

*Piotr Kluciński, Gayane Martirosian*

## ROLA CYTOKIN I RECEPTORÓW MOLEKULARNYCH WZORCÓW PATOGENÓW W SEPSIE

Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej  
Śląskiej Akademii Medycznej w Katowicach  
Kierownik: Gayane Martirosian

*Sepsa jest stanem zagrożenia życia związanym z nadmierną odpowiedzią zapalną na zakażenie, której towarzyszy dysregulacja mechanizmów odporności nieswoistej. Na podstawie danych literatury przedstawiono wpływ czynników zjadliwości bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych, cytokin, receptorów molekularnych wzorców patogenów (PAMP), receptorów Toll-podobnych (TLR), białek rozpoznających peptydoglikan (PGRP), białek cytozolowych NOD oraz glikoproteiny TREM1 na rozwój i przebieg sepsy.*

*Słowa kluczowe: sepsa, cytokiny, receptory molekularnych wzorców patogenów*  
*Key words: sepsis, cytokines, pathogen associated molecular pattern receptors*

### WSTĘP

Sepsa jest uogólnioną reakcją zapalną organizmu wywołaną czynnikami zakaźnymi: bakteriami, wirusami, grzybami lub pasożytami. W przebiegu sepsy dochodzi do nadmiernej odpowiedzi zapalnej, związanej z amplifikacją mechanizmów odporności wrodzonej, które później mogą prowadzić do jej dysregulacji, nakładając się na zaburzenia hemodynamiczne i zaburzenia wentylacji chorego. Zachodząca we wczesnej fazie intensywna prozapalna odpowiedź układu odpornościowego wywołana zakażeniem lub urazem może prowadzić do utraty zdolności niszczenia drobnoustrojów a także wpływać negatywnie na funkcję istotnych dla życia narządów, prowadząc do ich niewydolności. Istotną rolę w dysregulacji przypisuje się czynnikowi martwicy nowotworów –  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), którego stężenia w surowicy, jak i w tkankach, są proporcjonalnie wyższe w stanach zapalenia, uszkodzenia narządu czy wstrząsu septycznego. Z klinicznego punktu widzenia początek sepsy jest często podstępny i u pacjenta mogą wystąpić: gorączka, zaburzenia świadomości, spadek ciśnienia tętniczego, oliguria, czy nie wyjaśniona trombocytopenia. W przypadku braku przyczynowego leczenia dochodzić może do niewydolności oddechowej lub nerek, zaburzeń hemodynamicznych czy krzepnięcia (1). W USA sepsa występuje z częstotliwością 3/1000 mieszkańców dając roczną liczbę około 750 000 przypadków. Często-

tliwość wzrasta wraz z wiekiem (ponad 100 razy) od 0,2/1000 u dzieci do 26,2/1000 powyżej 85 roku życia i wykazuje tendencję wzrostową 1,5% rocznie. Śmiertelność wzrasta wraz z wiekiem od 10% u dzieci do 38% u osób powyżej 85 roku życia (średnio 28,6%) (2). W dwóch europejskich badaniach epidemiologicznych pacjentów hospitalizowanych w ośrodkach intensywnej opieki medycznej stwierdzono sepsę odpowiednio w 28% i 29%, ciężką sepsę w 24% i 23% i wstrząs septyczny w 30 i 31%, a śmiertelność oszacowano w zależności od rodzaju sepsy od 25% do 60% (3, 4). W Polsce śmiertelność z powodu sepsy wyniosła w 2002 roku 34% (5). Potwierdzenie mikrobiologiczne diagnozy uzyskano w 65% (4). W sepsie pochodzenia szpitalnego dodatni wynik posiewu krwi uzyskano w 71%, pozaszpitalnego w 55%, a nabytej w oddziałach intensywnej terapii w 86%. Z krwi najczęściej hodowano pałeczki Gram-ujemne (45%) i ziarenkowce Gram-dodatnie (37%), a następnie drożdżaki z rodzaju *Candida* i grzyby (10%). Zakażenia Gram-dodatnimi ziarniakami odnotowano w 39% przypadków pozaszpitalnych i 36 % zakażeń szpitalnych. W przypadku bakterii Gram-ujemnych 35% stanowiły zakażenia pozaszpitalne i 48% zakażenia szpitalne (3). Najczęstszymi wrotami zakażenia są: płuca, jama brzuszna, układ moczowy i pierwotne zakażenie łożyska krwi (2,3).

#### ROLA BAKTERII GRAM-DODATNICH I GRAM-UJEMNYCH W SEPSIE

Jak wynika z przeprowadzonych badań czynnikami etiologicznymi sepsy są głównie bakterie. W przypadku bakterii Gram-ujemnych główną rolę w powstawaniu reakcji zapalnej przypisuje się lipopolisacharydowi (LPS) – endotoksynie składnika ściany komórki tych bakterii z najbardziej aktywnym elementem lipidem A (6). U bakterii Gram-dodatnich głównie dwa składniki ściany odpowiedzialne za aktywność biologiczną to peptydoglikan i kwas lipoteichoowy. Tym dwóm składnikom przypisuje się działanie prozapalne, ale są one mniej aktywne biologicznie aniżeli LPS w przeliczeniu na jednostki wagowe (7,8). Niektóre z bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus* i *Streptococcus pyogenes*) mogą wywoływać wstrząs septyczny, co związane jest z produkcją przez nie odpowiednio toksyny wstrząsu toksycznego-1 (TSST-1; toxic shock syndrome toxin-1) i toksyny pirogennej (SPEA – streptococcal pyrogenic exotoxin A). Zakażenia te przebiegają z bardzo wysoką, sięgającą do 50% śmiertelnością. Obie te toksyny są superantygenami łączącymi się do MHC klasy II i do domeny V $\beta$  receptora TCR limfocytów T, powodując niekontrolowaną, masową produkcję cytokin prozapalnych (9). Ostatnio wykryto egzotoksynę o właściwościach superantygeny – mitogenną paciorkowcową egzotoksynę Z (SMEZ – streptococcal mitogenic exotoxin Z), wykazującą znacznie silniejsze działanie od SPEA (10). Dodatkowo stwierdzono, że superantygeny bakterii Gram-dodatnich wywołują nadwrażliwość na LPS. Gronkowcowa TSST-1 – zwiększa wrażliwość u królika na letalną dawkę LPS 50 000 razy. Jednoczesne wprowadzenie LPS i TSST-1 indukuje powstanie znacznie wyższych stężeń TNF- $\alpha$  niż przy oddzielnym podaniu tych toksyn. U myszy z ciężkim złożonym niedoborem odporności (brak limfocytów T i B) nie stwierdzono tego efektu, a w przypadku rekonstrukcji brakujących limfocytów T, obserwowano poprzednio opisywany letalny efekt, przypisując odpowiedzialność limfocytom T i zwiększonej produkcji interferonu  $\gamma$  (11). Za wstrząs septyczny na modelu eksperymentalnym odpowiadają też flagellina, i niemetylowane sekwencje bakteryjnego DNA zawierające dwunukleotydy cytozyna-guanina (8).

## MECHANIZMY ODPORNOŚCI MAKROORGANIZMU

**Cytokiny.** Za rozwój sepsy odpowiadają mechanizmy odporności wrodzonej ze względu na to, że w pełni swoista odporność rozwija się najwcześniej pod koniec pierwszego tygodnia od kontaktu z antygenem. W związku z powyższym rola tej odpowiedzi ma niewielkie znaczenie. W fazie aktywacji odpowiedzi nieswoistej istotną rolę odgrywają monocyty i makrofagi produkujące w początkowej fazie rozwoju sepsy cytokiny prozapalne: interleukinę-1 (IL-1) i TNF- $\alpha$ . Następnie dochodzi do produkcji interleukiny-6 (IL-6), interleukiny-8 (IL-8), GM-CSF oraz antyzapalnego antagonisty receptora IL-1R (IL-1Ra) i interleukiny-10 (IL-10). Stymulację tych ostatnich wywołują TNF- $\alpha$  i IL-1 (12). Szereg autorów zwraca uwagę na znaczenie także innych cytokin: interleukiny-12 (IL-12), interleukiny-18 (IL-18) i chemokin (13,14), których produkcja jest znana. Z nowo opisanych cytokin zwraca się uwagę na HMGB1 (high mobility group B1) – białko wysokiej mobilności B1 wiążące się z DNA, stabilizujące nukleosomy i ułatwiające transkrypcję genów. Białko to wykazuje cechy cytokiny, stymulując prozapalną odpowiedź monocytów i makrofagów. Bierze również udział w rozwoju zapalenia w przebiegu endotoksemii, sepsy i zapaleniu stawów. U myszy po podaniu LPS stężenie HMGB1 wzrasta z opóźnieniem około 24 godzin w stosunku do szczytowego stężenia TNF- $\alpha$  i IL-1. Blokada HMGB1 do 24 godzin po zakażeniu myszy letalną dawką LPS pozwala uniknąć śmierci (15). Obecnie przypuszcza się, że HMGB1 odgrywa istotną rolę w przebiegu SARS (16). Na przebieg sepsy może mieć wpływ polimorfizm genów dla cytokin. Występowanie alleli TNF-B2 dla TNF- $\alpha$  związane jest z wyższym ryzykiem zgonu z powodu sepsy lub ryzykiem wystąpienia sepsy po urazie. W przypadku polimorfizmu A2 allela IL-1Ra stwierdzono wyższą zapadalność na ciężką sepsę (17).

**Receptory molekularnych wzorców patogenów.** Mniej wiadomo o procesach rozpoznania i regulacji odpowiedzi prozapalnej i antyzapalnej w sepsie. W rozpoznaniu antygenów bakteryjnych ważne są receptory rozpoznające molekularne wzorce patogenów (PAMP – *pathogen associated molecular patterns*), które wchodzą w skład pierwszej linii odporności wrodzonej. Aktywacja receptorów PAMP przyczynia się do rozwoju sepsy. Do receptorów PAMP należą: TLR – *Toll like receptors* (8,18), białka rozpoznające peptydoglikan (PGRPs – *peptidoglycan recognition proteins*) (19), białka NOD (*nucleotide-binding oligomerization domain*) (20) i receptor TREM1 (*triggering receptor expressed on myeloid cells-1*) (21).

**Receptory toll-podobne.** TLR są wyspecjalizowanymi cząsteczkami rozpoznającymi niektóre konserwatywne elementy strukturalne bakterii, pasożytów, grzybów i wirusów. Receptory TLR znajdują się na powierzchni komórek nabłonkowych jelit, dróg oddechowych, adipocytów, komórek tucznych, komórek dendrytycznych, makrofagów. Znanych jest 10 receptorów TLR u ludzi. TLR4 jest receptorem dla LPS. TLR2 rozpoznaje elementy strukturalne bakterii Gram-dodatnich (peptydoglikan, kwas lipoteichojowy, lipopeptyd), drożdżaków i prątków. TLR5 rozpoznaje flagellinę, TLR9 niemetylowane oligonukleotydy bakteryjnego DNA. Natomiast TLR 7 i 8 wiążą pojedynczo skręconą nić wirusowego RNA. TLR2 i 4 rozpoznają zymozan grzybów. TLR2 jest również receptorem dla pasożytów (8,18). W rozpoznaniu LPS i początkowej fazie odpowiedzi septycznej przypisuje się kluczową rolę receptorowi CD14 obecnemu na makrofagach i monocytach. LPS jest rozpoznawany i wiązany przez te receptory, ale po uprzednim związaniu się z białkiem

wiążącym LPS (LBP – LPS binding protein) (22). Oprócz związanego z błoną komórkową mCD14 w surowicy i płynach ustrojowych jest też obecny rozpuszczalny receptor CD14 – sCD14. Fakt ten jest istotny ze względu na to, że wiele komórek nie posiada CD14 na swojej powierzchni, ale są one w stanie odpowiadać na LPS poprzez interakcję z sCD14 (komórki dendrytyczne, mięśni gładkich, śródbłonna i fibroblasty). Rozpuszczalne sCD14 występują również w stanie zdrowia, ale stężenia ich wzrastają w trakcie sepsy i przeciwciała anti-CD14 chronią na początku wstrząsu endotoksycznego (23, 24). Samo rozpoznanie i połączenie CD14-LPS nie powoduje zmian aktywności komórki. Dodatkowo zidentyfikowane białko regulacyjne MD-2 jest wymagane dla aktywowania TLR4 przez LPS. U myszy knockout nieposiadających białka MD-2, nie ma odpowiedzi na LPS i przeżywają one wstrząs septyczny, co świadczy o właściwościach regulacyjnych tego białka w odpowiedzi na LPS (25). Droga przekazywania sygnału przez aktywowane receptory TLR u ludzi wykazuje zgodność z drogą aktywacji tych receptorów u muszki *Drosophila*. Wewnątrzkomórkowe domeny receptorów TLR wykazują homologię z receptorem dla IL-1 (IL-1R). Domena ta nosi nazwę TIR (od Toll-IL-1R). W przekazywaniu sygnału z TIR biorą udział 4 białka adaptorowe: MyD88 (myeloid differentiation factor 88), MAL/TIRAP (MyD88-adaptor-like /TIR-associated protein), TRIF (Toll-receptor-associated activator of interferon) i TRAM (Toll-receptor-associated molecule). Białka te wiążą kinazy IRAK 1, 2, 7 (IL-1R-activating kinase), które aktywują TRAF6 (TNF receptor-associated factor 6), co prowadzi do aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- $\kappa$ B i natychmiastowej aktywacji cytokinowych genów promotorowych. Aktywowane endotoksyną makrofagi przez TLR4 rozpoczynają w ciągu 60-90 minut produkcję cytokin prozapalnych takich jak: TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 (18). Obserwowany wzrost wrażliwości na zakażenia meningokokowe w przypadku mutacji TLR4 potwierdza ważną rolę tego receptora w rozwoju sepsy. Podobną zależność wykazano między mutacją TLR5 a rozwojem zakażenia *Legionella* spp. (18).

Białka rozpoznające peptydoglikan i cytozolowe białka NOD1 i NOD2. Następną grupą receptorów rozpoznających elementy strukturalne mikroorganizmów są białka rozpoznające peptydoglikan (PGRPs – *peptidoglycan recognition proteins*). Aktywność ich związana jest z czynnikiem jądrowym NF- $\kappa$ B, ale dokładny mechanizm nie jest jeszcze znany. U ludzi stwierdzono cztery rodzaje tych receptorów PGRPs: PGRP-S, PGRP-L, PGRP-I $\alpha$ , PGRP-I $\beta$ . Występują one na neutrofilach, w komórkach szpiku, nabłonku przelyku, migdałków, grasicy i w hepatocytach. Niski stopień ekspresji tych receptorów stwierdzono w mózgu. Wykazują one wysokie powinowactwo do peptydoglikanu bakterii Gram-dodatnich. W przypadku peptydoglikanu bakterii Gram-ujemnych ich wiązanie jest kontrowersyjne. Skutki biologicznej aktywacji nie są znane (19).

Cytozolowe białka NOD1 i NOD2 (*nucleotide-binding oligomerization domain*) obecne w komórkach mieloidalnych i nabłonkowych wykazują zdolność łączenia się z LPS i peptydoglikanem oraz zdolność do przekazywania sygnału niezależnie od TLR. NOD1 aktywuje NF- $\kappa$ B poprzez kinazę RICK (receptor interacting serine/threonine kinase). Białka te wskazują na istnienie jeszcze jednej dodatkowej drogi rozpoznawania bakterii, co jest przedmiotem zainteresowania różnych badaczy (20).

Glikoproteina TREM1. Ludzki TREM1 jest glikoproteina 30 kD należąca do nadrodziny immunoglobulin. Jego ekspresja występuje w późnych stadiach dojrzewa-

nia komórek mieloidalnych. Obecny jest on na monocytach, makrofagach, makrofagach pęcherzyków płucnych. Ekspresja TREM1 silnie wzrasta w zakażeniach bakteriami Gram-dodatnimi i Gram-ujemnymi oraz grzybami, natomiast jego stężenie w osoczu nie podnosi się w chorobach zapalnych, gdy brak jest etiologii bakteryjnej lub grzybiczej. Nie wiadomo, czy TREM1 bezpośrednio rozpoznaje antygeny bakterii. Jednak uznawany jest on jako amplifikator odpowiedzi zapalnej. Przyłączenie do niego przeciwciała monoklonalnego powoduje produkcję IL-8, MCP1, MCP3 (*monocyte chemoattractant protein*) i MIP1 $\alpha$  (*macrophage inflammatory protein 1 $\alpha$* ). Dodatkowo produkowane są TNF- $\alpha$  i IL-1, gdy użyto LPS jako kostymulatora, co świadczy o wzmożeniu prozapalnej odpowiedzi indukowanej przez TLR. Ponadto LPS i inne ligandy TLR wzmagają ekspresję TREM1. Na modelu zwierzęcym wykazano właściwości amplifikacyjne w przebiegu ostrego zapalenia bakteryjnego, przy czym blokada TREM1 zapobiega wstrząsowi i sepsie (21). Obecnie próbuje się wykorzystać pomiary stężenia TREM1 w diagnostyce zapaleń płuc, ponieważ u pacjentów wentylowanych mechanicznie stwierdzono znaczny wzrost stężenia TREM1 w popłuczynach pęcherzykowo-oskrzelowych. Poziom stężenia TREM1 w osoczu powyżej 60 ng/ml wskazuje na posocznice (26).

Dotychczas wykazano brak skuteczności leczenia sepsy z wykorzystaniem terapii anty-TNF- $\alpha$ , anty-IL-1, stosując przeciwciała monoklonalne przeciwko wspólnemu antygenowi bakterii Gram-ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae*, a także poprzez hamowanie produkcji wolnych rodników jak i hamowanie aktywacji dopełniacza (1,8,17). Narastająca oporność na antybiotyki wymusza poszukiwanie coraz nowszych opcji terapeutycznych opartych na odpowiednim aktywowaniu odporności wrodzonej. Ostatnio nawet zwrócono uwagę na możliwość zastosowania nikotyny jako agonisty receptora acetylocholinowego, obecnego też na makrofagach. Nikotyna wykazuje działanie hamujące w stosunku do NF- $\kappa$ B i HMGB1, co skutkuje zmniejszeniem produkcji cytokin prozapalnych. Udało się też zredukować śmiertelność przy wykorzystaniu mysiego modelu sepsy, ale na możliwość użycia nikotyny w terapii sepsy u ludzi trzeba będzie jeszcze poczekać (27). Do tej pory wykazano pozytywny wpływ rekombinantu aktywnego białka C i małych dawek sterydów w leczeniu sepsy (8,17,27). Lepsze poznanie funkcjonowania odporności wrodzonej związanej z wykryciem receptorów PAMP niesie ze sobą możliwość zrozumienia procesów zachodzących w czasie sepsy, co umożliwi wprowadzenie nowych leków i standardów terapii.

*P Kluciński, G Martirosian*

#### ROLE OF CYTOKINES AND PATHOGEN ASSOCIATED MOLECULAR PATTERN RECEPTORS IN SEPSIS

#### SUMMARY

Sepsis is life-threatening state caused by overwhelming inflammatory response to infection accompanied by dysregulation of non-specific immunity mechanisms. In this review we discussed influence of Gram-positive and Gram-negative bacterial virulence factors, cytokines as well as pathogen associated molecular pattern receptors (TLR-toll like receptors, peptidoglycan recognition proteins, nucleotide binding oligomerization domains, triggering receptor expressed on myeloid cells-1) on the development and course of sepsis.

## PIŚMIENNICTWO

1. Riedemann NC, Guo RF, Ward PA. The enigma of sepsis. *J Clin Invest* 2003;112(4):460-7.
2. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, i in. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29(7): 1303-10.
3. Alberti C, Brun-Buisson C, Goodman SV, i in. Influence of systemic inflammatory response syndrome and sepsis on outcome of critically ill infected patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168(1):77-84.
4. Linde-Zwirble WT, Angus DC. Severe sepsis epidemiology: sampling, selection, and society. *Crit Care* 2004;8(4):222-226.
5. Zieliński A, Czarkowski MP. Choroby zakaźne w Polsce w 2002 roku. *Przegl Epidemiol* 2004;58(1):9-19.
6. Seydel U, Oikawa M, Fukase K, i in. Intrinsic conformation of lipid A is responsible for agonistic and antagonistic activity. *Eur J Biochem* 2000;267(10):3032-9.
7. Wang JE, Jorgensen PF, Almlöf M, i in. Peptidoglycan and lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus* induce tumor necrosis factor alpha, interleukin 6 (IL-6), and IL-10 production in both T cells and monocytes in a human whole blood model. *Infect Immun* 2000;68(7):3965-70.
8. Cohen J. The immunopathogenesis of sepsis. *Nature* 2002;420(6917):885-91.
9. Papageorgiou AC, Acharya KR. Microbial superantigens: from structure to function. *Trends Microbiol* 2000;8(8):369-75.
10. Müller-Alouf H, Proft T, Zollner TM, i in. Pyrogenicity and cytokine-inducing properties of *Streptococcus pyogenes* superantigens: comparative study of streptococcal mitogenic exotoxin Z and pyrogenic exotoxin A. *Infect Immun* 2001;69(6):4141-5.
11. Dinges MM, Schlievert PM. Role of T cells and gamma interferon during induction of hypersensitivity to lipopolysaccharide by toxic shock syndrome toxin 1 in mice. *Infect Immun* 2001;69(3):1256-64.
12. Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokines: current status. *Br J Anaesth* 1996;77(1): 110-7.
13. Emmanuilidis K, Weighardt H, Matevossian E, i in. Differential regulation of systemic IL-18 and IL-12 release during postoperative sepsis: high serum IL-18 as an early predictive indicator of lethal outcome. *Shock* 2002;18(4):301-5.
14. Matsukawa A, Hogaboam CM, Lukacs NW, i in. Chemokines and innate immunity. *Rev Immunogenet* 2000;2(3):339-58.
15. Wang H, Yang H, Tracey KJ. Extracellular role of HMGB1 in inflammation and sepsis. *J Intern Med* 2004;255(3):320-31.
16. Chen G, Chen DZ, Li J, i in. Pathogenic role of HMGB1 in SARS? *Med Hypotheses* 2004;63(4): 691-5.
17. Stuber F. Effects of genomic polymorphisms on the course of sepsis: is there a concept for gene therapy? *J Am Soc Nephrol* 2001;12 Suppl 17:S60-4.
18. Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature* 2004;430(6996):257-63.
19. Liu C, Xu Z, Gupta D, i in. Peptidoglycan recognition proteins: a novel family of four human innate immunity pattern recognition molecules. *J Biol Chem* 2001;276(37):34686-94.
20. Inohara N, Ogura Y, Nunez G. Nods: a family of cytosolic proteins that regulate the host response to pathogens. *Curr Opin Microbiol* 2002;5(1):76-80.
21. Colonna M, Facchetti F. TREM-1 (triggering receptor expressed on myeloid cells): a new player in acute inflammatory responses. *J Infect Dis* 2003;187 Suppl 2:S397-401.
22. Pugin J, Heumann ID, Tomasz A, i in. CD14 is a pattern recognition receptor. *Immunity* 1994;1(6):509-16.

23. Landmann R, Zimmerli W, Sansano S, i in. Increased circulating soluble CD14 is associated with high mortality in gram-negative septic shock. *J Infect Dis* 1995;171(3):639-44.
24. Leturcq DJ, Moriarty AM, Talbott G, i in. Antibodies against CD14 protect primates from endotoxin-induced shock. *J Clin Invest* 1996;98(7):1533-8.
25. Nagai Y, Akashi S, Nagafuku M, i in. Essential role of MD-2 in LPS responsiveness and TLR4 distribution. *Nat Immunol* 2002;3(7):667-72.
26. Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Bene MC, i in. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med* 2004;141(1):9-15.
27. Matthay MA, Ware LB. Can nicotine treat sepsis? *Nat Med* 2004;10(11):1161-2.

Otrzymano: 20.12.2004 r.

**Adres autorów:**

Piotr Kluciński  
Katedra i Zakład Mikrobiologii Lekarskiej  
ul. Medyków 18, 40-752 Katowice  
tel./fax (0-32) 252 60 75