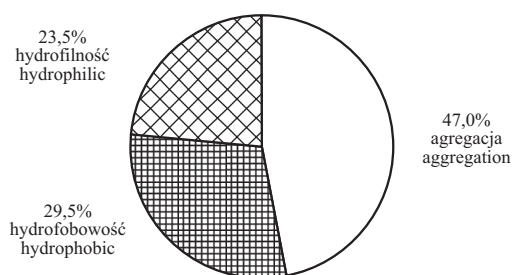
Szczepy badane przez autorów wykazywały różną siłę adherencji, przy czym gatunki *S. epidermidis* i *S. capitis* odznaczały się najwyższym stopniem przylegania (na 3+ i 4+). Badania kontrolne (bez zawiesiny drobnoustrojów) potwierdzają, iż redukcja bezbarwnego TTC do czerwonego formazanu jest wyłącznie przeprowadzana przez żywe drobnoustroje w wyniku działania dehydrogenazy lub mitochondrialnego łańcucha oddechowego. Rodzaj materiału, z którego są wykonane cewniki, nie ma wpływu na przemianę TTC, podobnie jak kształt lub kolor zastosowanych tworzyw sztucznych.

Hydrofobowość powierzchni komórki bakteryjnej ma ogromne znaczenie w jej pierwszym kontakcie z powierzchnią biomateriału, jest więc



Ryc. 1. Adhezja CNS do powierzchni biomateriału

Fig. 1. Adhesion of CNS to surface of biomaterial



Ryc. 2. Charakterystyka powierzchni komórek CNS

Fig. 2. Characteristics of CNS surface

Tabela 1. Analiza stopnia adhezji, zdolności wytwarzania śluzu, obecności genów i hydrofobowości powierzchni komórki bakteryjnej gronkowców koagulazoujemnych

Table 1. Analysis of adhesion, slime production ability, presence of gene and hydrophobicity of bacterial surface of coagulase-negative *staphylococci*

Gatunek (Species)	Wytwarzanie śluzu (Slime production)		Stopień adhezji do cewnika żylnego (Level of adhesion to intravenous catheter)	Ekspresja genu (Presence of gene)		Hydrofobowość komórki (Hydrophobicity of bacterial surface)
	metoda płytkowa (plate method)	metoda CRA (CRA method)		<i>icaA</i>	<i>icaD</i>	
<i>S. epidermidis</i>	–	–	3+	–	–	hydrofobowa
<i>S. epidermidis</i>	–	–	–	–	–	autoagregacja
<i>S. epidermidis</i>	–	–	2+	–	–	autoagregacja
<i>S. epidermidis</i>	–	–	1+	–	–	autoagregacja
<i>S. epidermidis</i>	–	–	1+	–	–	autoagregacja
<i>S. epidermidis</i>	+	+	4+	+	+	autoagregacja
<i>S. epidermidis</i>	–	–	2+	–	–	autoagregacja
<i>S. capitis</i>	–	–	–	–	+	hydrofilowa
<i>S. capitis</i>	+	+	4+	–	–	hydrofilowa
<i>S. capitis</i>	+	+	3+	–	–	hydrofilowa
<i>S. capitis</i>	–	+	–	+	–	hydrofilowa
<i>S. chromogenes</i>	–	–	2+	–	–	hydrofobowa
<i>S. chromogenes</i>	+	–	2+	–	+	hydrofobowa
<i>S. haemolyticus</i>	–	–	2+	–	–	autoagregacja
<i>S. haemolyticus</i>	–	–	1+	–	–	hydrofobowa
<i>S. hominis</i>	–	–	1+	–	+	autoagregacja
<i>S. hominis</i>	–	–	1+	+	–	autoagregacja

istotnym czynnikiem warunkującym adhezję drobnoustrojów [14]. Wśród badanych szczepów 47% wykazywało bardzo silne właściwości hydrofobowe powierzchni komórki, ujawniające się jako zdolność do autoagregacji, właściwości hydrofobowe – 29,5%, a właściwości hydrofilne – 23,5% (ryc. 2). Badania wielośrodkowe wykazują, że wśród gronkowców koagulazoujemnych kolonizujących biomateriały medyczne przeważają szczepy o właściwościach hydrofobowych. Po związaniu się bakterii z biopolimerem rozpoczyna się wytwarzanie śluzu, czyli zewnątrzkomórkowego materiału będącego mieszaniną wielu składników, takich jak: białka powierzchniowe, kwasy tejchojowe, lipotejchojowe, tejchuronowe i polimery polisacharydowe [9]. Wydzielanie śluzu pomaga drobnoustrojom w przeżyciu w organizmie gospodarza, stanowiąc barierę przed czynnikami środowiska wewnętrznego, składnikami układu odpornościowego, bakteriofagami oraz przed lekami. Egzopolisacharyd spaja komórki bakteryjne ze sobą na powierzchni biomateriałów i umożliwia tworzenie przez CNS agregatów. Całkowita gęstość tej struktury wzrasta, jeśli zachodzi aktywny podział mikroorganizmów, a zewnątrzkomórkowe komponenty wytworzone w wyniku bakteryjnych interakcji z organicznymi i nieorganicznymi cząsteczkami najbliższego środowiska zaczynają tworzyć tzw. glikokaliks ściśle przylegający do ścian

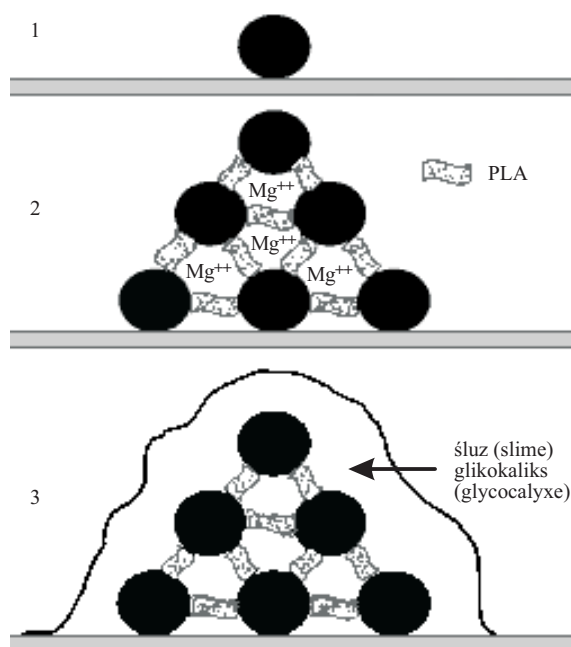
bakteryjnych [7]. Zarówno w metodzie hodowli na Congo Red Agar, jak i w metodzie próbówkowej 18% szczepów odznaczało się zdolnością do wytwarzania śluzu.

Spośród badanych szczepów 70% nie wytwarzało śluzu w żadnej z metod. Szczepy produkujące śluz (w obu metodach) oraz adherujące stanowiły 17,6%. Wyizolowane *S. capitis* adherowały w najwyższym stopniu (4+) i wytwarzały śluz wykrywalny obiema metodami.

Pojedyncze szczepy *S. epidermidis* i *S. chromogenes*, przylegające na 2+, oraz *S. epidermidis* adherujący na 3+ nie wytwarzały śluzu żadną z metod, powierzchnia ich komórek miała natomiast charakter hydrofobowy.

Antygen polisacharydowy PIA, jeden z najważniejszych czynników wirulencji CNS, jest produktem ekspresji operonu *icaADBC*. Odpowiada za akumulację agregatów komórkowych na powierzchni biomateriału [10, 11] (ryc. 3).

Pod względem struktury chemicznej PIA to liniowy, β -1,6-N-acetylo-D-glukozaminoglikan, w 80% acetylowany [9]. W celu określenia częstości występowania genów *icaA* i *icaD* wykonano PCR z wykorzystaniem genomowego DNA pochodzącego z 17 szczepów gronkowców koagulazoujemnych charakteryzujących się oznaczonym stopniem adherencji, zdolnością do wytwarzania śluzu i o określonej hydrofobowości komórki. Je-



Ryc. 3. Proces adhezji gronkowców koagulazoujemnych do cewników żylnych: 1 – „faza łączenia”; 2 – agregacja komórek bakteryjnych; 3 – końcowy etap wytworzenia śluzu

Fig. 3. Adhesion of coagulase-negative staphylococci to intravenous catheter: 1 – „state phase”; 2 – bacterial cell aggregation; 3 – slime production

den szczep *S. epidermidis* wykazywał obecność obu genów. Dla pojedynczych szczepów: *S. capitis* i *S. hominis* wynik reakcji PCR był dodatni tylko dla genu *icaA*, a dla *S. chromogenes*, *S. capitis*, *S. hominis* stwierdzono tylko obecność genu *icaD*.

S. chromogenes, obok obecności genu *icaD*,

wykazywał adhezję na 2+, wytwarzał śluz, a powierzchnia jego komórki miała charakter hydrofobowy, co znacznie promuje adhezję. Wynik reakcji PCR genów *icaA* i *icaD* dla innych gatunków był ujemny, co nasuwa przypuszczenie, iż badane szczepy należące do tych gatunków, podobnie jak udowodniono to już u *S. haemolyticus*, przypuszczalnie nie mają szukanych sekwencji. Przeprowadzone badania oceny zdolności adhezji do biomateriałów oraz wydzielania śluzu wskazują, że u szczepów innych niż *S. epidermidis* w sekwencji operonu *icaADBC* wystąpiły mutacje uniemożliwiające otrzymanie poprawnych produktów w zaprojektowanej reakcji PCR – ze względu na zbyt małą komplementarność primerów. Prawdopodobne jest również, że szczepy te korzystają z innego operonu, którego produkt ma właściwości zbliżone do acetylotransferazy kodowanej przez operon *icaADBC*. Istnieje również przypuszczenie, że gatunek *S. haemolyticus* przeprowadza syntezę enzymu zbliżonego budową do acetylotransferazy albo nie wytwarza jej wcale, gdyż w drodze ewolucji mógł wykształcić inne, skuteczniejsze niż u *S. epidermidis*, mechanizmy warunkujące adhezję [18].

Poznanie i ocena czynników warunkujących zakażenia odcewnikowe wywołane przez gronkowce koagulazoujemne przyczyni się do pełniejszego określenia cech zjadliwości tych szczepów. Wykrycie i udowodnienie roli tych czynników u szczepów *S. epidermidis* i innych gatunków CNS, coraz częściej izolowanych od pacjentów z zakażeniami odcewnikowymi, może przyspieszyć działania umożliwiające zapobieganie tego typu infekcjom.

Piśmiennictwo

- [1] Hermann M, Baudaux D, Pittet R: Fibronectin, fibrinogen, and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcal isolates from foreign material. *J Inf Dis* 1998, 158, 693–701.
- [2] Gotz F: Staphylococcus and biofilms. *Mol Microbiol* 2002, 43, 1367–1378.
- [3] An YH, Dickinson RB, Doyle RJ: Mechanisms of bacterial adhesion and pathogenesis of implant and tissue infections. In: *Handbook of bacterial adhesion: principles, methods, and applications*. Eds.: An YH, Friedman RJ, Human Press, Totowa – N Y 2000, 1–27.
- [4] Goldmann DA, Pier GB: Pathogenesis of infections related to intravascular catheterization. *Clin Microbiol Rev* 1993, 6, 176–192.
- [5] Brokke P, Dankert J, Carballo J: Adherence of coagulase-negative staphylococci onto polyethylene catheters *in vitro* and *in vivo*: a study on the influence of various plasma proteins. *J Biomater Appl* 1991, 5 (3), 204–226.
- [6] Carballo J, Ferreiros CM, Criado MT: Importance of experimental design in the evaluation of the influence of proteins in bacterial adherence to polymers. *Med Microbiol Immunol* 1991, 180 (3), 149–150.
- [7] Boland T, Latour RA, Sutzenberger FJ: Molecular basis of bacterial adhesion: principles, methods, and applications. Eds.: An YH, Friedman RJ, Human Press, Totowa – N Y 2000, 29–41.
- [8] Huebner J, Goldmann AD: Coagulase-negative staphylococci: role as pathogens. *Ann Rev Med* 1999, 50, 223–236.
- [9] Kubler J: Badania nad polisacharydowymi antygenami powierzchniowymi gronkowców koagulazoujemnych. Rozprawa doktorska. Wrocław 1999.
- [10] Arciola C, Baldassarri L: Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. *J Clin Microbiol* 2001, 6, 2151–2156.
- [11] Fisher M: The intercellular adhesin involved in biofilm accumulation of *S. epidermidis* is olinear β -1,6-linked glucosaminoglycan: purification and structural analysis. *J Bacteriol* 1996, 178, 175–183.

- [12] **Różalska B, Sadowska B:** Wykrywanie biofilmu bakteryjnego na biomateriałach medycznych. *Med Dośw Mikrobiol* 1998, 50, 115–122.
- [13] **De Bruijn FJ, Rademaker JLW:** Characterisation and classification of microbes by rep-PCR genomic fingerprinting and computer-assisted pattern analysis. In: *DNA markers: protocols, applications, and overviews*. Eds.: Gaetano-Anolles G, Gresshoff P M J Wiley and Sons, New York 1997, 151–171.
- [14] **Korona-Główniak I, Łoś R, Mahn A:** Fenotypowa charakterystyka gronkowców koagulazoujemnych kolonizujących dreny po zabiegach torakochirurgicznych u pacjentów z rakiem płuca. *Med Dośw Mikrobiol* 2003, 55, 109–115.
- [15] **Hermann M, Peters G:** Catheter-associated infections caused by coagulase-negative staphylococci: clinical and biological aspects. *Catheter-related infections*. M Dekker Inc 1997, 97–109.
- [16] **Rupp ME, Fey PD:** *In vitro* models to evaluate adhesion and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*. *Methods Enzymol* 2001, 336, 206–215.
- [17] **Von Eiff Ch, Proctor RA, Peters G:** Gronkowce koagulazoujemne. *Medycyna po Dyplomie* 2002, 11, 189–201.
- [18] **Crampton S, Gerke C, Gotz F:** The intercellular adhesion locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *Mikrobielle Genetic* 1999, 67, 10, 5427–5433.

Adres do korespondencji:

Marzena Bartoszewicz
Katedra i Zakład Mikrobiologii AM we Wrocławiu
ul. T. Chałubińskiego 4
50-368 Wrocław

Praca wpłynęła do Redakcji: 20.05.2004 r.

Po recenzji: 8.07.2004 r.

Zaakceptowano do druku: 6.08.2004 r.

Received: 20.05.2004

Revised: 8.07.2004

Accepted: 6.08.2004