

STRESZCZENIE

Występowanie u bakterii lekooporności jest niekwestionowanym problemem w leczeniu zakażeń i, wg WHO, jednym z trzech najpoważniejszych globalnych zagrożeń w XXI wieku. Powszechne i niekontrolowane stosowanie antybiotyków, nie tylko w celach terapeutycznych, lecz również w rolnictwie i hodowli zwierząt, spowodowało narastanie liczby szczepów opornych na stosowane terapeutyki. Genetyczne podstawy oporności stanowią geny warunkujące odpowiednie mechanizmy oporności, natomiast za pojawienie się wielolekooporności i jej szerokie rozprzestrzenianie odpowiedzialne są integrony – fragmenty DNA, w obrębie których włączane są kasety genowe warunkujące oporność na antybiotyki i chemioterapeutyki. Istotnym jest fakt, że występując na ruchomych elementach genetycznych, integrony mogą być przenoszone pomiędzy komórkami jednego, bądź różnych gatunków bakterii na drodze horyzontalnego transferu genów (HGT – ang. horizontal gene transfer).

Środowisko wodne, a w szczególności środowisko oczyszczalni ścieków, stwarza znakomite warunki do rozprzestrzeniania się opornych bakterii. Duża liczba szczepów bakteryjnych, pochodzących z różnych źródeł, składniki odżywcze, antybiotyki w stężeniach subletalnych, w znaczący sposób przyczyniają się do przenoszenia genów oporności pomiędzy komórkami bakteryjnymi na drodze horyzontalnego transferu genów, co w konsekwencji prowadzi do zwiększenia ich częstości i pojawienia się bakterii wieloopornych także w ścieku oczyszczonym.

Celem niniejszej pracy była jakościowa i ilościowa analiza rezystomu ścieków miejskich Centralnej Oczyszczalni Ścieków w Koziegłowach koło Poznania. Badania dotyczą określenia rodzaju i częstości występowania genów integrazy integronów klasy 1 (*intI1*) oraz genów warunkujących oporność na antybiotyki β -laktamowe i karbapenemowe (*bla_{CTX-M}*, *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{OXA-48}*, *bla_{GES}*, *bla_{VIM}*, *bla_{NDM}*, *bla_{KPC}*, *ampC*, *bla_{DHA}*, *bla_{CMY}* i *mecA*) oraz glikopeptydowe (*vanA*) w genomach bakterii hodowlanych, a także w metagenomie ścieków. Badania metagenomiczne opierające się na analizie całkowitego DNA, uwzględniają obecność bakterii niehodowlanych, mogących stanowić do 99% mikroorganizmów obecnych w środowisku wodnym.

Wykazano, że w ściekach na każdym etapie oczyszczania, również w ścieku oczyszczonym obecne są bakterie z genami stwarzającymi największe zagrożenie dla zdrowia

publicznego, m.in. warunkującymi wytwarzanie β -laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL – ang. extended-spectrum β -lactamases) – *bla*_{CTX-M-15}, karbapenemaz – *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{GES} i *bla*_{OXA-48}, a także wankomycynoopornych enterokoków (*vanA*) i *Staphylococcus aureus* opornych na metycylinę (*mecA*) oraz, że w trakcie oczyszczania ścieków następuje zwiększenie częstości występowania tych bakterii. Ponadto stwierdzono, że proces oczyszczania ścieków prowadzi do zwiększenia częstości występowania integronów klasy 1 i genów oporności: *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{GES}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA-48} i *mecA* w rezystomie ścieku oczyszczonego. Zwiększanie częstości występowania genów *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA-1}, *bla*_{OXA-48}, *bla*_{NDM}, *bla*_{KPC}, *vanA* i *mecA* w metagenomowym DNA już w ścieku z komory napowietrzania, może wskazywać na wzmożoną selekcję i procesy horyzontalnego transferu genów w osadzie czynnym. Istotne korelacje między częstością występowania genów w metagenomowym DNA, wskazują, że w procesie horyzontalnego transferu, geny oporności mogą być przenoszone razem, za pośrednictwem mobilnych elementów genetycznych. Badania składu populacji bakteryjnych w ścieku wykazały różnice pomiędzy poszczególnymi etapami oczyszczania oraz związek między składem populacji, a rezystomem ścieku.

Na podstawie wyników uzyskanych w niniejszej pracy, stwierdzono istotną rolę oczyszczalni ścieków w zwiększaniu puli genów rezystomu środowiskowego. Wyniki badań metagenomicznych w połączeniu z analizą opartą na metodach hodowlanych dostarczyły szczegółowych informacji na temat ograniczonej skuteczności procesów oczyszczania ścieków w eliminacji bakterii antybiotykoopornych i genów oporności, wskazując tym samym na potrzebę opracowania efektywnej strategii i wdrożenia dodatkowych metod dezynfekcji ścieków, w celu ograniczenia narastania i rozprzestrzeniania się oporności na antybiotyki w środowisku.