

# Klonalna analiza szczepów *Enterococcus* spp. opornych na wankomycynę (VRE) oraz zdolności do produkcji biofilmu w kontekście zakażeń szpitalnych

Karolina Klesiewicz<sup>1\*</sup>, Paulina Mrowiec<sup>1</sup>, Agnieszka Chmielarczyk<sup>2</sup>, Tomasz Kasperski<sup>2</sup>,  
Katarzyna Kania<sup>1,3</sup>, Aldona Olechowska-Jarząb<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Zakład Mikrobiologii Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie; <sup>2</sup>Zakład Bakteriologii, Ekologii Drobnoustrojów i Parazytologii, Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum w Krakowie; <sup>3</sup>Pracownia Mikrobiologii, Szpital Specjalistyczny im. św. Jana Pawła II w Krakowie; <sup>4</sup>Zakład Mikrobiologii, Szpital Uniwersytecki w Krakowie

## Wstęp

Rozprzestrzenianie się wielolekoopornych drobnoustrojów, takich jak *Enterococcus* spp. opornych na wankomycynę (VRE), stanowi istotne zagrożenie zdrowia publicznego. Ze względu na ograniczone opcje terapeutyczne, a także zdolność do tworzenia biofilmu, szczepy odporne na glikopeptydy są wyzwaniem w środowiskach szpitalnych, a powodowane zakażenia trudne do leczenia.

## Cel badań

Molekularna charakterystyka szczepów *E. faecium* oraz *E. faecalis* pod kątem obecności genów warunkujących oporność na glikopeptydy, ocena oporności metodą fenotypową, określenie zdolności szczepów do tworzenia biofilmu oraz analiza klonalna z wykorzystaniem PFGE.

## Material i metody

Badaniem objęto 45 szczepów *Enterococcus* spp., w tym 41 szczepów *E. faecium* oraz 4 szczepy *E. faecalis*, wyizolowanych z materiałów klinicznych, takich jak płyn z jamy brzusznej, mocz, krew, wymazy z ran, końcówki z cewnika centralnego oraz aspiratów z dolnych dróg oddechowych, od pacjentów hospitalizowanych w Szpitalu Uniwersyteckim w Krakowie. Szczepy zostały zróżnicowane przy użyciu podłoży chromogennych (chromID VRE, BioMérieux) oraz zidentyfikowane z wykorzystaniem spektrofotometrii masowej MALDI-TOF. Fenotypową oporność na antybiotyki określono zgodnie z wytycznymi EUCAST. Dodatkowo, potwierdzono obecność genów oporności *vanA* i *vanB* przy użyciu reakcji PCR. Zdolność do tworzenia biofilmu została oceniona na podłożu Congo Red (CRA) po 24 i 48 godzinach inkubacji. Analizę pokrewieństwa szczepów przeprowadzono metodą PFGE przy tolerancji 1,2%.

## Wyniki

W analizowanych szczepach *Enterococcus* spp. 86,67% (39/45) wykazywało obecność genu *vanA*, a 13,33% (6/45) posiadało gen *vanB*. Co istotne, fenotypowo potwierdzono oporność na teikoplaninę tylko dla 4 szczepów posiadających gen *vanB*. W przypadku biofilmu, 88,89% szczepów produkowało dużą ilość biofilmu, 6,67% średnią, 2,22% niewielką ilość oraz 2,22% nie wykazało zdolności do produkcji biofilmu. Wyniki analizy PFGE pozwoliły na identyfikację kilku klonów wśród *E. faecium*, z dominującym klonem A (szczepy 6, 8, 14, 20, 21, 24, 29, 35, 36), które w większości wyizolowane były od pacjentów z zakażeniem, a nie nosicielstwem. Ponadto wśród pozostałych izolatów znaleziono pary lub trójki należące o jednakowych pulsotypów (klony B, C, D, E, F).

## Wnioski

Precyzyjna analiza pokrewieństwa, potwierdzająca istnienie szczepów klonalnych wśród badanych izolatów oraz zdolność do produkcji biofilmu sugeruje duży potencjał szczepów VRE do rozprzestrzeniania się w środowisku szpitalnym. Skuteczne strategie zapobiegawcze i kontrolne są niezbędne, aby ograniczyć transmisję tych szczepów w jednostkach ochrony zdrowia.