

## Wykorzystywanie ustrojowych źródeł żelaza przez bakterie *Desulfovibrio desulfuricans*

Utilization of host iron sources by bacteria  
*Desulfovibrio desulfuricans*

Marzena Jaworska-Kik<sup>1</sup>, Jolanta Lodowska<sup>2</sup>, Daniel Wolny<sup>1</sup>, Zofia Dzierżewicz<sup>1</sup>,  
Ludmiła Węglarz<sup>2</sup>

### STRESZCZENIE

Patogenność bakterii Gram-ujemnych jest uwarunkowana ich zdolnością pozyskiwania żelaza ze środowiska oraz rezerw zainfekowanego makroorganizmu. W tym celu bakterie syntetyzują siderofory, czyli układy chelatujące żelazo, które umożliwiają im wykorzystywanie jego hemowych i niehemowych źródeł ustrojowych, takich jak hemoglobina, mioglobina, ferrytyna, transferyna i laktoferyna. Dotychczas nie poznano ustrojowych źródeł żelaza wykorzystywanych przez bakterie *Desulfovibrio desulfuricans* (*D. desulfuricans*). Gatunek ten kolonizuje m.in. przewód pokarmowy człowieka, stanowiąc składnik fizjologicznej mikroflory jelita. Nie wyklucza się jednak udziału tych bakterii w etiopatogenezie niektórych schorzeń tego narządu, takich jak choroba Crohna czy wrzodziejące zapalenie jelita grubego. Celem podjętych badań była analiza możliwości wykorzystywania przez bakterie *D. desulfuricans* różnych ustrojowych źródeł żelaza.

Zamierzenie to realizowano oceniając po 48 godzinach hodowli liczbę kolonii wygłodzonych izolatów *D. desulfuricans* na pirogronianowej pożywce Postgate'a wzbogaconej o 1,5 mg/dm<sup>3</sup> określonego źródła żelaza (hemoglobiny i transferyny ludzkiej, hemoglobiny, transferyny, laktoferyny i heminy bydłczej, mioglobiny i cytochromu c końskiego). Hodowle kontrolną stanowiły bakterie namnażane się na podłożu z obniżoną ilością żelaza.

Większość izolatów *D. desulfuricans* (oprócz DV/B) pozyskiwała żelazo z różnych źródeł ustrojowych, przy czym stwierdzono ich międzyszczepowe zróżnicowanie wzrostu w obecności każdej z żelazoprotein i heminy. Najwolniej namnażał się glebowy izolat DSM 642 na podłożu zawierającym transferynę ludzką i bydłczą, nie wykorzystując żelaza zawartego w tym ustrojowym źródle. Wśród wszystkich badanych bakterii najintensywniej namnażały się dzikie szczepy DV/I i DV/I/1 na podłożach z końską mioglobina i cytochromem c oraz laktoferyną bydłczą oraz DV/H w obecności ludzkiej i bydłczej hemoglobiny.

<sup>1</sup> Katedra i Zakład Biofarmacji  
oraz <sup>2</sup> Katedra i Zakład Biochemii  
Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem  
Medycyny Laboratoryjnej  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach

### ADRES

#### DO KORESPONDENCJI:

Dr n. biol. Jolanta Lodowska  
Katedra i Zakład Biochemii  
Wydziału Farmaceutycznego z Oddziałem  
Medycyny Laboratoryjnej  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach  
ul. Narcyzów 1  
41-200 Sosnowiec  
tel. 32 364 10 64  
e-mail: jlodowska@sum.edu.pl

Ann. Acad. Med. Siles. 2011, 65, 3, 21-27  
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny  
w Katowicach  
ISSN 0208-5607

## SŁOWA KLUCZOWE

*Desulfovibrio desulfuricans*, wzrost bakterii, ustrojowe źródła żelaza

## ABSTRACT

Pathogenicity of Gram-negative bacteria is determined by their ability of iron uptake from environmental and human reserve sources. To acquire this element microorganisms synthesize siderophores, iron chelating structures that allow them to utilize various host iron sources such as hemoglobin, myoglobin, ferritin, transferrin and lactoferrin. Host iron sources utilized by *Desulfovibrio desulfuricans* (*D. desulfuricans*) are still unrecognized. These microorganisms colonize a human alimentary tract as a component of the natural intestinal microflora. However, their involvement in the pathogenesis of intestinal disorders, such as Crohn's disease or ulcerative colitis, cannot be excluded. The purpose of this study was to analyze the ability of these bacteria to utilize several body iron sources.

The aim of the study was realized by the evaluation of number of colonies of pre-starved *D. desulfuricans* strains after 48 hour culturing on pyruvate Postgate's medium supplemented with 1.5 mg/dm<sup>3</sup> of the iron source (human hemoglobin and transferrin, bovine hemoglobin, transferrin, lactoferrin and hemin, equine myoglobin and cytochrome c). The control cells were cultured on medium devoid of iron.

Most of the tested strains *D. desulfuricans* (except for DV/B) utilized iron from a wide variety host sources. The interstrain diversity of bacterial growth in the presence of each of iron sources was observed. Soil strain DSM 642 was the slowest proliferating one on medium containing both human and bovine transferrin. Therefore, this strain does not utilize iron from both iron sources. The most intensive growth was observed with DV/I and DV/I/1 intestinal strains on medium supplemented with equine myoglobin and cytochrome c, and bovine lactoferrin, whereas DV/H strain proliferated the most on medium containing both human and bovine hemoglobin.

## KEY WORDS

*Desulfovibrio desulfuricans*, bacteria growth, host iron sources

## WPROWADZENIE

Podstawą chorobotwórczości drobnoustrojów jest zdolność przetrwania i namnażania się w zainfekowanym makroorganizmie, która zależy m.in. od zdolności pozyskiwania potrzebnych dla życia substancji, w tym żelaza. Bakterie, w zależności od warunków środowiska, wykształciły różne systemy asymilacji żelaza. Podczas jego względnej obfitości w otoczeniu ( $> 10^{-5}$  M) mikroorganizmy uruchamiają system niskiego powinowactwa, opierający się na swobodnej dyfuzji jonów żelaza przez błony komórkowe [1]. W warunkach niedoboru żelaza drobnoustroje wykształciły system wysokiego powinowactwa, opierający się na transporcie tych jonów do komórki, z wykorzystaniem sideroforów. Są to niskocząsteczkowe związki syntetyzowane przez bakterie i wydzielane

zewnątrzkomórkowo, które po obciążeniu żelazem zostają wprowadzone do komórki za pomocą specyficznego białka receptorowego. Siderofory chelatuja żelazo zawarte zarówno w hemoproteinach, jak i białkach niehemowych. W makroorganizmach żelazo występuje głównie wewnątrzkomórkowo w połączeniach z mioglobina, ferrytyną i hemoglobina. Jego zasoby zewnątrzkomórkowe obecne w osoczu i innych płynach ustrojowych to glikoproteiny o wysokim powinowactwie do żelaza, takie jak transferyna i laktoferyna [2,3].

Bakterie *Desulfovibrio desulfuricans* (*D. desulfuricans*) należą do rozległej i niejednorodnej grupy beztlenowych bakterii redukujących siarczany (BRS). Zasiedlają różnorodne środowiska, m.in. przewód pokarmowy człowieka, stanowiąc składnik fizjologicznej flory jelita grubego. Nie wyklucza się jednak możliwości udziału tych bakterii w patogenezie niektórych

schorzeń jelita grubego, głównie wrzodziejącego zapalenia okrężnicy i choroby Crohna [4,5]. Ich obecność stwierdzono również w ropniach wątroby, jamy brzusznej, mózgu, drogach żółciowych, w przypadku posocznicy oraz wyrostku robaczkowym i płynie otrzewnowym [6]. Obecność BRS utożsamia się także z chorobą przyzębia – parodontozą [7].

W aspekcie potencjalnej chorobotwórczości bakterii *D. desulfuricans* oraz braku informacji o ustrojowych źródłach żelaza, z których mogą one korzystać, zbadano zdolność kilku dzikich szczepów tego gatunku do wzrostu w obecności wybranych żelazoprotein oraz grupy prostetycznej hemoprotein (heminy).

## MATERIAŁ I METODY

### CHARAKTERYSTYKA OBIEKTU BADAŃ

W badaniach wykorzystano glebowy, wzorcowy szczep *D. desulfuricans* DSM 642 z Narodowej Kolekcji Kultur Typowych w Lozannie oraz sześć dzikich szczepów jelitowych tych bakterii wyizolowanych z kału (DV/A, DV/B, DV/C, DV/H, DV/I) i biopłynu (DV/I/1) osób z różnymi schorzeniami układu pokarmowego [8].

### PODŁOŻA HODOWLANE

W celu uszczuplenia wewnątrzkomórkowych rezerw żelaza (głodzenie) i namnożenia badanych izolatów używano pirogronianowej pożywki Postgate'a [9] z obniżoną ilością żelaza. Zawartość żelaza w podłożu zmniejszono przez 1-godzinne wytrząsanie z jonowymienią żywicą poliaminokarboksyłową Chelex 100 (firmy BIO-RAD), zastosowaną w proporcji 5 g na 100 ml pożywki [10]. Następnie jonit oddzielano przez wirowanie (45 min, 2400 xg) i sączenie. Do oceny wzrostu bakterii w obecności ustrojowych źródeł żelaza stosowano wymienioną pożywkę zawierającą hemoglobinę, transferynę ludzką; hemoglobinę, transferynę, laktoferynę i heminę bydlęcą; mioglobinę i cytochrom c koński (firmy Sigma) w ilości 1,5 mg/dm<sup>3</sup> pożywki. pH podłoży hodowlanych doprowadzano do 7,5 1 M roztworem NaOH. Wszystkie roztwory i pożywki sporządzano z użyciem wody dejonizowanej. Szkló laboratoryjne moczo w 2 M HCl, a następnie 3-krotnie płukano wodą dejonizowaną, co pozwoliło usunąć śladowe ilości żelaza.

### WARUNKI PROWADZENIA HODOWLI BAKTERII

#### D. DESULFURICANS

Inoculum stanowiła zawiesina bakterii o gęstości 3 w skali McFarlanda, namnożonych na pożywkę pirogronianowej z obniżoną zawartością jonów żelaza, którą po 24 godzinach inkubacji w warunkach beztlenowych rozcieńczano 10<sup>4</sup> razy, a następnie 10 µl wysiewano na zestalone agarem DIFCO (15 g/dm<sup>3</sup> pożywki) podłoża stałe z obniżoną zawartością żelaza (kontrola) lub zawierające jego określone źródło ustrojowe. Po 48 godzinach inkubacji na podstawie ilości wyrosłych kolonii oceniano wzrost badanych izolatów. Hodowle bakteriacyjne prowadzono w komorze MACS MG 500 (firmy „DW Scientific”, West Yorkshire, England) w atmosferze zawierającej 80% N<sub>2</sub>, 10% H<sub>2</sub> i 10% CO<sub>2</sub>, w temperaturze 30°C.

### ANALIZA STATYSTYCZNA

Istotność różnic między średnimi liczbami kolonii izolatów bakterii *D. desulfuricans* z 3 eksperymentów, których wzrost zachodził w obecności ustrojowego źródła żelaza, prowadzono jednoczynnikową analizą wariancji (ANOVA). Pozytywny wynik testu ANOVA umożliwił wykonanie porównań wielokrotnych testem Tukeya. Założenie o zgodności z rozkładem normalnym weryfikowano testem Shapiro-Wilka, natomiast hipotezę zerową o jednorodności wariancji sprawdzono testem Browna-Forsythe'a. Znamienność statystyczną przyjęto na poziomie istotności  $p < 0,05$ . Miarą rozproszenia wyników było odchylenie standardowe. Obliczenia wykonano za pomocą programu Statistica v 6.0.

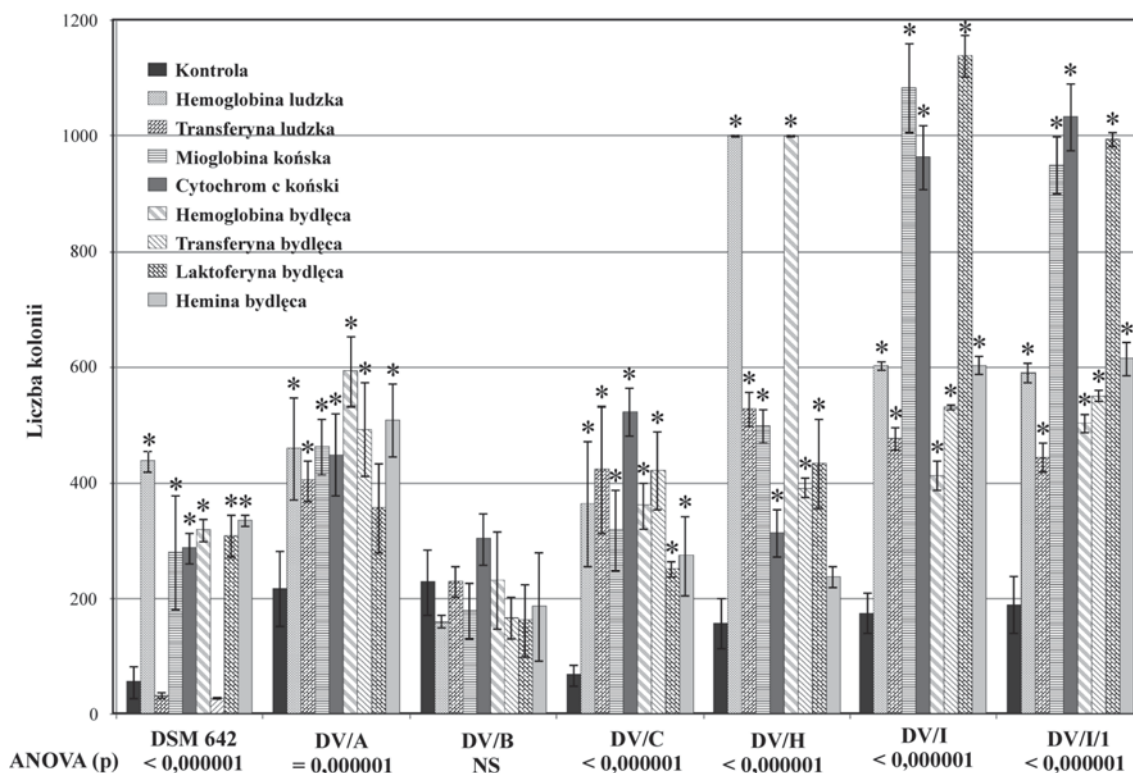
## WYNIKI I DYSKUSJA

Najmniejsza ilość żelaza zaspokajająca potrzeby bakterii Gram-ujemnych wynosi  $3 \times 10^{-7}$  M [2, 11]. W fizjologicznym pH stężenie wolnych jonów Fe(III) w tkankach jest dużo niższe ( $10^{-18}$  M) [12,13], a ponadto podczas zakażenia zmniejsza się we krwi i płynach ustrojowych w konsekwencji tzw. hipoferremii infekcyjnej [2,14]. W przewodzie pokarmowym Fe(II) dostępne dla bakterii, w tym również *D. desulfuricans*, może być asymilowane za pomocą systemu niskiego powinowactwa. Jednak bakterie *Desulfovibrio* kolonizują nie tylko jelito grube, izolowano je również z krwi [15,16] i wielu tkanek objętych stanem zapalnym [6], gdzie

stężenie wolnego Fe(III) nie wystarcza do podtrzymania wzrostu bakterii [12,13]. Pozyskują je więc z ustrojowych żelazoprotein, a proces ten może zachodzić poprzez kilka mechanizmów obejmujących proteolityczny rozkład białka z uwolnieniem Fe(III) [17], redukcję związanego z nośnikiem Fe(III) do Fe(II) i jego uwolnienie [18], bezpośrednie przeniesienie Fe(III) z białka na receptor powierzchniowy komórki [18] oraz najczęściej wykorzystywane przez mikroorganizmy systemy sideroforowe [17]. Biosynteza większości tych systemów jest stymulowana przy stężeniu Fe(III) wynoszącym  $10^{-7}$  M– $10^{-6}$  M [13], które wraz z wewnątrzkomórkową zawartością Fe(II) reguluje ich wytwarzanie [13].

W przedstawionych badaniach endogenne rezerwy żelaza bakterii *D. desulfuricans* zmniejszono przez tzw. głodzenie. Wyniki zaprezentowane w tabeli I i na rycinie 1 dowodzą, że przy zubożonych wewnątrzkomórkowych rezerwach żelaza drobnoustroje te mogą je pozyskiwać z wielu różnych źródeł ustrojowych,

przy czym stwierdzono międzyszczepowe zróżnicowanie wzrostu tych bakterii w obecności każdej badanej żelazoproteiny (ANOVA,  $p < 0,000001$ , tab. I). Różny był również wzrost prawie każdego (oprócz DV/B) z dzikich szczepów *D. desulfuricans* w obecności badanych źródeł ustrojowych żelaza (ANOVA, ryc. 1). Najbardziej wrażliwe na brak jonów tego metalu okazały się izolaty DSM 642 oraz DV/C, co przejawia się w porównaniu z pozostałymi dzikimi szczepami mniejszą liczbą kolonii po 48 godzinach hodowli w warunkach ograniczonego dostępu do żelaza (kontrola; ryc. 1). Odmienne ekosystemy dzikich szczepów jelitowych i glebowego mają istotny wpływ na ich zróżnicowanie fenotypowe. Stanowią one bowiem odrębne grupy reprezentujące własne biocenozy [19]. Różna aktywność komórkowa i metaboliczna tych izolatów świadczy o presji środowiska na selekcję populacji o określonych cechach przystosowawczych (zdolność do wykorzystywania określonych substratów energetycznych, wrażliwość na jony metali) [6].



Ryc. 1. Ocena wzrostu bakterii *D. desulfuricans* na podłożach z ustrojowymi źródłami żelaza: p – ocena statystyczna (ANOVA) zróżnicowania wzrostu danego izolatu na podłożach zawierających ustrojowe źródła żelaza; \* potwierdzona testem Tukeya statystycznie znamiennej różnica liczby kolonii otrzymanych w hodowli kontrolnej i na pożywkach z ustrojowymi źródłami żelaza.

Fig. 1. Evaluation of *D. desulfuricans* growth on the media containing host iron sources: p – statistical analysis (ANOVA) of a given strain growth on media with host iron sources; \* statistically significant difference in colonies quantity on the control culture and media containing host iron sources, confirmed by Tukey test.

**Tabela I.** Wzrost badanych izolatów *D. desulfuricans* na podłożach z różnymi ustrojowymi źródłami żelaza wyrażony średnią liczbą kolonii z 3 eksperymentów: p – ocena statystyczna (ANOVA) międzyszczepowego zróżnicowania wzrostu badanych izolatów na danym podłożu

**Table I.** The growth of investigated *D. desulfuricans* strains on media containing different host iron sources expressed as a mean of colonies quantity in 3 experiments: p – ANOVA of interstrain differences of the bacteria growth on a given media

Rodzaj podłoża		Średnia liczba kolonii badanych izolatów						p (ANOVA)	
		DSM 642	DV/A	DV/B	DV/C	DV/H	DV/I		DV/I/1
Kontrola (*Fe)		57 ± 28	219 ± 66	229 ± 57	68 ± 18	158 ± 42	176 ± 35	191 ± 50	< 0,000001
Źródło Fe pochodzenia ludzkiego	Hemoglobina	439 ± 18	460 ± 87	161 ± 11	364 ± 108	1000 ± 1	603 ± 6	591 ± 17	< 0,000001
	Transferyna	33 ± 5	406 ± 35	230 ± 26	424 ± 109	529 ± 29	478 ± 20	445 ± 25	< 0,000001
Źródło Fe pochodzenia końskiego	Mioglobina	280 ± 98	463 ± 47	181 ± 48	319 ± 70	499 ± 29	1083 ± 76	950 ± 50	< 0,000001
	Cytochrom c	288 ± 27	450 ± 71	304 ± 44	523 ± 41	315 ± 41	963 ± 55	1034 ± 57	< 0,000001
Źródło Fe pochodzenia bydłowego	Hemoglobina	319 ± 9	593 ± 60	233 ± 84	362 ± 40	1000 ± 1	414 ± 25	503 ± 15	< 0,000001
	Transferyna	27 ± 2	493 ± 81	169 ± 36	423 ± 67	392 ± 17	530 ± 4	550 ± 10	< 0,000001
	Laktoferyna	310 ± 36	358 ± 76	164 ± 62	251 ± 13	435 ± 76	1140 ± 36	994 ± 12	< 0,000001
	Hemina	336 ± 10	509 ± 62	188 ± 94	275 ± 69	239 ± 17	603 ± 15	616 ± 29	< 0,000001

\* Szczepy głodzone, których wzrost prowadzono w warunkach ograniczonego dostępu do jonów żelaza.

Większość bakterii chorobotwórczych i warunkowo chorobotwórczych to komensale i patogeny, rozwijające się w przestrzeniach pozakomórkowych i nieokupujące nisz wewnątrzkomórkowych. Dla tych drobnoustrojów najważniejszym dostępnym źródłem żelaza są głównie jego zasoby zewnątrzkomórkowe w postaci transferyny i laktoferyny [2]. Pierwsza z tych niehemowych żelazoprotein występuje przede wszystkim w osoczu, limfie i płynach tkankowych, a druga w wielu wydzielinach – łzach, wydzielinie śluzowej nosa, ślinie, śluzie oskrzelowym, sokach żołądkowo-jelitowych, żółci, śluzie szyjki macicy, płynie nasiennym i ziarnistościach wydzielniczych leukocytów wielojądrowych [2]. W transferynie i laktoferynie występuje pula żelaza transportowanego. Wydobycie go z tych połączeń wymaga rozerwania wiązania o wysokiej stałej powinowactwa ( $K = 1 - 6 \times 10^{-22} \text{ M}$ ) [2,10].

Z laktoferyny nie pozyskuje żelaza izolat *D. desulfuricans* DV/A, czego dowodzi brak istotnej statystycznie różnicy w liczbie kolonii na podłożu z obniżoną ilością jonów tego metalu (kontrola) oraz zawierającym powyższą żelazoproteinę. Najefektywniej w obecności laktoferyny namnażały się izolaty DV/I i DV/I/1 (ryc. 1, tab. I). Ich wzrost był równie dynamiczny w obecności końskiej mioglobiny i cytochromu c. Glebowy szczep DSM 642 nie wykorzystywał żelaza ludzkiej i bydłowej transferyny, o czym świadczy brak istotnej statystycznie różnicy wzrostu tych bakterii na podłożu z obniżoną zawartością żelaza (hodowla kontrolna) oraz wzbogaconym w powyższe ustrojowe ich źródło (ryc. 1). Z ludzkiej transferyny i laktoferyny wykorzystują żelazo chorobotwórcze dla człowieka gatunki rodzaju *Neisseria* oraz nieinwazyjny patogen dróg oddechowych, *Bordetella pertussis*. Natomiast bakterie *Hae-*

*mophilus influenzae*, bytujące na powierzchni błon śluzowych dróg oddechowych, a więc w środowisku bogatym w laktoferynę, nie pozyskują żelaza z tego białka, pobierają je natomiast z ludzkiej transferyny [2].

Wiele gatunków bakterii (*Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Moraxella catarrhalis*, *Helicobacter pylori*, *Vibrio cholerae*, *Campylobacter jejuni*, mikroorganizmy z rodzaju *Rhizobium*) mnożących się w przestrzeniach pozakomórkowych, ale również rozwijających się w niszach wewnątrzkomórkowych, wykorzystuje żelazo hemoglobiny [2,20,21,22,23]. Na pożywcze zawierającej to ustrojowe źródło pochodzenia tak ludzkiego, jak i bydlęcego najszybciej namnażał się izolat *D. desulfuricans* DV/H. Nie pozyskiwał natomiast żelaza z heminy. Hemoglobina uwalniana jest do krwi lub ogniska ropnego w wyniku rozpadu czerwonych krwinek. Jednak osocze zawiera stosunkowo niewielkie ilości wolnej hemoglobiny, która nie podtrzymuje wzrostu bakterii chorobotwórczych [2]. Niektóre z nich zwiększają dostęp do żelaza hemoglobiny przez wytwarzanie hemolitycznych cytokin.

Statystyczna analiza porównawcza wzrostu izolatu DV/B na podłożu z obniżoną zawar-

tością żelaza (kontrola) i w obecności wszystkich badanych ustrojowych źródeł wykazała, że szczerp ten nie wykorzystuje związanych w nich jonów tego metalu (ryc. 1).

## WNIOSKI

1. Bakterie *D. desulfuricans* pozyskują żelazo z większości badanych źródeł ustrojowych.
2. Stwierdzono międzyszczepowe różnicowanie wzrostu tych mikroorganizmów w obecności każdej z badanych żelazoprotein i heminy.
  - a) najwolniej namnażał się glebowy szczerp DSM 642 na podłożu zawierającym ludzką i bydlęcą transferynę, nie pozyskując żelaza z tego białka,
  - b) izolat DV/B nie wykorzystuje żelaza z żadnego badanego źródła ustrojowego,
  - c) najintensywniejszy wzrost cechował dzięki szczepy DV/I i DV/II/1 na podłożach z końską mioglobina i cytochromem c oraz laktoferyną bydlęcą,
  - d) żelazo hemoglobiny zarówno ludzkiej, jak i bydlęcej najbardziej stymulowało do wzrostu izolat DV/H.

## PIŚMIENNICTWO

1. Jankiewicz U., Kudelska J. Wymienialność sideroforów przez bakterie rodzaju *Pseudomonas*. Woda-Środowisko-Obszary Wiejskie 2010; 10: 93–102.
2. Mikucki J., Lisiecki P. Siderofory-agresyny bakterii. Post. Mikrobiol. 1998; 37: 73–97.
3. Siudeja K., Olczak K. Mechanizmy i regulacja przyswajania żelaza i hemu przez bakterie Gram-ujemne. Post. Biochem. 2005; 51: 198–208.
4. Florian T.H.J., Gibson G.R., Neale G., Cummings J.H. A role for sulphate-reducing bacteria in ulcerative colitis? Gastroenterology 1990; 98A: 170.
5. Gibson G.R., Cummings 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. 1991; 86: 103–112.
6. Szczerba J., Dzierżewicz Z. Implikacje kliniczne związane z obecnością bakterii redukujących siarczyn (BRS) w organizmie człowieka i zwierząt oraz ich wpływ na środowisko naturalne. Post. Mikrobiol. 2008; 47: 97–110.
7. 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. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2001; 51: 1035–1044.
8. Lodowska P., Jasek D., Wolny D., Jaworska-Kik M., Węglarz L., Dzierżewicz Z. Ocena stopnia ufosforylowania endotoksyny lipopolisacharydowej i lipidu A jelitowych szczepów bakterii *Desulfovibrio desulfuricans*. Farm. Przegl. Nauk. 2008; 11–12: 23–28.
9. Postgate J.R. The sulphate-reducing bacteria. Cambridge University Press. Cambridge 1984.
10. Lisiecki Sobiś-Glinkowska M., Wysocki P., Mikucki J. Wrażliwość enterokoków w normalnej i wysyczonej żelazem surowicy. Med. Dośw. Mikrobiol. 2001; 53: 111–116.
11. Lisiecki P., Wysocki P., Mikucki J. Wrażliwość gronkowców na naturalne i syntetyczne chelatory żelaza. Med. Dośw. Mikrobiol. 2000; 52: 103–110.
12. Różalska B. Rola jonów żelaza w procesie zakażenia. Post. Mikrobiol. 1997; 36, 1: 85–100.
13. Sobiś-Glinkowska M., Mikucki J., Lisiecki P. Siderofor hydroksamowy a wzrost enterokoków. Med. Dośw. Mikrobiol. 2001; 53: 1–7.
14. Lisiecki P., Fleischer M., Wysocki P., Przondo-Mordarska A., Mikucki J. Siderofory i hemolizyny w pozyskiwaniu żelaza przez pałeczki z rodzaju *Acinetobacter*. Med. Dośw. Mikrobiol. 2003; 55: 379–390.
15. Goldstein E.J., Citron D.M., Peraino V.A., Cross S.A. *Desulfovibrio desulfuricans* bacteremia and review of human *Desulfovibrio infections*. J. Clin. Microbiol. 2003; 41: 2752–2754.
16. Shukla S.K., Reed K.D. *Desulfovibrio desulfuricans* bacteremia in a dog. J. Clin. Microbiol. 2000; 38: 1701–1702.
17. Lisiecki P., Mikucki J. Ustrojowe źródła żelaza człowieka wykorzystywane in vitro przez gronkowce. Med. Dośw. Mikrobiol. 1996; 48: 5–13.
18. Lisiecki P., Sobiś-Glinkowska M., Mikucki J. Zwierzęce ustrojowe źródła żelaza wykorzystywane in vitro przez gronkowce. Med. Dośw. Mikrobiol. 1997; 49: 45–53.
19. Dzierżewicz Z., Orchel A., Komarska-Szostak A. Aktywność biologiczna endotoksyn izolowanych ze szczepów bakterii *Desulfovibrio desulfuricans*. Ann. Acad. Med. Siles. 2005; 59: 9–16.

20. Senkovich O., Ceaser S., McGee D.J., Testerman T.L. Unique host iron utilization mechanisms of *Helicobacter pylori* revealed with iron-deficient chemically defined media. *Infect. Immun.* 2010; 78: 1841–1849.
21. Mocny J.C., Olson J.S., Connell T.D. Passively released heme from hemoglobin and myoglobin is a potential source of nutrient iron for *Bordetella bronchiseptica*. *Infect. Immun.* 2007; 75: 4857–4866.
22. Furano K., Luke N.R., Howlett A.J., Campagnari A.A. Identification of a conserved *Moraxella catarrhalis* haemoglobin-utilization protein, MhuA. *Microbiology* 2005; 151: 1151–1158.
23. Ridley K.A., Rock J.D., Li Y., Ketley J.M. Heme utilization in *Campylobacter jejuni*. *J. Bacteriol.* 2006; 188: 7862–7875.