Praca oryginalna *Original paper*

Właściwości hydrofobowe szczepów Pseudomonas aeruginosa

KATARZYNA WOLSKA, MAGDALENA PAWLAK, ANTONI JAKUBCZAK

Zakład Mikrobiologii Akademii Podlaskiej, ul. Prusa 12, 08-110 Siedlce

Wolska K., Pawlak M., Jakubczak A.

Hydrophobic properties of Pseudomonas aeruginosa strains

Summary

The aim of the study was to evaluate the hydrophobicity of 88 Pseudomonas aeruginosa strains isolated from humans and various animals. The hydrophobicity of the strains was defined by the BATH (Bacterial Adhesion to Hydrocarbon Test) method of Rosenberg et al. and by the SAT (Salt Aggregation Test) method of Lindhal et al. Bacteria were grown for 24 h at 37° C in tryptic soy broth (Difco).

Nearly half of the strains demonstrated hydrophobic properties. 46.6% strains of Pseudomonas aeruginosa adhered to para-xylene and 45.46% strains aggregated at low salt concentration. Most of the strains showed weak hydrophobicity. A strong hydrophobicity was found amongst strains isolated from minks and fish in particular.

Keywords: hydrophobicity, Pseudomonas aeruginosa

Adhezja bakterii do powierzchni komórek makroorganizmu jest pierwszym i niezbędnym etapem zakażenia. Za zjawisko adhezji odpowiedzialne są powierzchnie komórek bakterii oraz odpowiednich komórek eukariotycznych. Oddziaływania pomiędzy tymi komórkami mogą mieć charakter nieswoisty i swoisty (oddziaływanie pomiędzy receptorami a adhezynami). Adhezja w początkowym etapie może zachodzić wtedy, gdy siły elektrostatycznego odpychania zostaną pokonane przez nieswoiste siły van der Waalsa i oddziaływania hydrofobowe działające w przeciwnym kierunku. Przy zbliżaniu się powierzchni na odległość około 1,5 nm adhezyny wiążą się z hydrofobowymi powierzchniami przylegającymi oraz nieswoistymi wiązaniami jonowymi i wodorowymi (19, 23, 24).

Pałeczki *Pseudomonas aeruginosa* zaliczane są do bakterii oportunistycznych wywołujących zakażenia u ludzi i zwierząt z obniżoną odpornością (10). Istotną cechą tego drobnoustroju, oprócz wytwarzania wielu substancji białkowych i innych o charakterze enzymów, barwników czy toksyn, jest zdolność do adhezji (3, 5, 8, 15, 29). Adhezja pałeczek *Pseudomonas aeruginosa*, podobnie jak u innych bakterii, zależy od mechanizmów nieswoistych i swoistych. Do nieswoistych mechanizmów opisanych u *Pseudomonas aeruginosa* należą właściwości hydrofobowe powierzchni komórki bakteryjnej (4, 9, 11, 23, 25). Odgrywają one rolę w przyleganiu do komórek układu oddechowego (28-30), moczowego (17), komórek oparzonej skóry (21), komórek nabłonka rogówkowego (5, 7) oraz do powierzchni szkieł kontaktowych (2, 3, 11), szkiełek nakrywkowych (27) i biomateriałów (15, 28).

Celem badań była ocena hydrofobowych właściwości szczepów *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowanych z różnych źródeł przy zastosowaniu metody SAT i BATH.

Materiał i metody

Szczepy bakteryjne. Badaniem objęto 88 szczepów *Pseudomonas aeruginosa.* 14 szczepów *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowano od pacjentów w Szpitalu Wojewódzkim w Siedlcach. 71 szczepów zwierzęcych *Pseudomonas aeruginosa* wyosobniono od ryb (21 szczepów), bydła (17 szczepów), świń (6 szczepów), norek (7 szczepów), szynszyli (2 szczepy), lisów (2 szczepy), jelenia (1 szczep), psów (3 szczepy), kota (1 szczep), kurczaków (11 szczepów) oraz 1 szczep z kwiatu cantedeskii etiopskiej (*Zantedeschia aethopica*) (kalla) i 2 szczepy ze ścieku w Katedrze Epizootiologii ART w Olsztynie i Zakładzie Mikrobiologii AP w Siedlcach. Dodatkowo badaniem objęto szczepy referencyjne *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 i ATCC 27853. Identyfikację gatunkową przeprowadzono na podstawie cech fenotypowych z użyciem metod klasycznych i testów komercyjnych NEFERM test 24 (Lachema).

Właściwości hydrofobowe szczepów określano dwiema metodami.

Metoda adhezji bakterii do para-ksylenu (Bacterial Adhesion to Hydrocarbon Test, BATH) według Rosenberga i wsp. (19, 20). Do badania przygotowywano zawiesinę bakterii w PBS (zbuforowany fizjologiczny roztwór soli, pH 7,2), uprzednio namnożonych w bulionie tryptozowo-sojowym (Tryptic Soy Broth, TSB) (Difco) w temperaturze 37°C przez 24 godziny i 3-krotnie przemytych roztworem PBS. Gęstość zawiesiny określano przy pomocy spektrofotometru CECIL CE 2501 (BioQuest) przy długości fali

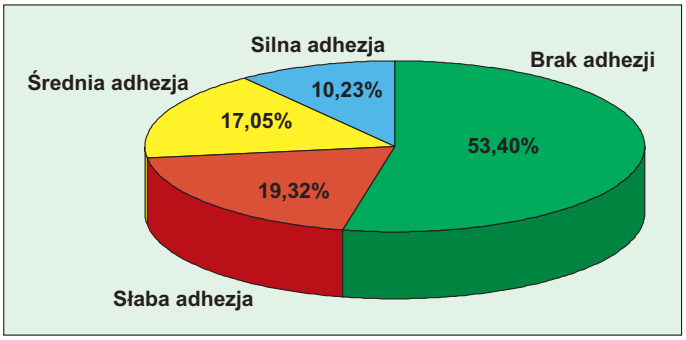
540 nm (A_{540}; 0,5) i oznaczano ją A_{540} P (początkowa). Kolejne etapy badania przeprowadzano w temperaturze pokojowej. Do okrągłodennych probówek o średnicy 10 mm, zawierających zawiesiny bakterii, dodawano 250 µl analitycznie czystego para-ksylenu (Ubichem). Probówkę przez 60 sekund energicznie wytrząsano na wytrząsarce, po czym próby zostawiano na 30 minut w celu rozdzielenia faz. Następnie dolną fazę aspirowano pipetą, przenoszono 1 ml do kuwety i ponownie mierzono absorbancję – A_{540} K (końcowa). Każdą próbę wykonywano dwukrotnie, a jako wynik brano średnią z obu odczytów. Odsetek bakterii, które ulegały adhezji do para-ksylenu określano według wzoru:

$$\%BATH = \frac{A_{540}\,P - A_{540}\,K}{A_{540}\,P} \times 100\%$$

Przyjęto następujące kryteria adhezji: brak – % BATH < 25%, słaba – % BATH ≥ 25% i ≤ 49%, średnia – % BATH ≥ 50% i ≤ 74%, silna – % BATH ≥ 75%.

Kontrolę stanowił jałowy PBS, do którego dodawano 250 µl para-ksylenu.

Badania opracowano statystycznie stosując średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe.



Ryc. 1. Hydrofobowość badana metodą BATH

Tab. 1. Hydrofobowość szczepów *Pseudomonas aeruginosa* badana metodą BATH

Pochodzenie szczepu	Liczba i odsetek szczepów	Liczba szczepów ulegających adhezji do ksylenu			
		≥ 75%	≥ 50-74%	≥ 25-49%	< 25%
Szczepy od ludzi	14-15%	1	2	2	9
Bydło	17-19,3%	1	6	1	9
Świnie	6-6,8%	0	0	2	4
Ptaki	11-12,5	0	1	3	7
Psy	3-3,4%	0	1	1	1
Kot	1-1,1%	0	0	0	1
Ryby	21-23,9%	4	3	3	11
Norki	7-7,95%	2	1	1	3
Szynszyle	2-2,3%	0	1	1	0
Lisy	2-2,3%	1	0	0	1
Jeleń	1-1,1%	0	0	0	1
Kwiat	1-1,1%	0	0	1	0
Ścieki	2-2,3%	0	0	2	0
Razem	88-100%	9-10,23%	15-17,05%	17-19,32%	47-53,4%

Metoda wysalania (Salt Aggregation Test, SAT) według Lindahla i wsp. (13). Bakterie inkubowano 24 godziny w temperaturze 37°C w bulionie tryptozowo-sojowym. Komórki bakteryjne odwirowywano przy 4500 rpm przez 10 minut, przemywano 3-krotnie roztworem PBS o pH 7,2 i ponownie zawieszano w PBS tak, aby otrzymać zawiesinę o gęstości 15 × 10^8 komórek bakteryjnych/ml. Następnie 50 µl przepłukanej zawiesiny bakterii mieszano z 50 µl różnych stężeń (od 0,1 M do 3,0 M) $(NH_4)_2SO_4$. Agregację komórek w poszczególnych stężeniach $(NH_4)_2SO_4$ oceniano wizualnie. Szczepy podzielono na 4 grupy: szczepy o silnych właściwościach hydrofobowych (szczepy autoagregujące w 3% NaCl); szczepy o średnich właściwościach hydrofobowych (agregujące w 0,1-1 M $(NH_4)_2SO_4$); szczepy o niskich właściwościach hydrofobowych (agregujące w 1,2-1,5 M $(NH_4)_2SO_4$); szczepy o właściwościach hydrofilnych (agregujące w ≥ 2 M $(NH_4)_2SO_4$). Przyjęto, że szczepy autoagregujące w 3% NaCl posiadają bardziej hydrofobową powierzchnię (szczepy o silnych właściwościach hydrofobowych) niż pozostałe szczepy hydrofobowe, ponieważ chlorek sodu jest solą słabiej agregującą bakterie niż siarczan amonu. Wszystkie badania wykonano dwukrotnie.

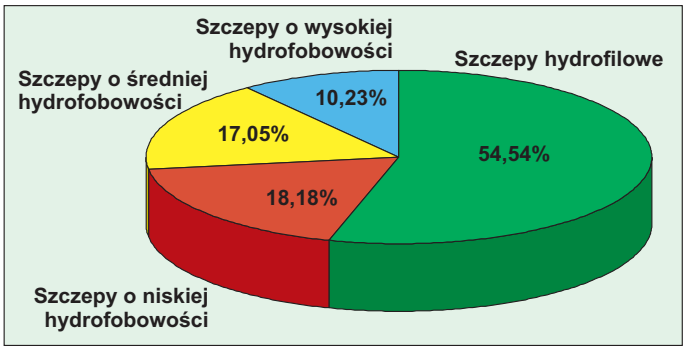
Wyniki i omówienie

Zdolność pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* do adhezji do para-ksylenu (metoda BATH) stwierdzono u 46,6% szczepów (tab. 1 i ryc. 1). Słabą adhezję wykryto u 19,32% szczepów, średnią u 17,05%, a silną u 10,23% szczepów. Spośród badanych grup *Pseudomonas aeruginosa* składających się nie mniej niż z 6 szczepów, stwierdzono, że najwięcej szczepów pochodzących od norek ulegało adhezji do para-ksylenu, aż 57,2%, wysoką adhezję wykazano u 28,6% tych szczepów, słabą u 14,3% szczepów i średnią u 14,3%. Adhezję do para-ksylenu wykazywały szczepy izolowane od ryb (47,6%) i bydła (47,1%). Wysoką adhezję stwierdzono u 19% szczepów pochodzących od ryb i 5,9% od bydła, średnią u 14,3% szczepów od ryb i 37,3% od bydła, natomiast słabą – 14,3% i 5,9% szczepów kolejno od ryb i bydła. Szczepy izolowane od człowieka, świń i ptaków ulegały adhezji w następującej kolejności: ptaki – 36,4%, człowiek – 35,7%, świnie – 33,3%. Szczepy izolowane od ptaków wykazywały adhezję słabą w 27,3% i średnią w 9,1%. Szczepy izolowane od człowieka charakteryzowały się adhezją wysoką (7,1%), średnią i słabą (po 14,3% szczepów). Natomiast szczepy izolowane od świń wykazywały jedynie adhezję słabą (33,3%).

Średnia wartość adhezji uzyskana dla wszystkich badanych szczepów *Pseudomonas aeruginosa* mieściła się w zakresie słabej adhezji i wynosiła 28,05% ± 26,07%, natomiast dla poszczególnych grup szczepów przedstawiała się

według malejącej wartości następująco: szczepy izolowane od szynszyla – 51% ± 22,63%, lisów – 44,5% ± 45,96%, norek – 40% ± 33,09%, kwiatu – 34%, ścieków – 32,5% ± 3,5%, bydła – 31,76% ± 27,72%, psów – 31% ± 29,51%, ryb – 30,76% ± 29,06%, człowieka – 20,07% ± 25%, ptaków – 19,27% ± 18,47%, świń – 13,83% ± 11,94%, jelenia – 11%, kota – 6%. Szczep referencyjny *Pseudomonas aeruginosa* NCTC 6749 wykazywał słabą adhezję do ksylenu (39%), a szczep ATCC 27853 wykazywał właściwości hydrofilne (1% adhezja).

Przy zastosowaniu metody SAT (tab. 2, ryc. 2) uzyskano wyniki bardzo zbliżone. Stwierdzono 45,46% szczepów hydrofobowych, w tym szczepów o niskiej hydrofobowości – 18,18%, średniej – 17,05% i wysokiej – 10,23%. Analizując poszczególne grupy szczepów, wykazano, że wartości liczbowe były takie same dla szczepów izolowanych od ryb, człowieka, świń, bydła i norek. Różnice zaobserwowano jedynie u szczepów wyizolowanych od ptaków: właściwości hydrofobowe wykazywało 27,3% szczepów, w tym średnie – 9,1% i słabe – 18,2%.



Ryc. 2. Hydrofobowość badana metodą SAT

W ostatnich latach obserwuje się wzrost zainteresowania i znaczny postęp w badaniach czynników wirulencji bakterii. Jednym z nich wydaje się hydrofobowość komórki bakteryjnej (1, 4, 13, 14, 16, 19). Do powszechnie stosowanych metod pozwalających ocenić właściwości powierzchni komórek bakteryjnych należą metody SAT i BATH (9, 12, 13, 16, 19, 20). Pierwsza jest prostą techniką, w której mierzy się hydrofobowość bakterii na podstawie precypitacji w soli, np. $(NH_4)_2SO_4$. Komórki bakteryjne o wysokiej hydrofobowości ulegają agregacji w niższym stężeniu soli. Druga metoda polega na spektrofotometrycznym oznaczeniu odsetka komórek ulegających adhezji do para-ksylenu.

Przy użyciu metody SAT opisanej przez Lindhala i wsp. (13) i metody BATH według Rosenberga i wsp. (19, 20) wykazano, że prawie połowa badanych szczepów *Pseudomonas aeruginosa* wykazywała właściwości hydrofobowe. Wykryto istotne różnice we właściwościach hydrofobowych pomiędzy szczepami o różnym pochodzeniu, a także różnice między szczepami izolowanymi z tego samego źródła. Największy odsetek szczepów o właściwościach hydrofobowych stwierdzono wśród szczepów izolowanych od norek (57,2%). Najmniej szczepów o właściwościach hydrofobowych izolowano od świń (33,3%). Dla porównania właściwości te wykazywało 35,7% szczepów wyosobnionych od ludzi. W badaniach innych autorów (4) większość wielolekoopornych szczepów szpitalnych *Pseudomo-*

Tab. 2. Hydrofobowość szczepów *Pseudomonas aeruginosa* badana metodą SAT

Pochodzenie szczepu	Liczba i odsetek szczepów	Liczba szczepów agregujących w różnych stężeniach $(NH_4)_2SO_4$									
		0*	0,1 M	0,5 M	1 M	1,2 M	1,5 M	2 M	2,5 M	3 M	>3 M
Szczepy od ludzi	14-15,9%	1	1		1		2	1	1	1	6
Bydło	17-19,3%	1	6				1	1			8
Świnie	6-6,8%						2	1			3
Ptaki	11-12,5		1			1	1	1	1	0	6
Psy	3-3,4%		1			1					1
Kot	1-1,1%								1		
Ryby	21-23,9%	4	2	1		2	1	1	3	1	6
Norki	7-7,95%	2	1				1		2		1
Szynszyle	2-2,3%		1			1					
Lisy	2-2,3%	1						1			
Jeleń	1-1,1%								1		
Kwiat	1-1,1%					1					
Ścieki	2-2,3%					1	1				
Razem	88-100%	9-10,23%	13-14,77%	1-1,14%	1-1,14%	7-95%	9-10,23%	6-6,82%	9-10,23%	2-2,27%	31-35,22%
NCTC6749	1					1					
ATCC27853	1									1	

Objaśnienie: *liczba autoagregujących szczepów w 3% NaCl

nas aeruginosa wykazywała właściwości hydrofilne. Jankowski i wsp. (9) wykazali metodą SAT silne właściwości hydrofobowe u ponad połowy klinicznych szczepów *Pseudomonas aeruginosa*, natomiast szczepy *Pseudomonas aeruginosa* o średnich właściwościach hydrofobowych izolowanych od pacjentów z zakażeniami układu moczowego wykazali Tylewska i wsp. (25). Czynniki takie jak: temperatura, czas inkubacji, pH, obecność jonów, rodzaj i skład pożywki mogą modyfikować właściwości hydrofobowe (6, 16, 22, 26). Z wcześniejszych badań własnych (26), wynika, iż szczepy *Pseudomonas aeruginosa* wykazywały silne właściwości hydrofobowe po 24 godzinnej inkubacji w bulionie wzbogaconym w temperaturze 37°C. Podobne zależności obserwowali Mikucka i wsp. (16), badając wpływ warunków na zmianę właściwości hydrofobowych pałeczek *Serratia sp*. oraz Gospodarek (6), która badała wpływ temperatury na hydrofobowość *Acinetobacter calcoaceticus*. Zastosowanie w obecnej pracy dwóch metod badania właściwości hydrofobowych bakterii pozwoliło na uzyskanie powtarzalnych, a tym samym wiarygodnych wyników oraz dało możliwość identyfikacji większej liczby szczepów hydrofobowych. I tak dzięki metodzie BATH udało się wykryć dodatkowo hydrofobowy szczep *Pseudomonas aeruginosa* wyizolowany od ptaków. Również inni autorzy (1, 12, 14, 22) podkreślają przydatność metody BATH w wykrywaniu właściwości hydrofobowych u bakterii.

Za właściwości hydrofobowe pałeczek *Pseudomonas aeruginosa* odpowiadają głównie fimbrie. Wytwarzane są one przez bakterie na pożywkach płynnych w czasie 48-godzinnej inkubacji w temperaturze 37°C. Ich obecność wpływa na wzrost ładunku powierzchniowego i hydrofobowości, a w konsekwencji na tworzenie długich łańcuchów komórek i autoagregację (8, 23, 29, 30). Stwierdzono, że szczepy *Pseudomonas aeruginosa* wytwarzające fimbrie, w większym stopniu przylegają do powierzchni szkieł kontaktowych (2, 3, 11) i do powierzchni oparzonej skóry (21) niż ich nie posiadające fimbrii warianty charakteryzujące się mniejszą hydrofobowością. Obecność tych organelli jest konieczna, aby komórki *Pseudomonas aeruginosa* mogły przylegać do powierzchni komórek nabłonka policzkowego (28, 30) i komórek tchawicy (18). Hydrofobowe właściwości *Pseudomonas aeruginosa* związane są również z lipopolisacharydami (LPS). Wykazano, że szczepy *Pseudomonas aeruginosa* posiadające długie łańcuchy O-swoiste w cząsteczkach LPS charakteryzują się większą hydrofobowością i łatwiej przylegają do szkieł kontaktowych i komórek nabłonka rogówkowego niż ich szorstkie mutanty pozbawione łańcuchów O-swoistych (5).

Użyte do badań szczepy *Pseudomonas aeruginosa* wykazywały najczęściej niski stopień hydrofobowości. Jednak część szczepów *Pseudomonas aeruginosa*, głównie izolowanych od norek i ryb charakteryzowała się silnymi właściwościami hydrofobowymi.

Piśmiennictwo

1. *Bar-Ness R., Avrahamy N., Matsuyama T., Rosenberg M.*: Increased cell surface hydrophobicity of a Serratia marcescens NS 38 mutant lacking wetting activity. J. Bacteriol. 1988, 170, 4361-4364.
2. *Bruinsma G. M., van der Mei H. C., Busscher H. J.*: Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. Biomaterials 2001, 22, 3217--3224.
3. *Butrus S. J., Klotz S. A.*: Contact lens surface deposits increase the adhesion of Pseudomonas aeruginosa. Curr. Eye Res. 1990, 9, 717-724.
4. *Deptuła A., Mikucka A., Gospodarek E.*: Wpływ warunków hodowli na właściwości hydrofobowe wielolekoopornych szczepów Pseudomonas aeruginosa. Post. Mikrobiol. 2004, 43, Supl. 1, 164.
5. *Fletcher E. L., Fleiszig S. M. J., Brennan N. A.*: Lipopolysaccharide in adherence of Pseudomonas aeruginosa to the cornea and contact lenses. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1993, 34, 1930-1936.
6. *Gospodarek E.*: Adhezja Acinetobacter calcoaceticus do komórek nabłonka policzkowego. Med. Dośw. Mikrobiol. 1994, 46, 19-23.
7. *Hazlett L., Rudner X., Masinick S., Ireland M., Gupta S.*: In the immature mouse, Pseudomonas aeruginosa pili bind a 57-kd (alpha 2-6) sialylated corneal epithelial cell surface protein: a first step in infection. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1995, 36, 634-643.
8. *Izdebska-Szymona K., Łaziuk D.*: Comparision of some adhesive properties of Pseudomonas aeruginosa strains isolated from respiratory and urinary tract infections. Acta Microbiol. Polon. 1988, 37, 281-293.
9. *Jankowski S., Sarowska J., Żarczyńska H., Cisowska A.*: Hydrofobowe właściwości szczepów Pseudomonas aeruginosa. Med. Dośw. Mikrobiol. 1997, 49, 187-190.
10. *Kędzia W. B.*: Pałeczki Pseudomonas: właściwości, zakażenia, profilaktyka. Warszawa, PZWL 1982.
11. *Klotz S. A., Butrus S. I., Misra R. P., Osato M. S.*: The contribution of bacterial surface hydrophobicity to the process of adherence of Pseudomonas aeruginosa to hydrophilic lenses. Curr. Eye Res. 1989, 8, 195-202.
12. *Kraśnicki K., Gospodarek E.*: Adhezja pałeczek Acinetobacter sp. do para--ksylenu. Med. Dośw. Mikrobiol. 2004, 56, 179-185.
13. *Lindahl M., Faris A., Wadström T., Hjérten A. S.*: A new test based on „salting out" to measure relative surface hydrophobicity of bacterial cells. Biochim. Biophys. Acta 1981, 677, 471-476.
14. *van Loosdrecht M. C. M., Lyklema J., Norde W., Schraa G., Zehnder A. J. B.*: The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. Appl. Environ. Microbiol. 1987, 53, 1893-1897.
15. *Martinez-Martinez L., Pascual A., Perea J.*: Kinetics of adherence of mucoid and non-mucoid Pseudomonas aeruginosa to plastic catheters. J. Med. Microbiol. 1991, 34, 7-12.
16. *Mikucka A., Gospodarek E., Ulatowska B.*: Wpływ warunków hodowli na hydrofobowe właściwości pałeczek z rodzaju Serratia. Med. Dośw. Mikrobiol. 2000, 52, 9-15.
17. *Polito M., Minardi D., Montanari M. P., Varaldo P. E.*: Adherence of gram--negative uropathogens to human uroepithelial cells. Eur. Urol. 1987, 13, 74-78.
18. *Ramphal R., Pyle M.*: Evidence for mucins and sialic acid as receptors for Pseudomonas aeruginosa in the lower respiratory tract. Infect. Immun. 1983, 41, 339-344.
19. *Rosenberg M., Gutnick D., Rosenberg E.*: Adherence of bacteria to hydrocarbons: a simple method for measuring cell-surface hydrophobicity. FEMS Microbiol. Lett. 1980, 9, 29-33.
20. *Rosenberg M.*: Bacterial adherence to hydrocarbons: a useful technique for studying cell-surface hydrophobicity. FEMS Microbiol. Lett. 1984, 22, 289-295.
21. *Sato H., Okinaga K., Saito H.*: Role of pili in the pathogenesis of Pseudomonas aeruginosa burn infection. Microbiol. Immunol. 1988, 32, 131-139.
22. *Szymankiewicz, Sękowska A., Wojda M., Wróblewska J.*: Ocena właściwości hydrofobowych pałeczek Klebsiella. Post. Mikrobiol. 2004, 43, Supl. 1, 153.
23. *Trafny E. A.*: Powstawanie biofilmu Pseudomonas aeruginosa i jego znaczenie w patogenezie zakażeń przewlekłych. Post. Mikrobiol. 2000, 39, 55-71.
24. *Tylewska S., Ławrynowicz J., Hryniewicz W.*: Mechanizm i biologiczne znaczenie adhezji bakteryjnej. Post. Mikrobiol. 1985, 24, 3-27.
25. *Tylewska S., Hryniewicz W., Kostrzyńska M., Izdebska-Szymona K.*: Factors influencing the adhesive properties of Pseudomonas aeruginosa. Acta Microbiol. Pol. 1988, 37, 183-190.
26. *Wolska K., Pogorzelska S., Fijoł E., Jakubczak A., Bukowski K.*: Wpływ warunków hodowli na hydrofobowe właściwości pałeczek Pseudomonas aeruginosa. Med. Dośw. Mikrobiol. 2002, 54, 61-66.
27. *Wolska K., Sówka A., Bukowski K., Jakubczak A.*: Adherence of Pseudomonas aeruginosa to solid surfaces. Acta Microbiol. Pol. 2002, 50, 311-314.
28. *Wolska K., Kot B., Jakubczak A., Dręga A., Sołek J., Bukowski K.*: Zdolność adhezji do komórek nabłonkowych i powierzchni biomateriałów szczepów Pseudomonas aeruginosa. Medycyna Wet. 2003, 59, 436-439.
29. *Woods D. E., Bass J. E., Johanson W. G. Jr., Straus D. C.*: Role of adherence in the pathogenesis of Pseudomonas aeruginosa lung infection in cystic fibrosis patients. Infect. Immun. 1980, 30, 694-699.
30. *Woods D. E., Straus D. C., Johanson W. G. Jr., Berry V. K., Bass J. A.*: Role of pili in adherence of Pseudomonas aeruginosa to mammalian buccal epithelial cells. Infect. Immun. 1980, 29, 1146-1151.

Adres autora: dr Katarzyna Wolska, ul. Prusa 12, 08-110 Siedlce; e-mail: kwolska@siedlce.ap.pl