Streszczenie rozprawy doktorskiej

Tytuł: Fenotypowe i genetyczne typowanie bakteryjnych szczepów *Staphylococcus aureus* wyizolowanych z nadkażeń ran oraz nosicielstwa pacjentówz atopowym zapaleniem skóry.

mgr Aneta Buda

Promotor: prof. dr hab. Jacek Międzobrodzki

Bakterie gatunku *Staphylococcus aureus* (gronkowiec złocisty) kolonizują określone obszary skóry i błonę śluzową przedsionka nosa zdrowych ludzi. Bakterie te, to oportunistyczne patogeny, które w sprzyjających dla nich warunkach powodują zakażenia o różnym przebiegu, lokalizacji i objawach. Jedną z chorób, gdzie gronkowiec złocisty zmienia swój charakter z saprofitycznego na patogenny jest atopowe zapalenie skóry (AZS, ang. atopic dermatitis, łac. *dermatitis atopica, eczema*). Atopowe zapalenie skóry jest alergiczną, przewlekłą, nawrotową zapalną chorobą skóry o podłożu genetycznym. Choroba dotyczy około 5% dorosłych, u których często dochodzi do rozwoju wtórnych infekcji bakteryjnych zmian skórnych często powodowanych przez bakterie gatunku *S. aureus*. Gronkowce obecne w zmianach skórnych niszczą tkanki przez wydzielanie enzymów i toksyn oraz dodatkowo wtórnie stymulują reakcje alergiczne.

Celem niniejszej pracy było typowanie i różnicowanie szczepów z gatunku *Staphylococcus aureus* wyizolowanych od dorosłych pacjentów z ostrym AZS w celu precyzyjnego poznania bakteryjnego czynnika etiologicznego tej choroby, z wykorzystaniem molekularnych metod badawczych. Wśród szczegółowych celów założono: określenie charakteru populacji oraz zależności epidemiologicznych w badanej kolekcji bakterii przy wykorzystaniu metod fenotypowych - analizy aktywności proteolitycznej, hemolitycznej i antybiogramu, oraz metod genetycznych - typowania *spa* i MLVF; określenie charakteru zakażeń bakteryjnych *S. aureus* – egzogennych czy endogennych; określenie ewentualnego podobieństwa lub jego braku wśród szczepów powodujących nadkażenia u kobiet i mężczyzn. Dokonano także analizy wzajemnych zależności szczepów między stwierdzonymi cechami.

Badaniom poddano 58 pacjentów z AZS; od 49 z nich wyosobniono 157 szczepów. Dodatkowo analizowano 10 szczepów od 10 zdrowych osób traktowanych jako kontrola. Analiza badanej kolekcji wykazała, że 150 szczepów prezentowało aktywność proteolityczną

o różnej aktywności, w większości o niskiej i średniej intensywności. Natomiast wśród tej samej liczby 147 szczepy wykazały aktywność hemolityczną, większość szczepów typu β o niskiej i średniej intensywności, w mniejszości typu α.

Ocena antybiogramów pokazała, że wśród badanych szczepów stwierdzono oporność na antybiotyki β-laktamowe, erytromycynę, na klindamycynę, chloramfenikol, gentamycynę oraz amikacynę. Tylko 4 szczepy z 157 były szczepami MRSA. Nie zaobserwowano szczepów opornych na wszystkie antybiotyki użyte w badaniach. Dominującym profilem antybiotykooporności była oporności na penicyliny. W wyniku typowania *spa* określono 35 typów *spa* w tym 2 nowe, nie opisane dotychczas, są to typy t16067 oraz t14858. Najliczniejszym typem *spa* były typ t091 (19,1% wszystkich typów), następnie t084 (7,6%), t015 (7,6%), t002 (5,8%), t127 (5,8%), t085 (4,6%) oraz t230 (4,6%). Zastosowany algorytm BURP określił 9 kompleksów klonalnych - *spa*-CC 050, *spa*-CC 005, *spa*-CC 084, *spa*-CC 008, *spa*-CC 005, *spa*-CC 1509, ponadto 4 kompleksy bez wyraźnego przodka oraz 15 pojedynczych typów. W wyniku zastosowania metody MLVF na poziomie 100% identyczności DNA można wyróżnić 74 odmienne, charakterystyczne wzory prążków.

Zestawiając wyniki analiz fenotypowych i genetycznych zastosowanych do typowania szczepów *S. aureus* stwierdzono, że u 27 z 49 pacjentów z AZS wszystkie wyizolowane szczepy były takie same w obrębie danego pacjenta.

Badania wybranych cech fenotypowych - biochemicznych i toksycznych *in vitro*, determinujących wirulencję wykazały duże zróżnicowanie w obrębie analizowanych szczepów. Nie stwierdzono szczepów opornych na wszystkie badane antybiotyki. Wykazano niską antybiotykooporności i szeroki zakres lekowrażliwości, co stwarza szansę na efektywność terapii przewciwbakteryjnej. Nie stwierdzono istnienia ani dominującego szczepu ani kompleksu klonalnego izolatów *S. aureus* odpowiedzialnych za nadkażenia ran pacjentów z AZS. Opisano dwa nieznane dotychczas genetyczne typy *spa*. W przypadku ponad połowy badanych pacjentów źródłem nadkażeń były ich własne szczepy. Jest to intelektualne wyzwanie do badań nad ograniczeniem autoinfekcji pacjentów.

Słowa kluczowe: atopowe zapalenie skóry, nadkażenia gronkowcowe, *Staphylococcus aureus*, typowanie

Aneta Budo

08 -06- 2018