

# Bakteryjna ureaza – wskaźnik diagnostyczny i element patogenności drobnoustrojów jelitowych

ANTONI J. FUROWICZ, JOLANTA KARAKULSKA, ANNA PERUŻYŃSKA

Katedra Immunologii i Mikrobiologii Wydziału Biotechnologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Doktora Judyma 24, 70-466 Szczecin

Furowicz A. J., Karakulska J., Perużyńska A.

## Bacterial urease – a diagnostic marker or factor of enteric bacteria pathogenicity?

### Summary

The paper presents information concerning bacterial urease, its structure, the genes encoding urease synthesis and the role this enzyme plays in ethiopathogenesis of human chronic gastric and duodenal ulcer disease, human and animal colibacteriosis and yersiniosis. It also presents the biopsy urease test and urea breath test for detecting *Helicobacter pylori* infections. In addition, it characterizes urease-positive *Escherichia coli*, *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica* strains and their pathogenicity for human and animals.

**Keywords:** bacterial urease, *Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Yersinia* spp.

Enzym ureaza (aminopeptydaza, E.C.3.5.1.5) katalizuje reakcję hydrolizy mocznika, co prowadzi do powstawania dwutlenku węgla oraz amoniaku, który neutralizuje kwaśny odczyn środowiska. Zdolność do wytwarzania ureazy determinuje przeżywanie bakterii *Helicobacter pylori* (i niektórych pałeczek jelitowych) w środowisku o niskim pH (3, 13, 15, 21). Dzięki temu enzym ten może być traktowany jako jedno z charakterystycznych gatunkowo białek i wykorzystywany w próbach diagnostycznych wykrywających obecność *Helicobacter pylori* (pośrednie testy ureazowe). U większości drobnoustrojów prokariotycznych (głównie rodz. *Enterobacteriaceae*) ureaza składa się z trzech podjednostek, określanych jako alfa, beta i gamma, charakteryzowanych poprzez względne masy cząsteczkowe, równe w przybliżeniu: 61 kDa, 12 kDa, 11 kDa (19). Kodowane są one przez geny: ure C (o długości około 1700 pz) oraz ure B i ure A, których długości są bardziej zróżnicowane w obrębie rodzaju *Helicobacter*; w zależności od gatunku zmieniają się w zakresie od 306 pz do 544 pz i od 299 pz do 311 pz (19). Ureazy *H. pylori* charakteryzują się odmienną budową. Są skonstruowane tylko z dwóch podjednostek (alfa, beta), kodowanych przez geny ure B i ure A. Sekwencja końca 5' genu ure A jest identyczna z genami ure A bakterii rodz. *Enterobacteriaceae*, a gen ure B odpowiada genowi ure C tej rodziny.

Do drobnoustrojów przebywających w przewodzie pokarmowym ssaków, mających zdolność wytwarzania ureazy, należą pałeczki Gram-ujemne: *Proteus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri*, *Enterobacter gergoviae*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica* (z rodziny *En-*

*terobacteriaceae*) oraz występujące w żołądku i rzadziej w dwunastnicy człowieka oraz zwierząt spiralne bakterie *Helicobacter pylori* (7, 11, 13, 21, 25). Właściwości takie wykazują również niektóre enterotoksyczne serotypy *E. coli* chorobotwórcze dla prosiąt oraz – rzadziej – szczepy patogenne dla człowieka (9, 14, 22, 23). Podczas gdy bakterie *Enterobacteriaceae* występują w jelicie cienkim i grubym, *H. pylori* zasiedla żołądek człowieka oraz niekiedy innych naczelnych, kotowatych i innych ssaków, wywołując chorobę wrzodową żołądka i dwunastnicy (3, 13, 15). Odbywa się to głównie dzięki wytwarzanej przez ten gatunek ureazie, która w wyniku destrukcji mocznika do amoniaku i CO<sub>2</sub> zmienia kwaśne środowisko żołądka na zasadowe, co sprzyja dalszym etapom kolonizacji tych bakterii i rozwinięciu przez nie właściwości toksycznych (13-15).

### Ureaza *Helicobacter pylori*

Enzym ten powoduje wytworzenie nietrwałego, lecz cytotoksycznego wodorotlenku amonowego, który – syntetyzowany w znacznych ilościach – powoduje podwyższenie pH w kwaśnym otoczeniu i decyduje o zdolności przetrwania *H. pylori* w tym środowisku. Jak już wspomniano, genetyczna organizacja operonu ureazowego tej bakterii jest nieco odmienna od typowej dla rodziny *Enterobacteriaceae*. Składa się on z dziesięciu już zsekwencjonowanych genów, z czego dwa – ure A i ure B – kodują podjednostki enzymu (15). Względna masa cząsteczkowa natywnej ureazy wynosi około 550-600 kDa (6). W apoenzymie podjednostki tworzą kompleks składający się z sześciokrotnych powtórzeń każdej z nich i formują agregaty

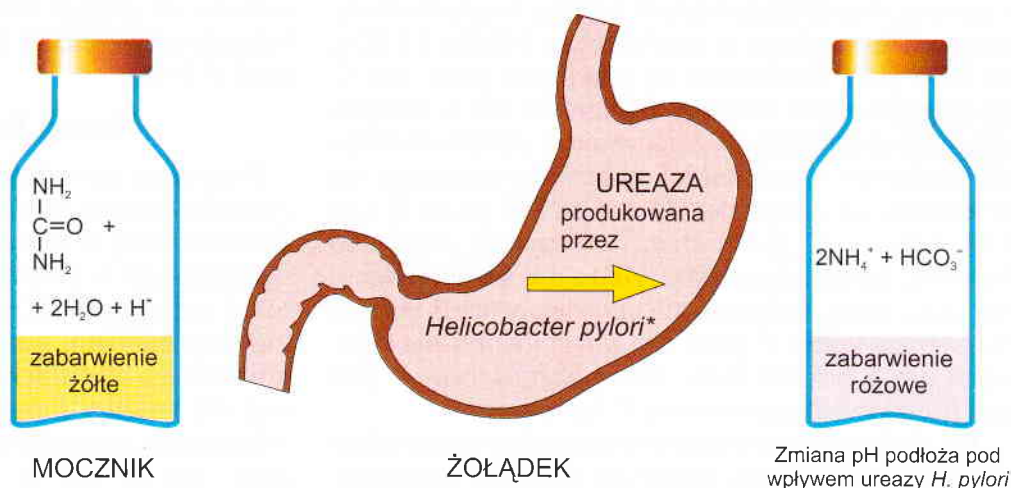
(13 nm × 3 nm), tworzące struktury wyższego rzędu, zawierające do czterech powtórzeń agregatu. Austin i wsp. (2) stwierdzili, że proteina ureazy stanowi do 6% całkowitego białka komórkowego *H. pylori*.

Komórka tej bakterii zawiera pęczek rzęsek ułożonych biegunowo, co pozwala jej na pokonanie warstwy śluzu i dotarcie do komórek nabłonkowych. Pojedyncza rzęska otoczona jest pochwą stanowiącą przedłużenie błony zewnętrznej komórki. Pochwka skonstruowana jest z białek i lipopolisacharydów. Chroni ona białka budujące włókno wici przed kwaśnym środowiskiem. Amoniak powstający z rozkładu mocznika uszkadza komórki wyściełające żołądek (produkujące śluz i okładzinowe) oraz połączenia między nimi, niszcząc ciągłość śluzówki. Neutralizuje on środowisko wokół chorobotwórczych mikroorganizmów, aczkolwiek wpływając na zwrotną dyfuzję jonów wodorowych, może doprowadzić do wzrostu kwasowości soku żołądkowego (13, 18, 21). Podsumowując, ureaza wytworzona przez *H. pylori* ułatwia tym bakteriom kolonizację błony śluzowej jamy (antrum) żołądka, a następnie bierze udział w destrukcji komórek śluzowych i okładzinowych. Proces zapalny narasta w wyniku oddziaływania cytotoksyny syntetyzowanej przez *H. pylori*, która powoduje wakuolizację i obumieranie komórek nabłonkowych, jak również białka 90 kDa niszczące komórki eukariotyczne. Przewlekły, trwający nawet wiele lat stan zapalny, a także podwyższony poziom kwasu solnego, odnotowywane u nosicieli *H. pylori*, doprowadzają do powstania choroby wrzodowej żołądka i niekiedy dwunastnicy (13, 15). Ponadto stwierdzono korelację pomiędzy zakażeniem tym drobnoustrojem a śmiertelnością z powodu raka żołądka (*adenocarcinoma*). Uważa się, iż obecność *H. pylori* może mieć także wpływ na rozwój innego typu nowotworu, a mianowicie rzadko spotykanego raka tkanki limfatycznej powiązanej ze śluzówką żołądka (*lymphoma*). Bakterię tę izolowano z płytki nazębnej oraz z przełyku. Nie wiadomo jednak, czy ma ona jakikolwiek wpływ patologiczny na komórki tych elementów (13, 15). Według Mendalla (cyt. 15) przewlekły stan zapalny, indukowany infekcją *H. pylori*, może być odpowiedzialny za chorobę wieńcową człowieka. W próbach immunoprofilaktyki choroby wrzodowej wykazano, że doustne uodpornianie myszy ureazą *H. pylori* lub jej podjednostkami, produkowanymi przez zrekombinowane szczepy *E. coli*, podawanymi z toksyną cholery jako adiuwantem, chroniło myszy przed zakaże-

niem (cyt. 15). Podobne uodpornienie uzyskano u kotów, podając im inaktywowany szczep *H. felis*, związany z toksoidem *V. cholerae* (13). Pełne informacje dotyczące genów ureazy z uwzględnieniem konfiguracji i mutacji punktowych w genach konserwatywnych, zawiera opracowanie Cieślakowskiego (3).

### Pośrednie ureazowe testy diagnostyczne zakażeń wywołanych przez *Helicobacter pylori*

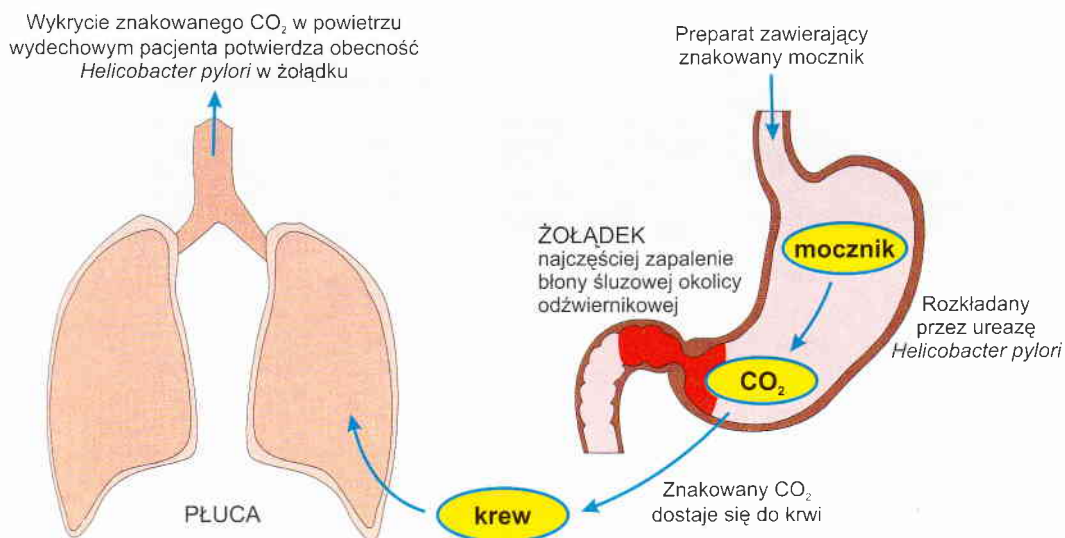
Ureaza jest syntetyzowana przez ten drobnoustroj w wyjątkowo dużych ilościach; z reguły występuje na powierzchni komórki bakteryjnej (15). Enzym ten posiada zdolność hydrolizy endogennego mocznika (znajdującego się w płynach ustrojowych) w amoniak, czemu towarzyszy uwalnianie dwutlenku węgla. Wymieniony proces może pełnić bardzo istotną rolę w patogenie uszkodzeń błony śluzowej żołądka i dwunastnicy u człowieka i zapewne zwierząt (21). Aktywność ureazy w błonie śluzowej żołądka ssaków stwierdzono w pierwszej połowie ubiegłego wieku, ale dopiero niedawno określono jej źródło. Według Heatley'a (13) produkcję ureazy można zahamować, podając omeprazol; nie ustalono jednak, czy terapia tym preparatem ma wpływ na wyniki prób ureazowych. Często wykonuje się test ureazowy z wycinkiem błony śluzowej. Wycinek pobiera się w trakcie badania endoskopowego, następnie umieszcza się w bulionie lub żelu agarowym, zawierającym mocznik. Do przeprowadzenia próby niepotrzebny jest wzrost bakterii, w reakcji bierze udział gotowa (wytworzona wcześniej) ureaza. Uważa się, że – z wyjątkiem *H. pylori* – żadna inna bakteria obecna w błonie śluzowej żołądka człowieka nie posiada zdolności wytwarzania tego enzymu (15). Przemianie mocznika w amoniak towarzyszy zmiana pH podłoża, co prowadzi do zmiany zabarwienia wskaźnika. Najczęściej używanym wskaźnikiem jest czerwień fenolowa, która w środowisku zasadowym zmienia zabarwienie z żółtobrazowego na różowe (ryc. 1).



Ryc. 1. Zasada działania testu ureazowego z wycinkiem błony śluzowej, wg Heatley'a (13), zmodyfikowana

Objaśnienie: \* bakterie są ulokowane głęboko w dołeczkach żołądkowych na powierzchni komórek nabłonkowych, pod ochronną warstwą śluzu

niem. Według Mendalla (cyt. 15) przewlekły stan zapalny, indukowany infekcją *H. pylori*, może być odpowiedzialny za chorobę wieńcową człowieka. W próbach immunoprofilaktyki choroby wrzodowej wykazano, że doustne uodpornianie myszy ureazą *H. pylori* lub jej podjednostkami, produkowanymi przez zrekombinowane szczepy *E. coli*, podawanymi z toksyną cholery jako adiuwantem, chroniło myszy przed zakaże-



Ryc. 2. Ureazowy test oddechowy z wykorzystaniem znakowanego węgla, wg Heatley'a (13), zmodyfikowany

Aktywność ureazy wytwarzanej przez *H. pylori* jest także wykorzystywana w próbie oddechowej, w której wykrywa się znakowany  $\text{CO}_2$ , powstający w rezultacie destrukcji mocznika (ryc. 2). Mocznik znakuje się jednym z dwóch izotopów węgla, trwałym nieradioaktywnym  $^{13}\text{C}$  lub też słabo radioaktywnym  $^{14}\text{C}$ . Następnie tak przygotowany preparat podaje się pacjentowi doustnie (w formie papki). W żołądku, pod wpływem wytwarzanej przez *H. pylori* ureazy, znakowany węgiel uwalnia się z mocznika i jako  $\text{CO}_2$  przedostaje się do krążenia; z krwią dociera do płuc i jest wydalany z powietrzem wydechowym. W powietrzu tym można go wykryć za pomocą odpowiednich metod. Izotop  $^{14}\text{C}$  diagnozuje się przy użyciu zwykłych liczników scyntylacyjnych. Natomiast określenie stężenia całkowicie bezpiecznego izotopu  $^{13}\text{C}$  wymaga użycia spektrografu masowego (13). Ureazowe testy oddechowe są wyjątkowo dokładne i swoiste (95%). Izotop  $^{14}\text{C}$  jest radioaktywny, w związku z czym nie można go stosować u kobiet ciężarnych i małych dzieci. Omawiane testy są najbardziej przydatne w ocenie skuteczności terapii eradykacyjnej, której celem jest trwała eliminacja zakażenia *H. pylori*. Próbę z izotopem  $^{13}\text{C}$  zrealizować można „na odległość” – odpowiednio pobraną próbkę powietrza przesyła się do ośrodka wykonującego badanie (13, 21).

### Ureazododatnie szczepy *Escherichia coli*

W starszych i najnowszych monografiach można znaleźć informacje, iż chorobotwórcze serotypy *E. coli* hydrolizujące mocznik nie należą do rzadkości. Dotyczy to głównie szczepów enterotoksycznych, patogennych dla zwierząt (przede wszystkim prosiąt) i człowieka (14, 22, 23). Ewing (7) uważa, że jest to stosunkowo niewielka grupa szczepów, u których informacja o syntezie ureazy znajduje się w specyficznym plazmidzie. Według Holmesa i Grossa (14) szczepy takie (verotoksyczne bądź enterotoksyczne) stanowią dość

liczną grupę wśród pałeczek *E. coli* wywołujących chorobę obrzękową u prosiąt po odsadzeniu; dotyczy to przede wszystkim serotypów z grup serologicznych: O138, O139, O141, O8, O147. U dzieci szczepy ureazododatnie (najczęściej z grupy O26) wyosobniano z przypadków zapalenia jelita cienkiego (14). Sussman (23) określa odsetek szczepów *E. coli* hydrolizujących mocznik, wśród serotypów chorobotwórczych dla człowieka, od 0% do 11%.

W zakresie tym mieszczą

się także „atypowe” szczepy *E. coli* wytwarzające  $\text{H}_2\text{S}$ , oksydazę, pigment, dezaminazę fenyloalaniny, lipazę, dezoksyrybonukleazę; rozkładające inozytol, celobiozę, D-adonitol i upłynniające żelatynę. Pesti (cyt. 22), wśród 400 szczepów wyizolowanych od świń padłych na różne formy kolibakteriozy, stwierdził obecność 22, które syntetyzowały ureazę. Na obecność takich szczepów zwraca uwagę również Sojka (22). W badaniach własnych (9) realizowanych w International Escherichia Centre opisano nowy serotyp *E. coli* – O157, K88ac, H19, wyizolowany wcześniej z przypadku zapalenia jelita cienkiego u prosięcia przez Sweeney'a. Szczep ten, poza właściwościami beta-hemolitycznymi, charakteryzował się wytwarzaniem ureazy (9). Szczepy o podobnych właściwościach wyodrębnione z przypadków kolibakteriozy prosiąt zostały opisane wcześniej przez Ørskova i wsp. (20) oraz Sweeney'a (24). W innych badaniach własnych, w przypadkach wyosobniania różnych serotypów *E. coli* z antygenem fimbrialnym K88ac od kilkudniowych prosiąt padłych na kolibakteriozę, odnotowano 6 szczepów (2 – G1253/O147 oraz 4 – O26/O149), które hydrolizowały mocznik (8). Stanowiły one 8,1% wszystkich serotypów K88<sup>+</sup>. Badania były realizowane w trzech powtórzeniach, równoległe na podłożach Christensena w modyfikacji Kristensena oraz Christensena w modyfikacji Hormaeche-Munilla. W wyniku nowszych badań własnych, dotyczących określenia fenotypowych i genotypowych markerów odpowiedzialnych za syntezę enterotoksyn i verocytotoksyn (Stx2v) przez wyizolowane serotypy *E. coli*, odnotowano obecność szczepów wytwarzających ureazę. Na 30 szczepów, właściwość tę prezentowało 14 (47%). Były to najczęściej szczepy wyosobnione z przypadków kolibakteriozy prosiąt noworodków. Budowę antygenową oraz typ toksyn syntetyzowanych przez te drobnoustroje przedstawiono w tab. 1. Pozostałe nietypowe cechy biochemiczne analizowanych szczepów (oraz właściwości

Tab. 1. Charakterystyka ureazododatnich serotypów *E. coli*

Serotyp <i>E. coli</i> (nr szczepu)	Liczba szczepów	Czas inkubacji (37°C), po którym obserwowano hydrolizę mocznika (w dniach)	Źródło izolacji*	$\beta$ -hemoliza	Właściwości toksynogenne			
					gen elt (PCR) toksyna LT (RPLA)	gen estA (PCR)	gen estB (PCR)	gen stx2v (PCR)
O147: K89, K88ac (1/96, 2/96, 3/96)	3	2-3	prosięta	3	2 (2/96, 3/96)	2 (1/96, 3/96)	3	1 (1/96)
O141: K85, K88ab (2/97)	1	2	prosię	1	1	-	1	1
O141: K85 (E68II)	1	3	prosię	1	-	-	1	1
O8: K87, K88ab (G7)	1	4-6	świnia	-	-	1	-	-
O157: 88ac, H19 (A2)	1	2	świnia	1	1	-	1	-
O157: H <sup>-</sup> (A2)	1	2	świnia	1	-	-	-	-
NO: K88ab, K88ac (281)	1	2	świnia	1	1	-	1	-
NO: K88ac (261, 291)	2	3-6; 2	świnie	2	-	1 (291)	1 (261)	2
NO (1/97, 1/98, 1/99)	3	7; 2-3; 5-7	prosięta cielę	2 (1/97, 1/98)	1 (1/98)	2 (1/97, 1/99)	1 (1/98)	1 (1/97)

Objaśnienia: NO – szczepy o nieoznaczonych antygenach O; LT – enterotoksyna ciepłochwiejna; STa – enterotoksyna ciepłotała typu a; STb – enterotoksyna ciepłotała typu b; Stx2v – wariant shiga toksyny *E. coli* typu 2; \* – szczepy izolowano z wycinków narządów wewnętrznych oraz z prób kału

charakterystyczne dla tego gatunku) zostały przedstawione przez Karakulską (16, 17) w innych opracowaniach. Wydaje się, że wytwarzanie ureazy przez chorobotwórcze dla zwierząt i człowieka szczepy *E. coli*, poprzez alkalizację przewodu pokarmowego zwiększa współczynnik kolonizacyjny tych bakterii. Na mechanizm ten zwrócił uwagę Sojka (22), omawiając szeroko etiopatogenezę choroby obrzękowej u prosiąt po odsadzeniu.

### Ureazododatnie szczepy *Yersinia spp.*

Spośród bakterii tego rodzaju, właściwości rozkładu mocznika posiada *Yersinia pseudotuberculosis* (100%) oraz większość szczepów *Yersinia enterocolitica* (95,8%), natomiast u *Yersinia pestis* brak tej cechy (7, 25). Szereg autorów uważa, że poza aspektem diagnostycznym jest to jeden z elementów składających się na chorobotwórczość pałeczek *Y. pseudotuberculosis* (4, 5, 10, 11) oraz *Y. enterocolitica* (11, 12). W patogenezie jersiniozy, ureazie, poza funkcją ochronną przed bakteriobójczym działaniem niskiego pH soku żołądkowego, przypisuje się oddziaływanie arytrygenne, za które odpowiedzialna jest podjednostka  $\beta$  tego enzymu (1). Z kolei podjednostka  $\alpha$ , syntetyzowana w rezultacie ekspresji genu ure C, jest prawdopodobnie odpowiedzialna za proces wiązania jonów niklu, które są konieczne dla aktywności ureazy (cyt. 12). Stwierdzono, że ureaza bakterii *Y. enterocolitica*, w zbliżony sposób do ureazy *Lactobacillus fermentum*

i *Morganella morganii*, ulega aktywacji przy niskim pH podłoża (około 3,0), niezależnie od stężenia mocznika. Wskazuje to, że *in vitro* enzym ten jest aktywowany w rezultacie zakwaszenia cytoplazmy bakterii (cyt. 12). Rejon chromosomu bakteryjnego o wielkości 6,6 kb odpowiedzialny za syntezę ureazy obejmuje geny: ure A, ure B, ure C, ure E, ure F, ure G, ure D. Stwierdzono znaczny stopień homologii rejonów DNA determinujących ten enzym u pałeczek *Y. enterocolitica* i *Y. pseudotuberculosis* (cyt. 12). Gierczyński i wsp. (12) odnotowali, że gen ure C jest nieprzydatny do określenia właściwości chorobotwórczych pałeczek *Y. enterocolitica*, które utraciły plazmid wirulencji pYV. Według wymienionych autorów przyczyną tej sytuacji jest występowanie genu ure C w genomie niepatogennych bakterii *Y. enterocolitica*, należących do biotypu 1A oraz w genomach pałeczek *Y. kristensenii* i *Y. intermedia*.

Reasumując, należy stwierdzić, że wytwarzanie ureazy przez niektóre bakterie występujące w przewodzie pokarmowym zwierząt i człowieka, ułatwia im kolonizację i rozwinięcie właściwości inwazyjnych i toksycznych. Dotyczy to głównie *Helicobacter pylori*, enterotoksycznych szczepów *E. coli* (LT<sup>+</sup>, ST<sup>+</sup>, STx2v<sup>+</sup>) oraz niektórych szczepów *Y. enterocolitica*. W związku z wytwarzaniem ureazy praktycznie przez wszystkie szczepy *Y. pseudotuberculosis*, nie można traktować tej właściwości jako elementu zjadliwości w kontekście różnicowania tych bakterii na choroby-

twórcze i niepatogenne. Potrzeba do tego ustalenia szeregu innych właściwości, zarówno fenotypowych, jak i genotypowych, co jest aktualnie badane przez wielu autorów (4, 5, 10, 11, 21). Niemniej jednak, produkcja przez omawiany gatunek bakterii ureazy wiąże się z klinicznym przebiegiem jersiniozy (biegunka, objawy otrzewnowe typowe m.in. dla ostrego zapalenia wyrostka robaczkowego), jak również z pojawieniem się zmian patologicznych, stwierdzanych u ludzi i zwierząt *post mortem* w obrębie przewodu pokarmowego (zapalenia jelita cienkiego i kręzkowych węzłów chłonnych). Należy podkreślić, iż synteza tego enzymu *in vitro* występuje bardzo szybko, niekiedy już po kilku godzinach inkubacji (37°C) i w związku z tym stanowi istotny element wykorzystywany w diagnostyce bakteriologicznej (7). W odróżnieniu do *H. pylori*, *H. felis* oraz innych *Helicobacter spp.* (aktualnie 15 gatunków), uważa się, że ureaza należy także do enzymów pośrednio (poprzez cytotoksyczny wodortlenek amonowy) uszkadzających błonę śluzową żołądka oraz dwunastnicy. Dlatego też jest jednym z głównych czynników powodujących chorobę wrzodową tych organów (13, 15, 21). Do czynników działających bezpośrednio zalicza się: cytotoksynę wakuolizującą VacA, białko towarzyszące cytotoksynie CagA oraz produkt genu *ice A* (allelu *iceA*). Natomiast jako elementy odpowiedzialne za zasiedlanie *H. pylori* wymienia się adhezyny („mostki”) i flagelliny (15). Są to głównie flagelliny FlaA i FlaB. Adhezyny określono głównie poprzez identyfikację białka lub genu (*hpaA*), albo w wyniku oznaczenia odpowiadającego mu receptora komórkowego (cyt. 3).

### Piśmiennictwo

1. Appel H., Mertz A., Distler A.: The 19 kDa protein of *Yersinia enterocolitica* O:3 is recognized on the cellular and humoral level by patients with *Yersinia* induced reactive arthritis. *J. Rheumatol.* 1999, 26, 1964-1971.
2. Austin J. W., Daig R., Stewart M., Trust T. J.: Macromolecular structure and aggregation states of *Helicobacter pylori* urease. *J. Bacteriol.* 1991, 173, 5663-5674.
3. Cieslikowski T.: Zróżnicowanie genetyczne szczepów *Helicobacter pylori* – struktura genetyczna. *Post. Mikrobiol.* 1999, 38, 163-183.
4. Emirsajłow-Zalewska W., Furowicz A. J., Aleksić S., Czernomysy-Furowicz D.: Evaluation of pathogenicity of *Yersinia pseudotuberculosis* strains isolated from chinchillas from the Western Pomerania Area. *Adv. Agricul. Sci.* 1996, 5, 19-24.
5. Emirsajłow-Zalewska W., Furowicz A. J.: Ocena wyznaczników patogenności w szczepach *Y. pseudotuberculosis* wyizolowanych od szynszyli. *Medycyna Wet.* 1997, 53, 51-53.
6. Evans D. J., Evans D. G., Kirkpatrick S. S., Graham D. Y.: Characterization of the *Helicobacter pylori* urease and purification of the its subunits. *Microb. Patholog.* 1991, 10, 15-21.
7. Ewing W. H.: Edwards and Ewing's identification of Enterobacteriaceae. Elsevier, New York 1986, 94-95, 461-476.
8. Furowicz A. J.: Studia nad kolibakteriozą prosiat odesków ze specjalnym uwzględnieniem czynnika etiologicznego. Praca hab., Śląska Akademia Medyczna – Zakład Higieny Wet. w Katowicach 1969.
9. Furowicz A. J., Ørskov F.: Two new *Escherichia coli* O antigens, O150 and O157, and one new K antigen, K 93 in strains isolated from veterinary diseases. *Acta path. microbiol. Scand. Sec. B.* 1972, 80, 441-444.
10. Furowicz A. J., Czernomysy-Furowicz D., Kowalczywska M.: Enterotoksyczny szczep *Y. pseudotuberculosis* przyczyną jersiniozy szynszyli. *Medycyna Wet.* 1996, 52, 116-118.
11. Gackowska I., Furowicz A. J., Czernomysy-Furowicz D., Jakubczak A.: Fenotypowa i genotypowa analiza właściwości chorobotwórczych szczepów

12. *Y. pseudotuberculosis* oraz *Y. enterocolitica*. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 303-305.
12. Gierczyński R., Jagielski M., Rastawicki W.: Ocena przydatności wybranych markerów wirulencji do identyfikowania chorobotwórczych szczepów pałeczek *Y. enterocolitica*. IV. Geny *myfA* i *ureC*. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 2002, 54, 347-355.
13. Heatley R. V.: *Helicobacter pylori*.  $\alpha$ -medica press, Bielsko-Biała 1999, 9-34, 36-40.
14. Holmes B., Gross R. J.: Coliform bacteria; various other members of the Enterobacteriaceae, [w:] Topley and Wilson's Principles of Bacteriology, Virology and immunity, t. 2 Systematic Bacteriology. E. Arnold A division of Hodder and Stoughton, London 1990, 416-421.
15. Jaguszyn-Krynicka E. K., Godlewska R.: *Helicobacter pylori*. I. Mechanizmy patogenności, epidemiologia, diagnostyka, terapia. *Post. Mikrobiol.* 1997, 36, 323-337.
16. Karakulska J.: Biochemiczne właściwości enterotoksycznych i enterokrwotocznych szczepów *E. coli*. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 2002, 54, 215-223.
17. Karakulska J.: Ocena praktycznej przydatności wybranych fenotypowych i genotypowych wyznaczników patogenności enterotoksycznych i enterokrwotocznych pałeczek *E. coli*. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 2002, 54, 119-127.
18. Medrand F., Nemaui-Simha V., Brugman D.: Further evidence of the toxic effect of ammonia produced by *Helicobacter urease* on human epithelial cells. *Infect. Immun.* 1992, 60, 1858-1870.
19. Mobley H. L., Island M. D., Hausinger R. P.: Molecular Biology of microbial ureases. *Microbiol. Rev.* 1995, 59, 451-460.
20. Ørskov I., Ørskov F., Sojka W. J., Leach J. M.: Simultaneous occurrence of *E. coli* B and L antigens in strain from diseased swine. *Acta path. microbiol. Scand.* 1961, 53, 404-422.
21. Skirrow M. B.: *Campylobacter* and *Helicobacter* infections of man and animals, [w:] Topley and Wilson's principles of Bacteriology, Virology and Immunity, t. 3 Bacterial Diseases. Arnold A division of Hodder and Stoughton, London 1990, 532-545.
22. Sojka W. J.: *Escherichia coli* in domestic animals and poultry. Commonwealth Agricultural Bureaux, Farnham Royal-Bucks. England 1965, 7-13, 104-153.
23. Sussman M.: *Escherichia coli* and human disease, [w:] *Escherichia coli*, mechanisms and virulence. Ed. Max Sussman. Cambridge University Press, Cambridge 1997, 3-5.
24. Sweeney E. J.: Strains of *Escherichia coli* associated with mortality in pigs. *Irish vet. J.* 1970, 24, 108-113.
25. Zaremba M., Borowski J.: *Mikrobiologia lekarska*. Wyd. Lekarskie PZWL, Warszawa 1997, 183-184.

Adres autora: prof. dr hab. Antoni J. Furowicz, ul. Doktora Judyma 24, 70-466 Szczecin; e-mail: A.Furowicz@biot.ar.szczecin.pl

## BERRI M., ROUSSET E., CHAMPION J. L., ARRICAU-BOUVEREY N., RUSSO P., PEPIN M., RODOLAKIS A.: Nawóz owiec użyty do użyźniania ogrodu podejrzany jako źródło zakażenia ludzi gorączką Q. (Ovine manure used as a garden fertiliser as a suspected source of human Q fever). *Vet. Rec.* 153, 269-270, 2003 (9)

Bydło, owce i kozy są głównym źródłem zakażenia ludzi przez *Coxiella burnetii*, przyczynę gorączki Q. Człowiek zakaża się przez kontakt bezpośredni z chorymi zwierzętami lub drogą inhalacyjną. W procesie transmisji zarazka najważniejszą rolę odgrywa kał oraz łożysko chorych zwierząt siewców zarazka. Istnieje też możliwość zakażenia za pośrednictwem nawozu zwierząt chorych, wykorzystanego do użyźniania gleby. Pod koniec marca 2000 r. u 58-letniego mężczyzny i 66-letniej kobiety wystąpiły objawy grypopodobne i objawy zapalenia wątroby. Chorzy byli hospitalizowani. W oparciu o odczyn immunofluorescencji pośredniej i wysoki wzrost aktywności enzymów wątrobowych oraz uzyskanie poprawy po leczeniu doksycyliną rozpoznano gorączkę Q. Źródłem zakażenia ludzi był najprawdopodobniej nawóz owiec zastosowany w ogrodzie. Przeciwciała dla *C. burnetii* dla fazy II stwierdzono testem ELISA i odczynem wiązania dopełniacza z surowicy 11 owiec ze stada liczącego 79 owiec i jednego tryka, od których pochodził użyty w ogrodzie nawóz. W odczynie immunofluorescencji pośredniej zidentyfikowano w stadzie 13 seropozytywnych zwierząt. Testem PCR zidentyfikowano *C. burnetii* w kale 14 zwierząt.