

STRESZCZENIE

Prezentowana rozprawa doktorska dotyczyła charakterystyki fenotypowej i genotypowej szczepów *Staphylococcus aureus* izolowanych z dróg oddechowych pacjentów z mukowiscydozą. Mukowiscydoza jest chorobą genetyczną, która predysponuje do przewlekłych i nawracających zakażeń dróg oddechowych. We wczesnym okresie choroby główną przyczyną tych zakażeń jest *Staphylococcus aureus*.

Analiza genetyczna potwierdziła, że szczepy *Staphylococcus aureus* izolowane od pacjentów z mukowiscydozą wykazują tendencję do długotrwałej kolonizacji dróg oddechowych. Czas kolonizacji dla badanych szczepów określono na 3 miesiące do 8 lat. Średnio jeden szczep gronkowca utrzymywał się w drogach oddechowych około 4 lat. W badanej populacji jedynie 6% szczepów izolowanych było jednorazowo, nie wykazując cech utrwalenia kolonizacji.

Przeprowadzone badania wykazały możliwość współkolonizacji w drogach oddechowych kilku szczepów o odmiennym fenotypie i genotypie. Dokładna analiza genetyczna 297 izolatów pozwoliła na wyróżnienie 76 różnych genotypów i ujawnienie transmisji szczepów między pacjentami. Epizody te dotyczyły wyłącznie szczepów metycylino-wrażliwych. Mimo to nie wykazano istnienia klonu gronkowca złocistego charakterystycznego dla populacji pacjentów z mukowiscydozą. Klonalności nie wykazano również dla szczepów MRSA.

Zmienność fenotypowa *Staphylococcus aureus*, wynikająca z przystosowań do warunków środowiska, wpływa na przewlekłą kolonizację dróg oddechowych pacjentów z CF. Badania wykazały, że szczepy *Staphylococcus aureus* izolowane z dróg oddechowych pacjentów z mukowiscydozą znacznie częściej ujawniają zdolność tworzenia biofilmu w porównaniu do szczepów kolonizujących osoby zdrowe. W warunkach doświadczalnych u 86% szczepów wykazano fenotypową ekspresję zewnątrzkomórkowego śluzu na podłożu z czerwienią Kongo, a 85% wytwarzało biofilm barwiony fioletem krystalicznym.

Badania wykazały, że charakterystyczną właściwością szczepów *Staphylococcus aureus* przewlekłe kolonizujących drogi oddechowe chorych na mukowiscydozę jest tworzenie fenotypu „small colony variants”. W warunkach

doświadczalnych pod wpływem indukowanego działania gentamycyny, badane szczepy, znacznie częściej tworzyły auksotroficzne mutanty SCV niż szczepy izolowane od „zdrowych” nosicieli. Powstawanie mikrokolonii gronkowca złocistego ma związek ze stosowaniem aminoglikozydów w terapii inhalacyjnej u chorych na mukowiscydozę.

Badania lekowrażliwości szczepów izolowanych od pacjentów z mukowiscydozą wykazały dobrą wrażliwość na antybiotyki beta-laktamowe. Ponad 94% szczepów było wrażliwych na metycylinę mimo, że antybiotyki beta-laktamowe były najczęściej stosowaną grupą leków. Analiza dynamiki wartości MIC beta-laktamów na przestrzeni 8 lat badań nie wykazała wzrostu oporności. Równie często stosowaną grupą leków w terapii były makrolidy i dla erytromycyny wystąpiły najbardziej dynamiczne fluktuacje. Zaobserwowano, że u szczepów *Staphylococcus aureus* dużo łatwiej dochodzi do nabycia oporności na antybiotyki makrolidowe o fenotypie MLS_B. Na przestrzeni 8 lat niewielki wzrost wartości MIC odnotowano także dla fluorochinolonów, ale nadal ponad 90% szczepów zachowało wrażliwość na tę grupę leków. Nie obserwowano zmian w wrażliwości na glikopeptydy, trimetoprim/sulfametoksazol oraz tetracyklinę.

Przeprowadzone badania dowiodły, że przewlekła kolonizacja dróg oddechowych gronkowcem złocistym u pacjentów z mukowiscydozą wynika z długotrwałego utrzymywania się jednego genotypu zdolnego do tworzenia biofilmu i mutantów mikrokolonii, a nie ma związku z lekoopornością.