

# PAŁECZKI Z RODZAJU *SERRATIA*: CHARAKTERYSTYKA GATUNKÓW, CHOROBOTWÓRCZOŚĆ ORAZ OPORNOŚĆ NA ANTYBIOTYKI *SERRATIA MARCESCENS*

Piotr Celejewski-Marciniak<sup>1\*</sup>, Stefan Tyski<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

<sup>2</sup>Zakład Antybiotyków i Mikrobiologii, Narodowy Instytut Leków

Wpłynęło w lipcu 2011 r.

1. Wstęp. 2. Klasyfikacja w obrębie rodzaju *Serratia*. 2.1. Metody fenotypowania szczepów. 2.2. Metody genotypowania szczepów. 3. Czynniki wirulencji – charakterystyka i zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym. 4. Chorobotwórczość. 5. Oporność na antybiotyki. 6. Podsumowanie

## Bacilli of the genus *Serratia*: species characteristics, pathogenicity and antibiotic resistance of *Serratia marcescens*

**Abstract:** Bacilli of the genus *Serratia* belong to *Enterobacteriaceae* family and they play important role as an opportunistic pathogen in nosocomial infections. Genus *Serratia*, consisting of ten species, was stated in 1990<sup>th</sup>, when bacterial systematics has been enlarged by analysis of ribosomal 16S rRNA nucleotide sequences. The most vital traits characterising genus *Serratia* are: particular species' ability to produce red pigment – prodigiosin and extracellular enzymes enabling colonization of the host.

*S. marcescens* is a microbe of a dominant clinical importance, which is isolated from various material. Great ability to colonise human organism, *S. marcescens* owes to number of virulence factors, which facilitate bacterial cells adhesion, protect from host's immune system and simplify tissue penetration. *S. marcescens* is responsible for numerous hospital outbreaks occurring in immunodeficient patients, particularly newborns and patients cured in Emergency Departments. In typing of the strains RAPD and PFGE methods are usually applied. *S. marcescens* is said to be a pathogen resistant to different groups of antibiotics. Resistance genes located on mobile genetic elements, responsible for widespread resistance to carbapenems, are particularly dangerous.

1. Introduction. 2. Classification of genus *Serratia*. 2.1. Phenotyping methods. 2.2. Genotyping methods. 3. Virulence factors. 4. Pathogenicity. 5. Antibiotic resistance. 6. Summary

**Słowa kluczowe:** *Serratia*, *Serratia marcescens*, genotypowanie, fenotypowanie, czynniki wirulencji, oporność na antybiotyki

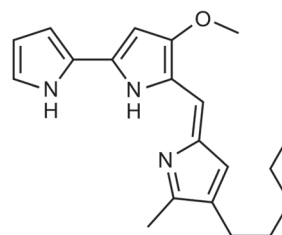
**Key words:** *Serratia*, *Serratia marcescens*, genotyping, phenotyping, virulence factors, antibiotic resistance

## 1. Wstęp

Od czasów starożytnych znane i opisywane były przypadki zabarwiania żywności na kolor krwistoczerwony. Interpretacja takich zjawisk była niezwykle trudna, gdyż do roku 1819 nie znano czynnika wywołującego te niecodzienne zdarzenia. Przez stulecia w tym zjawisku dopatrywano się kontekstu religijnego związanego z pojawianiem się krwi Chrystusa w badanej potrawie. Wątpliwości rozwiązał włoski farmaceuta Bartolomeo B i z i o, który jako członek zespołu badającego jedno z takich „cudownych” zjawisk udowodnił obecność drobnoustroju w badanej próbce żywności (do doświadczenia użyto tradycyjnego włoskiego dania – polenty) oraz potwierdził związek pomiędzy obecnością szczepu *Serratia marcescens*, a krwistoczerwonym zabarwieniem dania [84]. W ten sposób opisał izolację bakterii, której nazwa rodzajowa *Serratia* pochodzi od nazwiska włoskiego inżyniera Serafino S e r r a t i e g o, a nazwa opisowa *marcescens* pochodzi od łacińskiego słowa oznaczającego znikanie, wietrzenie.

Przez dziesięciolecia rodzaj *Serratia* ograniczał się jedynie do drobnoustrojów posiadających zdolność pro-

dukcji czerwonego barwnika – prodigiozyny (Rys. 1). Jest on zaliczany do grupy wtórnych metabolitów, naturalnych barwników aminowych zawierających w swej



Rys. 1. Wzór cząsteczki prodigiozyny

cząsteczce trzy pierścienie pirolowe. Oprócz wybranych przedstawicieli rodzaju *Serratia*, prodigiozynę wytwarzają niektóre szczepy z rodzaju *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Alteromonas* i *Streptomyces* [30]. Podstawowym czynnikiem mającym znaczący wpływ na wydajność produkcji czerwonego barwnika jest temperatura inkubacji. Obserwacje laboratoryjne mają bezpośrednie przełożenie na dane doświadczalne mówiące o spadku produkcji prodigiozyny od trzech do nawet dwudziestu razy, przy podwyższeniu temperatury inkubacji z 30°C do 37°C [38].

\* Autor korespondencyjny: Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Oczki 3, 02-007 Warszawa, e-mail; pcelejewski@wum.edu.pl

Tabela I  
Wpływ maltozy, glukozy oraz temperatury na produkcję prodigiozyny przez szczep *S. marcescens* [14, 32]

Rodzaj podłoża	Temperatura inkubacji oraz stężenie prodigiozyny [mg/ml]		
	28°C	30°C	37°C
Bulion odżywczy	0,52	0,354	0,111
Bulion odżywczy z dodatkiem 0,5% maltozy	1,836	0,79	0,104
Bulion odżywczy z dodatkiem 0,5% glukozy	1,689	0,29	0,104
Bulion z nasionami sezamu	16,68	9,3	0,319
Bulion z nasionami sezamu z dodatkiem 0,5% maltozy	9,43	8,56	1,63
Bulion z nasionami sezamu z dodatkiem 0,5% glukozy	1,47	1,16	0,42

Źródło węgla stanowi kolejny ważny czynnik wpływający na wydajność syntezy prodigiozyny. W pierwszej części eksperymentu prowadzonego przez G i r i i wsp. [32] wykazano zróżnicowany wpływ cukrów na syntezę prodigiozyny (Tab. I.). W przypadku bulionu odżywczego, stanowiącego dość ubogie źródło węgla, dodatek maltozy lub glukozy zwiększa syntezę prodigiozyny. Efekt przeciwny uzyskano w przypadku bulionu wzbogaconego sproszkowanymi nasionami sezamu. Uzyskana represja syntezy prodigiozyny jest prawdopodobnie wynikiem nasilenia się zjawiska represji katabolicznej w obecności glukozy i maltozy [32]. Ponadto autorzy podkreślają duże znaczenie kwasów tłuszczowych jako czynników wzmagających syntezę czerwonego barwnika. W dalszych badaniach wykazano, że dodatek sproszkowanych nasion orzechów ziemnych najsilniej stymulował szczepy *S. marcescens* do produkcji prodigiozyny. Bulion z dodatkiem oleju z orzechów ziemnych pozwalał uzyskać dwudziestokrotnie więcej barwnika w podłożu niż taki sam bulion z dodatkiem sproszkowanych orzechów laskowych. Uzyskany wynik wskazuje na podstawowe znaczenie nasyconych kwasów tłuszczowych obecnych w nasionach na wzrost *S. marcescens* i tym samym na produkcję czerwonego barwnika [32].

Synteza prodigiozyny w komórkach bakteryjnych zależy od gęstości zawiesiny hodowlanej lub średnicy pojedynczych kolonii. Bakterie w fazie logarytmicznego wzrostu produkują bardzo niewiele barwnika. Wzrost gęstości hodowli stymuluje syntezę oraz transport czynników regulujących wytwarzanie prodigiozyny [45]. W przypadku hodowli na podłożu stałym, czerwony barwnik wytwarzany jest przez kolonie, których średnica przekracza jeden milimetr [38].

Czerwony pigment wytwarzany przez bakterie z rodzaju *Serratia* prawdopodobnie pełni rolę w procesie oddychania. W ostatnich latach starano się wyjaśnić rolę prodigiozyny w metabolizmie komórkowym i jej unikatowe właściwości. Pierwszą ważną obserwacją było

udokumentowanie efektu proapoptotycznego barwnika uzyskanego wobec wybranych linii komórek nowotworowych z jednoczesnym brakiem takiej reakcji u zdrowych komórek [64]. Dalsze badania doprowadziły do opisanego wpływu prodigiozyny na limfocyty-T i wywołania efektu immunosupresyjnego, który obecnie jest szeroko analizowany w ramach badań klinicznych I i II fazy [99]. Badania prowadzone z udziałem zwierząt wskazują na leczniczy wpływ prodigiozyny w początkowych stadiach niektórych chorób cywilizacyjnych m.in. cukrzycy [100].

## 2. Klasyfikacja w obrębie rodzaju *Serratia*

Odkrycie bakterii zdolnej do produkcji czerwonego barwnika doprowadziło do wyodrębnienia nowego gatunku, który przez wiele lat pozostawał jedynym przedstawicielem rodzaju *Serratia*. Początkowe prace badawcze zawężyły ocenę tego rodzaju bakterii jedynie do zdolności produkcji czerwonego barwnika. Jeszcze w 1975 roku, VIII wydanie Bergey's Manual of Determinative Bacteriology wskazywało na istnienie wyłącznie jednego gatunku w obrębie rodzaju *Serratia*. Obszerne badania biochemiczne przeprowadzone w latach siedemdziesiątych XX wieku przez zespół G r i m o n t ' a zaliczyły do rodzaju *Serratia* obok *S. marcescens* trzy inne gatunki: *S. marinorubia*, *S. liquefaciens* i *S. plymuthica* [36]. Dopiero opublikowanie pracy poświęconej analizie sekwencji nukleotydowych kodujących 16S rRNA w roku 1990, pozwoliło uformować obecnie obowiązującą klasyfikację rodzaju obejmującą 10 gatunków: *S. grimesi*, *S. liquefaciens*, *S. proteamaculans*, *S. fonticola*, *S. plymutica*, *S. ficaria*, *S. entomophila*, *S. odorifera*, *S. marcescens*, *S. rubidaea* [19].

Wszystkie gatunki z wyjątkiem *S. fonticola* posiadają szereg wspólnych cech biochemicznych, które pozwalają na identyfikację i zaklasyfikowanie badanego drobnoustroju do odpowiedniego gatunku. Wybrane, istotne próby biochemiczne przedstawiono w Tabeli II.

Szczepy *S. fonticola* w sposób znaczący odbiegają profilem biochemicznym od pozostałych przedstawicieli rodzaju *Serratia*. W 1965 roku Leclerc i Buttiaux zaproponowali powstanie nowej grupy w obrębie rodziny *Enterobacteriaceae* obejmującej drobnoustroje biochemicznie podobne do rodzaju *Citrobacter*, ale na tyle wyróżniające się, że włączenie ich do jednego rodzaju byłoby niemożliwe. W tej grupie zwanej „*Citrobacter-like bacteria*” *S. fonticola* była obecna do roku 1979, w którym opublikowano wyniki hybrydyzacji DNA-DNA dokumentujące duże podobieństwo sekwencji DNA *S. fonticola* i pozostałych gatunków z rodzaju *Serratia* [29] (Tab. III).

Rodzaj *Serratia* zaliczany jest do względnie beztlenowych, Gram-ujemnych pałeczek z rodziny *Enterobacte-*

Tabela II  
Wybrane reakcje biochemiczne charakteryzujące gatunki z rodzaju *Serratia* [14, 19]

Reakcja / Cecha	<i>S. marcescens</i>	<i>S. entomophila</i>	<i>S. ficaria</i>	<i>S. fonticola</i>	<i>S. grimesi</i>	<i>S. liquefaciens</i>	<i>S. odorifera</i>	<i>S. plymuthica</i>	<i>S. proteamaculans</i>	<i>S. rubidaea</i>
Produkcja prodigiozyny	+/-	-	-	-	-	-	-	+/-	-	+
Zapach ziemniaczany	-	-	+	-	-	-	+	-	-	+/-
Wytwarzanie indolu	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Rozkład lizyny	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+/-
Rozkład ornityny	+	-	-	+	+	+	+/-	-	+	-
Rozkład argininy	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Hydroliza Tween 80	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
Wykorzystanie jako źródło węgla:										
L-arabinoza	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
D-arabitol	-	+/-	+	+	-	-	-	-	-	+
L-arabitol	+	+/-	+	+	-	-	+	-	-	-
Erytrytol	+/-	-	+	+	-	-	+/-	-	+/-	+
Maltitol	-	-	+	+/-	+	+/-	-	+	+	+
D-rafinoza	-	-	+	+	+	+	+/-	+	+	+
L-ramnoza	-	-	+	+	-	-	+	-	+/-	-
D-sorbitol	+	-	+	+	+	+	+	+/-	+/-	-
Ksylitom	+	-	+	+/-	-	-	+	-	-	+
D-ksyloza	-	+/-	+	+/-	+	+	+	+	+	+
Wzrost w temperaturze 5°C	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Wzrost w temperaturze 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+/-	+	+
Wzrost w temperaturze 40°C	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+/-
Wzrost w obecności 7% NaCl	+	+	+	+	+/-	+/-	+	+/-	+/-	+
Wzrost w obecności 8,5% NaCl	+/-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
Wzrost w obecności 10% NaCl	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+/-

Tabela III  
Cechy i reakcje różnicujące *S. fonticola* od pozostałych gatunków rodzaju *Serratia* [14, 19]

Cecha	Rodzaj <i>Serratia</i> z wyjątkiem <i>S. fonticola</i>	<i>S. fonticola</i>
1. Wykorzystanie jako jedynego źródła węgla maślan amonu	+	-
Kaprynian	+	-
Kapronian	+	-
Kaprylan	+	-
D-dulcytol	-	+
L-fukoza	+	-
propionian fenylu	-	+
Tagatoza	-	+
Tyrozyna	+	-
2. Próba Voges-Proskauer'a	+	-
3. Hydroliza żelatyny (żelatynaza)	+	-
4. Hydroliza maślanu (lipaza)	+	-
5. Deoksyrybonukleaza	+	-
6. Procentowa zawartość guaniny i cytozyny w DNA	52-60	49-52

*riaceae*. Ogólne cechy charakteryzujące rodzaj obejmują zdolność do ruchu drobnoustrojów przy pomocy wici, niewielkie wymagania pokarmowe oraz względnie szeroką tolerancję na zróżnicowaną temperaturę inkubacji wahającą się między +10°C a +36°C. Wszystkie szczepy z rodzaju *Serratia* wykazują dodatnie wyniki w próbach na obecność katalazy oraz fermentację glukozy.

### 2.1. Metody fenotypowania szczepów

Unikatowe cechy bakterii takie jak produkcja bakteriocyn, rozpoznawanie drobnoustrojów przez swoiste bakteriofagi oraz zróżnicowany i specyficzny profil antygenów, stanowią ważną cechę diagnostyczną wykorzystywaną w analizie fenotypowej szczepów. Wyniki poszukiwania artykułów naukowych dotyczących poszczególnych gatunków z rodzaju *Serratia* przedstawiono w tabeli IV.

Ponad 92% stanowiły abstrakty publikacji zawierające w dowolnym fragmencie hasło „*Serratia marcescens*”, tak więc szereg danych na temat rodzaju *Serratia*

Tabela IV  
Wyniki wyszukiwania haseł w abstraktowej bazie PubMed

Hasło	Liczba wyników
<i>Serratia marcescens</i>	6213
<i>Serratia entomophila</i>	32
<i>Serratia fonticola</i>	35
<i>Serratia ficaria</i>	19
<i>Serratia grimesii</i>	12
<i>Serratia liquefaciens</i>	240
<i>Serratia odorifera</i>	35
<i>Serratia plymuthica</i>	78
<i>Serratia proteamaculans</i>	51
<i>Serratia rubidaea</i>	35
	Σ = 6750

Dane na dzień 12.10.2011 r.

ogranicza się wyłącznie do informacji na temat gatunku *S. marcescens*. Takie jednostronne zainteresowanie prawdopodobnie jest uzasadnione izolacją szczepów ze środowiska szpitalnego, które podlegają stałej analizie i w konsekwencji stają się tematem publikacji.

*S. marcescens* z uwagi na dominację potencjalnych czynników chorobotwórczych, wśród klinicznych izolacji bakterii z rodzaju *Serratia*, posiada szczegółowy profil fenotypowy stanowiący podstawę charakterystyki szczepów, obecnie ustępujący miejsca genotypowaniu.

Podstawowy schemat serotypowania szczepów *S. marcescens* opiera się na różnicach w budowie antygeny O stanowiącego element cząsteczki lipopolisacharydu (LPS). Pierwsze prace poświęcone analizie antygenów O szczepów *S. marcescens* pojawiły się w latach sześćdziesiątych XX wieku [20]. Kolejne lata przyniosły doniesienie o identyfikacji nowych serotypów [36, 43, 92]. Obecny schemat opiera się na wykrywaniu 29 antygenów O [7].

Prowadzone badania wykazały szereg problemów związanych z walidacją metod oraz wskazywały na możliwość krzyżowych reakcji różnych antygenów O z jednym przeciwciałem, co uniemożliwiało prawidłową interpretację wyników. Najpoważniejsze trudności dotyczyły antygeny O14, bowiem uzyskana dla niego surowica odpornościowa dawała fałszywie dodatnie wyniki z antygenami O1, O6 i O12 [28]. Analiza oczyszczonej frakcji LPS szczepów o swoistych serotypach w wielu przypadkach ukazała obecność nie jednej, a dwóch powtarzających się jednostek oligosacharydowych o odmiennych własnościach chemicznych [7]. Pierwsza z nich wchodziła w skład cząsteczki polisacharydu o pH obojętnym, co jest typowe dla polisacharydów LPS. Druga jednostka oligosacharydowa miała charakter kwaśny, co wskazywało na pochodzenie otoczkowe. Weryfikacja hipotezy obejmowała w pierwszym etapie potwierdzenie obecności otoczki, a następnie wykonanie reakcji

pęcznienia otoczek (tzw. Quellung Reaction), która potwierdza pozytywną interakcję przeciwciał z antygenami otoczkowymi. Uzyskane dane pozwoliły opracować nowe, bardziej precyzyjne schematy identyfikacji antygenów O u *S. marcescens*, a także umożliwiły wdrożenie nowej procedury serotypowania z wykorzystaniem antygenów otoczkowych tzw. K-antygenów i łączenie obu schematów w jedno oznaczenie wykonywane w postaci testu ELISA [6]. Powyższy schemat serotypowania *S. marcescens* został wprowadzony do rutynowej diagnostyki w jednym z londyńskich szpitali pozwalając na scharakteryzowanie 98% szczepów w badanej kolekcji [5].

Metody opierające się na fagotypowaniu oraz analizie aktywności bakteriocyn zostały dobrze opisane w latach sześćdziesiątych i siedemdziesiątych XX wieku [24, 39, 70]. Od tego czasu praktycznie zaniechano wykorzystywania obu technik do charakterystyki szczepów *S. marcescens*, mimo iż mogłyby stanowić dodatkowy element dopełniający analizę drobnoustrojów izolowanych zarówno ze środowiska szpitalnego jak i ze środowiska naturalnego.

## 2.2. Metody genotypowania szczepów

Techniki fenotypowania stają się metodami przeszłości i ich znaczenie ulega systematycznie postępującej marginalizacji. Następuje dynamiczny rozwój metod genetycznych, które obecnie stanowią nieodłączny element każdego dochodzenia epidemiologicznego oraz każdej kompletnej charakterystyki klinicznych szczepów. Powszechne wykorzystanie metod genetycznych wynika przede wszystkim z dużej czułości, precyzji oraz szybkości wykonania.

Analiza polimorfizmu losowo zampifikowanych fragmentów DNA (RAPD – Random Amplified Polymorphic DNA) stanowi podstawową metodę genotypowania szczepów *S. marcescens*, stosowaną w celu wstępnej ich charakterystyki. W przypadku takich analiz projektowane primery liczą od 10 do 12 zasad z przewagą guaniny i cytozyny, co odpowiada typowej średniej zawartości zasad GC wynoszącej u szczepów *Serratia* od 52 do 60% [14].

Opisywano przypadki epidemii wywołanych przez jeden szczep *S. marcescens* w różnym czasie u wielu pacjentów, kiedy kosztowne i czasochłonne dochodzenie epidemiologiczne zostało ograniczone jedynie do wykorzystania metody RAPD potwierdzającej tożsamość profili wszystkich badanych izolatów [22]. Prowadzone dochodzenia epidemiologiczne na zróżnicowanych kolekcjach szczepów *S. marcescens* wykazują przydatność metody RAPD oraz potwierdzają możliwość rutynowego jej stosowania w warunkach szpitalnych [71, 78, 95, 97].

Badanie polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (RFLP – Restriction Fragment Length Polymor-



phism) jest kolejną metodą charakteryzującą genetyczne podobieństwo badanych szczepów. DNA użyty do przeprowadzenia analizy może być pochodzenia genomowego [76, 91] lub rybosomalnego [1, 72]. Do tej pory nie wykorzystano możliwości analizy RFLP dla DNA pochodzenia plazmidowego, mimo iż szczepy kliniczne *S. marcescens* posiadają liczne i różnorodne profile plazmidowe [3].

Metoda AFLP – Amplified Fragment Length Polymorphism jest modyfikacją metody RFLP. Cała analiza zostaje wzbogacona o reakcję PCR, którą prowadzi się po trawieniu enzymami restrykcyjnymi. Mimo stale ukazujących się doniesień naukowych wykorzystujących tę metodę do charakteryzacji szczepów z bardzo różnych gatunków, w obrębie rodzaju *Serratia* opublikowano zaledwie jedną oryginalną publikację, w której autorzy opierają się na analizie polimorfizmu długości amplifikowanych fragmentów DNA [13].

Ze wszystkich metod służących genotypowaniu drobnoustrojów, elektroforeza w zmienny polu elektrycznym (PFGE – Pulsed Field Gel Electrophoresis) najbardziej zrewolucjonizowała badania nad pokrewieństwa genomów. Elektroforeza pulsacyjna nadal pozostaje złotym standardem stosowanym w typowaniu szczepów bakteryjnych, także z rodzaju *Serratia*. Typowym enzymem restrykcyjnym stosowanym w badaniu jest rzadko tnący enzym SpeI, rozpoznający obszary sekwencji DNA o podwyższonej zawartości zasad AT. [27, 51, 81]. Alternatywa dla typowania szczepów *S. marcescens* przy użyciu elektroforezy pulsacyjnej została wskazana przez K r a c z y k i wsp. W badaniu prowadzonym na 88 klinicznych izolatach *S. marcescens* wykazano porównywalną sprawność dyskryminacyjną elektroforezy pulsacyjnej oraz nowej metody ADSRRS-fingerprinting (Amplification of DNA fragments Surrounding Rare Restriction Sites) opracowanej w Instytucie Biotechnologii i Antybiotyków w Warszawie [59]. Autorzy wskazali na bardzo zbliżone rezultaty uzyskane dzięki obu metodom z podkreśleniem większej prostoty i szybkości analizy w przypadku ADSRRS-fingerprinting [47]. Pomimo podjęcia prób zastąpienia metody PFGE, tańszymi i prostszymi rozwiązaniami w chwili obecnej nie widać alternatywy, która mogłaby odebrać dominującą pozycję elektroforezie pulsacyjnej, jako metodzie wzorcowej, ostatecznie potwierdzającej pokrewieństwo badanych izolatów.

### 3. Czynniki wirulencji – charakterystyka i zastosowanie w przemyśle farmaceutycznym

Czynniki wirulencji wytwarzane przez drobnoustroje przede wszystkim służą im jako narzędzia ułatwiające kolonizację komórek gospodarza. W przypadku rodzaju *Serratia* mamy do czynienia z szeregiem cech umożliwiających adaptację do trudnych warunków wzrostu

oraz ułatwiających kolonizację komórek gospodarza. Jednym z podstawowych mechanizmów regulujących produkcję różnych czynników wirulencji jest system porozumiewania się komórek tzw. „quorum sensing”. Rodzaj *Serratia* wykorzystuje przede wszystkim do tego celu cząsteczki AHL będące acetylowanymi pochodnymi laktonu homoseryny, które powszechnie pełnią funkcje „hormonów” bakterii Gram-ujemnych. Cząsteczki AHL wytwarzane są w sposób konstytutywny. Przy niewielkim zagęszczeniu komórek bakteryjnych, nowo powstałe cząsteczki AHL są wydalane na zewnątrz komórki. Wraz z zagęszczaniem się hodowli stężenie pochodnych laktonu homoseryny w otoczeniu bakterii jest na tyle duże, że część cząstek zawraca z powrotem do wnętrza komórki, w której wiąże się z białkiem regulatorowym R stymulującym transkrypcję wielu ważnych białek odpowiedzialnych za produkcję enzymów pozakomórkowych, czerwonego barwnika prodigiozyny, adhezję do różnych powierzchni, a także „wzbudzenie ruchowe” tzw. „swarming motility” [33, 79].

Mniej poznany system komunikacji drobnoustrojów z rodzaju *Serratia* opiera się o niskocząsteczkowy induktor zwany AI-2 (ang. Autoinducer-2). Liczba gatunków zarówno bakterii Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych, u których potwierdzono obecność AI-2 najprawdopodobniej świadczy o możliwości komunikacji pomiędzy drobnoustrojami różnych gatunków oraz rodzajów [93].

„Wzbudzenie ruchowe” lub „mrowienie” charakterystyczne dla szczepów *Serratia* sp. jest złożonym zjawiskiem zachodzącym w obrębie dojrzałych kolonii. Niesie ze sobą zmiany w morfologii kolonii, a także zmiany fizjologiczne zachodzące wewnątrz komórek drobnoustrojów. Aby proces „mrowienia” mógł zająć prawidłowo, komórki *S. marcescens* muszą skoordynować swoje działanie wykorzystując do tego celu szereg sygnałów. W pierwszym etapie w brzegowych rejonach kolonii, komórki bakteryjne ulegają różnicowaniu i z krótkich, ruchomych pałeczek przeistaczają się w wydłużone, rozlane komórki, które w skoordynowany sposób korzystając z wici przemieszczają się w kierunku zewnętrznym [42]. Cały proces musi odbywać się w sprzyjających warunkach środowiskowych. W laboratorium zjawisko „wzbudzenia ruchowego” obserwowane jest podczas inkubacji szczepów w temperaturze +30°C na podłożu z 0,8% agarozą. Jest to konsekwencja wzmożonej produkcji biosurfaktantu oraz wzmożonej aktywności wici [88].

Adhezja komórek bakterii do podłoża stanowi kluczowy etap zakażenia, który rozpoczyna kaskadę reakcji prowadzącą do kolonizacji danego gospodarza. Powszeczność występowania szczepów *S. marcescens* jest w dużej mierze uwarunkowana przez zdolność adhezji komórek bakterii zarówno do powierzchni ożywionych, jak i nieożywionych [50].

Skuteczność adhezji komórek *S. marcescens* zależy m.in. od obecności wici, fimbrii, białek zewnątrz-błonowych oraz systemu komunikacji „quorum sensing”. Bardzo często prowadzi to do wzrostu szczepów *S. marcescens* w formie biofilmu, który znacznie trudniej poddaje się działaniu antybiotyków i środków dezynfekcyjnych [86].

Właściwości hydrofobowe (CSH – Cell Surface Hydrophobicity) pałeczek z rodzaju *Serratia* zostały opisane w latach trzydziestych XX wieku [65]. Zaliczono je do niespecyficznych czynników adhezji, które ułatwiają kolonizację w obrębie dróg moczowych, szczególnie po wprowadzeniu cewnika oraz podczas stosowania soczewek kontaktowych [77]. Ponadto wykazano dodatni wpływ suboptymalnych stężeń antybiotyków stosowanych w leczeniu [54] oraz efektu poantybiotykowego [55] na właściwości hydrofobowe pałeczek *S. marcescens*.

Ostatnie badania prowadzone przez Lin i wsp. wskazują na istnienie szlaku trzech czynników RssAB-FlhDC-ShlBA, które odgrywają kluczową rolę w różnicowaniu się komórek i regulacji mechanizmów patogeny. Oprócz potencjalnych, niezidentyfikowanych mediatorów, znaczący wpływ na wspomniany szlak ma temperatura w jakiej przebywają drobnoustroje. W 37°C kinaza RssAB ulega aktywacji hamując czynnik FlhDC, który nie może zainicjować produkcji hemolizyny ShlA oraz zewnętrznego białka błonowego ShlB. Komórki *S. marcescens* stają się podatne na tworzenie biofilmu oraz obniżenie cytotoxycywności drobnoustrojów. Spadek temperatury do 30°C stymuluje wytwarzanie hemolizyny oraz powoduje różnicowanie się komórek i „wzbudzenie ruchowe”. W tym stanie komórki bakteryjne charakteryzuje wysoka inwazyjność oraz zjadliwość, która w ustroju gospodarza wywołuje aktywację układu odpornościowego, lisę erytrocytów oraz penetrację bakterii przez komórki nabłonkowe [52].

Wykazano kluczową rolę lipidu A lipopolisacharydu (LPS) *S. marcescens* w inicjacji procesu zapalenia płuc. Lipid A odpowiedzialny jest za indukcję syntezy TNF-alfa, IL-6 oraz tlenu azotu przez makrofagi, której wielkość zależy od stężenia lipidu-A *S. marcescens* w zakażonych tkankach [56].

Ważną i bardzo zróżnicowaną grupę czynników wirulencji stanowią pozakomórkowe enzymy wydzielane przez szczepy *S. marcescens*. Jest to cecha wyróżniająca rodzaj *Serratia* wśród wszystkich pałeczek *Enterobacteriaceae*. Zdolność wytwarzania pozakomórkowych enzymów jest jedną z cech diagnostycznych całego rodzaju oraz poszczególnych gatunków (z wyjątkiem *S. fonticola*) [14].

Do najważniejszych enzymów produkowanych przez *S. marcescens* zaliczane są: nukleaza, chitynazy, lipazy, żelatynazy, kazeinazy, proteazy, hemolizyny.

Endonukleaza syntetyzowana przez *S. marcescens* należy do najlepiej opisanych enzymów wytwarzanych

przez Gram-ujemne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* [17]. Posiada ona zdolność hydrolizy zarówno DNA jak i RNA. W naturze aktywny enzym występuje w postaci dimeru. Uzyskany doświadczalnie monomer endonukleazy *S. marcescens* posiada takie samo spektrum substratowe, choć badania kinetyki reakcji w warunkach wysokiego stężenia substratu oraz niskiego stężenia enzymu wskazują na sprawniejsze funkcjonowanie układu dimerycznego [17].

Rozkład chityny stanowi ważny element obiegu materii w przyrodzie, w którym szczepy *S. marcescens* odgrywają istotną rolę. Wytwarzanie enzymów z grupy chitynaz uaktywnia się pod wpływem obecności chityny w podłożu wzrostowym [15]. Na podstawie homologii sekwencji aminokwasowej, chitynazy dzielimy na dwie rodziny różniące się mechanizmem reakcji hydrolizy wiązań glikozydowych w cząsteczce chityny. Środowiskowe szczepy *S. marcescens* mogą wytwarzać w sumie 4 różne chitynazy (A, B, C1, C2) [90]. Zainteresowanie chitynazami *S. marcescens* wynika przede wszystkim z potencjału biotechnologicznego, jaki niesie pozyskanie narzędzi do rekultywacji materii nieprzyswajalnej m.in. po zakończonej fermentacji z udziałem grzybów [1].

Lipazy syntetyzowane przez *S. marcescens* jako czynniki ułatwiające penetrację błon białkowo-lipidowych komórek gospodarza, w ostatnich latach znalazły szerokie zastosowanie w naukach farmaceutycznych. Dzięki zdolności do stereoselektywnej hydrolizy wiązań estrowych, lipazy *S. marcescens* stały się tanią i wydajną alternatywą dla produkcji chiralnych substancji leczniczych takich jak flurbiprofen [49], czy diltiazem [26].

Kliniczne szczepy *S. marcescens* mają zdolność produkcji szeregu proteaz, które w bardzo różny sposób ułatwiają kolonizację komórek gospodarza. Jednym z ważnych przykładów jest enzym po raz pierwszy wykryty w szczepie *Serratia* 56K. Proteaza 56K posiada zdolność inicjacji kaskady powstawania czynników zapalnych. Efektem działania tego enzymu była nadprodukcja bradykinin oraz wzrost przepuszczalności naczyń krwionośnych, co skutkowało zainicjowaniem reakcji zapalnej, a także umożliwiło komórkom drobnoustrojów lepszą penetrację tkanek gospodarza [63].

Obecnie prowadzone badania nad enzymami proteolitycznymi *S. marcescens* koncentrują się wokół potencjalnego zastosowania w przemyśle m.in. w katalizie organicznej, w której wykorzystywano aktywność enzymu proteolitycznego stabilnego i aktywnego w rozpuszczalniku organicznym [58].

U *S. marcescens* zidentyfikowano i opisano dwa rodzaje hemolizyn. Pierwszą grupę stanowią toksyny zwiększające przepuszczalność błon komórkowych. Hemolizyna ShlA wykazuje działania hemolityczne i cytotoxycywność na komórki erytrocytów a także wyzwała syntezę czynników prozapalnych w komórkach nabłonkowych, zwiększając inwazyjność szczepu [52]. Druga grupa

hemolizyn zaliczana jest do toksyn o aktywności fosfolipazy-A. Mechanizm działania polega na degradacji cząsteczek fosfolipidów błony komórkowej erytrocytów. Hemolizyna PlaA została zidentyfikowana po raz pierwszy u *S. liquefaciens* [32], a hemolizyna PhIA opisana u *S. marcescens* [87].

#### 4. Chorobotwórczość

*S. marcescens* początkowo uważana była za niegroźny drobnoustroj saprofityczny zasiedlający głównie środowisko wodne. Pierwsze udokumentowane przypadki zakażeń u ludzi stwierdzono na terenie Wielkiej Brytanii na początku XX wieku. Od tego czasu notowano kolejne doniesienia o infekcjach dróg moczowych, wsierdza, zapaleniach opon mózgowych oraz sepsie [8]. Pierwsza potwierdzona epidemia szpitalna *S. marcescens* została spowodowana niedokładnie umyтыми nebulizatorami. Na terenie opisanego oddziału w ciągu dwóch miesięcy zanotowano siedmiokrotny wzrost częstości izolacji *S. marcescens* [82]. Już wtedy autorzy dostrzegali pilną potrzebę uznania *S. marcescens* za patogen człowieka mogący wywoływać poważne zakażenia prowadzące do zgonów.

Obecnie *S. marcescens* bezsprzecznie jest zaliczana do drobnoustrojów wywołujących oportunistyczne zakażenia u ludzi, szczególnie w przypadkach obniżonej odporności, wielokierunkowej antybiotykoterapii, zwłaszcza u noworodków i małych dzieci [4, 16].

Ostatnie dziesięć lat wskazuje na wyraźne nasilenie się problemu zakażeń szpitalnych wywołanych przez *S. marcescens* w oddziałach neonatologicznych i pediatrycznych. W zależności od badanego ośrodka, izolaty *S. marcescens* stanowią od 5 do 16% zakażeń szpitalnych wśród noworodków i niemowląt [25, 35]. W Polsce odsetek zakażeń *S. marcescens* znacznie odbiega od danych europejskich. Szacunkowe dane uzyskane z warszawskich szpitali pediatrycznych mówią o maksymalnie kilku izolacjach *S. marcescens* w ciągu roku, co najprawdopodobniej wynika z wysokich standardów opieki oraz wyszkolenia personelu pracującego w tych placówkach. Światowe doniesienia koncentrują się głównie na opisach przypadków zakażeń będących konsekwencją niedopełnienia procedur sanitarnych, głównie związanych z nieprawidłową higieną i dezynfekcją rąk oraz niestosowaniem rękawic ochronnych przez personel medyczny [57]. Szybko postępujący przebieg zakażenia i wysoka śmiertelność sięgająca prawie 50% wskazują na konieczność stałego monitorowania zakażeń wywołanych przez szczepy *S. marcescens* na oddziałach noworodkowych i pediatrycznych [95], mimo iż w Polsce *S. marcescens* nie jest zaliczana do grupy drobnoustrojów alarmowych.

Jedną z przyczyn epidemii są zanieczyszczone przez drobnoustroje chorobotwórcze produkty lecznicze podawane drogą dożylną np.: epidemia zakażeń

pałeczkami *S. marcescens* spowodowana zanieczyszczonymi roztworami heparyny oraz soli fizjologicznej, dopuszczonymi do obrotu na terenie Stanów Zjednoczonych [12]. Od 3 października 2007 roku do 3 stycznia 2008 roku zgłoszono do amerykańskiego Centrum Zapobiegania i Zwalczenia Chorób (CDC – Centers for Disease Control and Prevention) 162 przypadki izolacji *S. marcescens* z posiewów krwi. Dochodzenie epidemiologiczne potwierdziło błędną procedurę przygotowania jałowych leków przez firmę farmaceutyczną na etapie produkcji przemysłowej. Większość opisywanych przypadków dotyczy zaniedbań i braku wyszkolenia personelu będącego ostatnim ogniwem, przygotowującym i podającym lek pacjentowi. Przykładem są powtarzające się przypadki epidemii wywołanych podaniem skażonego propofolu [42, 66]. Przyczyną były błędne procedury, które umożliwiały podział preparatów jednodawkowych zawierających propofol, co doprowadziło do kontaminacji leku.

#### 5. Oporność na antybiotyki

*S. marcescens* zaliczana jest do drobnoustrojów opornych na liczne grupy antybiotyków. Źródłem wysokiej oporności szczepów są geny zlokalizowane zarówno w chromosomie bakteryjnym jak i w ruchomych elementach genetycznych. Antybiotyki  $\beta$ -laktamowe są często lekami pierwszego rzutu w leczeniu zakażeń wywołanych przez pałeczki Gram-ujemne z rodziny *Enterobacteriaceae*.

Problem stosowania antybiotyków  $\beta$ -laktamowych w zakażeniach *S. marcescens* wynika z coraz częstszej obecności kodowanych chromosomalnie  $\beta$ -laktamaz klasy C w badanych szczepach. W warunkach naturalnych, ekspresja genu *ampC* u szczepów *S. marcescens* jest zwykle minimalna. Dopiero w obecności induktorów takich jak cefazolina, amoksycylina, kwas klawulanowy następuje derepresja *ampC* i szybki wzrost stężenia cefalosporynazy w komórce bakterii. Obecność *ampC* warunkuje wysoką oporność na wszystkie penicyliny, cefalosporyny pierwszej, drugiej i trzeciej generacji, aztreonam oraz brak wrażliwości na inhibitory  $\beta$ -laktamaz takie jak sulbaktam czy kwas klawulanowy.

Nieodpowiednie użycie antybiotyków  $\beta$ -laktamowych może grozić selekcją mutantów z naturalnie wysoką ekspresją genu *ampC*. Leczenie jest trudne i wymaga indywidualnego podejścia. Antybiotykami o udowodnionej skuteczności przeciwko szczepom *S. marcescens ampC*-dodatnim są: cefepim oraz karbapenemy [74], jednakże obniżona przepuszczalność błony komórkowej bakterii może znacznie obniżyć skuteczność terapeutyczną tych leków [89].

Ciekawym i unikatowym zjawiskiem spotykanym u rodzaju *Serratia* jest nieproporcjonalnie długi obszar



niepodlegający translacji (tzw. 5'-UTR) poprzedzający sekwencję mRNA kodującą właściwe geny *ampC*. Dowiedziono, że jest on odpowiedzialny za utworzenie drugorzędowej struktury typu „spinka do włosów”, która znacznie wydłuża okres półtrwania transkryptu, umożliwiając tym samym efektywniejszą produkcję białka [53].

Enzymy typu ESBL ( $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym) u szczepów *S. marcescens* są powszechnie wykrywane w ramach rutynowej diagnostyki szpitalnej. Częstość izolowania szczepów *S. marcescens* ESBL-dodatnich na terenie Polski jest zróżnicowana i wynosi od poniżej 20% [71], przez około 50% [93], do ponad 70% [24, 63] w zależności od miejsca i czasu izolacji, a także metody identyfikacji fenotypu ESBL(+). Dominującą rolę odgrywa enzym ESBL zaliczany do typu CTX-M3, który jest typowy dla izolatów pałeczek *Enterobacteriaceae* z obszaru Europy Środkowej i Wschodniej.

Do chwili obecnej na terenie Polski nie opisano izolacji *S. marcescens* z genem oporności na karbapenemy. Rezerwuarem szczepów niosących geny oporności na karbapenemy jest kontynent Azjatycki, a w szczególności Korea, gdzie w 2005 roku ponad 60% szpitali odnotowało obecność szczepów niosących geny kodujące enzymy MBL (metalo- $\beta$ -laktamazy) [73]. U szczepów *S. marcescens* enzym IMP-1 należący do rodziny MBL został opisany w 1994 roku. Jego cechą charakterystyczną oprócz naturalnego braku wrażliwości na inhibitory  $\beta$ -laktamaz była zdolność przyłączania cząsteczki aztreonamu z jednoczesnym brakiem właściwości hydrolitycznych wobec cząsteczki tego antybiotyku [73]. Sześć lat później w szczepie *S. marcescens* znaleziono i scharakteryzowano kolejny wariant enzymu IMP nazwany IMP-2 [9].

Karbapenemazy serynowe obok enzymów typu MBL są identyfikowane u wielolekoopornych szczepów z rodzaju *Serratia*. Oprócz wykrywania szczepów niosących geny kodujące enzymy typu GES i KPC opisano rodzinę SME charakterystyczną jedynie dla szczepów *S. marcescens*. Pierwszy enzym SME-1 o szerokim spektrum hydrolizy antybiotyków  $\beta$ -laktamowych obejmującym penicyliny, cefalosporyny, karbapenemy i aztreonam opisano w 1982 roku w Londynie [100]. Analiza sekwencji nukleotydowej wykazała największe podobieństwo sekwencji kodującej SME-1 do karbapenemazy NMC-A zidentyfikowanej u szczepu *Enterobacter cloacae* NOR-1 [69]. W sekwencji aminokwasowej SME-1 zidentyfikowano wszystkie 5 aminokwasów, których położenie jest konserwowane dla enzymu kodowanego chromosomalnie. Doniesienie potwierdziła analiza sekwencji otaczającej otwartą ramkę odczytu genu *Sme-1*, która nie wykazała obecności żadnych sekwencji związanych z transpozonomami i innymi ruchomymi elementami genetycznymi [69].

W chwili obecnej znane są trzy różne enzymy SME (SME-1, SME-2 i SME-3), które charakteryzuje podobne,

szerokie spektrum substratowe. Różnice między poszczególnymi enzymami manifestowane są zmiennym powinowactwem do poszczególnych antybiotyków [80].

Wysoce niepokojącym zjawiskiem jest pojawienie się szczepów *S. marcescens* opornych na karbapenemy i jednocześnie nie posiadających genów oporności na te antybiotyki. Inną przyczyną oporności *S. marcescens* na karbapenemy może być synergiczny wpływ jednoczesnej obecności w komórce chromosomalnego genu *ampC* oraz braku błonowego białka OmpF. Jest to sytuacja wyjątkowa, gdyż dotychczasowe doniesienia wskazywały jedynie na udział plazmidowych genów *ampC* na możliwość powstania szczepu z rodziny *Enterobacteriaceae* opornego na karbapenemy. Wyniki uzyskane przez S u h i wsp. pokazują po raz pierwszy możliwość nabycia takiej oporności przez szczepy niosące geny *ampC* w chromosomie [89].

Antybiotyki aminoglikozydowe są ważną grupą leków stosowanych między innymi przy ciężkich, zagrażających życiu zakażeniach wywoływanych przez drobnoustroje Gram-ujemne. Oporność na aminoglikozydy szczepów *Serratia* może być związana z modyfikacją cząsteczki antybiotyku przez enzymy bakteryjne [46] oraz z aktywnym wypompowywaniem antybiotyków (efflux) [21]. Nowo odkryty enzym RmtB determinuje u *Serratia* oporność na liczną grupę antybiotyków aminoglikozydowych m.in. na kanamycynę, tobramycynę (szczególnie ważne w zakażeniach okulistycznych), amikacynę, arbekacynę, gentamycynę, sisomycynę oraz isepamicynę [21].

Szerokie spektrum oporności szczepów *S. marcescens* obejmuje także kolejną ważną terapeutycznie grupę leków przeciwbakteryjnych – fluorochinolonów. Podstawowymi mechanizmami oporności większości bakterii Gram-ujemnych, w tym szczepów *S. marcescens* są zmiany w obrębie gyrazy DNA oraz topoizomerazy IV stanowiące docelowe miejsca działania chemioterapeutyków oraz aktywne usuwanie cząsteczki fluorochinolonu przy udziale pomp błonowych [10].

Scharakteryzowano cztery typy pomp wśród szczepów *S. marcescens*. Największą rodzinę stanowią pompy typu RND (Resistance-Nodulation-Cell Division), które wykorzystując błonowy gradient protonów są zdolne do usuwania różnych grup antybiotyków i środków dezynfekcyjnych. Znane typy pomp występujące u szczepów *S. marcescens* zestawiono w Tabeli V.

Innym, niedawno poznany mechanizm oporności jest wytwarzanie białek PRP (Pentapeptide Repeat Proteins), które chroniąc mechanizm replikacyjny bakterii, nie dopuszczają cząsteczek fluorochinolonów do gyrazy DNA i topoizomerazy IV.

Tetracykliny stanowią dużą grupę antybiotyków, stosowanych powszechnie od dziesięcioleci. W niektórych rejonach (głównie na terenie Stanów Zjednoczonych Ameryki Północnej i Wielkiej Brytanii) oporność klinicznych szczepów *S. marcescens* na tetracykliny wyno-



Tabela V  
Typy pomp oraz zakres substratowy pomp zidentyfikowanych u *S. marcescens*

Pompy	Oporność na	Piśmiennictwo
RND-SdeAB	CIP, NOR, OFC, BET, CPH	[48], [11]
RND-SdeCDE	NOV	[10]
RND-SdeXY	TIG, TET, CPR, CIP	[19], [44]
SMR-SsmE	BET, AKF	[61]
MFS-SmfY	DAPI, NOR, CHB, AKF, BET	[85]
ABC-SmdAB	NOR, TET, DAPI	[59]

AKF – akryflawina, BET – bromek etyldyny, CHB – chlorek benzalkonium, CIP – cyprofloksacyna, CPH – chloramfenikol, CPR – cefpiron, DAPI – 4',6-diamidyno-2-fenylindol, OFC – ofloksacyna, NOR – norfloksacyna, NOV – nowobicycyna TET – tetracyklina, TIG – tigecyklina

siła nawet 97%, co eliminowało możliwość użycia tych antybiotyków [83].

Mimo iż obecnie wiele izolowanych szczepów *S. marcescens* wykazuje oporność na tertacykliny, bardzo niewiele wiadomo na temat genów determinujących tę oporność [31]. Podstawowym mechanizmem zidentyfikowanym u *S. marcescens* jest „efflux” [44] (Tab. V).

## 6. Podsumowanie

Bakterie z rodzaju *Serratia* stanowią dość słabo poznaną grupę drobnoustrojów z rodziny *Enterobacteriaceae*. Częste zmiany w systematyce oraz bezsporna przewaga gatunku *S. marcescens* wśród izolatów z materiału klinicznego w porównaniu do innych gatunków *Serratia* są powodem prowadzenia praktycznie jednostronnych badań skupionych wokół „pałeczki krwawej”.

*S. marcescens* jest drobnoustrojem powszechnie spotykanym w środowisku naturalnym oraz izolowanym od chorych. Szczególne grupy ryzyka narażone na zakażenia oportunistyczne wywoływane przez *S. marcescens* to osoby z obniżoną odpornością, noworodki a także osoby w podeszłym wieku. Szereg czynników wirulencji oraz mechanizmów oporności na antybiotyki umożliwia zjadliwym szczepom inwazję, oraz utrudnia podjęcie właściwych działań w celu poprawy zdrowia chorego.

Prowadzone badania nad mechanizmami oporności na antybiotyki pozwalają na lepszą charakterystykę izolowanych szczepów i podjęcie bardziej skutecznych działań na rzecz ograniczenia zjawiska narastania oporności na antybiotyki.

## Piśmiennictwo

- Ahmad K.M., Hamid R., Ahmad M., Abdin M.Z., Javed S.: Optimization of culture media for enhanced chitinase production from a novel strain of *Stenotrophomonas maltophilia* using response surface methodology. *J. Microbiol. Biotech.* **20**, 1597–1602 (2010)

- Alonso R., Aucken H.M., Perez-Diaz J.C., Cookson B.D., Baquero F., Pitt T.L.: Comparison of serotype, biotype and bacteriocin type with rDNA RFLP patterns for the type identification of *Serratia marcescens*. *Epidem. Infect.* **111**, 99–107 (1993)
- Alvarez J.S., Regueiro B.: R plasmids from clinical isolates of *Serratia marcescens*. *J. Hosp. Infect.* **1**, 133–139 (1980)
- Arslan U., Erayman I., Kirdar S., Yuksekkaya S., Cimen O., Tuncer I., Bozdogan B.: *Serratia marcescens* sepsis outbreak in a neonatal intensive care unit. *Ped. Internat.* **52**, 208–212 (2010)
- Aucken H.M., Pitt T.L.: Antibiotic resistance and putative virulence factors of *Serratia marcescens* with respect to O and K serotypes. *J. Med. Microbiol.* **47**, 1105–1113 (1998)
- Aucken H. M., Wilkinson S. G., Pitt T. L.: Identification of capsular antigens in *Serratia marcescens*. *J. Clin. Microbiol.* **35**, 59–63 (1997)
- Aucken H.M., Wilkinson S.G., Pitt T.L.: Re-evaluation of the serotype of *Serratia marcescens* and separation into two schemes based on lipopolysaccharide (O) and capsular polysaccharide (K) antigen. *Microbiol.* **144**, 639–653 (1998)
- Barnaum D.A., Thackeray E.L., Fish N.A.: An outbreak of mastitis caused by *Serratia marcescens*. *Can. J. Compar. Med. Vet. Sci.* **22**, 392–395 (1958)
- Shibata N.: *Serratia marcescens* blaIMP-2 gene for metallo-beta-lactamase IMP-2, complete cds. NCBI Gene Bank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>), Acc. No: AB182996
- Begik S., Worobec E.A.: Characterization of the *Serratia marcescens* SdeCDE multidrug efflux pump studied via gene knockout mutagenesis. *Can. J. Microbiol.* **54**, 411–416 (2008)
- Begik S., Worobec E.A.: The role of the *Serratia marcescens* SdeAB multidrug efflux pump and TolC homologue in fluoroquinolone resistance studied via gene-knockout mutagenesis. *Microbiol.* **154**, 454–461 (2008)
- Blossom D., Noble-Wang J., Su J., Pur S., Chernaly R., Shams A., Jensen B., Pascoe N., Gullion J., Casey E., Hayden M., Arduino M., Dudnitz D.S., Raad I., Trenholme G., Srinivasan A.: Multistate outbreak of *Serratia marcescens* bloodstream infections caused by contamination of prefilled heparin and isotonic sodium chloride solution syringes. *Arch. Inter. Med.* **169**, 1705–1711 (2009)
- Boer M.G.J., Brunsveld-Reinders A.H., Salomons E.M.A., Dijkshoorn L., Bernards A. T., Van Den Berg P.C.M., Van Den Broek P.J.: Multifactorial origin of high incidence of *Serratia marcescens* in a cardio-thoracic ICU: Analysis of risk factors and epidemiological characteristics. *J. Infect.* **56**, 446–454 (2008)
- Brenner D.J., Krieg N.R., Staley J.T. (red.): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Wyd. Springer, New York (2005), Tom II, część B, str. 799–811
- Brurberg M.B., Eijsink V.G.H., Haandrikman A.J., Venema G., Nes I.F.: Chitinase B from *Serratia marcescens* BJLZOO is exported to the periplasm without processing. *Microbiol.* **141**, 123–131 (1995)
- Buffet-Bataillon S., Rabier V., Betremieux P., Beuchee A., Bauer M., Pladys P., Le Gall E., Cormier M., Jolivet-Gougeon A.: Outbreak of *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: contaminated unmedicated liquid soap and risk factors. *J. Hosp. Infect.* **72**, 17–22 (2009)
- Chen C., Krause K., Pettitt B.M.: Advantage of being a dimer for *Serratia marcescens* endonuclease? *J. Phys. Chem. B*, **113**, 511–521 (2009)
- Chen J., Kuroda T., Huda M.N., Mizushima T., Tsuchiya T.: An RND-type multidrug efflux pump SdeXY from *Serratia marcescens*. *J. Antimicrob. Chemother.* **52**, 176–179 (2003)
- Dauga C., Grimont F., Grimont P.A.D.: Nucleotide sequences of 16S rRNA from ten *Serratia* species. *Res. Microbiol.* **141**, 1139–1149 (1990)

20. Davis B.R., Woodward J.M.: Some relationships of the somatic antigens of a group of *Serratia marcescens* cultures. *Can. J. Microbiol.* **3**, 591–597 (1957)
21. Doi Y., Yokoyama K., Yamana K., Wachino J., Shibata N., Yagi T., Shibayama K., Kato H., Arakawa Y.: Plasmid-Mediated 16S rRNA methylase in *Serratia marcescens* conferring high-level resistance to aminoglycosides. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 491–496 (2004)
22. Dundar D., Meric M., Vahaboglu H., Willke A.: Pseudo-outbreak of *Serratia marcescens* in a tertiary care hospital. *New Microbiol.* **32**, 273–276 (2009)
23. Empel J., Baraniak A., Literacka E., Mrówka A., Fiett J., Sadowy E., Hryniewicz W., Gniadkowski M., Beta-PL Study Group: Molecular survey of  $\beta$ -lactamases conferring resistance to newer  $\beta$ -lactams in *Enterobacteriaceae* isolates from Polish hospitals. *Antimicrob. Agents Chemother.* **52**, 2449–2454 (2008)
24. Farmer F.F.: Epidemiological differentiation of *Serratia marcescens*: Typing by bacteriocin sensitivity. *Appl. Microbiol.* **23**, 226–231 (1972)
25. Foglia E.E., Fraser V.J., Elward A.M.: Effect of nosocomial infections due to antibiotic-resistant organisms on length of stay and mortality in the pediatric intensive care unit. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **28**, 299–306 (2007)
26. Gao L., Xu J.-H., Li X.-J., Liu Z.-Z.: Optimization of *Serratia marcescens* lipase production for enantioselective hydrolysis of 3-phenylglycidic acid ester. *J. Industr. Microbiol. Biotech.* **31**, 525–530 (2004)
27. Garza-Gonzalez E., Mendoza-Ibarra S.I., Liaca-Diaz J.M., Gonzalez G.M.: Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase producing *Enterobacteriaceae* isolates at a tertiary-care centre in Monterrey, Mexico. *J. Med. Microbiol.* **60**, 84–90 (2011)
28. Gaston M.A., Pitt T.L.: O-antigen specificities of the serotype strains of *Serratia marcescens*. *J. Clin. Microbiol.* **27**, 2697–2701 (1989)
29. Gavini F., Ferragut C., Izard D., Trinel P.A., Leclerc H., Levebvre B., Mossel D.A.A.: *Serratia fonticola*, a new species from water. *Int. J. System. Bacteriol.* **29**, 92–101 (1979)
30. Gerber N.N.: Prodigiosin-like pigments. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* **3**, 469–785 (1975)
31. Gilmour M.W., Thomson N.R., Sanders M., Parkhill J., Taylor D.E.: The complete nucleotide sequence of the resistance plasmid R478: defining the backbone components of incompatibility group H conjugative plasmids through comparative genomics. *Plasmid*, **52**, 182–202 (2004)
32. Giri A., Anandkumar N., Muthukumaran G., Pennathur G.: A novel medium for the enhanced cell growth and production of prodigiosin from *Serratia marcescens* isolated from soil. *BMC Microbiol.* **4**, 1–10 (2004)
33. Gospodarek E., Bogiel T., Zalas-Więcek P.: Communication between microorganisms as a basis for production of virulence factors. *Polish J. Microbiol.* **58**, 191–198 (2009)
34. Graham P.L., Begg M.D., Larson E., Della-Latta P., Allen A., Saiman L.: Risk factors for late onset gram-negative sepsis in low birth weight infants hospitalized in the neonatal intensive care unit. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **25**, 113–117 (2006)
35. Givscov M., Olsen L., Molin S.: Cloning and expression in *Escherichia coli* of the gene for extracellular phospholipase A1 from *Serratia liquefaciens*. *J. Bacteriol.* **170**, 5855–5862 (1988)
36. Grimont P.A.D., Grimont F., Dulong de Rosnay H.L.C.: Taxonomy of the genus *Serratia*. *J. Gen. Microbiol.* **98**, 39–66 (1977)
37. Grimont P.A.D., Grimont F., Le Minor S., Davis B., Pigache F.: Compatible results obtained from biotyping and serotyping in *Serratia marcescens*. *J. Clin. Microbiol.* **10**, 425–432 (1979)
38. Haddix P.L., Werner T.F.: Spectrofotometric assay of gene expression: *Serratia marcescens* pigmentation. *Bioscience*, **26**, 3–13 (2000)
39. Hamilton R.L., Brown W.J.: Bacteriophage typing of clinically isolated *Serratia marcescens*. *Appl. Microbiol.* **24**, 899–906 (1972)
40. Han S.B., Park S.H., Jeon Y.J., Kim Y.K., Kim H.M., Yang K.H.: Prodigiosin blocks T-cell activation by inhibiting interleukin 2Ra expression and delays progression of autoimmune diabetes and collagen – induced arthritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **299**, 415–425 (2001)
41. Harshley R.M.: Bacterial motility on a surface: many ways to a common goal. *Ann. Rev. Microbiol.* **57**, 249–273 (2003)
42. Henry B., Plante-Jenkins C., Ostrowska K.: An outbreak of *Serratia marcescens* associated with the anesthetic agent propofol. *Am. J. Inf. Contr.* **29**, 312–315 (2001)
43. Holst O., Aucken H.M., Seltmann G.: Structural and serological characterisation of the O-specific polysaccharide of the lipopolysaccharide from proposed new serotype 029 of *Serratia marcescens*. *J. Endotox. Res.* **4**, 215–220 (1997)
44. Hornsey M., Ellington M.J., Doumith M., Hudson S., Livermore D.M., Woodford N.: Tigecycline resistance in *Serratia marcescens* associated with up-regulation of the SdeXY-HasF efflux system also active against ciprofloxacin and cefpirome. *J. Antimicrob. Chemother.* **65**, 479–482 (2010)
45. Khanafari A., Assadi M.M., Fakhr F.A.: Review of prodigiosin, pigmentation in *Serratia marcescens*. *J. Biol. Sci.* **6**, 1–13 (2006)
46. Kim C., Hesk D., Zajicek J., Vaculenko S.B., Mobashery S., Characterization of the bifunctional aminoglycoside-modifying enzyme ANT(3'')-Ii/AAC(6'')-IId from *Serratia marcescens*. *Biochemistry*, **45**, 8367–8377 (2006)
47. Krawczyk B., Naumiuk Ł., Lewandowski K., Baraniak A., Gniadkowski M., Samet A., Kur J.: Evaluation and comparison of random amplification of polymorphic DNA, Pulsed-Field-Gel Electrophoresis and ADSRRS-fingerprinting for typing *Serratia marcescens* outbreaks. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **38**, 241–248 (2003)
48. Kumar A., Worobec E.A.: Cloning, sequencing, and characterization of the SdeAB multidrug efflux pump of *Serratia marcescens*. *Antimicrob. Agents Chemother.* **49**, 1495–1501 (2005)
49. Kwang-Woo L., Bae H.-A., Lee Y.-H.: Molecular cloning and functional expression of *esf* gene encoding enantioselective lipase from *Serratia marcescens* ES-2 for kinetic resolution of optically active (S)-flurbiprofen. *J. Microbiol. Biotech.* **17**, 74–80 (2007)
50. Labbate M., Zhu H., Thung L., Bandara R., Larsen M.R., Willcox M., Givskov M., Rice S.A., Kjelleberg S.: Quorum-sensing regulation of adhesion in *Serratia marcescens* MG1 is surface dependent. *J. Bacteriol.* **189**, 2702–2711 (2007)
51. Ligozzi M., Fontana R., Aldegheri M., Scalet G., Cascio G.L.: Comparative evaluation of an Automated Repetitive-Sequence-Based PCR instrument versus Pulsed-Field Gel Electrophoresis in the setting of a *Serratia marcescens* nosocomial infection outbreak. *J. Clin. Microbiol.* **48**, 1690–1695 (2010)
52. Lin C.-S., Horng J.-T., Yang C.-H., Tsai Y.-H., Su L.-H., Wie C.-F., Chen C.-C., Hsieh S.-C., Lu C.-C., Lai H.-C.: RssAB-FlhDC-ShlBA as a major pathogenesis pathway in *Serratia marcescens*. *Infect. Immun.* **78**, 4870–4881 (2010)
53. Mahlen S.D., Morrow S.S., Abdalhamid B., Hanson N.D.: Analyses of AmpC gene expression in *Serratia marcescens* reveal new regulatory properties. *J. Antimicrob. Chemother.* **51**, 791–802 (2003)
54. Majtan V., Majtanova L.: Effect of subinhibitory concentration of quinolones on hydrophobicity and motility of *Serratia marcescens*. *Microbios*, **102**, 79–88 (2000)

55. Majtanova L., Majtan V.: Postantibiotic effects of gentamycin and netilmycin on *Serratia marcescens*: Effects on hydrophobicity and motility. *Folia Microbiol.* **45**, 45–49 (2000)
56. Makimura Y., Asai Y., Ogawa S., Ogawa T.: Chemical structure and immunobiological activity of lipid A from *Serratia marcescens* LPS. *J. Med. Microbiol.* **56**, 1440–1446 (2007)
57. Manning M.L., Archibald L.K., Bell L.M., Banerjee S.N., Jarvis W.R.: *Serratia marcescens* transmission in a pediatric intensive care unit: a multifactorial occurrence. *Am. J. Infect. Contr.* **29**, 115–119 (2001)
58. Mao-Hua W., Wu B., Ren W., He B.F.: Screening, characterization and cloning of a solvent-tolerant protease from *Serratia marcescens* MH6. *J. Microbiol. Biotech.* **20**, 881–888 (2010)
59. Masny A., Plucienniczak A.: Fingerprinting of bacterial genomes by amplification of DNA fragments surrounding rare restriction sites. *BioTechniques*, **31**, 930–936 (2001)
60. Matsuo T., Chen J., Minato Y., Ogawa W., Mizushima T., Kuroda T., Tsuchiya T.: SmdAB, a heterodimeric ABC-type multidrug efflux pump, in *Serratia marcescens*. *J. Bacteriol.* **190**, 648–654 (2008)
61. Minato Y., Shahcheraghi F., Ogawa W., Kuroda T., Tsuchiya T.: Functional gene cloning and characterization of the SsmE multidrug efflux pump from *Serratia marcescens*. *Biol. Pharm. Bull.* **31**, 516–519 (2008)
62. Młynarczyk A., Szymanek K., Sawicka-Grzelak A., Pazik J., Buczkowska T., Durlik M., Lagiewska B., Pacholczyk M., Chmura A., Pączek L., Młynarczyk G.: CTX-M and TEM as predominant types of extended spectrum beta-lactamases among *Serratia marcescens* isolated from solid organ recipients. *Transplant. Proc.* **41**, 3253–3255 (2009)
63. Molla A., Matsumoto K., Oyamada I., Katsuki T., Maeda H.: Degradation of protease inhibitors, immunoglobulins, and other serum proteins by *Serratia* protease and its toxicity to fibroblasts in culture. *Infect. Immun.* **53**, 522–529 (1986)
64. Montaner B., Navarro S., Pique M., Vilaseca M., Martinell M., Giral E., Gil J., Perez-Tomas R.: Prodigiosin from the supernatant of *Serratia marcescens* induces apoptosis in haematopoietic cancer cell lines. *Brit. J. Pharmac.* **131**, 585–593 (2000)
65. Mudd S., Mudd E.: The penetration of bacteria through capillary spaces. *J. Exp. Med.* **40**, 633–645 (1924)
66. Muller A.E., Huisman I., Roos P.J., Rietveld A.P., Klein J., Harbers J.B.M., Dorresteyn J.J., Steenbergen J.E., Vos M.C.: Outbreak of severe sepsis due to contaminated propofol: lesson to learn. *J. Hosp. Infect.* **76**, 225–230 (2010)
67. Munford R.S.: Sensing Gram-negative bacterial lipopolysaccharides: a human disease determinant? *Infect. Immun.* **76**, 454–464 (2008)
68. Naas T., Vandel L., Sougakoff W., Livermore D.M., Nordmann P.: Cloning and sequence analysis of the gene for a carbapenem-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamase, Sme-1, from *Serratia marcescens* S6. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**, 1262–1270 (1994)
69. Nasu M.: Bacteriocin (marcescin) typing of clinically isolated *Serratia marcescens*. *Tohoku J. Exper. Med.* **133**, 33–43 (1981)
70. Naumiuk Ł., Baraniak A., Gniadkowski M., Krawczyk B., Rybak B., Sadowy E., Samet A., Kur J.: Molecular epidemiology of *Serratia marcescens* in two hospitals in Danzig, Poland, over a 5-year period. *J. Clin. Microbiol.* **42**, 3108–3116 (2004)
71. Okhravi N., Adamson P., Matheson M.M., Towler H.M.A., Lightman S.: PCR-RFLP mediated detection and speciation of bacterial species causing *Endophthalmitis*. *Investig. Ophthalm. Visual Sci.* **41**, 1438–1447 (2000)
72. Osmo E., Arakawa Y., Wacharotayankun R., Ohta M., Horii T., Ito H., Yoshimura F., Kato N.: Molecular characterization of an enterobacterial metallo- $\beta$ -lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* **38**, 71–78 (1994)
73. Pai H., Kang C.I., Byeon J.H., Lee K.D., Park W.B., Kim H.B., Kim E.C., Oh M.D., Choe K.W.: Epidemiology and clinical features of bloodstream infections caused by AmpC-type  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **48**, 3720–3728 (2004)
74. Park Y.J., Yu J.K., Lee S., Oh Eun-Jee, Woo Gun-Jo: Prevalence and diversity of *qnr* alleles in Amp-C-producing *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii* and *Serratia marcescens*: a multicentre study from Korea. *J. Antimicrob. Chemother.* **60**, 868–871 (2007)
75. Parvaz P., Tille D., Meugnier H., Perraud M., Chevallier P., Ritter J., Fabry J., Sepetjan M.: A rapid and easy PCR-RFLP method for genotyping *Serratia marcescens* strains isolated in different hospital outbreaks and patient environments in the Lyon area, France. *J. Hosp. Infect.* **51**, 96–105 (2002)
76. Pinna A., Zanetti S., Sechi L.A., Carta F.: *In vitro* adherence of *S. epidermidis*, *S. marcescens* and *P. aeruginosa* to AcrylSof intraocular lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* **31**, 2430–2431 (2005)
77. Polyzou A., Sofianou D., Pournaras S., Tsakris A.: RAPD-fingerprinting of *Serratia marcescens* after formaldehyde inactivation of DNase activity. *Lett. Appl. Microbiol.* **30**, 419–421 (2000)
78. Poulter S., Carlton T.M., Spring D.R., Salmond G.P.: The *Serratia* LuxR family regulator CarR<sub>3906</sub> activates transcription independently of cognate quorum sensing signals. *Mol. Microbiol.* **80**, 1120–1131 (2011)
79. Queenan A.M., Shang W., Schreckenberger P., Lolans K., Bush K., Quinn J.: SME-3, a novel member of the *Serratia marcescens* SME family of carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* **50**, 3485–3487 (2006)
80. Rabier V., Bataillon S., Jolivet-Gougeon A., Chaplain J.M., Beuchee A., Betremieux P.: Hand washing soap as a source of neonatal *Serratia marcescens* outbreak. *Acta Paediatr.* **97**, 1381–1385 (2008)
81. Ringrose R.E., Mckown B., Felton F.G., Barclay B.O., Muchmore H.G., Rhoades E.R.: A hospital outbreak of *Serratia marcescens* associated with ultrasonic nebulizers. *Annals Internal Med.* **69**, 719–729 (1968)
82. Sabath L.D.: Current concepts: drug resistance of bacteria. *New Engl. J. Med.* **280**, 91–94 (1969)
83. Sehdev P.S., Donnenberg M.S.: Answer to Arcanum. *Clin. Infect. Dis.* **29**, 925 (1999)
84. Shahcheraghi F., Minato Y., Chen J., Mizushima T., Ogawa W., Kuroda T., Tsuchiya T.: Molecular cloning and characterization of a multidrug efflux pump, SsmY, from *Serratia marcescens*. *Biolog. Pharm. Bulletin.* **30**, 798–800 (2007)
85. Shanks R.M.Q., Stella N.A., Kalivoda E.J., Doe M.R., O'Dee D.M., Lathrop K.L., Guo F.L., Nau G.J.: A *Serratia marcescens* OxyR homolog mediates surface attachment and biofilm formation. *J. Bacteriol.* **189**, 7262–7272 (2007)
86. Shimuta K., Ohnishi M., Iyoda S., Gotoh N., Koizumi N., Watanabe H.: The hemolytic and cytolytic activities of *Serratia marcescens* phospholipase A (PhlA) depend on lysophospholipid production by PhlA. *BMC Microbiol.* **9**, 261 (2009)
87. Soo P.-C., Wei J.-R., Horng Y.-T., Hsieh S.-C., Ho S.-W., Lai H.-C.: Characterization of the *dapA-nlpB* genetic locus involved in regulation of swarming motility, cell envelope architecture, hemolysin production, and cell attachment ability in *Serratia marcescens*. *Infect. Immun.* **73**, 6075–6084 (2005)
88. Suh B., Bae I.K., Kim J., Jeong S.H., Yong D., Lee K.: Outbreak of meropenem-resistant *Serratia marcescens* mediated by chromosomal AmpC  $\beta$ -lactamase overproduction and outer membrane protein loss. *Antimicrob. Agents Chemother.* **54**, 5057–5061 (2010)
89. Synstad B., Vaaje-Kolstad G., Cederkvist F.H., Saua S.F., Horn S.J., Eijsink V.G., Sorlie M.: Expression and characterization of



- endochitinase C from *Serratia marcescens* BJJ200 and its purification by one-Step general chitinase purification method. *Biosci. Biotech. Biochem.* **72**, 715–723 (2008)
90. Traub W.H., Eiden A., Leonhard B., Bauer D.: Typing of nosocomial strains of *Serratia marcescens*: comparison of restriction enzyme cleaved genomic DNA fragment (PFGE) analysis with bacteriocin typing, biochemical profiles and serotyping. *Zentralbl. Bakteriol.* **284**, 93–106 (1996)
  91. Traub W.H.: Serotyping of *Serratia marcescens*: detection of two new O-antigen (O25 and O26). *Int. J. Med. Microbiol.* **275**, 495–499 (1991)
  92. Ulatowska B., Czajkowski H., Gospodarek E., Mikucka A.: Występowanie  $\beta$ -laktamaz typu ESBL u pałeczek z rodziny *Serratia*. *Med. Dośw. Mikrobiol.* **52**, 17–24 (2000)
  93. Van Houdt R., Givskov M., Michiels C. W.: Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS Microbiol. Rev.* **31**, 407–424 (2007)
  94. Voelz A., Muller A., Gillien J., Le C., Dresbach T., Engelhart S., Exner M., Bates C. J., Simon A.: Outbreaks of *Serratia marcescens* in neonatal and pediatric intensive care units: Clinical aspects, risk factors and management. *Int. J. Hyg. Environ. Health*, **213**, 79–87 (2010)
  95. Vogel L., Jones G., Triep S., Koek A., Dijkshoorn L.: RAPD typing of *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates using standardized reagents. *Clin. Microbiol. Infect.* **5**, 270–276 (1999)
  96. Webster C.A., Towner K.J.: Use of RAPD-ALF analysis for investigating the frequency of bacterial cross-transmission in an adult intensive care unit. *J. Hosp. Infect.* **44**, 254–260 (2000)
  97. Williams R.P., Gott C.L., Qadri S.M.H., Scott R.H.: Influence of temperature of incubation and type of growth medium on pigmentation in *Serratia marcescens*. *J. Bacteriol.* **106**, 438–443 (1971)
  98. Williamson N.R., Fineran P.C., Leeper F.J., Salmond G.P.C.: The biosynthesis and regulation of bacterial prodiginines. *Nat. Rev. Microbiol.* **4**, 887–899 (2006)
  99. Wolska K.I., Grudniak A.M., Kraczkiewicz-Dowjat A., Kurek A.: Różnorodne funkcje wybranych pigmentów bakteryjnych. *Post. Mikrobiol.* **40**, 105–114 (2010)
  100. Yang Y.J., Wu P.J., Livermore D.M.: Biochemical characterization of a beta-lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* **34**, 755–758 (1990)