

Opracowanie nowego protokołu multiplexPCR, wykrywającego geny *mecA* oraz *mecC* odpowiedzialne za występowanie oporności na antybiotyki β -laktamowe u *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus jest jednym z ważniejszych potencjalnie patogennych drobnoustrojów stanowiących florę fizjologiczną człowieka. Niszą najczęściej zasiedlaną przez tą bakterię jest ciepłe i wilgotne środowisko śluzówek, np. nosa oraz gardła. Szacuje się, że około 30% społeczeństwa jest nosicielem tego drobnoustroju [1]. Patogen ten jest częstym czynnikiem etiologicznym zakażeń skóry i tkanki miękkiej, zapalenia płuc czy zakażeń układu pokarmowego, które mogą prowadzić do ciężkich, zagrażających życiu powikłań. W transmisji *S. aureus* główną rolę odgrywa droga kontaktowa, ale transmisja związana ze środowiskiem nieożywionym jest również prawdopodobna [1]. Udokumentowano również infekcje i nosicielstwo MRSA u zwierząt (konie, psy, świnie) [2].

Powszechne stosowanie antybiotyków z grupy penicylin przyczyniło się do powstania metycylinoopornych szczepów *S. aureus*, początkowo izolowanych jedynie ze środowisk szpitalnych. Aktualnie występowanie szczepów MRSA jest problemem niezwykle powszechnym, zarówno w populacji generalnej, jak i wśród pacjentów hospitalizowanych [1]. Leczenie zakażeń o etiologii MRSA jest mocno ograniczone, z powodu towarzyszącej obniżonej wrażliwości na inne grupy antybiotyków (aminoglikozydy, makrolidy, tetracyliny) [3]. Lekiem ostatniej szansy pozostają glikopeptydy, jednak nie powinny być one nadużywane, z powodu ryzyka rozwinięcia się oporności [4]. Szczególnie trudna jest terapia na oddziałach dziecięcych, gdzie leczenie glikopeptydami może powodować groźne działania uboczne [5].

Oporność gronkowców na metycylinę jest wynikiem syntezy nowego białka *PBP2a*, mającego małe powinowactwo do antybiotyków β -laktamowych. W rezultacie budowa ściany komórkowej bakterii nie zostaje zaburzona, w związku z czym patogeny są zdolne do przeżycia. Gen *mecA* kodujący *PBP2a*, jest zlokalizowany we wnętrzu operonu *mec* wraz z genami regulatorowymi [6,7]. Wykrycie genu *mecA* i/lub produktu jego ekspresji stanowiło do tej pory „złoty standard” dla potwierdzenia występowania MRSA. Jednak dane epidemiologiczne donoszą wyizolowanie szczepów *S. aureus*, wykazujących fenotyp MRSA, przy ujemnych testach na *mecA* i *PBP2a*. Dalsze badania wykazały, że za taki fenotyp odpowiada homolog genu *mecA* (*mecALGA251*) – *mecC* zlokalizowany również wewnątrz *SCCmec* (staphylococcal cassette chromosome) [8,9]. Dlatego też, w niniejszym projekcie chcemy skupić się nie tylko na wykryciu genu *mecA*, ale również genu *mecC*.

Analizując problem powszechnie występujących zakażeń o etiologii MRSA konieczne jest szybkie i jednoznaczne rozpoznanie czynnika chorobotwórczego. Okazuje się, że tanie i proste metody dyfuzyjno-krażkowe są niewystarczające, dlatego też szerokie możliwości otwiera prężnie rozwijająca się mikrobiologia genetyczna. Opracowanie protokołów badawczych wykrywających geny odpowiedzialne za dany mechanizm oporności drobnoustrojów jest pierwszym i najważniejszym krokiem do doskonalenia procesu diagnostycznego. Przez członków SKN Młodych Mikrobiologów został już opracowany protokół wykrywający gen *mecA*. Celem naszych badań jest rozszerzenie zaprojektowanego schematu postępowania w celu potwierdzenia MRSA, który oprócz genu *mecA*, wykryje również rzadziej występujący homolog- *mecALGA251*. Nasze doświadczenie może przyczynić się do ujednoczenia badań z zakresu biologii molekularnej w mikrobiologii i być wykorzystane w praktyce klinicznej.

Piśmiennictwo:

1. Wójkowska-Mach J., Jurkiewicz-Badacz D., Chmielarczyk A., Foryciarz E., Baran M., Romaniszyn D., Heczko P.B.: Pseudoepidemia *Staphylococcus aureus* o fenotypie MRSA na oddziałach pediatrycznych; Przegląd epidemiologiczny, 2010
2. Witte W., Strommenger B., Stanek Ch., Cuny Ch.: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in Human and Animals; Central Europe, 2007
3. Łuczak-Kadłubowska A., Sulikowska A., Empel J., Piasecka A., Orczykowska M., Kozinska A., Hryniewicz W.: Countrywide Molecular Survey of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains in Poland; Journal of Microbiology, 2008
4. Dhritiman S., Battle J., Brown N.S., Crosby A., Marcos L.A., Elasri M. O.: Molecular and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates causing bacteremia at a major hospital I southern Mississippi; American Journal of Infection Control, 2015
5. Bednarek M., Majda-Stanisławska E.: Występowanie szczepów metycylinoopornych gronkowców złocistych (MRSA) oraz trudności w leczeniu wywołanych przez nie infekcji u dzieci hospitalizowanych w klinice; Przegląd epidemiologiczny, 2006
6. Pobiega M., Wójkowska-Mach J., Heczko P. B.: Typowanie *Staphylococcus aureus* w celu określenia dróg szerzenia się lekooporności szczepów w środowisku szpitalnym i pozaszpitalnym, Przegląd epidemiologiczny, 2013
7. JiYeon K.: Understanding the Evolution of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*; Clinical Microbiology Newsletter, 2009

8. Paterson G. K., Harrison E. M., Holmes M. A.: The emergence of *mecC* methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*; Trends in Microbiology, 2014
9. Protocol for PCR amplification of *mecA*, *mecC*, *SPA* and *PVL* recommended by EURL-AR; National Food Institute, 2012