

IMPLIKACJE KLINICZNE ZWIĄZANE Z OBECNOŚCIĄ BAKTERII REDUKUJĄCYCH SIARCZANY (BRS) W ORGANIZMIE CZŁOWIEKA I ZWIERZĄT ORAZ ICH WPŁYW NA ŚRODOWISKO NATURALNE

Joanna Szczerba*, Zofia Dzierżewicz

Katedra i Zakład Biofarmacji, Śląski Uniwersytet Medyczny
ul. Narceyzów 1, 41-200 Sosnowiec

Wpłynęło w czerwcu 2007 r.

1. Wprowadzenie. 2. Zróżnicowanie bakterii redukujących siarczany (BRS) jako wynik adaptacji do zajmowanych siedlisk. 3. Rola BRS w złożonym ekosystemie jelita grubego. 4. Implikacje wpływające z bytności BRS w jamie ustnej człowieka. 5. Charakterystyka rodzaju *Desulfovibrio* najlepiej poznanego w obrębie BRS, a zarazem dominującego wśród izolatów pochodzenia ludzkiego. 6. Spór o potencjał patogenny gatunków rodzaju *Desulfovibrio*. 7. Znaczenie bakterii redukujących siarczany w ekosystemach środowisk naturalnych. 8. Podsumowanie

Clinical implications associated with the occurrence of the sulfate reducing bacteria (SRB) in the human and animal body and their influence on the environment

Abstract: The human and animal intestinal tract harbours the largest and most heterogeneous microbial ecosystem associated with the host body. Although this microbiota has been studied in great detail by conventional culture techniques, it is now recognized that our knowledge of the gut microflora is far from complete due to the limitations of culture-based techniques. The application of molecular methodologies to the analysis of intestinal flora should enable the development of a detailed knowledge of the ecology and physiology of the colon ecosystem.

Microbiota of the intestinal tract consists of several hundred different types of bacteria. Sulfate-reducing bacteria (SRB) are commonly found in the large bowel as well as in the humane oral cavity. Some findings suggest that SRB have been implicated in inflammatory bowel disease periodontitis and halitosis. *Desulfovibrios* are the major SRB occurring within humane isolates and usually belong to *D. fairfieldensis*, *D. desulfuricans* and *D. piger* species.

Bacteria of *Desulfovibrio* genus are spiral, motile, non-spore forming Gram-negative rods and the cells of these microorganisms contain desulfovibridin. They share the ability to dissimilate sulfur reducing compounds and generate hydrogen sulfide (H_2S). This gas is considered as cytotoxic and can be involved in the local tissue-damaging mechanism.

SRB are also environmentally important microorganisms commonly found in anaerobic regions of soils, mud as well as marine, and estuarine sediments. Their metabolite, sulfide, is directly toxic to a large range of bacteria and higher organisms in these habitats. Moreover, the extremely corrosive nature of H_2S can cause great economic problems, especially in the oil industry.

1. Introduction 2. The variability of sulfate reducing bacteria (SRB) as a result of adaptation to the occupied habitats. 3. The role of SRB in the complex colon ecosystem. 4. Implications resulting from the occurrence of SRB in the human oral cavity. 5. The profile of *Desulfovibrio* the best known genus among SRB and the predominant one in the human isolates. 6. Dispute about pathogenic potential of the species of *Desulfovibrio* genus. 7. The significance of sulfate reducing bacteria in natural ecosystems. 8. Summary

Słowa kluczowe: bakterie redukujące siarczany (BRS), ekosystem jelita grubego, flora fizjologiczna, *Desulfovibrio*, siarkowodór
Key words: sulfate reducing bacteria (SRB), colon ecosystem, physiological flora, *Desulfovibrio*, hydrogen sulfide

1. Wprowadzenie

Życie człowieka jest ściśle sprzężone z mikroorganizmami wchodzącymi w skład jego flory fizjologicznej. Już w 1977 roku Savage ustalił, że organizm zdrowego człowieka jest zasiedlany przez około 10^{14} różnych komórek bakteryjnych, z czego 90% to mikroorganizmy bytujące w jelicie grubym. Flora fizjologiczna odgrywa istotną rolę w utrzymaniu optymalnej kondycji organizmu gospodarza poprzez stymulację jego układu odpornościowego, syntezę witamin,

udział w trawieniu pokarmu oraz ochronę przed zakażeniami mikroorganizmami chorobotwórczymi.

Najczęściej badaną i najistotniejszą dla prawidłowego funkcjonowania organizmu jest flora przewodu pokarmowego, a szczególnie okrężnicy. Stanowi ona niezwykle złożony ekosystem, w którym wzajemne oddziaływania mikroorganizmów, a także relacje drobnoustroje – gospodarz są liczne, złożone i nie do końca poznane.

Bakterie redukujące siarczany (BRS) stanowią prawdopodobnie integralny składnik flory fizjologicznej

* Autor korespondencyjny: Katedra i Zakład Biofarmacji, Śląski Uniwersytet Medyczny; ul. Narceyzów 1, 41-200 Sosnowiec; e-mail: joszczerba@poczta.onet.pl

jelita grubego, a stosunkowo niedawno w literaturze pojawiły się doniesienia o ich obecności w jamie ustnej [8, 49, 54, 87, 94].

BRS przez wiele lat traktowano jako mikroorganizmy środowiskowe, bytujące w wodach oraz beztlenowych obszarach gleb i mułów [71]. Przez długi okres czasu niedostrzegane były jako potencjalny składnik ludzkiej mikroflory przewodu pokarmowego. Wyodrębnienie tych mikroorganizmów z bogatego gatunkowo konsorcjum bakterii jelitowych i uzyskanie z nich czystych kultur często było zakończone niepowodzeniem. Okazało się, bowiem, iż izolacja poszczególnych gatunków BRS wymaga nietypowych selekcyjnych podłoży wzrostowych (bogatych w składniki występujące w jelicie grubym), atmosfery beztlenowej oraz wydłużonego czasu inkubacji. Nie przestrzeganie tych warunków było powodem braku powodzenia izolacji BRS z materiału biologicznego pochodzącego z jelita grubego [56, 90].

Pomimo doniesień pod koniec lat osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych XX wieku o obecności BRS w jelicie grubym oraz jamie ustnej ich rola w tych siedliskach nie była jednoznacznie określona [36, 38, 54, 94]. Nie było też wiadomo czy BRS są integralnym składnikiem mikroflory fizjologicznej, czy tylko występują u pewnych osób z bliżej nieokreślonych powodów. Dopiero publikacje, które zwróciły uwagę na możliwość udziału tych mikroorganizmów we wrzodzącym zapaleniu jelita grubego zainspirowały badania nad konsekwencjami bytowania tych drobnoustrojów w organizmie człowieka oraz zwierząt.

2. Zróżnicowanie bakterii redukujących siarczany (BRS) jako wynik adaptacji do zajmowanych siedlisk

BRS należą do zróżnicowanej pod względem morfologii, aktywności metabolicznej oraz wymagań odżywczych grupy beztlenowych mikroorganizmów charakteryzujących się zdolnością przeprowadzania procesu dysymilacyjnej redukcji utlenionych związków siarki. W skład tej rozległej grupy wchodzi wiele rodzajów, a w skład poszczególnych rodzajów liczne gatunki. Głównymi rodzajami BRS są *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfobacter*, *Desulfomonas*, *Desulfobulbus*, *Desulfococcus*, *Desulfonema* i *Desulfosarcina*.

Duże zróżnicowanie BRS wynika najprawdopodobniej z charakteru i różnorodności zasiedlanych nisz, a powszechnie wiadomo, iż morfologia oraz metabolizm są determinowane przez konieczność przystosowania się do warunków panujących w zajmowanych siedliskach. Izoluje się je z tak diametralnie odmiennych środowisk jak jelito grube człowieka oraz innych ssaków, charakteryzujących się względną stałością warunków biotycz-

nych i abiotycznych oraz z gleb i wód naturalnych środowisk zróżnicowanych w czasie i przestrzeni.

Jeśli chodzi o środowisko naturalne, dogodnymi miejscami wzrostu BRS są osady przy ujściach rzek [9], beztlenowe obszary gleb, błot oraz osady przybrzeżne i morskie [42, 67, 91]. Mikroorganizmy te występują również w wodach rzecznych oraz morskich, a także mułach ściekowych, bagnach i moczarach [62, 71]. Thevenieau i wsp. [86] wyosobnili termofilny szczep z rodzaju *Desulfomicrobium* z gorącego źródła znajdującego się na wysokości 2500 metrów w Andach, a Tardy-Jacquenod i wsp. [84] wyizolowali dwa szczepy *Desulfovibrio* bytujące w rurociągu naftowym.

Z kolei Beerens i Ramond [6], Gibson i wsp. [36], oraz Dzierżewicz i wsp. [27] izolowali bakterie *Desulfovibrio desulfuricans* z kału ludzkiego i próbek biopsyjnych jelita grubego. Fox i wsp. [35] pozyskali kilka gatunków bakterii rodzaju *Desulfovibrio* z przewodu pokarmowego chomików oraz frettek, a także od osobników cierpiących na schorzenia jelita grubego ujawniające się wzmożoną proliferacją komórek nabłonkowych. Deplancke i wsp. [19] stwierdzili obecność BRS w przewodzie pokarmowym myszy, Innes i wsp. [46] w jelicie grubym kotów, natomiast Droge i wsp. [24] w jelicie chrząszczy należących do gatunku *Pachnoda marginata*. Shukla i Reed [79] wyizolowali z krwi psa szczep *Desulfovibrio desulfuricans* odpowiedzialny za spowodowanie bakteremii. Natomiast Viehman i wsp. [89] izolowali bakterie należące do rodzaju *Desulfovibrio* ze złożonej populacji mikroorganizmów występujących na powierzchni koralowców raf u wybrzeży Dominiki oraz Florydy.

Willis i wsp. [94] stwierdzili u większości testowanych ochotników (82%) obecność BRS w jamie ustnej, przy czym wszystkie izolowane mikroorganizmy należały do rodzaju *Desulfovibrio*. O obecności BRS w jamie ustnej donoszą także Van der Hoeven i wsp. [87], Boopathy i wsp. [8], Legendijk i wsp. [49], Loubinoux i wsp. [54].

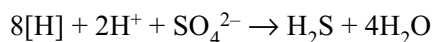
Bakterie rodzaju *Desulfovibrio* izolowano również z nietypowych jak dla nich miejsc występowania i wzrostu, takich jak: drogi żółciowe pacjenta, u którego wystąpiła posocznica [70], ropnie jamy brzusznej [90], wątroba [85], mózg [57] oraz wyrostek robaczkowy pacjenta z przewlekłym jego stanem zapalnym [4]. W 1999 odnotowano przypadek infekcji dróg moczowych spowodowanych obecnością *Desulfovibrio fairfieldensis* [48]. Loubinoux i wsp. [53] opisali przypadek bakteremii wywołanej szczepem należącym do rodzaju *Desulfovibrio*, również Goldstein i wsp. [39] stwierdzili, iż bakteremia u 64 letniego mężczyzny spowodowana była obecnością bakterii *Desulfovibrio desulfuricans*. Warren i wsp. [90] rów-

niez izolowali mikroorganizmy rodzaju *Desulfovibrio* z krwi ludzkiej. Natomiast Langendijk i wsp. [49] udokumentowali występowanie BRS w okolicach przydziąsłowych u pacjentów z zaawansowaną parodontozą.

Uważa się, że tak szeroki zakres występowania BRS jest związany z różnorodnością związków organicznych mogących stanowić dla tych mikroorganizmów źródło węgla. BRS są zdolne do utleniania związków takich jak mleczan, pirogronian, jabłczan, octan, etanol, fumaran czy bursztynian. Dodanie tych związków do pożywek powoduje stosunkowo szybki wzrost BRS, kolonie wyhodowane na takich podłożach widoczne są już po dwóch, trzech dniach [95]. Pożywki zawierające propionian, maślan, walerian, kapronian, malonian, alaninę, asparaginę, glutaminian, glicynę, fenyloalaninę, metioninę, metanol pozwalały również na wzrost BRS, przy czym wzrost ten był wolniejszy i wymagał ich siedmiodniowej inkubacji. Nie obserwowano natomiast wzrostu BRS na pożywkach z dodatkiem glukozy, fruktozy, galaktozy, skrobi, fenolu, benzenu, p-krezolu, indolu, nawet w przypadku czteronastodniowej inkubacji [95].

Jako ostateczne akceptory elektronów i wodoru w oddychaniu beztlenowym BRS wykorzystują jony siarczanowe (IV, VI), wykazują jednak również zdolność do wzrostu w obecności azotanów (III) i (V). Redukcja azotanów jest katalizowana przez reduktazę azotanową, a proces ten przebiega z wytworzeniem amoniaku [8, 25, 78].

Jony siarczanowe (VI) przed procesem redukcji ulegają aktywacji, a czynną postacią siarczanu jest adenozyno-5'-fosfosiarczan (APS). APS jest przekształcany do siarczanu (IV) przy udziale APS reduktaz. Do najbardziej rozpowszechnionych APS reduktaz, występujących w obrębie BRS należą reduktaza wodorosiarczanowa (VI), desulfowirydyna, desulfurubidyna, desulfofuscyna. Końcowym produktem metabolizmu BRS jest siarkowódor wydzielany do środowiska wzrostu:



Siarkowódor jest związkiem wysoce toksycznym dla organizmów żywych, a w środowisku wodnym z jonami metali ciężkich tworzy trudno rozpuszczalne siarczki. Opisany proces redukcji siarczanów nazywany jest oddychaniem siarczanowym lub dysymilacyjną redukcją siarczanów.

3. Rola BRS w złożonym ekosystemie jelita grubego

Poszczególne odcinki przewodu pokarmowego różnią się znacznie zarówno składem gatunkowym jak i ilością zasiedlających je mikroorganizmów. Szacunkowa liczba bakterii wynosi od 10^3 cfu/cm³ w żołądku

do 10^{11} – 10^{12} w okrężnicy, w której dominują bakterie beztlenowe, a ich liczba w stosunku do bakterii tlenowych wynosi 1000:1 [41, 43]. Skład mikroflory w kolejnych odcinkach przewodu pokarmowego regulują fizyczne i chemiczne właściwości jak np. pH, potencjał redox, obecność lub brak tlenu, stężenie kwasów żółciowych, ilość enzymów, soki trawienne oraz perystaltyka jelit. Parametry te są zdeterminowane przez uwarunkowania środowiskowe takie jak: klimat, region zamieszkania, nawyki kulturowe, dieta, przyjmowane leki oraz czynniki zależne od makroorganizmu: wiek, płeć, choroby, przeżywane stresy. Ponadto oddziaływania pomiędzy samymi drobnoustrojami jak np. antagonizm, synergizm, współzawodnictwo o substrat oraz miejsce kolonizacji także wpływają znacząco na skład gatunkowy mikroflory.

Flora fizjologiczna jelita grubego składa się z kilku setek różnych gatunków, podgatunków oraz biotypów mikroorganizmów. Wśród autorów publikacji nie ma zgodności, co do liczby gatunków bytujących w okrężnicy. Guarnier i Malagelada [41] podają, że jest ich od 300 do 500. Z kolei Hart i wsp. [43] twierdzą, iż liczba ta wynosi 400–500. Jednak są i tacy, którzy utrzymują, iż w jelicie grubym jest aż 1000 różnych gatunków [44].

Niektóre gatunki występują częściej niż inne, szacuje się, że około czterdzieści stanowi 99% wszystkich bakterii bytujących w okrężnicy. Najliczniejszą grupę stanowi rodzaj *Bacterioides* (30% wszystkich izolatów), do którego są zaliczane Gram-ujemne, beztlenowe pałeczki. Inne obecne w dużej liczbie bakterie jelita grubego to Gram-dodatnie pałeczki oraz ziarniaki, głównie *Bifidobacteria* (25% bakterii obecnych w kale). Pozostałe rodzaje mikroorganizmów należących do najczęściej spotykanych w jelicie grubym to: *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Eubacterium*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Ruminococcus*, *Streptococcus*, *Desulfovibrio* oraz pałeczki *Lactobacillus* zaliczane do grupy bakterii kwasu mlekowego [41, 72].

Tak duża różnorodność i liczebność gatunków mikroflory jelita grubego jest efektem znacznych ilości związków organicznych stanowiących dla bakterii źródło węgla, takich jak: skrobia, polisacharydy wchodzące w skład ścian komórek roślinnych, mukopolisacharydy, oligosacharydy, białka i peptydy, które nie zostały strawione w jelicie cienkim [41].

Wiedza o składzie oraz funkcjonowaniu flory jelitowej nadal jest niekompletna z powodu ograniczeń, z jakimi stykają się badacze zajmujący się tym zagadnieniem. Metody identyfikacji mikroorganizmów bytujących w okrężnicy są utrudnione ze względu na złożoność mikroflory oraz niedostępność poszczególnych odcinków jelita grubego. Nadzieją na uzupełnienie tej wiedzy są metody molekularne, które zrewolucjonizowały współczesną biologię.

Jak trudno jest badać mikroflorę przewodu pokarmowego świadczy również fakt, iż przez wiele lat nie było wiadomym czy obecność BRS w jelicie grubym jest powszechna, czy raczej sporadyczna i dotycząca tylko niektórych osobników? Jako jedni z pierwszych problemem zainteresowali się *Beere*ns i *Romond* [6], którzy pod wpływem doniesień o obecności BRS w przewodzie pokarmowym przeżuwaczy postanowili przebadać próbki kału pod kątem obecności BRS. W pobranych próbkach zanotowali znaczną liczbę BRS, które zidentyfikowali jako szczepy *Desulfovibrio desulfuricans* obecne w ilościach od 10^5 do 10^7 cfu/g masy kałowej. Również *Gibson* i wsp. [36] podjęli się próby oszacowania liczby tych bakterii w próbkach kału dwóch różnych populacji ludzkich. Okazało się, iż u 70% badanych w populacji Wielkiej Brytanii odnotowano znaczącą liczbę BRS, natomiast tylko w 15% próbkach pochodzących od ludności czarnej z Południowej Afryki. U osobników, u których stwierdzono obecność BRS oszacowano ich liczbę w zakresie od 10^5 do 10^{10} CFU na gram suchej masy kałowej. BRS zidentyfikowane w dwóch różnych populacjach przez *Gibsona* i wsp. [36] należały przede wszystkim do rodzaju *Desulfovibrio*, ale również *Desulfomonas*, *Desulfobacter*, *Desulfobulbus* oraz *Desulfotomaculum*. Późniejsze publikacje [27, 33, 37] potwierdziły powszechne występowanie BRS w jelicie grubym człowieka. BRS, a zwłaszcza rodzaj *Desulfovibrio* wyizolowano także z jelita grubego wielu zwierząt: termitów [10] chomików, frettek [35], myszy [19] kotów [46] chrząszczy [24].

Jelito grube jest dogodnym środowiskiem bytowania BRS, ponieważ panują tam warunki beztlenowe oraz są obecne substancje organiczne i związki mineralne wykorzystywane przez te mikroorganizmy do zabezpieczenia swoich komórkowych wymagań energetycznych. Także wzrost BRS w okrężnicy nie może być ograniczony przez substrat, gdyż substancje wykorzystywane jako źródło węgla przez te drobnoustroje są wytwarzane w środowisku jelita grubego w dostatecznych stężeniach przy udziale różnych gatunków fizjologicznej flory jelitowej [95]. Również dieta współczesnego człowieka bogata jest w utlenione związki siarki, które BRS mogą redukować przekazując na nie elektrony w procesie oddychania beztlenowego, jako, że ditlenek siarki, siarczany (IV) i (VI), pirosiarczany są szeroko stosowane do konserwowania żywności [15]. Ponadto BRS mogą wykorzystywać siarczany endogenne pochodzenia, których źródłem może być sulfomucyna, siarczan chondroityny [19]. BRS nie są zdolne do metabolizowania mucyny, do jej przemian zdolne są bakterie należące do rodzaju *Bacterioides*, które wykorzystują sulfomucynę jako źródło węgla i w wyniku jej metabolizmu uwalniają do środowiska siarczany oraz krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe, które są substratami dla BRS [36].

Gibson i wsp. [38] wskazali na rodzaj *Desulfovibrio*, jako dominujący wśród BRS w jelicie grubym. Według autorów stanowi on około 66% BRS u osób zdrowych i około 92% u osób z wrzodziejącym zapaleniem okrężnicy. *Fite* i wsp. [33] na podstawie wysoce specyficznych sekwencji w obrębie genu 16S rRNA metodą RT-PCR ostatecznie dowiódł, iż rodzaj *Desulfovibrio* jest powszechny w okrężnicy człowieka, niezależnie od wieku. Z kolei *Steward* i wsp. [82] oszacowali na podstawie ekspresji fragmentu genu APS reduktazy, charakterystycznego dla BRS, iż bakterie te częściej i w większej liczbie występują u osobników dorosłych (58% badanych) niż u dzieci (15% badanych). Natomiast *Hopkins* i wsp. [45] z wykorzystaniem technik RT-PCR oraz hybrydyzacji badali liczebność populacji bakteryjnych u noworodków. Stwierdzili, iż w dwóch grupach badanych dzieci, od siódmego do dwunastego miesiąca życia oraz od trzynastego do dwudziestego miesiąca życia, liczebność bakterii rodzaju *Desulfovibrio* wzrosła znacząco w porównaniu z noworodkami do szóstego miesiąca życia. Ponadto autorzy zaobserwowali, że u dzieci karmiony mlekiem komercyjnie dostępnym liczba tych bakterii była wyższa w porównaniu z dziećmi karmionymi piersią.

Wyniki badań *Gibsona* i wsp. [38] ukierunkowały dalsze badania nad udziałem BRS w chorobie Crohna i wrzodziejącym zapaleniu jelita grubego. Od tego czasu ukazało się wiele publikacji dotyczących tego zagadnienia [30, 38, 55, 69], jednak nadal jest trudno jednoznacznie orzec o konsekwencjach klinicznych związanych z aktywnością metaboliczną tych bakterii w jelicie grubym, a wyniki badań są niejednoznaczne. *Loubinoux* i wsp. [55] sugerują związek pomiędzy aktywnością gatunku *Desulfovibrio piger*, a wrzodziejącym zapaleniem okrężnicy. Ponadto autorzy ci podają, iż gatunki *D. piger* oraz *D. fairfieldensis* są charakterystyczne dla mikroflory jelita grubego człowieka i naturalnie w nim bytujące.

Nadal jednak nie wiadomo czy BRS są bezpośrednią przyczyną schorzeń jelita grubego, czy przyczyniają się do ich chronicznego przebiegu [98].

Wyjaśniając rolę i udział BRS w jelicie grubym człowieka i zwierząt należy także uwzględnić proces związany z utylizacją wodoru przez te bakterie. Powstawanie wodoru w okrężnicy jest rezultatem utleniania pirogronianu lub mrówczanu oraz redukcji nukleotydów pirymidynowych podczas fermentacji zachodzącej z udziałem bakterii wchodzących w skład flory fizjologicznej. Jest on uwalniany z oddechem oraz z gazami jelitowymi, jednak znaczna jego pula jest wykorzystywana przez bakterie metanogenne oraz BRS [14, 37].

Szereg badań dowiodło, iż redukcja związków siarki łącznie z procesem metanogenezy i acetogenezy należą do głównych procesów utylizacji wodoru, co

może zapobiegać chorobie zwanej odmą pęcherzykową jelit. Chorobę tą charakteryzuje obecność licznych cyst w błonie śluzowej jelita grubego. Cysty wypełnione są wodorem, azotem oraz ditlenkiem węgla [73]. Pacjenci skarżą się na śluzową biegunkę i wydalanie nadmiernej ilości gazów jelitowych. Stężenie wodoru w oddechu osób dotkniętych tą chorobą jest wyższe niż u osób z grupy kontrolnej [73]. Uważa się, że obecność tego gazu w oddechu jest markerem jego wytwarzania w jelicie grubym. Zdaniem Christl i wsp. [14] zaburzenie metabolizmu wodoru w jelitach jest wynikiem braku aktywności BRS oraz bakterii metanogennych u pacjentów cierpiących na odmę pęcherzykową jelit, gdyż wysokie ciśnienie parcjale wodoru może prowadzić do powstania cyst.

Zaobserwowano, iż bakterie z rodzaju *Desulfovibrio* hamują wzrost bakterii metanogennych. Uważa się, iż najprawdopodobniej w obecności jonów siarczanowych (IV i VI) BRS wygrywają rywalizację o substrat wodorowy [14]. Jednak Steward i wsp. [82] twierdzą, iż kompetycja o substrat wodorowy niekoniecznie prowadzi do eliminacji jednej z grup tych bakterii, jak kiedyś powszechnie uważano.

Reasumując, można stwierdzić, iż BRS stanowią integralny składnik ekosystemu jelita grubego, i wchodzi w interakcję z bytującymi tam mikroorganizmami min. wspomnianymi bakteriami metanogennymi. Jednak nie jest to jedyny przykład oddziaływania tych bakterii na mikroflorę jelita grubego. Poprzez uwalnianie do środowiska siarkowodoru mogą one być przyczyną zmian składu współbytujących mikroorganizmów. Badania Newtona i wsp. [64] miały wyjaśnić wpływ BRS na pozostałe gatunki zasiedlające jelito grube. Beztlenowy chemostat posłużył za model okrężnicy, do którego wprowadzono czternaście gatunków bakterii jelitowych, zarówno sacharolitycznych jak i fermentujących aminokwasy takich jak: *Clostridium innocuum*, *C. butyricum*, *C. bifermetas*, *C. perfringers*, *Bacterioides thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *Bifidobacterium adolescentis*, *B. longum*, *B. pseudolongum*, *B. infantis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *E. fecium*, *Lactobacillus acidophilus*. Wprowadzenie do chemostatu *Desulfovibrio desulfuricans* znacząco wpłynęło na metabolizm bakteryjny oraz przemiany związków węgla w badanym konsorcjum bakteryjnym. Mikroorganizmy sacharolityczne w obecności BRS utylizowały więcej skrobi, a mniej polimerów zawierających galaktozę. Znaczące różnice odnotowano także odnośnie powstawania produktów fermentacji, większość mikroorganizmów wytwarzało bardziej utlenione produkty fermentacji np. octan z towarzyszącą redukcją propianianu, maślanu i mlecza. Obecność *D. desulfuricans* wpłynęła na liczebność mikroorganizmów kilku gatunków, znaczny spadek zanotowano dla *B. longum*, *C. perfringers*, *B. pseudo-*

longum. Liczba komórek bakteryjnych w chemostacie dwóch gatunków *Bacterioides* pozostała bez zmian, natomiast zaobserwowano intensywniejszy wzrost gatunku *Clostridium butyricum*.

Eksperyment Newtona i wsp. [64] wykazał występowanie ekologicznych oraz metabolicznych interakcji pomiędzy bakteriami *D. desulfuricans*, a innymi gatunkami flory jelitowej, co również zdaniem autorów ma wpływ na fizjologię makroorganizmu.

4. Implikacje wypływające z bytności BRS w jamie ustnej człowieka

Wiedza na temat składu oraz metabolizmu i współoddziaływania bakterii występujących w jamie ustnej jest niezbędna w zrozumieniu epidemiologii i patogenyzy chorób tkanki zębowej, przyzębia oraz dziąseł. Głównymi czynnikami tych chorób są resztki pokarmowe rozkładane przez bakterie jamy ustnej oraz płytka nazębna, która w 60–80% składa się z bakterii oraz ich toksycznych produktów przemiany materii. Drobnoustroje w jamie ustnej mają idealne warunki wzrostu i rozwoju z powodu dużej wilgotności oraz stałego dopływu związków organicznych służących do uzyskiwania energii chemicznej w wyniku ich utleniania [54].

W 1995 roku odnotowano, iż BRS występują również w jamie ustnej człowieka [87, 94]. Van der Hoeven oraz wsp. [87] jako pierwsi stwierdzili obecność BRS w tym środowisku. Przebadali 43 osoby i u 58% z nich (25 osób) odnotowali istnienie bakterii należących do rodzajów *Desulfobacter* oraz *Desulfovibrio*. Odkrycie to było zaskoczeniem, gdyż w piśmiennictwie nie było wcześniej żadnych wzmianek o obecności BRS w jamie ustnej. Również Willis i wsp. [94] w tym samym roku opublikował wyniki swoich badań świadczące o bytności bakterii siarkowych w tym środowisku. Autorzy ci stwierdzili u 83% badanych zdrowych ochotników żywe, aktywne metabolicznie mikroorganizmy rodzaju *Desulfovibrio*. Jednak izolaty charakteryzowały się nieco odmienną morfologią (słabo zakrzywione pałeczki), mniejszą ruchliwością oraz powolnym wzrostem w porównaniu do bakterii tego rodzaju występujących w jelicie grubym.

BRS jamy ustnej wykorzystują produkty fermentacji innych bakterii tam występujących, głównie krótkołańcuchowe kwasy tłuszczowe jak np. mlekowy, propionowy, pirogronowy, masłowy czy octowy, oraz utlenione związki siarki. Liczba bakterii siarkowych w tym środowisku jest limitowana głównie przez dostępne siarczany, które mogą znajdować się w formie zdysocjowanej w kieszonkach dziąsłowych. Glikozaminoglikany zawierające siarkę w tkankach okołozębnych też mogą być źródłem tego pierwiastka dla BRS [8].

Bardzo prawdopodobne jest, iż BRS mogą być czynnikiem etiologicznym w chorobach przyzębia, a zwłaszcza parodontozie [8, 49]. Ponadto lotne związki siarki (siarkowodór, siarczek dimetylu, merkaptan metylu) wydzielane przez BRS są przyczyną nieświeżego oddechu, co jest głównym objawem jednostki chorobowej zwanej halitozą [54].

Jedną z przyczyn parodontozy jest aktywność metaboliczna bakterii zasiedlających powierzchnie korzeni zębów. Początkowo drobnoustroje gromadzą się w naturalny sposób w miejscu zetknięcia dziąseł z zębami, powstaje osad, który zawiera mikroorganizmy, resztki pokarmowe, złuszczone komórki błony śluzowej. Osad przekształca się w kamień, który „schodząc” bliżej korzenia wbija się w tkankę miękką powodując odsłonięcie szyjki zębowej, dochodzi do rozwoju procesu zapalnego oraz postępującej destrukcji tkanek wokół zęba. Niewykluczone, iż BRS obecne w jamie ustnej przyczyniają się do powstawania parodontozy. Końcowy produkt metabolizmu tych bakterii – siarkowodór gromadząc się w kieszonkach dziąsłowych przyczynia się do wspomnianej wyżej destrukcji komórek sąsiadujących tkanek [54]. Przypuszczenia takie nasuwają się po zapoznaniu z wynikami badań dotyczących obecności tych bakterii u osób z dolegliwościami występującymi w obrębie jamy ustnej. B o o p a t h y i wsp. [8] analizowali próbki tkanek poddziąsłowych i na siedemnaście badanych osób u dziewięciu wyizolowano BRS, natomiast od osoby z zaawansowaną parodontozą wyizolowano czystą kulturę bakterii z rodzaju *Desulfovibrio*. Z kolei L a g e n d i j k i wsp. [49] wyodrębnili 10 różnych szczepów BRS od pacjentów z parodontozą, które skrupulatnie scharakteryzowali pod względem ich cech biochemicznych oraz morfologii. Komórki jednego ze szczepów miały wibroidalny kształt, były ruchliwe, metabolizowały mleczan oraz pirogronian, a skład komórkowych kwasów tłuszczowych świadczył, iż izolat należał do rodzaju *Desulfovibrio*. Sekwencja genu 16S rDNA była najbardziej zbliżona do analogicznej sekwencji izolatu nazwanego *Desulfovibrio fairfieldensis*. Pozostałe dziewięć szczepów cechował powolny wzrost, komórki miały słabo zakrzywiony kształt, w ich cytoplazmie brak było desulfowirydyny, co wskazywało na rodzaj *Desulfomicrobium*, analiza 16S rDNA potwierdziła te przypuszczenia. Natomiast L o u b i n o u x i wsp. [54] uzyskał osiem izolatów bakterii należących do rodzaju *Desulfovibrio* z kieszonek dziąsłowych od pięciu z siedmiu badanych pacjentów z parodontozą. Wyizolowane szczepy zaliczono do *Desulfovibrio fairfieldensis* na podstawie multipleksowego PCR ze starterami komplementarnymi do specyficznych sekwencji w obrębie genu 16S rRNA. Autor podaje, iż ten właśnie gatunek oraz *Desulfomicrobium orale* są najczęściej izolowanymi BRS od osób cierpiących z powodu parodontozy.

L o z n i e w s k i i wsp. [57] wyizolował bakterie rodzaju *Desulfovibrio* z ropni mózgu, jego zdaniem wyizolowane BRS najprawdopodobniej pochodziły z jamy ustnej lub zatok nosowych. Autor ten twierdzi, iż *Desulfovibrio* spp. powinny być rozpatrywane jako jeden z mikroorganizmów przyczyniających się do powstawania ropni mózgu, zwłaszcza u osób z zapaleniem zatok lub zaniedbujących higienę jamy ustnej.

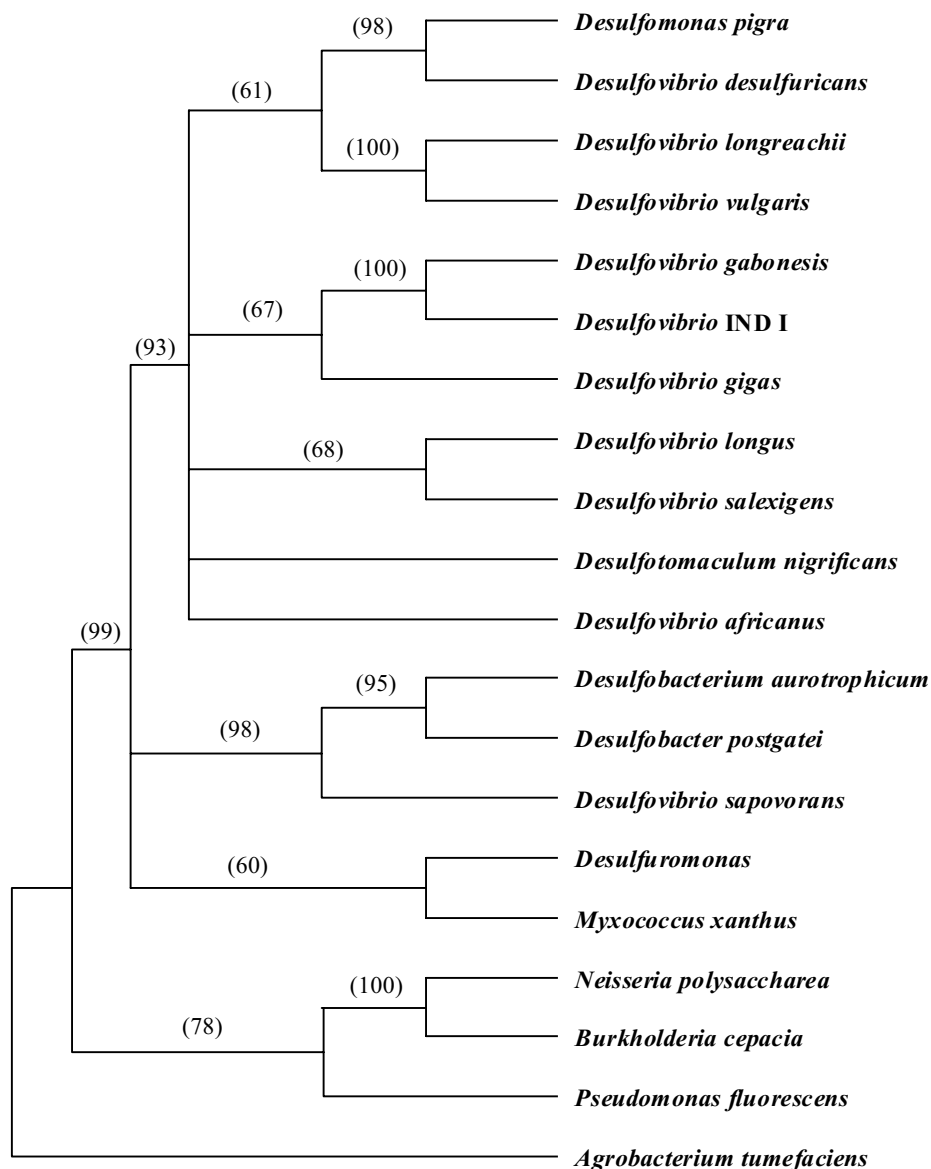
5. Charakterystyka rodzaju *Desulfovibrio* najlepiej poznanego w obrębie BRS, a zarazem dominującego wśród izolatów pochodzenia ludzkiego

BRS wyosobnione z organizmu człowieka należą głównie do rodzaju *Desulfovibrio* i są to najczęściej mikroorganizmy należące do trzech gatunków: *D. fairfieldensis*, *D. desulfuricans* oraz *D. piger* [56]. Dwa z nich *D. fairfieldensis* oraz *D. piger* nigdy nie były izolowane z innych środowisk poza organizmem ludzkim, są więc typowe dla człowieka [90]. W a r r e n i wsp. [90] opisują przypadki izolacji z materiału ludzkiego jeszcze jednego gatunku BRS jakim jest *D. vulgaris*.

Rodzaj *Desulfovibrio* należy do podjednostki delta rodziny *Proteobacteria* [20, 47]. W skład tej rodziny wchodzi różne gatunki mikroorganizmów, a ich stopień pokrewieństwa obrazuje dendrogram na Rys. 1, który wykreślono na podstawie zgodności sekwencji nukleotydowej genu 16S rRNA [32]. Sekwencję tego genu wykorzystuje się powszechnie w klasyfikacji mikroorganizmów oraz ustaleniach powiązań filogenetycznych drobnoustrojów.

Gatunki rodzaju *Desulfovibrio* należą do bakterii Gram-ujemnych, beztlenowych, jakkolwiek wykazują pewną zdolność do wzrostu w obecności tlenu [34, 78, 80]. A b d o l l a h i i W i m p e n n y [1] wykazali, że niektóre szczepy *Desulfovibrio desulfuricans* są zdolne do przeżycia w warunkach tlenowych przez 24 godziny, a jest to możliwe dzięki obecności w ich komórkach enzymu dysmutazy ponadtlenkowej, która stanowi swoisty mechanizm obrony przed szkodliwym działaniem reaktywnych form tlenu. Obecność i aktywność dysmutazy ponadtlenkowej w przestrzeni peryplazmatycznej, a także NADH- i NADPH peroksydazy w komórkach szczepu *D. desulfuricans* B-1388 odnotowały także D a v y d o v a oraz S a b i r o v a [18]. Z kolei S a r i n i S h a r m a [75] wykryli w genomie *D. dsulfuricans* obecność genu kodującego selenoproteinę jaką jest reduktaza tioredoksyny [tioredoksyna 2 (dstrx2)]. Izolaty tego rodzaju ujawniają także reakcje obronne takie jak aerotaksja ujemna lub agregacja komórek w odpowiedzi na stres środowiskowy, jakim jest ekspozycja na tlen [23].

Tolerancja na tlen tłumaczy możliwość występowania *Desulfovibrio* spp. we krwi oraz zainfekowanych



Rys. 1. Drzewo filogenetyczne obrazujące stopień pokrewieństwa bakterii z rodzaju *Desulfovibrio* i wybranych gatunków z rodziny *Proteobacteria* na podstawie sekwencji genu 16S (wartość prawdopodobieństwa podaną w nawiasach obliczono metodą bootstrap) [32]

tkankach [78]. Cypionka [16] twierdzi nawet, iż wiele gatunków rodzaju *Desulfovibrio* jest zdolnych do redukcji tlenu, jakkolwiek w czystych kulturach tlen hamuje lub uniemożliwia wzrost tych bakterii. W ostatnim czasie pojawiło się także doniesienie [60] o nowym szczepie bakterii *Desulfovibrio* zdolnym do redukcji tlenu i opisano go jako nowy gatunek – *D. aerotolerans*. Również najnowszy artykuł Lobo i wsp. [50] wskazuje na możliwość wzrostu szczepu *D. desulfuricans* ATCC 27774 w atmosferze o stosunkowo wysokiej zawartości tlenu, zbliżonej do jego stężenia w powietrzu atmosferycznym.

Komórki bakterii rodzaju *Desulfovibrio*, mają charakterystyczny zakrzywiony lub wibroidalny kształt, ale obserwowano również kształt kulisty czy cygara [78, 79]. Długość komórek waha się w granicach

2–4 mm, a średnica 0,75–1 μm, jednak w pewnych warunkach hodowli niektóre ze szczepów mogą przyjmować postać małych globularnych form o średnicy 0,5–0,75 μm [59]. Bakterie te zwykle występują pojedynczo, ale w pewnych stadiach wzrostu mogą tworzyć formy łańcuchów złożonych od dwóch do wielu komórek [32].

BRS z rodzaju *Desulfovibrio* posiadają polarnie wyrastającą więc bez osłonki, ten typ urzęsienia nazywamy „czuborzęsym”, charakteryzują się obecnością desulfowirydyny w komórkach, niezdolnością do wytwarzania spor [85] oraz dużą ruchliwością [32, 59].

Gatunki z rodzaju *Desulfovibrio* powszechnie wykorzystują trójwęglowe związki, takie jak: mleczan, pirogronian, a także wodór jako donory elektronów do redukcji siarczanów (VI) [95].

Lozniewski [58] podaje, iż mikroorganizmy należące do tego rodzaju są wrażliwe na imipenem oraz metronidazol, natomiast są odporne na penicylinę, piperacylinę/tazobaktam oraz cefoksytynę [58]. Z kolei szczepy gatunku *D. desulfuricans* badane przez Dzierżewicz i wsp. [28] były odporne na penicylinę, cefaksoxytynę, klindamycynę, metronidazol, erytromycynę, rifampicynę i teicoplanin.

Blumenberg i wsp. [7] odkryli, iż bakterie rodzaju *Desulfovibrio* są zdolne do syntezy hapanoidów, cyklicznych lipidów, które w swej strukturze podobne są do steroli i występują w błonie komórkowej bakterii. Uważa się, że hapanoidy spełniają podobną funkcję jak cholesterol w błonie eukariotów, czyli decydują o sztywności dwuwarstwy lipidowej i wpływają na jej przepuszczalność. Błona komórkowa z większą ilością hapanoidów wchodzących w jej skład jest bardziej ścisła, zwarta, zabezpiecza to przed utratą wody lub wnikaniem tlenu do komórek.

Zróznicowanie wśród bakterii rodzaju *Desulfovibrio* odnotowano nie tylko ze względu na ich morfologię, ale również na poziome wielkości ich genomów, jakkolwiek stosunkowo niewiele jest danych na ten temat. Devereux i wsp. [21] oszacowali wielkość genomu trzech szczepów należących do gatunków: *Desulfovibrio desulfuricans* szczep ATCC27774, *D. vulgaris* oraz *D. propionicus*, wielkości te wynosiły odpowiednio $3,1 \times 10^6$ pz; $3,6 \times 10^6$ pz; $3,7 \times 10^6$ pz. Z kolei JGI (Joint Genome Institute) realizował projekt sekwencjonowania całych genomów wybranych gatunków bakterii, w tym również szczepu G20 *D. desulfuricans* [96]. Chromosom tego gatunku miał formę kolistą, charakterystyczną dla większości organizmów bakteryjnych, jego wielkość oszacowano na 3,2 Mbp, a zawartość par zasad GC na 60%. Natomiast zawartość par GC gatunku *D. bizertensis* wynosi 51% [42], zaś innego *D. aerotolerans* – 57,2 % [60].

Bakterie z rodzaju *Desulfovibrio* są izolowane z różnych środowisk, ale wiele gatunków tego rodzaju to także ekstermofile, czyli organizmy tolerujące skrajne dla życia warunki środowiskowe jak np. wysokie zasolenie, wysoką lub niską temperaturę, zasadowe środowisko. Abildgaard i wsp. [2] opisali szczep RT2T należący do rodzaju *Desulfovibrio* wykazujący optimum wzrostu przy pH 9–9,4 i zaproponowali nazwę *D. alkalitolerans* sp. Tardy-Jacques i wsp. [84] wyizolowali dwa szczepy *Desulfovibrio* bytujące w rurociągu naftowym, odporne na wysokie stężenia NaCl (do 17%). Natomiast Vandeken i wsp. [88] wyizolowali psychrofilne szczepy 18T, 61T 77, które były zdolne do wzrostu w temperaturze – 2°C w osadach arktycznego fiordu u wschodnich wybrzeży Svalbardu. Szczepy te na podstawie sekwencji 16S rDNA opisali jako dwa nowe gatunki rodzaju *Desulfovibrio* i zaproponowali dla nich nazwy *D. frigidus* oraz *D. fer-*

rireducens. Bakterie tego rodzaju tolerują także wysokie stężenia metali ciężkich jak miedź, kadm, cynk, uran [5, 13, 61, 66]; należą więc do tzw. metalotolerantów.

6. Spór o potencjał patogenny gatunków rodzaju *Desulfovibrio*

W 1991 Gibson i wsp. oszacowali, iż u badanych osób cierpiących na wrzodziejące zapalenie jelita grubego rodzaj *Desulfovibrio* stanowi aż 92% populacji wszystkich BRS. Dla porównania w kale osób zdrowych stanowi 66% wszystkich BRS. Wyszuli oni hipotezę, iż BRS, a zwłaszcza rodzaju *Desulfovibrio*, mogą mieć bezpośredni związek z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego i chorobą Crohna. Wyniki zawarte w tej publikacji skierowały uwagę naukowców na zagadnienie dotyczące roli pełnionej przez BRS w okrężnicy i faktycznego ich wpływu na schorzenia jelita grubego. Stało się to niezmiernie ważne ze względu na fakt, iż choroby jelita grubego zajmują jedno z czołowych miejsc wśród dolegliwości związanych z układem pokarmowym w krajach wysokorozwiniętych i uprzemysłowionych.

Opinia na temat udziału BRS w schorzeniach okrężnicy są podzielone, jednak dosyć często w piśmiennictwie spotyka się sugestie, iż zmiany patologiczne u pacjentów z wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego związane są z obecnością zwiększonej populacji BRS [30, 38, 55, 69]. Co więcej, Pitcher i wsp. [69] zauważyli, iż szczepy BRS występujące w jelicie grubym można podzielić na wolno oraz szybko rosnące na podstawie ich aktywności metabolicznej. Stwierdzili oni także, że wśród pacjentów ze wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego dominują szybko rosnące szczepy *D. desulfuricans*. Innes i wsp. [46] porównywali populacje bakterii jelita grubego kotów zdrowych i z zapaleniem okrężnicy uwzględniając ilość bakterii *Desulfovibrio* w obu badanych grupach. U zdrowych zwierząt zaobserwowali znacznie większą liczbę bakterii należących do rodzajów *Bifidobacterium* oraz *Bacteroides* w porównaniu z chorymi osobnikami. Inaczej było w przypadku gatunków rodzaju *Desulfovibrio*, w jelicie grubym chorych kotów liczba bakterii tego rodzaju była znacznie większa niż u zdrowych osobników.

Aby ustalić czy BRS odgrywają rolę w rozwoju chorób przewodu pokarmowego próbuje się przede wszystkim wyjaśnić mechanizm powstawania zmian w okrężnicy pod wpływem procesów zachodzących z udziałem BRS i ich metabolitów. Szczególną uwagę poświęca się toksycznym lotnym związkom, a szczególnie siarkowodorowi. W środowisku wodnym tworzy on z jonami metali ciężkich trudno rozpuszczalne krystaliczne siarczki mogące mechanicznie drażnić śluzówkę jelit.

Ponadto siarkowódor może zaburzać metabolizm kolonocytów hamując β -oksydację kwasu n-masłowego, będącego podstawowym źródłem energii dla komórek wchodzących w skład nabłonka jelitowego [19, 65, 69]. Konsekwencją braku wysokoenergetycznych związków w kolonocytach powstałych z metabolizmu krótkołańcuchowych kwasów jest zahamowanie przede wszystkim syntezy lipidów, mucyny, absorpcji jonów oraz procesów detoksykacyjnych. Zaburzenia te odgrywają istotną rolę w inicjacji stanów zapalnych prowadząc do upośledzenia bariery ochronnej nabłonka. Dłuższa ekspozycja nabłonka na lotne związki siarki, w tym siarkowódor może skutkować poważnymi uszkodzeniami nie tylko nabłonka jelitowego, ale również innych komórek jelita prowadząc do procesów nowotworzenia [19]. W świetle przedstawionych faktów wydaje się, iż BRS, a właściwie ich metabolity, w tym również endotoksyny mogą brać udział w powstawaniu miejscowych stanów zapalnych śluzówki jelita.

Również liczne przypadki izolacji niektórych gatunków bakterii rodzaju *Desulfovibrio* z zainfekowanych tkanek takich jak: drogi żółciowe [70], ropnie jamy brzusznej [90], ropnie wątroby [85], ropnie mózgu [57] wyrostek robaczkowy [4], drogi moczowe [48], krew [39, 53, 59], sugerują, iż mogą być one rozpatrywane jako oportunistyczne patogeny [78]. Goldstein i wsp. [39] opisują przypadki infekcji spowodowanych przez bakterie rodzaju *Desulfovibrio*. Najczęściej zakażenia te (50% przypadków) były związane z zapaleniem wyrostka robaczkowego oraz wrzodami w obrębie jamy brzusznej. Autorzy publikacji mają jednak rozbieżne zdania dotyczące stopnia patogenności poszczególnych gatunków rodzaju *Desulfovibrio*. Loubinoux i wsp. [53, 54] uważają, że gatunek *D. faierfieldensis* może być rozważany jako patogen, natomiast Goldstein i wsp. [39] potencjał patogenny przypisują gatunkowi *D. desulfuricans*. Aby wyjaśnić tą kwestię Loubinoux i wsp. [56] przebadali 100 próbek pochodzących z ropni zlokalizowanych w jamie brzusznej oraz jamie opłucnej. W 12 próbkach pochodzących od pacjentów z zapaleniem otrzewnej, wyrostka robaczkowego, wrzodami oraz u pacjenta po chirurgicznym wycięciu raka odbytnicy stwierdzono obecność niektórych gatunków bakterii rodzaju *Desulfovibrio*. Izolowane szczepy zaklasyfikowano do gatunków: *D. piger* (najczęściej izolowany), *D. fairfieldensis* oraz *D. desulfuricans* (najrzadszy). Nie stwierdzono natomiast BRS w próbkach płynu pobranego z jamy opłucnej. Również Warren i wsp. [90] podają, iż *D. fairfieldensis* był najczęściej izolowanym szczepem spośród infekcji w obrębie jamy brzusznej.

Reasumując, BRS możemy uważać za oportunistyczne patogeny, ponieważ niejednokrotnie były jedną przyczyną powstawania stanów zapalnych lub bakteriemii u ludzi i zwierząt [39, 53, 57, 85].

Bakterie rodzaju *Desulfovibrio* są Gram-ujemne, posiadają więc na powierzchni swojej komórki tzw. kompleks lipopolisacharydowy (LPS) nazywany też endotoksyną, który stanowi integralny składnik błony zewnętrznej ściany bakteryjnej. Obserwuje się wyraźny związek pomiędzy zjadliwością bakterii, a budową ich lipopolisacharydów, a zwłaszcza lipidu A, integralnej części endotoksyny. Rozmieszczenie reszt kwasów tłuszczowych tego lipidu odgrywa istotną rolę w determinacji aktywności biologicznej LPS-u, aktywność ta jest ściśle związana z konformacją lipidu A i to za jego sprawą LPS objawia swoje toksyczne właściwości. Nie bez znaczenia jest także budowa regionu rdzeniowego oraz łańcucha O-swoistego, szorstkie mutanty pozbawione O-swoistego łańcucha cechuje zmniejszona patogenność w stosunku do form gładkich.

LPS jest immunogenem, który stymuluje komórki układu odpornościowego do uwalniania mediatorów zapalnych takich jak: cytokiny, chemokiny, cząsteczki adhezyjne oraz wolne rodniki. Niewielkie ich nagromadzenie w ustroju daje pozytywne efekty, m.in. uzyskiwanie odporności na zakażenia bakteryjne. Jednak wszystkie wymienione mediatory mają wpływ na rozwój reakcji zapalnych i mogą powodować zmiany patofizjologiczne, jeśli dochodzi do ich nadprodukcji, m.in. mogą być powodem szoku septycznego, zmian w obrazie krwi (leukopenia, leukocytoza), zmiany zawartości składników krwi (adrenergiczna aktywacja dopełniacza, a w jej wyniku hiperglikemia), obniżenie wartości ciśnienia tętniczego, miejscowy i uogólniony odczyn Shwartzmana. Wysokie stężenia LPS oddziałują więc wielokierunkowo i negatywnie na organizm człowieka.

Na temat wpływu LPS bakterii *Desulfovibrio* na organizm człowieka jest niewiele informacji w literaturze. Węglarz i wsp. [92, 93] badali wpływ lipopolisacharydów gatunku *D. desulfuricans* na linię komórkową Caco-2 i po preinkubacji komórek z maślanem sodu zaobserwowali, iż pod wpływem endotoksyny dochodziło do nasilenia sekrecji IL-8. W kolejnym eksperymencie Węglarz i wsp. [92] udokumentowali, iż endotoksyny *D. desulfuricans* stymulowały komórki ludzkiego śródbłonka naczyniowego do sekrecji większych ilości IL-6 oraz IL-8 w porównaniu do kontroli, a także wzrost ekspresji genów E-selektyny i VCAM-1 (vascular adhesion molecule -1). Z kolei Dzierżewicz i wsp. [29] wykazali, iż stężenie lipopolisacharydów izolowanych ze ściany komórkowej *D. desulfuricans*, wynoszące powyżej 30 $\mu\text{g/ml}$ w hodowlach komórkowych, prowadzi do obniżenia aktywności metabolicznej oraz zahamowania wzrostu komórek fibroblastów linii V-79 izolowanej od chomika chińskiego. Ponadto lipopolisacharyd szczepu DV-A/94, który wyosobniono od pacjenta z niedokrwistością i cholestazą wykazywał silniejsze oddziaływanie na

badane parametry niż endotoksyna referencyjnego szczepu glebowego ATCC29577. Stwierdzono również, że inkubacja fibroblastów w obecności endotoksyn prowadziła do apoptozy tych komórek. Hamowanie aktywności metabolicznej komórek w warunkach *in vitro* oraz stymulacja apoptozy w obecności endotoksyn bakterii *D. desulfuricans* świadczą o możliwości oddziaływania lipopolisacharydów BRS na wewnątrzkomórkowe procesy związane z odnową oraz proliferacją [29].

7. Znaczenie bakterii redukujących siarczany w ekosystemach środowisk naturalnych

BRS, a szczególnie rodzaj *Desulfovibrio* są interesującym obiektem badań nie tylko z powodu niewyjaśnionej roli jaką pełnią w przewodzie pokarmowym człowieka. Odgrywają one także znaczącą rolę w ekologii jako składnik mikroflory beztlenowych obszarów gleb, mułów, wód naturalnych, w tym również podziemnych [62, 67, 71].

Należy podkreślić, iż BRS odgrywają niebagatelny udział w obiegu materii w przyrodzie, a szczególnie w krążeniu siarki. Siarka jest ważnym składnikiem aminokwasów, a także ferrodoksyn i kofaktorów takich jak np. koenzym A. Pierwiastki wchodzące w skład żywych organizmów występują na Ziemi w ograniczonych ilościach i aby życie mogło być kontynuowane składniki martwych organizmów muszą być ponownie włączone w obieg. BRS poprzez proces oddychania siarczanowego przekształcają siarczany (SO_4^{2-} ; SO_3^{2-}) do siarki elementarnej oraz siarczków [12, 37].

Innym przykładem udziału BRS w obiegu materii w przyrodzie jest zdolność tych mikroorganizmów do rozkładu substancji organicznych w przybrzeżnych osadach morskich [91]. Oszacowano, że BRS metabolizują ponad 50% organicznego detryusu w tym ekosystemie [7].

Jednak BRS poprzez uwalnianie do środowiska siarkowodoru mogą przyczyniać się do zatrucia wielu gatunków drobnoustrojów, zwierząt i roślin w danym ekosystemie, wywierają więc istotny wpływ na skład gatunkowy zasiedlanych przez nie środowisk [32].

Pozytywnym skutkiem wydzielania siarkowodoru do środowiska przez BRS są ich zdolności do eliminacji jonów metali ciężkich takich jak: kadm, chrom, rtęć, uran w postaci trudno rozpuszczalnych siarczków, lub redukcji ich przy udziale cytochromu c3, hydrogenazy, reduktazy azotanowej, reduktazy azotanowej (III) NrfA do formy metalicznej [5, 13, 66].

Kolejnym pozytywnym skutkiem obecności BRS w środowisku jest zdolność niektórych szczepów do degradacji węglowodorów nasyconych. Nasycone węglowodory są składnikami ropy naftowej i jej pochodnych, głównie paliw i stanowią poważny problem dla

ekologów. Ta zdolność BRS jest stosunkowo słabo poznana i niedoceniana, pomimo, że już w roku 1966 Davis i Yarbough donosili o szczepie *Desulfovibrio desulfuricans* zdolnym do rozkładu węglowodorów. Z kolei Aeckersberg i wsp. [3] wyizolowali szczep Hxd3 należący do BRS, który w warunkach beztlenowych potrafił rozkładać alkanany i namnażać się na podłożu z dużą zawartością tych związków. Również Rueter i wsp. [74] wyizolowali ciepłolubny szczep BRS (TD3) z osadów morskich, który posiadał zdolność degradacji węglowodorów nasyconych. So i Young [81] wyosobnili z osadów dennych przy ujściu rzeki, zanieczyszczonej ropą naftową szczep AK-01, który w ściśle beztlenowych warunkach skutecznie mineralizował heksadekan do ditlenku węgla. Na podstawie cech fenotypowych oraz sekwencji 16S rDNA stwierdzili, iż szczep AK-01 najbardziej był podobny do bakterii rodzajów *Desulfosarcina*, *Desulfonema*, *Desulfococcus*.

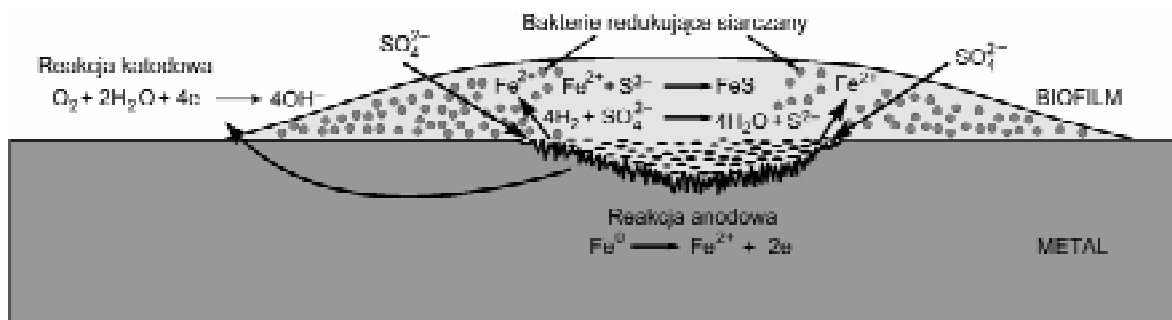
Beztlenowa degradacja alkanów przy udziale BRS wydaje się być bardzo obiecującym sposobem na pozbycie się tych zanieczyszczeń w środowiskach naturalnych a stanowi ciągle jeszcze niedoceniany i niewykorzystany fenomen [81].

Z kolei Grostern i Edwards [40] opisali degradację 1,1,1-trichloroetanu, związku zanieczyszczającego wody gruntowe, przez mieszaną populację bakteryjną. Wśród mikroorganizmów znajdowały się szczepy rodzaju *Dehalobacter* oraz *Desulfovibrio*.

Petrowa i wsp. [68] oraz Tarasova i wsp. [83] wykazali, iż szczep *D. desulfuricans* 1388 bierze udział w biotransformacji syntetycznego polimeru – nitrocelulozy z wysoką zawartością azotu (>11%). Szczep *D. desulfuricans* 1388 cechuje zdolność do denitryfikacji tego polimeru, i w jego obecności grupy nitrowe są zastępowane przez grupy hydroksylowe (OH^-).

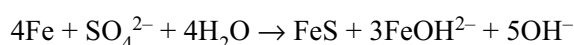
Na podstawie powyższych faktów można przypuszczać, iż BRS można wykorzystać do usuwania zanieczyszczeń przemysłowych w środowisku naturalnym. Ciekawym pomysłem było również zastosowanie bakterii, *Desulfovibrio vulgaris* subsp. *vulgaris* ATCC29579 w procesie usuwania czarnego nalotu siarczanów z prehistorycznych malowideł skalnych [11].

BRS, zwłaszcza rodzaj *Desulfovibrio*, wykazują zdolność indukowania procesów korozji, a zjawisko to zostało bardzo dobrze udokumentowane w literaturze [22, 26, 31, 32, 51, 52, 63]. W warunkach beztlenowych powierzchnia metalu działa jak anoda w reakcji elektrochemicznej i jest utleniana do jonów Fe^{2+} . BRS wytwarzają jony S^{2-} , które wchodzi w reakcję z dwuwartościowym żelazem dając siarczek żelaza (II). W tym czasie w przestrzeni katodowej wytwarzana jest taka sama ilość jonów H^+ które reagują z grupami hydroksylowymi obecnymi w środowisku wod-



Rys. 2. Indukcja korozji z udziałem bakterii redukujących siarczan (BRS)

nym (Rys. 2). Sumaryczna reakcja zmian chemicznych tego procesu to:



Rodzaj *Desulfovibrio* jest odpowiedzialny za wysokie stężenie siarkowodoru na dnie Morza Czarnego i czarną barwę jego wód wynikającą z utleniania żelaza [77].

Zjawisko korozji indukowanej przy udziale BRS leży u podstaw wielu zniszczeń kadłubów statków, platform wiertniczych, rurociągów, instalacji podziemnych, instalacji hydrotechnicznych, ponadto środowisko wodne sprzyja adhezji bakterii do powierzchni metalu [97]. Również systemy rur rozprowadzające gorącą wodę nie są odporne na korozję, gdyż niektóre szczepy BRS są termofilne, i w odpowiednich warunkach mogą wywołać korozję także miedzianych przewodów w domowych systemach grzewczych [31]. Jak duże straty ekonomiczne mogą być wywołane przez BRS obrazują wyniki kalkulacji, według których w 1990 roku straty wynikłe z korozji podziemnych rur w samych Stanach Zjednoczonych oszacowano na pięć miliardów dolarów.

8. Podsumowanie

Wiedza o składzie jakościowym i ilościowym oraz wzajemnych zależnościach panujących w zespołach mikroorganizmów zasiedlających poszczególne odcinki przewodu pokarmowego, a w szczególności jelita grubego i jamy ustnej jest nadal niekompletna. Niedostateczna znajomość tych relacji przyczynia się do lekceważenia zagadnień istotnych ze względu na zdrowie człowieka oraz możliwe implikacje kliniczne.

Stabilny zespół mikroorganizmów, w którym korzystne i antagonistyczne zależności osiągają stan pożądanej równowagi decyduje o prawidłowym funkcjonowaniu ekosystemów w tym również ekosystemu przewodu pokarmowego.

BRS stanowią ważny składnik mikroflory jelita grubego oraz jamy ustnej, jakkolwiek rola, jaką tam

pełnią nie została jednoznacznie określona. Najliczniejszą grupę wśród nich stanowią bakterie rodzaju *Desulfovibrio*, określane często jako bakterie „wszędobylskie” [27, 79]. Są to Gram-ujemne pałeczki charakteryzujące się zdolnością przeprowadzania procesu dysymilacyjnej redukcji utlenionych związków siarki, a końcowym produktem ich metabolizmu jest toksyczny siarkowodór.

Z uwagi na ryzyko konsekwencji klinicznych, wynikających z obecności tych drobnoustrojów w organizmie człowieka i ssaków, ich potencjalnie patogeny charakter jest przedmiotem badań prowadzonych w wielu laboratoriach [39, 49, 56, 78]. Nadal jednak nie wiadomo, jaki jest ich udział w schorzeniach jelita grubego oraz przyzębia. Nadziejemy na wyjaśnienie tej zagadki są techniki biologii molekularnej. Postępujący rozwój genomiki, transkrytomiki oraz proteomiki pozwala mieć nadzieję, na lepsze zrozumienie relacji pomiędzy mikroorganizmami, a komórkami naszego ciała oraz przyczyni się do poznania patogeny niektórych chorób, zwłaszcza tych, których czynniki etiologiczne są nadal nieznane lub domniemane.

Piśmiennictwo

1. Abdollahi H., Wimpenny J.: Effects of oxygen on the growth of *Desulfovibrio desulfuricans*. *J. Gen. Microbiol.* **136**, 1025–1030 (1990)
2. Abildgaard L., Nielsen M.B., Kjeldsen K.U., Ingvorsen K.: *Desulfovibrio alkalitolerans* sp. nov., a novel alkalitolerant, sulphate-reducing bacterium isolated from district heating water. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **56**, 1019–1024 (2006)
3. Aeckerberg F., Rainey F.A., Widdel F.: Growth, natural relationships, cellular fatty acids and metabolic adaptation of sulfate-reducing bacteria that utilize long-chain alkanes under anoxic conditions. *Arch. Microbiol.* **170**, 361–369 (1998)
4. Baron E. J., Bennion R., Thompson J., Strong C., Summanen P., McTeague M., Finegold S.M.: A microbiological comparison between acute and complicated appendicitis. *Clin. Infect. Dis.* **14**, 227–231 (1992)
5. Barton L.L., Goulhen F., Bruschi M., Woodards N.A., Plunkett R.M., Rietmeijer F.J.: The bacterial metallome: composition and stability with specific reference to the anaerobic bacterium *Desulfovibrio desulfuricans*. *Biometals*, **10**, (2007)

6. Beerens H., Romond C.: Sulfate-reducing bacteria in human feces. *Amer. J. Clin. Nutr.* **30**, 1770–1776 (1977)
7. Blumenberg M., Kruger M., Nauhaus K., Talbot H.M., Oppermann B.I., Seifert R., Pape T., Michaelis W.: Biosynthesis of hapanoids by sulfate-reducing bacteria (genus *Desulfovibrio*). *Environ. Microbiol.* **8**, 1220–1227 (2006)
8. Boopathy R., Robichaux M., LaFont D., Howell M.: Activity of sulfate-reducing bacteria in human periodontal pocket. *Can. J. Microbiol.* **48**, 1099–1103 (2002)
9. Boyle A., Phelps C.D., Young L.Y.: Isolation from estuarine sediments of a *Desulfovibrio* strain which can grow on lactate coupled to the reductive dehalogenation of 2,4,6-tribromophenol. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 1133–1140 (1999)
10. Brauman A., Koenig J.F., Dutreix J., Garcia J.L.: Characterization of two sulfate-reducing bacteria from the gut of the soil-feeding termite, *Cubitermes speciosus*. *Antonie van Leeuwenhoek*, **58**, 271–275 (1990)
11. Cappitelli F., Zanardini E., Ranalli G., Mello E., Daffonchio D., Sorlini C.: Improved methodology for bioremoval of black crusts on historical stone artworks by use of sulfate-reducing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 3733–3737 (2006)
12. Celis-Garcia M.L., Ramirez F., Revah S., Razo-Flores E., Monroy O.: Sulphide and oxygen inhibition over the anaerobic digestion of organic matter: influence of microbial immobilization type. *Environ. Technol.* **25**, 1265–1275 (2004)
13. Chardin B., Giudici-Ortoni M.T., De Luca G., Guigliarelli B., Bruschi M.: Hydrogenases in sulfate-reducing bacteria function as chromium reductase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **63**, 315–321 (2003)
14. Christl S.U., Gibson G.R., Florin T.H.J., Cumming J.H.: Role of dietary sulphate in the regulation of methanogenesis in the human large intestine. *Gut*, **33**, 1234–1238 (1992)
15. Cummings J.H., Macfarlane G.T.: The control and consequences of bacterial fermentation in the human colon. *J. Appl. Bacteriol.* **70**, 443–456 (1991)
16. Cypionka H.: Oxygen respiration by desulfovibrio species. *Annu. Rev. Microbiol.* **54**, 827–848 (2000)
17. Davis J.B., Yarbrough H.F.: Anaerobic oxidation of hydrocarbons by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Chem. Geol.* **1**, 137–144 (1966)
18. Davydova M.N., Sabirova R.Z.: Anti-oxidant defense of the cell *Desulfovibrio desulfuricans* B-1388. *Anaerobe*, **9**, 39–41. (2003)
19. Deplancke B., Hristova K.R., Oakley H.A., McCracken V.J., Aminov R., Mackie R.I., Gaskons H.R.: Molecular ecological analysis of the succession and diversity of sulfate-reducing bacteria in the mouse gastrointestinal tract. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 2166–2174 (2000)
20. Devereux R., Delaney M., Widdel F., Stahl D.A.: Genus and group-specific hybridization probes for determinative and environmental studies of sulphate-reducing bacteria. *Syst. Appl. Microbiol.* **15**, 601–609 (1992)
21. Devereux R., Willis S.G., Hines M.E.: Genome sizes of *Desulfovibrio desulfuricans*, *Desulfovibrio vulgaris*, and *Desulfovibrio propionicus* estimated by Pulsed-Field Gel Electrophoresis of linearized chromosomal DNA. *Curr. Microbiol.* **34**, 337–339 (1997)
22. Dinh H.T., Kuever J., Musmann M., Hassel A.W., Stratmann M., Widdel F.: Iron corrosion by novel anaerobic microorganisms. *Nature*, **427**, 829–832 (2004).
23. Dolla A., Fournier M., Dermoun Z.: Oxygen defense in sulfate-reducing bacteria. *J. Biotechnol.* **126**, 87–100 (2006)
24. Droge S., Limper U., Emtiazi F., Schonig I., Pavlus N., Drzygza O., Fischer U., Konig H.: *In vitro* and *in vivo* sulfate reduction in the contents of the termite *Mastotermes darwiniensis* and the rose chafer *Pachnoda marginata*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **51**, 57–64 (2005)
25. Dzierżewicz Z., Cwalina B., Chodurek E., Bułaś L.: Differences in hydrogenase and APS-reductase activity between *Desulfovibrio desulfuricans* strains growing on sulphate or nitrate. *Acta Biol. Cracoviensia*, **39**, 914 (1997)
26. Dzierżewicz Z., Cwalina B., Chodurek E., Wilczok T.: The relationship between microbial metabolic activity and biocorrosion of carbon steel. *Res. Microbiol.* **148**, 785–793 (1997)
27. Dzierżewicz Z., Cwalina B., Gawlik B., Wilczok T., Gonicz Z.: Isolation and evaluation of susceptibility to sulphasalazine of *Desulfovibrio desulfuricans* strains from the human digestive tract. *Acta Microbiol. Polon.* **46**, 175–187 (1997)
28. Dzierżewicz Z., Cwalina B., Jaworska-Kik M., Węglarz L., Wilczok T.: Susceptibility to antibiotics and biochemical properties of *Desulfovibrio desulfuricans* strains. *Acta Pol. Pharm.-Drug Res.* **58**, 439–444 (2001)
29. Dzierżewicz Z., Orchel A., Komarska-Szostak A., Wawszczyk J., Węglarz L., Szczerba J., Wilczok T.: Biological activity of endotoxins isolated from *Desulfovibrio desulfuricans* species. *Ann. Acad. Med. Siles.* **59**, 9–16 (2005)
30. Edmond L.M., Hopkins M.J., Magee E.A., Cummings J.H.: The effect of 5-aminosalicylic acid-containing drugs on sulfide production by sulfate-reducing and amino acid-fermenting bacteria. *Inflamm. Bowel Dis.* **9**, 10–17 (2003)
31. Eldor A.P., Francis E.C.: *Mikrobiologia i biochemia gleb*. Wyd. Nauk. Uniw. Marii Curie-Skłodowskiej, Lublin 2000, s. 379
32. Feio M.J., Beech I.B., Carepo M., Lopes J.M., Cheung C.W.S., Franco R., Guezennec J., Smith J.R., Mitchell J.I., Moura J.J. G., Lino A.R.: Isolation and characterisation of novel sulphate-reducing bacterium of the *Desulfovibrio* genus. *Anaerobe*, **4**, 117–130 (1998)
33. Fite A., Macfarlane G.T., Cummings J.H., Hopkins M.J., Kong S.C., Furrer E., Macfarlane S.: Identification and quantitation of mucosal and faecal desulfovibrios using real time polymerase chain reaction. *Gut*, **53**, 523–9 (2004)
34. Fournier M., Zhang Y., Wildschut J.D., Dolla A., Voodrouw J.K., Schriemer D.C., Voorrouw G.: Function of oxygen resistance proteins in the anaerobic, sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio vulgaris* hildenborough. *J. Bacteriol.* **185**, 71–79 (2003)
35. Fox J.G., Dewhirst F.E., Fraser G.J., Paster B.J., Shames B., Murphy J.C.: Intracellular *Campylobacter* – like organism from ferrets and hamsters with proliferative bowel disease is a *Desulfovibrio* sp. *J. Clin. Microbiol.* **32**, 1229–1237 (1994)
36. Gibson G.R., Macfarlane G.T., Cumming J.H.: Occurrence of sulphate-reducing bacteria in human faeces and the relationship of dissimilatory sulphate reduction to methanogenesis in the large gut. *J. Appl. Bacteriol.* **65**, 103–111 (1988)
37. Gibson G.R.: Physiology and ecology of the sulphate-reducing bacteria. *J. Appl. Bacteriol.* **69**, 769–797 (1990)
38. Gibson G.R., Cumming J.H., Macfarlane G.T.: Growth and activities of sulphate reducing bacteria in gut contents of healthy subjects and patients with *ulcerative colitis*. *FEMS Microbiol. Ecol.* **86**, 103–112 (1991)
39. Goldstein E.J.C., Citron D.M., Peraino V.A., Cross S.A.: *Desulfovibrio desulfuricans* bacteremia and review of human *Desulfovibrio* infections. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 2752–2754 (2003)
40. Grostern A., Edwards E.A.: A 1,1,1-trichloroethane-degrading anaerobic mixed microbial culture enhances biotransformation of mixtures of chlorinated ethanes and ethanes. *Appl. Environ. Microbiol.* **72**, 7849–7856. (2006)

41. Guarner F., Malagelada JR.: Gut flora in health and disease. *Lancet*, **361**, 512–519 (2003)
42. Haouari O., Fardeau M.L., Casalot L., Tholozan J.L., Hamdi M., Ollivier B.: Isolation of sulfate-reducing bacteria from Tunisian marine sediments and description of *Desulfovibrio bizertensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **56**, 2909–2913 (2006)
43. Hart A.L., Stagg A.J., Frame M., Graffner H., Glise H., Falk P., Kamm M.A.: The role of the gut flora in health and disease, and its modification as therapy. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **16**, 1383–1393 (2002)
44. Hooper L.V., Wong M.H., Thelin A., Hansson L., Falk P.G., Gordon J.I.: Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*, **291**, 881–884 (2001)
45. Hopkins M.J., Macfarlane G.T., Furrie E., Fite A., Macfarlane S.: Characterisation of intestinal bacteria in infant stools using real-time PCR and northern hybridisation analyses. *FEMS Microbiol. Ecol.* **54**, 77–85 (2005)
46. Inness V.L., McCartney A.L., Khoo C., Gross K.L., Gibson G.R.: Molecular characterisation of the gut microflora of healthy and inflammatory bowel disease cats using fluorescence in situ hybridisation with special reference to *Desulfovibrio* spp. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* **91**, 48–53 (2007)
47. Ito T., Nielsen J.L., Okabe S., Watanabe Y., Nielsen P.H.: Phylogenetic identification and substrate uptake patterns of sulfate-reducing bacteria inhabiting an oxic-anoxic sewer biofilm determined by combining microautoradiography and fluorescent *in situ* hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 356–364 (2002)
48. La Scola B., Raoult D.: Third human isolate of a *Desulfovibrio* sp. identical to the provisionally named *Desulfovibrio fairfieldensis*. *J. Clin. Microbiol.* **37**, 3076–3077 (1999)
49. Langendijk P.S., Kulik E.M., Sandmeier H., Meyer J., Van der Hoeven J.S.: Isolation of *Desulfomicrobium orale* sp. nov. and *Desulfovibrio* strain NY682, oral sulfate-reducing bacteria involved in human periodontal disease. *Intern. J. Syst. Evol. Microbiol.* **51**, 1035–1044 (2001)
50. Lobo S.A., Melo A.M., Carita J.N., Teixeira M., Saraiva L.M.: The anaerobe *Desulfovibrio desulfuricans* ATCC 27774 grows at nearly atmospheric oxygen levels. *FEBS Lett.* **6**, 433–436 (2007)
51. Lopes F.A., Morin P., Oliveira R., Melo L.F.: The influence of nickel on the adhesion ability of *Desulfovibrio desulfuricans*. *Colloids Surf. B. Biointerfaces*, **46**, 127–133 (2005)
52. Lopes F.A., Morin P., Oliveira R., Melo L.F.: Interaction of *Desulfovibrio desulfuricans* biofilms with stainless steel surface and its impact on bacterial metabolism. *J. Appl. Microbiol.* **101**, 1087–1095 (2006)
53. Loubinoux J., Mory F., Pereira I.A.C., La Faou A.E.: Bacteremia caused by a strain of *Desulfovibrio* related to the provisionally named *Desulfovibrio fairfieldensis*. *J. Clin. Microbiol.* **38**, 1707 (2000)
54. Loubinoux J., Bisson-Boutelliez C., Miller N., Le Faou A.E.: Isolation of the provisionally named *Desulfovibrio fairfieldensis* from human periodontal pockets. *Oral Microbiol. Immunol.* **17**, 321–323 (2002)
55. Loubinoux J., Bronowicki J-P., Pereira I.A.C., Mougénel J-L., Le Faou A.E.: Sulfate-reducing bacteria in human feces and their association with inflammatory bowel diseases. *FEMS Microbiol. Ecol.* **40**, 107–112 (2002)
56. Loubinoux J., Jaulhac B., Piemont Y., Monteil H., Le Faou A.E.: Isolation of sulfate-reducing bacteria from human thoracoabdominal pus. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 1304–1306 (2003)
57. Lozniewski A., Maurer P., Schuhmacher H., Carlier J.P., Mory F.: First isolation of *Desulfovibrio* sp. as part of a polymicrobial infection from a brain abscess. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **18**, 602–603 (1999)
58. Lozniewski A., Labia R., Haristoy X., Mory F.: Antimicrobial susceptibilities of clinical *Desulfovibrio* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **45**, 2933–2935 (2001)
59. McDougall R., Robson J., Peterson D., Tee W.: Bacteremia caused by a recently described novel *Desulfovibrio* species. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 1805–808 (1997)
60. Morgensen G.L., Kjeldsen K.U., Ingvorsen K.: *Desulfovibrio aerotolerans* sp. nov., an oxygen tolerant sulphate-reducing bacterium isolated from activated sludge. *Anaerobe*, **11**, 339–49 (2005)
61. Naz N., Young H.K., Ahmed N., Gadd G.M.: Cadmium accumulation and DNA homology with metal resistance genes in sulfate-reducing bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 4610–4618 (2005)
62. Nercessian O., Bienvenu N., Moreira D., Prieur D., Jeanthon C.: Diversity of functional genes of methanogens, methanotrophs and sulfate reducers in deep-sea hydrothermal environments. *Environ. Microbiol.* **7**, 118–32 (2005)
63. Neria-Gonzalez I., Wang E.T., Ramirez F., Romero J.M., Hernandez-Rodriguez C.: Characterization of bacterial community associated to biofilms of corroded oil pipelines from the southeast of Mexico. *Anaerobe*, **12**, 122–33 (2006)
64. Newton D.F., Cummings J.H., Macfarlane S., Macfarlane G.T.: Growth of human intestinal *Desulfovibrio desulfuricans* in continuous cultures containing defined populations of saccharolytic and amino acid fermenting bacteria. *J. Appl. Microbiol.* **85**, 372–380 (1998)
65. Ohge H., Furne J.K., Springfield J., Rothenberger D.A., Madoff R.D., Levitt M.D.: Association between fecal hydrogen sulfide production and pouchitis. *Dis. Colon Rectum*, **48**, 469–475 (2005)
66. Payne R.B., Gentry D.M., Rapp-Giles B.J., Casalot L., Wall J.D.: Uranium reduction by *Desulfovibrio desulfuricans* strain G20 and a cytochrome c_3 mutant. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**, 3129–3132 (2002)
67. Perez-Jimenez J.R., Kerkhof L.J.: Phylogeography of sulfate-reducing bacteria among disturbed sediments disclosed by analysis of the dissimilatory sulfite reductase genes (*dsrAB*). *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 1004–1011 (2005)
68. Petrova O.E., Tarasova N.B., Davydova M.N.: Biotechnological potential of sulfate-reducing bacteria for transformation of nitrocellulose. *Anaerobe*, **8**, 315–317 (2002)
69. Pitcher M.C.L., Beatty E.R., Cummings J.H.: The contribution of sulphate reducing bacteria and 5-aminosalicylic acid to faecal sulfide in patients with ulcerative colitis. *Gut*, **46**, 64–72 (2000)
70. Porschen R.K., Chan P.: Anaerobic vibrio-like organisms cultured from blood: *Desulfovibrio desulfuricans* and *Succinivibrio* species. *J. Clin. Microbiol.* **5**, 444–447 (1977)
71. Postgate J.R.: The sulfate reducing bacteria. Cambridge Univ. Press, 1984
72. Rastall R.A.: Bacteria in the gut: friends and foes and how to alter the balance. *J. Nutr.* **134**, 2022–2026 (2004)
73. Read N.W., Al-Janabi M.N., Cann P.A.: Is raised breath hydrogen related to the pathogenesis of pneumatosis coli? *Gut*, **25**, 839–845 (1984)
74. Rueter P., Rabus R., Wilkes H., Aeckersberg F., Rainey F.A., Jannasch H.W., Widdel F.: Anaerobic oxidation of hydrocarbons in crude oil by new types of sulfate-reducing bacteria. *Nature*, **372**, 455–458 (1994)

75. Sarin R., Sharma Y.D.: Thioredoxin system in obligate anaerobe *Desulfovibrio desulfuricans*: Identification and characterization of a novel thioredoxin 2. *Gene*, **376**, 107–115 (2006)
76. Savage D.C.: Microbial ecology of the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Microbiol.* **31**, 107–133 (1977)
77. Schlegel H.G.: Mikrobiologia ogólna, Wyd. Nauk. PWN, Warszawa 1996, s. 387–394
78. Schoenborn L., Abdollahi H., Tee W., Dyal-Smith M., Janssen P.H., A member of delta subgroup of Proteobacteria from a pyogenic liver abscess is a typical sulfate reducer of the genus *Desulfovibrio*. *J. Clin. Microbiol.* **39**, 787–790 (2001)
79. Shukla S.K., Reed K.D.: *Desulfovibrio desulfuricans* bacteremia in a dog. *J. Clin. Microbiol.* **38**, 1701–1702 (2000)
80. Sigalevich P., Baev M.V., Teske A., Cohen Y.: Sulfate reduction and possible aerobic metabolism of the sulfate-reducing bacterium *Desulfovibrio oxyclinae* in a chemostat coculture with *Marinobacter* sp. Strain MB under exposure to increasing oxygen concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**, 5013–5018 (2000)
81. So C.M., Young L.Y.: Isolation and characterization of a sulfate-reducing bacterium that anaerobically degrades alkanes. *Appl. Environ. Microbiol.* **65**, 2969–2976 (1999)
82. Stewart J.A., Chadwick V.S., Murray A.: Carriage, quantification, and predominance of methanogenes and sulfate-reducing bacteria in fecal samples. *Lett. Appl. Microbiol.* **43**, 58–63 (2006)
83. Tarasova N.B., Petrova O.E., Faizullin D.A., Davydova M.N.: FTIR-spectroscopic studies of the fine structure of nitrocellulose treated by *Desulfovibrio desulfuricans*. *Anaerobe*, **11**, 312–314 (2005)
84. Tardy-Jacquod C., Magot M., Laigret F., Kaghad M., Patel B.K., Guezennec J., Matheron R., Caumette P.: *Desulfovibrio gabonensis* sp. nov., a new moderately halophilic sulfate-reducing bacterium isolated from an oil pipeline. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **46**, 710–715 (1996)
85. Tee W., Dyal-Smith M., Woods W., Eisen D.: Probable new species of *Desulfovibrio* isolated from a pyogenic liver abscess. *J. Clin. Microbiol.* **34**, 1760–1764 (1996)
86. Thevenieau F., Fardeau M.L., Ollivier B., Joulian C., Baena S.: *Desulfomicrobium hermophilum* sp. nov., a novel thermophilic sulphate-reducing bacterium isolated from a terrestrial hot spring in Colombia. *Extremophiles*, **11**, 295–303 (2007)
87. Van der Hoeven J.S., van den Kieboom C.W., Schaeken M.J.: Sulfate-reducing bacteria in the periodontal pocket. *Oral Microbiol. Immunol.* **10**, 288–290 (1995)
88. Vandieken V., Knoblauch C., Jorgensen B.B.: *Desulfovibrio frigidus* sp. nov. and *Desulfovibrio ferrireducens* sp. nov., psychrotolerant bacteria isolated from Arctic fjord sediments (Svalbard) with the ability to reduce Fe(III). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **56**, 681–685 (2006)
89. Viehman S., Mills D.K., Meichel G.W., Richardson L.L.: Culture and identification of *Desulfovibrio* spp. from corals infected by black band disease on Dominican and Florida Keys reefs. *Dis. Aquat. Organ.* **69**, 119–127 (2006)
90. Warren Y.A., Citron D.M., Merriam C.V., Goldstein E.J.: Biochemical differentiation and comparison of *Desulfovibrio* species and other phenotypically similar genera. *J. Clin. Microbiol.* **43**, 4041–4045 (2005)
91. Webster G., Watt L.C., Rinna J., Fry J.C., Evershed R.P., Parkes R.J., Weightman A.J.: A comparison of stable-isotope probing of DNA and phospholipid fatty acids to study prokaryotic functional diversity in sulfate-reducing marine sediment enrichment slurries. *Environ. Microbiol.* **8**, 1575–1589 (2006)
92. Węglarz L., Dzierżewicz Z., Skop B., Orchel A., Parfiniewicz B., Wiśniowska B., Świątkowska L., Wilczok T.: *Desulfovibrio desulfuricans* lipopolysaccharides induce endothelial cell IL-6 and IL-8 secretion and E-selectin and VCAM-1 expression. *Cell Mol. Biol. Lett.* **8**, 991–1003 (2003)
93. Węglarz L., Wawszczyk J., Orchel A., Jaworska-Kik M., Dzierżewicz Z.: Phytic acid modulates in vitro IL-8 and IL-6 release from colonic epithelial cells stimulated with LPS and IL-1 beta. *Dig. Dis. Sci.* **52**, 93–102. (2007)
94. Willis C.L., Gibson G.R., Allison C., MacFarlane S., Holt J.S.: Growth, incidence and activities of dissimilatory sulfate-reducing bacteria in the human oral cavity. *FEMS Microbiol. Lett.* **129**, 267–272 (1995)
95. Willis C.L., Cummings J.H., Neale G., Gibson G.R.: Nutritional aspects of dissimilatory sulfate reduction in the human large intestine. *Curr. Microbiol.* **35**, 294–298 (1997)
96. http://genome.jgi-psf.org/finished_microbes/desde/desde.home.html (20 czerwiec 2007)
97. Xiaoxia S., Peng T.Y., Olavi P.S.: Direct force measurement of bacteria adhesion on metal in aqueous media. *Water Sci. Technol.* **54**, 17–25 (2006)
98. Zinkovich V. i Beech I.B.: Screening of sulfate-reducing bacteria in colonoscopy samples from healthy and colitic human gut mucosa. *FEMS Microbiol. Ecol.* **34**, 147–155 (2000)