

Raport roczny
z realizacji zadania „Potwierdzenie prawidłowości określenia serotypów pałeczek
***Salmonella izolowanych od chorych w Polsce*”**
realizowanego w ramach NPZ w 2019 roku

W ramach działań prowadzonych w 2019 roku nawiązano współpracę z 14 Wojewódzkimi Stacjami Sanitarно-Epidemiologicznymi. W sumie do Zakładu Bakteriologii i Zwalczania Skażeń Biologicznych NIZP-PZH zostały przesłane 552 próbki. Wszystkie próbki dawały wzrost na podłożach mikrobiologicznych i zostały zakwalifikowane do badań. W przypadku 8 próbek stwierdzono obecność szczepu należącego do innego rodzaju niż *Salmonella*.

Wśród nadesłanych izolatów zdecydowaną większość stanowiły szczepy należące do serotypu Enteritidis (394 próbki, co stanowiło 71,4%). Ponadto istotny odsetek stanowiły szczepy należące do serotypów Typhimurium i Infantis.

Spośród współpracujących w ramach realizacji zadania 12 WSSE największą ilość próbek przesłały stacje oznaczone jako nr 2, nr 5 oraz nr 14 (odpowiednio 55, 51 oraz 49 próbek). Natomiast stacje nr 5, nr 7 i nr 11 przesłały najbardziej zróżnicowane izolaty (odpowiednio 11, 10 i 10 różnych serotypów).

Odmienne w przypadku WSSE oznaczonych jako nr 3 i nr 10 odsetek przesłanych szczepów *S. Enteritidis* stanowił odpowiednio 96,2% i 94,9%, co wskazuje na bardzo niski stopień zróżnicowania serotypów przesłanych do badania.

Kompletna lista serotypów wraz z liczbą przesłanych izolatów została zestawiona w tabeli 1.

Prowadzone w NIZP-PZH badania laboratoryjne wykazały, że w przypadku 21 próbek (3,8% wszystkich próbek) wynik identyfikacji w NIZP-PZH nie zgadzał się z wynikiem identyfikacji uzyskanym w WSSE. W przypadku 8 próbek rozbieżność dotyczyła przynależności przesłanego szczepu do rodzaju innego niż *Salmonella*. Przyczyną tego typu rozbieżności mogło być najprawdopodobniej zanieczyszczenie na

etapie przygotowania próbki celem jej przesłania do weryfikacji. W przypadku 3 próbek wyhodowano bakterie z rodzaju *Proteus*, a w przypadku jednej próbki wyhodowano pałeczki *Citrobacter*, co może sugerować błędy na etapie identyfikacji biochemicznej do poziomu gatunku, gdyż obydwie te bakterie wytwarzają siarkowodór, mogą wzrastać na stosowanych podłożach selekcyjnych wykazując fenotyp podobny do pałeczek *Salmonella* oraz wykazują zbliżone cechy biochemiczne.

Podobnie jak w poprzednim roku, wśród pozostałych rozbieżności największa ich liczba dotyczyła błędnej identyfikacji pałeczek *Salmonella* o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-. Relatywnie często szczepy takie były przesyłane jako „*Salmonella* z gr. B” co automatycznie było uznawane za błąd, gdyż wykazywało niepełną identyfikację szczepu do poziomu serotypu. W przypadku WSSE nr 4 oraz WSSE nr 13, szczepy takie były ostatecznie określone jako jednofazowe o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-. Natomiast w przypadku WSSE nr 2 jeden z tak opisanych izolatów okazał się szczepem jednofazowym, zaś drugi został określony jako *Salmonella* Typhimurium. W przypadku tych szczepów jednofazowych o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:- nie udało się uzyskać drugiej fazy mimo trzykrotnego hamowania ze stopniowo zwiększaną ilością surowicy Hi (każdy wynik rozbieżny uzyskany w czasie realizacji zadania był niezależnie weryfikowany przez drugą osobę). Dodatkowo, uzyskane wyniki potwierdzono z wykorzystaniem badania molekularnego (PCR). Badanie to pozwoliło również precyzyjniej określić badane izolaty jako jednofazowe szczepy *Salmonella* Typhimurium.

W przypadku czterech WSSE, o numerach 3, 6, 7 i 12 nie stwierdzono żadnych rozbieżności pomiędzy identyfikacją serotypu w laboratorium WSSE a Laboratorium Zakładu Bakteriologii i Zwalczania Skażeń Biologicznych NIZP-PZH. Na szczególne wyróżnienie zasługuje stacja oznaczona nr 7, w przypadku której potwierdzono serotyp wszystkich przesłanych izolatów (przesłane aż 42 izolaty, należące do 10 różnych serotypów).

W przypadku kolejnych czterech WSSE (o numerach 9, 10, 11, 14) odnotowano jedynie pojedynczą rozbieżność. Na szczególną uwagę zasługuje stacja oznaczona nr 11, która przesłała 40 próbek należących do aż 10 różnych serotypów, w tym 8 próbek określonych (a 7 z nich potwierdzonych w NIZP-PZH) jako szczepy jednofazowe o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-.

Kompletne zestawienie przesłanych szczepów oraz uzyskanych wyników, z rozróżnieniem na poszczególne WSSE przedstawiono w tabeli 2.

Szczegółowe zestawienie wykrytych rozbieżności oznaczeń wraz ze szczegółowym opisem zestawiono w tabeli 3.

Tabela 1. Zestawienie wszystkich izolatów przesłanych do NIZP-PZH w ramach realizacji zadania NPZ.

L. wszystkich próbek	552			
L. przyjętych próbek	552			
L. próbek dających wzrost	552			
L. szczepów Salmonella	544			
L. szczepów nie-Salmonella	8			
L. próbek bez wzrostu	0			
L. rozbieżności oznaczeń	21			
Odsetek błędów	3,8 %			
Serotypy:	przesłane	%	potwierdzone w PZH	określone w PZH
Enteritidis	394	71,4%	386	386
Typhimurium	49	8,9%	46	48
Infantis	28	5,1%	28	28
1,4,[5],12:i:-	12	2,2%	11	17
Hadar	9	1,6%	9	10
Agona	7	1,3%	7	7
Derby	5	0,9%	5	5
Kentucky	5	0,9%	4	4
Newport	5	0,9%	5	5
Schleissheim	4	0,7%	4	4
Virchow	3	0,5%	3	3
Abony	2	0,4%	2	2
Coeln	2	0,4%	2	2
Kottbus	2	0,4%	2	2
Oranienburg	2	0,4%	2	2
Thompson	2	0,4%	2	2
Mbandaka	1	0,2%	1	1
Indiana	1	0,2%	1	1
4,12:b:-	1	0,2%	0	0
Tennessee	1	0,2%	1	1
Aledaide	1	0,2%	1	1
Alamo	1	0,2%	0	0
Anatum	1	0,2%	1	1
Bardo	1	0,2%	1	1
Bareilly	1	0,2%	1	1
Napoli	1	0,2%	1	1
Ohio	1	0,2%	1	1
Poona	1	0,2%	1	1
Preston	1	0,2%	1	1
Senftenberg	1	0,2%	1	2
Typhi	1	0,2%	1	1
Brandenburg	0	0,0%	0	2
Wien	0	0,0%	0	1
gr. B	6	1,1%	0	0

Kolorem zielonym zaznaczono serotypy, dla których potwierdzono wszystkie przesłane izolaty. Kolorem czerwonym zaznaczono izolaty w przypadku których wystąpiły rozbieżności uzyskanych wyników.

Tabela 2. Zestawienie przesłanych i zweryfikowanych serotypów z podziałem na WSSE.

	WSSE-1		WSSE-2		WSSE-3		WSSE-4		WSSE-5		WSSE-6		WSSE-7		WSSE-8		WSSE-9		WSSE-10		WSSE-11		WSSE-12		WSSE-13		WSSE-14	
L. zleconych badań																												
L. przyjętych próbek	36		55		26		28		51		40		42		38		36		39		40		39		33		49	
L. próbek dających wzrost	36		55		26		28		51		40		42		38		36		39		40		39		33		49	
L. szczepów Salmonella	34		54		26		27		51		40		42		37		35		38		40		39		33		48	
L. szczepów nie-Salmonella	2		1		0		1		0		0		0		1		1		1		0		0		0		1	
L. agarków bez wzrostu	0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0		0	
L. rozbieżności oznaczeń	2		3		0		5		2		0		0		2		1		1		1		0		3		1	
Odsetek błędów	5,56%		5,45%		0,00%		17,86%		3,92%		0,00%		0,00%		5,26%		2,78%		2,56%		2,50%		0,00%		9,09%		2,04%	
Serotypy (przesłane/potwierdzone):	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone	przesłane	potwierdzone
Enteritidis	28	28	42	41	25	25	23	20	31	30	27	27	24	24	26	25	26	25	37	36	23	23	29	29	22	22	31	31
Typhimurium	5	4	5	5(6)					6	5	7	7	8	8	4	4	3	3			2	2(3)	3	3	2	2	4	3
Infantis	1	1	1	1	1	1			4	4	4	4	3	3	2	2	3	3			1	1	4	4	1	1	3	3
1,4,[5],12:i:-	1	1	0	0(1)			0	0(1)	2	2(3)			1	1							8	7			0	0(3)		
Hadar			3	3					1	1(2)			1	1													4	4
Agona									1	1	2	2	1	1	1	1									1	1	1	1
Derby							1	1							3	3					1	1						
Kentucky	1	0							1	1					1	1							1	1				
Newport									1	1																	4	4
Schleissheim													1	1									2	2	1	1		
Virchow															1	1	2	2										
Abony			1	1																	1	1						
Coeln									1	1			1	1														
Kottbus																									1	1	1	1
Oranienburg									2	2																		
Thompson									1	1											1	1						
Mbandaka																									1	1		
Indiana							1	1																				
4,12:b:-															1	0											1	1
Tennessee																												
Aledaide			1	1																								
Alamo							1	0																				
Anatum															1	1												
Bardo																					1	1						
Bareilly																					1	1						
Napoli													1	1											1	1		
Ohio													1	1														
Poona																					1	1						
Preston													1	1														
Senftenberg							1	1(2)																				
Typhi															1	1												
Brandenburg							0	0(2)																				
Wien															0	0(1)												
gr. B			2	0			1	0																	3	0		

Kolorem zielonym zaznaczono serotypy, dla których potwierdzono wszystkie przesłane izolaty. Kolorem czerwonym zaznaczono próbki w przypadku których wystąpiły rozbieżności uzyskanych wyników. W nawiasie podano całkowitą ilość określonych w NIZP-PZH szczepów z danego serotypu.

Tabela 3. Szczegółowe zestawienie uzyskanych rozbieżności w oznaczeniu serotypów.

Nr szczepu	Identyfikacja WSSE	Identyfikacja NIZP-PZH
	Prawdopodobna przyczyna rozbieżności wyników	
NPZ 26/19	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> , szczep jednofazowy 4,12:b:-	S. Wien
	Szczep prawidłowo zakwalifikowany do grupy somatycznej O:4 oraz prawidłowo określono pierwszą fazę rzęskową H:b. W NIZP-PZH uzyskano jednak drugą fazę rzęskową H:l,w co pozwoliło zakwalifikować szczep do serotypu Wien. Przyczyną rozbieżności mogło być niewłaściwie przeprowadzone hamowanie 1 fazy rzęskowej lub niepełna identyfikacja rzęsek 2 fazy pomijająca aglutynację z surowicą H:l,w.	
NPZ 142/19	<i>Salmonella</i> z gr. B	<i>Salmonella</i> Typhimurium, szczep jednofazowy 1,4,[5],12:i:-
	Szczep niedokładnie określony przez WSSE, gdyż poprawnie określono jedynie przynależność do grupy somatycznej O:4 (grupa B). Dokładniejsze badania przeprowadzone w NIZP-PZH pozwoliły na określenie szczepu jako jednofazowego o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-. Badanie molekularne (PCR) pozwoliło określić badany szczep jako jednofazowy szczep <i>Salmonella</i> Typhimurium.	
NPZ 164/19	S. Typhimurium	<i>Proteus</i> sp.
	Szczep zanieczyszczony bądź niewłaściwie zidentyfikowany biochemicznie. Bakterie z rodzaju <i>Proteus</i> potrafią wzrastać na podłożach selektywnych stosowanych w diagnostyce <i>Salmonella</i> . Co więcej wykazują szereg podobnych cech biochemicznych takich jak np. wytwarzanie siarkowodoru, co upodabnia je fenotypowo na tychże podłożach do pałeczek <i>Salmonella</i> . W jednym transporcie z tej stacji aż dwa szczepy zostały zakwalifikowane jako <i>Proteus</i> sp. Może to świadczyć o kontaminacji laboratorium tymi bakteriami lub nieprawidłowo prowadzonej diagnostyce biochemicznej.	
NPZ 172/19	S. Kentucky	<i>Proteus</i> sp.
	Szczep zanieczyszczony bądź niewłaściwie zidentyfikowany biochemicznie. Bakterie z rodzaju <i>Proteus</i> potrafią wzrastać na podłożach selektywnych stosowanych w diagnostyce <i>Salmonella</i> . Co więcej wykazują szereg podobnych cech biochemicznych takich jak np. wytwarzanie siarkowodoru, co upodabnia je fenotypowo na tychże podłożach do pałeczek <i>Salmonella</i> . W jednym transporcie z tej stacji aż dwa szczepy zostały zakwalifikowane jako <i>Proteus</i> sp. Może to świadczyć o kontaminacji laboratorium tymi bakteriami lub nieprawidłowo prowadzonej diagnostyce biochemicznej.	
NPZ 173/19	S. Alamo	S. Brandenburg
	<i>Salmonella</i> Alamo należy do grupy somatycznej O:7 i posiada antygeny rzęskowe H: g,z51 (1 faza) oraz H:1,5 (2 faza). Jednakże w NIZP-PZH przesłany szczep został określony jako S. Brandenburg, który to serotyp należy do grupy somatycznej O:4 i posiada antygeny rzęskowe H:l,v (1 faza) i H:e,n,z15 (2 faza). Przyczyną rozbieżności w identyfikacji mogło być przesłanie niewłaściwego izolatu albo kontaminacja laboratorium i w efekcie również przesłanych próbek, gdyż aż 3 próbki z tego transportu z tego laboratorium zostały określone w NIZP-PZH jako S. Brandenburg.	

NPZ 177/19	S. Enteritidis	S. Brandenburg
	<p><i>Salmonella</i> Enteritidis należy do grupy somatycznej O:9 i posiada antygeny rzęskowe H: g,m (1 faza) bez rzęsek 2 fazy. Jednakże w NIZP-PZH przesłany szczep został określony jako S. Brandenburg, który to serotyp należy do grupy somatycznej O:4 i posiada antygeny rzęskowe H:l,v (1 faza) i H:e,n,z15 (2 faza).</p> <p>Przyczyną rozbieżności w identyfikacji mogło być przesłanie niewłaściwego izolatu albo kontaminacja laboratorium i w efekcie również przesłanych próbek, gdyż aż 3 próbki z tego transportu z tego laboratorium zostały określone w NIZP-PZH jako S. Brandenburg.</p>	
NPZ 178/19	S. Enteritidis	S. Brandenburg
	<p><i>Salmonella</i> Enteritidis należy do grupy somatycznej O:9 i posiada antygeny rzęskowe H: g,m (1 faza) bez rzęsek 2 fazy. Jednakże w NIZP-PZH przesłany szczep został określony jako S. Brandenburg, który to serotyp należy do grupy somatycznej O:4 i posiada antygeny rzęskowe H:l,v (1 faza) i H:e,n,z15 (2 faza).</p> <p>Przyczyną rozbieżności w identyfikacji mogło być przesłanie niewłaściwego izolatu albo kontaminacja laboratorium i w efekcie również przesłanych próbek, gdyż aż 3 próbki z tego transportu z tego laboratorium zostały określone w NIZP-PZH jako S. Brandenburg.</p>	
NPZ 230/19	S. Enteritidis	S. Hadar
	<p><i>Salmonella</i> Enteritidis należy do grupy somatycznej O:9 i posiada antygeny rzęskowe H: g,m (1 faza) bez rzęsek 2 fazy. Jednakże w NIZP-PZH przesłany szczep został określony jako S. Hadar, który to serotyp należy do grupy somatycznej O:8 i posiada antygeny rzęskowe H:z10 (1 faza) i H:e,n,x (2 faza).</p> <p>Przyczyną rozbieżności w identyfikacji mogło być przesłanie niewłaściwego izolatu, co jest tym bardziej prawdopodobne, iż w tym samym transporcie z tego laboratorium przesłano również szczep serotypu Hadar.</p>	
NPZ 268/19	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ; szczep jednofazowy 1,4,[5],12:i:-	S. Typhimurium
	<p>Szczep przesłany jako jednofazowy o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-. Tymczasem w laboratorium NIZP-PZH udało się skutecznie zahamować 1 fazę rzęskową i uzyskać aglutynację z surowicą H:2 (2 faza), co pozwoliło zakwalifikować szczep do serotypu Typhimurium.</p> <p>Przyczyną rozbieżności była najprawdopodobniej nieskuteczna procedura konwersji faz. Badanie molekularne (PCR) pozwoliło określić badany szczep jako <i>Salmonella</i> Typhimurium.</p>	
NPZ 307/19	<i>Salmonella</i> z gr. B	<i>Salmonella</i> Typhimurium, szczep jednofazowy 1,4,[5],12:i:-
	<p>Szczep niedokładnie określony przez WSSE, gdyż poprawnie określono jedynie przynależność do grupy somatycznej O:4 (grupa B). Dokładniejsze badania przeprowadzone w NIZP-PZH pozwoliły na określenie szczepu jako jednofazowego o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-.</p> <p>Badanie molekularne (PCR) pozwoliło określić badany szczep jako jednofazowy szczep <i>Salmonella</i> Typhimurium.</p>	
NPZ 310/19	<i>Salmonella</i> z gr. B	<i>Salmonella</i> Typhimurium, szczep jednofazowy 1,4,[5],12:i:-
	<p>Szczep niedokładnie określony przez WSSE, gdyż poprawnie określono jedynie przynależność do grupy somatycznej O:4 (grupa B). Dokładniejsze badania przeprowadzone w NIZP-PZH pozwoliły na określenie szczepu jako jednofazowego o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-.</p> <p>Badanie molekularne (PCR) pozwoliło określić badany szczep jako jednofazowy szczep <i>Salmonella</i> Typhimurium.</p>	

NPZ 342/19	S. Enteritidis	Citrobacter sp.
	Szczep zanieczyszczony bądź niewłaściwie zidentyfikowany biochemicznie. Bakterie z rodzaju <i>Citrobacter sp.</i> potrafią wzrastać na podłożach selektywnych stosowanych w diagnostyce <i>Salmonella</i> . Co więcej wykazują szereg podobnych cech biochemicznych takich jak np. wytwarzanie siarkowodoru, co upodabnia je fenotypowo na tychże podłożach do pałeczek <i>Salmonella</i> .	
NPZ 367/19	S. Typhimurium	Nie wyhodowano pałeczek z rodzaju <i>Salmonella</i>
	Szczep zanieczyszczony. Nie uzyskano wzrostu pałeczek z rodzaju <i>Salmonella</i> na stosowanych podłożach hodowlanych mimo kilkukrotnych prób posiewania z próbki wyjściowej na różne podłoża.	
NPZ 415/19	S. Enteritidis	Nie wyhodowano pałeczek z rodzaju <i>Salmonella</i>
	Szczep zanieczyszczony. Nie uzyskano wzrostu pałeczek z rodzaju <i>Salmonella</i> na stosowanych podłożach hodowlanych mimo kilkukrotnych prób posiewania z próbki wyjściowej na różne podłoża.	
NPZ 416/19	<i>Salmonella</i> z gr. B	S. Typhimurium
	Szczep niedokładnie określony przez WSSE, gdyż poprawnie określono jedynie przynależność do grupy somatycznej O:4 (grupa B). Dokładniejsze badania przeprowadzone w NIZP-PZH pozwoliły na określenie szczepu jako przynależącej do serotypu Typhimurium.	
NPZ 421/19	<i>Salmonella</i> z gr. B	<i>Salmonella</i> Typhimurium, szczep jednofazowy 1,4,[5],12:i:-
	Szczep niedokładnie określony przez WSSE, gdyż poprawnie określono jedynie przynależność do grupy somatycznej O:4 (grupa B). Dokładniejsze badania przeprowadzone w NIZP-PZH pozwoliły na określenie szczepu jako jednofazowego o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-. Badanie molekularne (PCR) pozwoliło określić badany szczep jako jednofazowy szczep <i>Salmonella</i> Typhimurium.	
NPZ 464/19	S. Enteritidis	Nie wyhodowano pałeczek z rodzaju <i>Salmonella</i>
	Szczep zanieczyszczony. Nie uzyskano wzrostu pałeczek z rodzaju <i>Salmonella</i> na stosowanych podłożach hodowlanych mimo kilkukrotnych prób posiewania z próbki wyjściowej na różne podłoża.	
NPZ 494/19	S. Enteritidis	<i>Proteus sp.</i>
	Szczep zanieczyszczony bądź niewłaściwie zidentyfikowany biochemicznie. Bakterie z rodzaju <i>Proteus</i> potrafią wzrastać na podłożach selektywnych stosowanych w diagnostyce <i>Salmonella</i> . Co więcej wykazują szereg podobnych cech biochemicznych takich jak np. wytwarzanie siarkowodoru, co upodabnia je fenotypowo na tychże podłożach do pałeczek <i>Salmonella</i> .	
NPZ 539/19	S. Typhimurium	<i>Salmonella</i> Typhimurium, szczep jednofazowy 1,4,[5],12:i:-
	Szczep określony w WSSE jako S. Typhimurium. Jednakże w NIZP-PZH, mimo kilkukrotnego hamowania ze stopniowo zwiększającą ilością surowicy, nie udało się uzyskać drugiej fazy (H2), co pozwoliło na określenie szczepu jako jednofazowego o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-. Badanie molekularne (PCR) pozwoliło określić badany szczep jako jednofazowy szczep <i>Salmonella</i> Typhimurium.	

NPZ 541/19	S. Enteritidis	Nie wyhodowano pałeczek z rodzaju <i>Salmonella</i>
	Szczep zanieczyszczony. Nie uzyskano wzrostu pałeczek z rodzaju <i>Salmonella</i> na stosowanych podłożach hodowlanych mimo kilkakrotnych prób posiewania z próbki wyjściowej na różne podłoża.	
NPZ 553/19	<i>Salmonella</i> z gr. B	<i>Salmonella</i> Typhimurium, szczep jednofazowy 1,4,[5],12:i:-
	Szczep niedokładnie określony przez WSSE, gdyż poprawnie określono jedynie przynależność do grupy somatycznej O:4 (grupa B). Dokładniejsze badania przeprowadzone w NIZP-PZH pozwoliły na określenie szczepu jako jednofazowego o wzorze antygenowym 1,4,[5],12:i:-. Badanie molekularne (PCR) pozwoliło określić badany szczep jako jednofazowy szczep <i>Salmonella</i> Typhimurium.	

Opracował:

Sprawdził:

Zatwierdził:

.....

dr n. med. Tomasz Wołkowicz

.....

dr n. med. Katarzyna Piekarska

.....

dr hab. n. med. Rafał Gierczyński,
prof. NIZP-PZH