

Formowanie biofilmu oraz występowanie genów *pslD*, *mrkA*, *mrpH*, *hmsp*, *blp1* i *fimH* odpowiedzialnych za tworzenie biofilmu w szczepach pałeczek Gram-ujemnych wyizolowanych od pacjentów z zakażeniem miejsca operowanego

Wiktoria Nowicka¹, Paulina Pecyna¹, Marcelina Jaworska², Jolanta Długaszewska^{1*}

¹Katedra i Zakład Genetyki i Mikrobiologii Farmaceutycznej, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, ul. Rokietnicka 3 60-806 Poznań

²Szpital Pomnik Chrztu Polski, ul. 3 Maja 37 62-200 Gniezno

Wstęp

Biofilm, stanowiąc fizyczną barierę przed działaniem środków biobójczych, takich jak antybiotyki lub antyseptyki, znacząco zmniejsza szansę skutecznego leczenia. Jego rozwój w obrębie tkanek ludzkich lub na powierzchniach abiotycznych, takich jak nici chirurgiczne użyte do zamknięcia rany, potęguje problem leczenia zakażenia miejsca operowanego (ZMO).

Cel

Niniejsze badanie miało sprawdzić siłę formowania biofilmu przez drobnoustroje wyizolowane od pacjentów z zakażeniem miejsca operowanego. Ponadto oceniono również częstość występowania określonych fragmentów genów związanych z produkcją biofilmu.

Material i metody

Materiał badany stanowiło 40 szczepów pałeczek Gram-ujemnych, wyizolowanych od pacjentów hospitalizowanych z powodu ZMO. Siłę tworzenia biofilmu sprawdzono metodą spektrofotometryczną z użyciem fioletu krystalicznego. Występowanie fragmentów genów: *pslD*, *mrkA*, *mrpH*, *hmsp*, *blp1* oraz *fimH*, których ekspresja jest związana z formowaniem biofilmu, oceniono za pomocą metody PCR (ang. *polymerase chain reaction*). Wizualizację otrzymanych w wyniku reakcji PCR amplikonów wykonano techniką elektroforezy w żelu agarozowym, a identyfikację fragmentów badanych genów przeprowadzono poprzez porównanie z markerem wielkości GeneRuler 50 bp DNA Ladder.

Wyniki

Wszystkie analizowane pałeczki Gram-ujemne charakteryzowały się zdolnością produkcji biofilmu, lecz siła jego wytwarzania była zróżnicowana. Słabą produkcją biofilmu charakteryzowały się wszystkie badane szczepy należące do gatunków: *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas putida*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Citrobacter braakii* oraz *Serratia fonticola*. Wytwarzanie biofilmu w stopniu silnym obserwowano u sześciu szczepów *P. aeruginosa*, dwóch szczepów *Proteus mirabilis*, jednego szczepu *Enterobacter cloacae* i jednego szczepu *Acinetobacter baumannii*. Spośród wszystkich badanych drobnoustrojów, tylko szczepy należące do gatunków *P. aeruginosa* i *P. mirabilis* były zdolne do produkcji każdego typu biofilmu – słabego, umiarkowanego oraz silnego. Wśród szczepów *Escherichia coli* większość produkowała biofilm ze słabą siłą. Wykazano, że szczepy *P. aeruginosa* produkujące biofilm w stopniu słabym nie posiadały genu *pslD*, natomiast wśród szczepów *S. marcescens*, *S. fonticola* oraz *M. morganii* nie potwierdzono obecności fragmentów genu *mrkA* i *hmsp*.

Wnioski

Stwierdzona u wszystkich badanych szczepów zdolność do wytwarzania biofilmu może wskazywać na istotne znaczenie tego czynnika wirulencji w patogenezie ZMO. Słaba siła produkcji biofilmu wśród szczepów *P. aeruginosa* może być wiązana z brakiem genu *pslD*, kodującego białko wydzielnicze, które najprawdopodobniej odgrywa rolę w transporcie egzopolisacharydu, a ten stanowi kluczowy komponent macierzy biofilmu. Natomiast wytwarzanie słabej siły biofilmu wśród *S. marcescens*, *S. fonticola* oraz *M. morganii* koreluje z brakiem wśród tych gatunków genów *mrkA* oraz *hmsp*, z których pierwszy ma istotne znaczenie w ekspresji fimbrii typu 3 warunkujących przyleganie bakterii do komórek gospodarza, a produkt drugiego genu jest punktem kontrolnym regulacji tworzenia biofilmu.