

Bożena Dera-Tomaszewska, Ewa Tokarska-Pietrzak

## TYPY BAKTERIOFAGOWE ROZPOZNANE WŚRÓD SZCZEPÓW *SALMONELLA* ENTERITIDIS WYZIŁOWANYCH W POLSCE W LATACH 1996–2007

### PHAGE TYPES RECOGNIZED WITHIN *SALMONELLA* ENTERITIDIS STRAINS ISOLATED IN POLAND IN 1996–2007

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej, **Krajowy Ośrodek *Salmonella***  
Gdański Uniwersytet Medyczny

#### STRESZCZENIE

Typowanie bakteriofagowe wykonywane według określonych schematów jest nadal polecane jako standardowa, szybka i tania metoda do prowadzenia badań epidemiologicznych zakażeń wywołanych przez pałeczki *Salmonella*. Metoda ta wymaga jednak dobrze wyszkolonego personelu i dlatego stosowana jest głównie w laboratoriach referencyjnych.

**CEL PRACY.** Celem niniejszej pracy było przeprowadzenie analizy występowania typów fagowych *Salmonella* Enteritidis w Polsce w latach 1996–2007 w oparciu o wyniki badania szczepów otrzymywanych do typowania bakteriofagowego przez Krajowy Ośrodek *Salmonella*.

**MATERIAŁ I METODY.** Typowanie fagowe (według schematu *Lalko* i wsp.) objęło 750 szczepów *Salmonella* Enteritidis wyizolowanych w Polsce od ludzi i z innych źródeł w czasie wygasania trwającego ponad ćwierć wieku drugiego okresu nasilenia epidemicznego spowodowanego tym serowarem.

**WYNIKI.** Do najczęściej określanych typów bakteriofagowych należą nadal typy: 1, 6 i 7. Dominowały one wśród izolacji od ludzi, a także z żywności, od zwierząt, z pasz, wymazów sanitarnych i innych źródeł. Zdecydowanie przeważały szczepy typu 7. Szczepy *Salmonella* Enteritidis typu 1 izolowano prawie w takiej samej liczbie jak typu 6. Zaobserwowano również nieco większą niż w poprzednich przedziałach czasowych liczbę szczepów prezentujących typ fagowy 3.

**WNIOSKI.** Przeprowadzone badania pozwoliły wykazać, że przy egzystujących ciągle jeszcze w środowisku tych samych, „stałych” typach bakteriofagowych (tj. 1, 3, 6, 7), zaczynają pojawiać się w kraju zupełnie nowe typy. Mogą one wprawdzie być wynikiem jednorazowych izolacji, ale mogą również świadczyć o wystąpieniu nowych, nieznanych jeszcze źródeł zakażeń bakteriami *Salmonella* Enteritidis, co przy skutecznym zwalczaniu obecnie istniejących jest bardzo prawdopodobne. Uzyskane wyniki stanowią kontynuację wcześniejszych opracowań i dostarczają istotnych, unikalnych w skali kraju danych, pozwalających na pełniejsze oszacowanie sytuacji epidemiologicznej związanej z występowaniem tego patogenu w Polsce.

**SŁOWA KLUCZOWE:** *epidemiologia, Salmonella, Salmonella* Enteritidis, *typ bakteriofagowy, typowanie bakteriofagowe*

#### ABSTRACT

Phage typing carried out according to the well-defined schemes is still recommended as a standard, fast and inexpensive method for epidemiological investigations all over the world to control *Salmonella* infections. However, the method should be in the hands of well-trained staff. This means that it is generally limited to reference laboratories.

**AIM.** The aim of this study was to perform an analysis of *Salmonella* Enteritidis phage types occurring in Poland in 1996–2007 basing on the strains received by the National *Salmonella* Centre for phage typing.

**MATERIAL AND METHODS.** The phage typing (according to the *Lalko et al.* scheme) carried out in this research work was associated with 750 *Salmonella* Enteritidis strains isolated in Poland from human and non-human sources, in the dying out period of over 25 years lasting second epidemic caused by this serovar.

**RESULTS.** Types 1, 6 and 7 were the most often identified phage types. They were dominant among human as well as non-human (food, feeds, animals, environment and others) isolates. The great majority of them were of type 7. Type 1 *Salmonella* Enteritidis strains were isolated in the same number as type 6 strains. A little higher number of strains which presented phage type 3 was reported in comparison with the previous periods of time.

**CONCLUSIONS.** It is worth to be noted that except the same, permanent phage types continuously existing in the environment (i.e. 1, 3, 6, 7), the new types start to appear. They can suggest an appearance of new sources of *Salmonella* Enteritidis infections, unknown in our country yet, which is very possible as a result of effective elimination of currently existing ones. The obtained results constitute the continuation of the previously done studies and provide the essential and unique data which allow to estimate the more completely epidemiological situation associated with occurrence of this pathogen in Poland.

**KEY WORDS:** epidemiology, *Salmonella*, *Salmonella* Enteritidis, phage type, phage typing

## WSTĘP

W typowaniu prowadzonym na użytek dochodzeń epidemiologicznych wykorzystywane jest znaczne zróżnicowanie, zarówno fenotypowe, jak i genotypowe, istniejące w obrębie populacji drobnoustrojów poszczególnych gatunków (1–5), w tym również pałeczek *Salmonella*. Choć różne, nowe metody typowania molekularnego szczepów *Salmonella* wydają się być przydatne w badaniach epidemiologicznych (6), ciągle jeszcze szczególne usługi epidemiologii oddaje lizotypia (7–13). Typowanie bakteriofagowe według określonych schematów może być nadal polecane jako standardowa, szybka i tania metoda do prowadzenia badań epidemiologicznych zakażeń wywołanych przez pałeczki *Salmonella*. Umożliwia ona przeprowadzenie wnikliwych obserwacji nad ustaleniem związku pomiędzy źródłem zakażenia i zachorowaniem oraz podjęcie skutecznych środków w zwalczaniu źródeł i dróg szerzenia się zakażeń.

Zatrucia pokarmowe wywołane przez pałeczki *Salmonella* Enteritidis stanowią od dawna jeden z ważniejszych problemów służby zdrowia w Polsce. Mimo rejestrowanej ostatnio, statystycznie istotnej tendencji spadkowej zakażeń *Salmonella* Enteritidis w naszym kraju (14), serowar ten pozostaje epidemicznym „numerem jeden” wśród pałeczek *Salmonella* izolowanych od ludzi w Polsce (15). Zaobserwowany po raz pierwszy w kraju na początku lat sześćdziesiątych znaczniejszy wzrost zakażeń spowodowanych przez *Salmonella* Enteritidis, mających związek z pierwszym okresem (1962–1976) nasilenia epidemicznego wywołanym przez ten serowar (16), stał się przyczyną opracowania systemu bardziej szczegółowego różnicowania tych pałeczek za pomocą bakteriofagów. Typowanie bakteriofagowe jest doskonałą metodą pomocniczą w prowadzeniu dochodzeń epidemiologicznych. Pierwszą wersję stosowanego w Polsce schematu typowania

bakteriofagowego pałeczek *Salmonella* Enteritidis opublikowano w 1968 roku (17). Na podstawie reakcji z 7 fagami typującymi wyróżniono 11 typów bakteriofagowych. W ciągu następnych lat *M. Macierewicz* rozszerzyła schemat do 13 typów, a następnie do 25 przy użyciu 11 fagów oraz zmieniła całkowicie nazewnictwo typów bakteriofagowych. Dalsze badania prowadzone przez *J. Lalko* wykazały, iż mimo dużej przydatności praktycznej tego systemu, uzyskuje się niekiedy reakcje niepowtarzalne. W toku dalszej pracy, na podstawie uzyskanych wyników, ustalono za aprobatą *M. Macierewicz* ostateczną wersję schematu obejmującego 20 typów bakteriofagowych reagujących w odmienny sposób z 8 fagami typującymi (8, 18).

Po raz pierwszy typowaniu bakteriofagowemu zgodnie ze schematem *Lalko* i wsp. poddano szczepy *Salmonella* Enteritidis wyizolowane w Polsce w latach 1970–1975 (18). W wyniku sukcesywnie prowadzonych badań w następnych latach uzyskiwano kolejne dane (9, 19), które pozwoliły prześledzić występowanie typów fagowych pałeczek *Salmonella* Enteritidis rejestrowanych w naszym kraju (oraz wykryć pojawianie się nowych typów) i zaobserwować zmiany zachodzące w ich dystrybucji. Wyniki badań przeprowadzonych w ramach niniejszej pracy stanowią kontynuację poprzednich opracowań i wnoszą istotny wkład w znajomość występowania typów bakteriofagowych *Salmonella* Enteritidis w Polsce.

## MATERIAŁ I METODY

**1. Szczepy bakteryjne.** Typowaniu bakteriofagowemu poddano 750 szczepów *Salmonella* Enteritidis wyizolowanych w laboratoriach całego kraju w latach 1996–2007, które Krajowy Ośrodek *Salmonella* otrzymał w celu określenia typu fagowego. Czterydziesiąt dziewięćdziesiąt osiem szczepów wyhodowano od

osób (chorych, ozdrowieńców, zdrowych, ze styczności) z ognisk zatruc pokarmowych i sporadycznych przypadków zakażeń, 236 szczepów wyosobniono od zwierząt, z żywności, pasz, otoczenia i z innych źródeł. Pochodzenie 16 szczepów było nieznane. Sprawdzono „czystość” otrzymanych szczepów oraz określono ich właściwości biochemiczne i serologiczne. Szczepy *Salmonella* Enteritidis, do momentu przeprowadzenia badań, przechowywano na podłożu agarowym, w szczelnie zamkniętych probówkach, w temperaturze pokojowej i bez dostępu światła.

**2. Podłoża do typowania bakteriofagowego.** Do typowania bakteriofagowego używano podłoża Difco Laboratories (Detroit, USA). Każdy szczep poddawany typowaniu namnażano najpierw w 5ml płynnego podłoża namnażającego (2% Difco Nutrient Broth w wodzie destylowanej z dodatkiem 0,85% NaCl) do momentu otrzymania wyraźnego zmętnienia (37°C/2–2,5h), uzyskując miano  $\sim 5 \times 10^8$  jtk/ml. Następnie hodowlę szczepu kontynuowano na płytkach Petri’ego ze stałym podłożem agarowym (płynne podłoże namnażające z dodatkiem 1,5% Difco Bacto Agar). Zamknięte płytki, ze świeżo wylanym podłożem agarowym (30ml na płytkę o średnicy 9cm), pozostawiano w temperaturze 37°C przez 2–4h, w celu wysuszenia podłoża, a następnie tuż przed użyciem dosuszano, pozostawiając otwarte płytki w temperaturze 37°C przez 1,5h.

**3. Zestaw bakteriofagów typujących.** Stosowany w Polsce zestaw preparatów służących do typowania

fagowego pałeczek *Salmonella* Enteritidis składa się z 8 bakteriofagów. Fagi te są namnażane w Krajowym Ośrodku *Salmonella* zgodnie z metodą *Adamsa* (20). Przechowywane są w postaci stężonych preparatów, z których następnie przygotowuje się odpowiednie rozcieńczenia (RTD, ang. routine test dilution) służące bezpośrednio do typowania. Rozcieńczenie RTD oznacza najwyższe rozcieńczenie preparatu fagowego pozwalające uzyskać całkowitą lub prawie całkowitą lizę ze szczepem homologicznym.

**4. Metoda typowania bakteriofagowego.** Szczepy *Salmonella* Enteritidis poddawano typowaniu bakteriofagowemu (sukcesywnie w miarę napływania szczepów) według metody i techniki *Craigie* i wsp. (21–23), powszechnie stosowanej w międzynarodowych i krajowych ośrodkach typowania bakteriofagowego, opisaną dokładnie w pracy *Głośnickiej* i *Dera-Tomaszewskiej* (24). Technicznie typowanie bakteriofagowe wykonywano w następujący sposób. Płynną hodowlę szczepu poddawane typowaniu wylewano na płytkę ze stałym podłożem agarowym. Po dokładnym rozprowadzeniu po powierzchni podłoża, nadmiar hodowli zbierano pipetą, pozostawiając wieczko płytki lekko uchylone, umożliwiając jej szybkie wyschnięcie. Następnie, na powierzchnię podłoża z hodowlą nanoszono, przy pomocy wykalibrowanej (0,01ml) ezy platynowej, krople odpowiednio rozcieńczonych (RTD) preparatów bakteriofagowych. Po wyschnięciu wszystkich kropli, płytki zamykano i inkubowano w pozycji odwróconej

Tabela I. Wyniki typowania bakteriofagowego szczepów *Salmonella* Enteritidis według schematu *Lalko* i wsp., Polska 1996 – 2007 (szczepy izolowane z ognisk zatruc pokarmowych, sporadycznych przypadków zakażeń u ludzi i z innych źródeł), Część I

Table I. Results of phage typing of *Salmonella* Enteritidis strains according to the *Lalko et al.* scheme, Poland 1996 – 2007 (strains isolated from food-poisoning outbreaks, sporadic human cases and other non-human sources), Part I

Rok Year	Źródło izolacji Source of isolation	Typ bakteriofagowy Phage type													Ogółem Total	
		1	3	4	5	6	7	16	20	24	25	26	27	AT <sup>1</sup>		NT <sup>2</sup>
		Liczba szczepów o danym typie bakteriofagowym Number of strains of a particular phage type														
1996	ludzie	27	16	1	-	77	78	3	-	6	1	2	1	1	1	214
	zwierzęta, żywność, pasze i inne	3	5	-	-	9	12	-	-	-	-	1	-	-	1	31
	nieznane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1997	ludzie	19	1	1	-	1	17	-	-	-	-	-	-	1	-	40
	zwierzęta, żywność, pasze i inne	13	9	-	1	-	5	-	-	-	-	-	-	5	1	34
	nieznane	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3
1998	ludzie	6	7	-	-	-	22	-	-	-	-	-	-	3	-	38
	zwierzęta, żywność, pasze i inne	20	8	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	1	1	32
	nieznane	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1999	ludzie	10	-	-	-	15	6	-	-	-	-	-	-	-	-	31
	zwierzęta, żywność, pasze i inne	7	-	-	-	10	27	-	1	-	-	-	-	4	-	49
	nieznane	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3

<sup>1</sup> Szczepy atypowe (nietypowo reagujące z fagami typującymi / Strains that react with typing phages but do not conform to any of the current recognized patterns

<sup>2</sup> Szczepy nie typujące się (nie reagujące z fagami typującymi) / Untypable strains (do not react with typing phages)

Tabela I. Wyniki typowania bakteriofagowego szczepów *Salmonella* Enteritidis według schematu Lalko i wsp., Polska 1996 – 2007 (szczepy izolowane z ognisk zatruc pokarmowych, sporadycznych przypadków zakażeń u ludzi i z innych źródeł), Część II

Table I. Results of phage typing of *Salmonella* Enteritidis strains according to the Lalko et al. scheme, Poland 1996 – 2007 (strains isolated from food-poisoning outbreaks, sporadic human cases and other non-human sources), Part II

Rok Year	Źródło izolacji Source of isolation	Typ bakteriofagowy Phage type								Ogółem Total
		1	3	6	7	8	16	AT <sup>1</sup>	NT <sup>2</sup>	
		Liczba szczepów o danym typie bakteriofagowym Number of strains of a particular phage type								
2000	ludzie	-	6	5	2	-	-	-	-	13
	zwierzęta, żywność, pasze i inne nieznanne	1	4	2	2	-	-	-	2	11
	nieznane	-	-	3	-	-	-	-	-	3
2001	ludzie	28	-	10	-	2	-	-	-	40
	zwierzęta, żywność, pasze i inne nieznanne	10	-	6	-	2	-	-	-	18
	nieznane	-	-	1	-	-	-	-	-	1
2002	ludzie	3	1	13	1	-	-	-	-	18
	zwierzęta, żywność, pasze i inne nieznanne	3	-	3	2	-	-	-	-	8
	nieznane	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2003	ludzie	8	-	9	16	-	-	-	-	33
	zwierzęta, żywność, pasze i inne nieznanne	4	-	4	6	-	-	-	-	14
	nieznane	-	-	1	-	-	-	-	-	1
2004	ludzie	10	4	1	5	-	-	1	-	21
	zwierzęta, żywność, pasze i inne nieznanne	5	2	1	4	-	-	-	-	12
	nieznane	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2005	ludzie	3	1	3	16	-	2	-	-	25
	zwierzęta, żywność, pasze i inne nieznanne	2	-	6	6	-	-	-	-	14
	nieznane	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2006	ludzie	9	2	6	1	-	-	-	-	18
	zwierzęta, żywność, pasze i inne nieznanne	1	2	1	-	-	-	-	1	5
	nieznane	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2007	ludzie	1	-	-	3	3	-	-	-	7
	zwierzęta, żywność, pasze i inne nieznanne	-	1	2	2	3	-	-	-	8
	nieznane	1	2	-	2	-	-	-	-	5

(37°C/24h). Efekt lizy obserwowano po okresie inkubacji oglądając płytki (od spodu, po uprzednim zdjęciu wieczka) przy pomocy lupy (10x), z wykorzystaniem dodatkowego oświetlenia. Stopień lizy oznaczano za pomocą symboli używanych w International Reference Laboratory for Enteric Phage Typing (Colindale,

Londyn), stosowanych również w polskim schemacie typowania *Salmonella* Enteritidis (CL = całkowita liza, <CL = mniej niż całkowita liza, SCL = prawie całkowita liza, <SCL = mniej niż prawie całkowita liza, OL = mętna liza, ±, +, ++, +++ = wzrastająca liczba łysek, - = brak lizy). Typy bakteriofagowe badanych szczepów *Salmonella* Enteritidis określano zgodnie ze stosowanym w Polsce schematem Lalko i wsp. (8).

## WYNIKI

W okresie od 1996 r. do 2007 roku typowaniu bakteriofagowemu poddano 750 szczepów *Salmonella* Enteritidis. Szczepy izolowano z ognisk zatruc pokarmowych, sporadycznych przypadków zakażeń u ludzi, od zwierząt, z żywności, pasz i z innych źródeł. Nieznane było źródło pochodzenia 16 szczepów. Wyniki typowania bakteriofagowego szczepów *Salmonella* Enteritidis według schematu Lalko i wsp. w kolejnych latach przedstawiono w tabeli I. Typ fagowy określono dla 97,0% (727/750) badanych szczepów, 16 szczepów reagowało nietypowo z fagami typującymi, 7 spośród nich było niewrażliwych na działanie fagów. Rozpoznano 9 typów bakteriofagowych zgodnie ze schematem (typ 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 16, 20) i 4 nowe typy (typ 24, 25, 26, 27), których określenie stało się możliwe na skutek rozszerzenia schematu o kolejne 7 typów bakteriofagowych w wyniku badań prowadzonych w Krajowym Ośrodku *Salmonella*. Dominującymi okazały się typy: 1, 6 i 7. Najliczniej reprezentowany był typ fagowy 7 (31,6% wszystkich szczepów). Typ bakteriofagowy 1 izolowano prawie w takich samych ilościach jak typ fagowy 6 (odpowiednio 195 szczepów – 26,0%; 192 szczepy – 25,6%). W przypadku 73 szczepów *Salmonella* Enteritidis (9,7%) rozpoznano 3 typy bakteriofagowe. Pozostałe typy reprezentowane były przez niewielką liczbę szczepów (od 1 do 10).

## DYSKUSJA

Drugi okres nasilenia epidemicznego zakażeń *Salmonella* Enteritidis w Polsce zaczął się prawdopodobnie we wczesnych latach osiemdziesiątych (16). Typowanie bakteriofagowe ponad 2100 szczepów *Salmonella* Enteritidis wyizolowanych w latach 1981–1990, wykonane przez Głównicką i wsp. (19) wykazało, że dominującymi typami bakteriofagowymi, izolowanymi od ludzi, od zwierząt i z żywności były typy: 1, 6 i 7. Najwięcej szczepów prezentowało typ bakteriofagowy 7 (ludzie – 64,0%; inne – 52,7%) i typ 1 (ludzie – 26,0%; inne – 37,7%). Liczebna dominacja tych szczepów miała związek ze znaczną liczbą ognisk zatruc pokarmowych spowodowanych przez te typy fagowe. Znakomita więk-



szość ognisk była jednorodna – te same typy fagowe określano w przypadku szczepów izolowanych od ludzi chorujących w ogniskach, jak i z żywności odpowiedzialnej za zakażenia (ciastka z kremem, lody, majonez, jaja). Wśród ognisk mieszanych przeważały ogniska spowodowane jednocześnie typem 1 i 7. Kolejne wyniki typowania bakteriofagowego szczepów *Salmonella* Enteritidis wyizolowanych w latach 1986–1995 (9) wykazały kontynuację występowania opisanych wyżej typów bakteriofagowych. Dominowały typy 1, 6 i 7, zarówno wśród szczepów izolowanych od ludzi z ognisk zatruc pokarmowych, sporadycznych przypadków zakażeń, jak i z innych źródeł. Nie zaobserwowano tylko rejestrowanej wcześniej, liczebnej przewagi szczepów typu 7 nad szczepami typu 1.

Wyniki typowania fagowego przeprowadzonego w ramach niniejszej pracy dotyczą szczepów *Salmonella* Enteritidis wyizolowanych w kraju od 1996 r. do 2007 roku, czyli w okresie wygasania trwającego w Polsce już ponad 25 lat drugiego nasilenia epidemicznego zakażeń spowodowanych tym serowarem. Do najczęściej określanych typów fagowych nadal należą typy: 1, 6 i 7. Dominują wśród izolacji od ludzi, a także z żywności, od zwierząt, z pasz, wymazów sanitarnych i innych źródeł. Zdecydowanie przeważały szczepy typu 7. Szczepy *Salmonella* Enteritidis typu 1 izolowano prawie w takich samych ilościach jak typu 6. Zaobserwowano również nieco większą niż w poprzednich przedziałach czasowych liczbę szczepów prezentujących typ fagowy 3 (9, 19).

Niepokoić może fakt tak niewielkiej liczby szczepów otrzymywanych do typowania bakteriofagowego. Umiejętnie wykorzystane wyniki typowania bakteriofagowego przynoszą duży postęp w pracach epidemiologicznych i epizootologicznych – zwiększają znacznie prawdopodobieństwo rozpoznania źródła zakażenia, pozwalają ocenić jednorodność ognisk zatruc pokarmowych i poznać mechanizmy szerzenia się zakażenia. W okresie od 1996 r. do 2007 roku zarejestrowano w Polsce łącznie ponad 320 tys. przypadków zakażeń pałeczkami *Salmonella* Enteritidis ludzi, z których znakomita większość miała związek z ogniskami zatruc pokarmowych. Liczba szczepów wyizolowanych od osób, które krajowe laboratoria zdecydowały się poddać typowaniu bakteriofagowemu stanowi zaledwie 0,16% powyżej podanej liczby. Uwzględniając nawet fakt istnienia możliwości typowania tylko wybranych, przedstawicielskich szczepów pochodzących z ognisk zatruc pokarmowych, jest to jednak ciągle zbyt mało, przy tak znacznej skali tego problemu i zbyt mało, by opierać na nich daleko idące prognozy. Niemniej jednak trudno jest nie zauważyć, że przy egzystujących ciągle jeszcze w środowisku tych samych, „stałych” typach bakteriofagowych (tj. 1, 3, 6, 7), zaczynają pojawiać się zupełnie nowe: typy 24, 25, 26 i 27. Izolowano je

w niewielkiej liczbie przypadków, przede wszystkim od ludzi. Wprawdzie mogą one być wynikiem jednorazowych izolacji, ale mogą również sugerować pojawienie się w kraju nowych, nieznanych jeszcze źródeł zakażeń, co przy skutecznym zwalczaniu obecnie istniejących jest bardzo prawdopodobne. W Europie Zachodniej dominującym typem bakteriofagowym u ludzi jest nadal typ fagowy (phage type, PT) 4 według schematu Ward i wsp. (7), ale podobnie jak w Polsce, zaobserwowano również pojawienie się nowych typów bakteriofagowych (PT12 i PT1b), które do tej pory nie występowały wśród typów najliczniej izolowanych od ludzi (25). Pałeczki *Salmonella* Enteritidis PT4 przeważają także wśród izolacji pochodzących z mięsa drobiowego i od zwierząt gospodarskich.

## PODSUMOWANIE

1. Przedstawione w pracy wyniki typowania bakteriofagowego dostarczają istotnych, unikalnych w skali kraju danych epidemiologicznych, dotyczących dystrybucji typów bakteriofagowych *Salmonella* Enteritidis występujących w Polsce. Do najczęściej określanych typów fagowych nadal należą typy: 1, 6 i 7.
2. Badania z zastosowaniem metody typowania bakteriofagowego pozwoliły wykazać, iż przy egzystujących ciągle w środowisku tych samych, „stałych” typach bakteriofagowych pałeczek *Salmonella* Enteritidis, zaczynają pojawiać się zupełnie nowe typy. Mogą one wprawdzie być wynikiem jednorazowych izolacji, ale mogą również sugerować pojawienie się w kraju nowych, nieznanych jeszcze źródeł zakażeń, co przy skutecznym zwalczaniu obecnie istniejących jest bardzo prawdopodobne.
3. Liczba szczepów *Salmonella* Enteritidis, które krajowe laboratoria przesyłają do typowania bakteriofagowego stanowi zaledwie minimalny odsetek ogromnej liczby szczepów izolowanych w Polsce. Uwzględniając nawet możliwość typowania tylko wybranych, przedstawicielskich szczepów pochodzących z ognisk zatruc pokarmowych, typuje się ich jednak ciągle zbyt mało, zważywszy na potencjalne korzyści płynące ze stosowania tej metody, jak również na skalę problemu, jaki ciągle jeszcze stanowią zatrucia pokarmowe spowodowane tym serowarem i zbyt mało, by móc oprzeć na nich daleko idące prognozy.

## PIŚMIENNICTWO

1. Franklin K, Lingohr EJ, Yoshida C, i in. Rapid genosertyping tool for classification of *Salmonella* serovars. J Clin Microbiol 2011;49:2954-65.

2. Landeras E, GonzálezHevia MA, Mendoza MC. Molecular epidemiology of *Salmonella* serotype Enteritidis. Relationship between food, water and pathogenic strains. *Int J Food Microbiol* 1998;43:81-90.
3. Hollinger K. Epidemiology and salmonellosis. W: Wray C, Wray A, red. *Salmonella* in Domestic Animals. New York: CABI Publishing; 2000:341-53.
4. Sool DR, Lockhart SR, Pujol C. Laboratory procedure for the epidemiological analysis of microorganisms. W: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, red. *Manual of Clinical Microbiology*. Washington D.C: ASM Press; 2003:139-61.
5. Fiett J, Gniadkowski M. Analiza genetyczna w bakteriologii i epidemiologii zakażeń bakteryjnych. W: Bala J, red. *Biologia molekularna w medycynie*. Warszawa: PWN; 2006:528-49.
6. Dera-Tomaszewska B. Metody typowania bakterii *Salmonella*. *Medycyna Wet* 2011;67:162-7
7. Ward LR, de Sa JD, Rowe B. A phage-typing scheme for *Salmonella enteritidis*. *Epidemiol Infect* 1987;106:291-4.
8. Lalko J. *Salmonella enteritidis* bacteriophage typing. *Bull Inst Mar Trop Med Gdynia* 1977;28:187-94.
9. Dera-Tomaszewska B, Głońska R. Typy bakteriofagowe *Salmonella* Enteritidis występujące w Polsce w latach 1986–1995. *Med Dośw Mikrobiol* 1999;51:73-9.
10. Dera-Tomaszewska B, Głońska R. Zastosowanie schematu Ward i wsp. do typowania bakteriofagowego szczepów *Salmonella* Enteritidis występujących w Polsce. *Med Dośw Mikrobiol* 1999;5:281-8.
11. Duijkeren E van, Wannet WJB, Houwers DJ, i in. Serotype and phage type distribution of *Salmonella* strains isolated from humans, cattle, pigs, and chickens in the Netherlands from 1984 to 2001. *J Clin Microbiol* 2001;11:3980-5.
12. Kowalczyk-Pecka D, Wernicki A, Puchalski A. Lekowrażliwość oraz typy bakteriofagowe szczepów *Salmonella* Enteritidis izolowanych na terenie mikroregionu lubelskiego. *Przegl Epidemiol* 2003;57:201-9.
13. Tokarska-Pietrzak E, Kunikowska D, Dera-Tomaszewska B, i in. Typowanie bakteriofagowe w diagnostyce *Salmonella* Enteritidis. W: Jarzembowski T, Dąbrowska-Szponar M, Krasuski A, red. *Materiały Konferencji „Pomorskie Spotkania z Mikrobiologią”*; 2007 Październik 5-6; Gdańsk-Sobieszewo, Polska. Gdańsk: Gdański Uniwersytet Medyczny; 2007, P-17, 54.
14. Dera-Tomaszewska B, Kozłowski A. Statystyczna analiza trendu zakażeń *Salmonella* u ludzi w Polsce w latach 1995–2007. *Przegl Epidemiol* 2011;65:353-61.
15. Państwowy Zakład Higieny, Instytut Naukowo-Badawczy – Zakład Epidemiologii, Główny Inspektorat Sanitarny – Departament Przewodniczący. Biuletyn roczne: Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce (2003–2010). Warszawa: PZH; 2004–2011.
16. Głońska R, Kunikowska D. The epidemiological situation of *Salmonella enteritidis* in Poland. *Int J Food Microbiol* 1994;21:21–30.
17. Macierewicz M, Kałużewski S, Lalko J. Phage differentiation of strains of *Salmonella enteritidis*. *Exp Med Microbiol* 1968;20:138-46.
18. Lalko J. Mikrobiologiczna i epidemiologiczna ocena różnych systemów typowania bakteriofagowego szczepów *S. typhi-murium* i *S. enteritidis*. W: Lalko J, red. *Praca habilitacyjna*. Łódź: Uniwersytet Łódzki, Acta Universitatis Lodzensis, 1976.
19. Głońska R, Kunikowska D, Dziadziuszko H, i in. Distribution of *Salmonella enteritidis* phage-types in Poland in 1981–1990. *Bull Inst Mar Trop Med Gdynia* 1990;41:145-8.
20. Adams MH. Methods of study of bacterial viruses. W: Adams MH, red. *Bacteriophages*. New York: Interscience Publishers, INC; 1959:443-522.
21. Craigie J, Yen ChE. The demonstration of types of B typhosus by means of preparation of type II phage. *Can Publ Hlth J* 1938a;29:448-83.
22. Craigie J, Yen ChE. The demonstration of types of B typhosus by means of preparation of type II phage. 2. The stability and epidemiological significance of V form types of B. typhosus. *Can Publ Hlth J* 1938b;29:484-96.
23. Craigie J, Felix A. Typing of typhoid bacilli with Vi-bacteriophage. *Lancet* 1947;1:823-7.
24. Głońska R, Dera-Tomaszewska B. Comparison of two *Salmonella* Enteritidis phage typing schemes. *Eur J Epidemiol* 1999;15:395-401.
25. European Food Safety Authority. The Community Summary Report on Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. *The EFSA Journal* 2009;223:29–30.

Otrzymano: 27.06.2012 r.

Zaakceptowano do druku: 10.09.2012 r.

#### Adres do korespondencji:

Dr n. przyr. Bożena Dera-Tomaszewska  
Gdański Uniwersytet Medyczny  
Wydział Lekarski z Oddziałem Stomatologicznym,  
Katedra Mikrobiologii, Zakład Mikrobiologii Lekarskiej,  
Krajowy Ośrodek *Salmonella*  
ul. Do Studzienki 38, 80-227 Gdańsk  
e-mail: bodeto@gumed.edu.pl; tel.: (58) 349 19 12