



Przegląd najczęściej hodowanych drobnoustrojów u pacjentów z przewlekłym zapaleniem zatok przynosowych i ich właściwości biofilmujące



A.Gibała^{2,3}, J. Szaleniec¹, B. Wąsik⁴, M. Szaleniec³, T. Gosiewski⁴

Uniwersytet Jagielloński
Collegium Medicum
Katedra Mikrobiologii
Zakład Molekularnej
Mikrobiologii Medycznej

¹ Katedra i Klinika Otolaryngologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

² Katedra Mikrobiologii, Wydział Lekarski, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum

³ Instytut Katalizy i Fizykochemii Powierzchni im. Jerzego Habera PAN

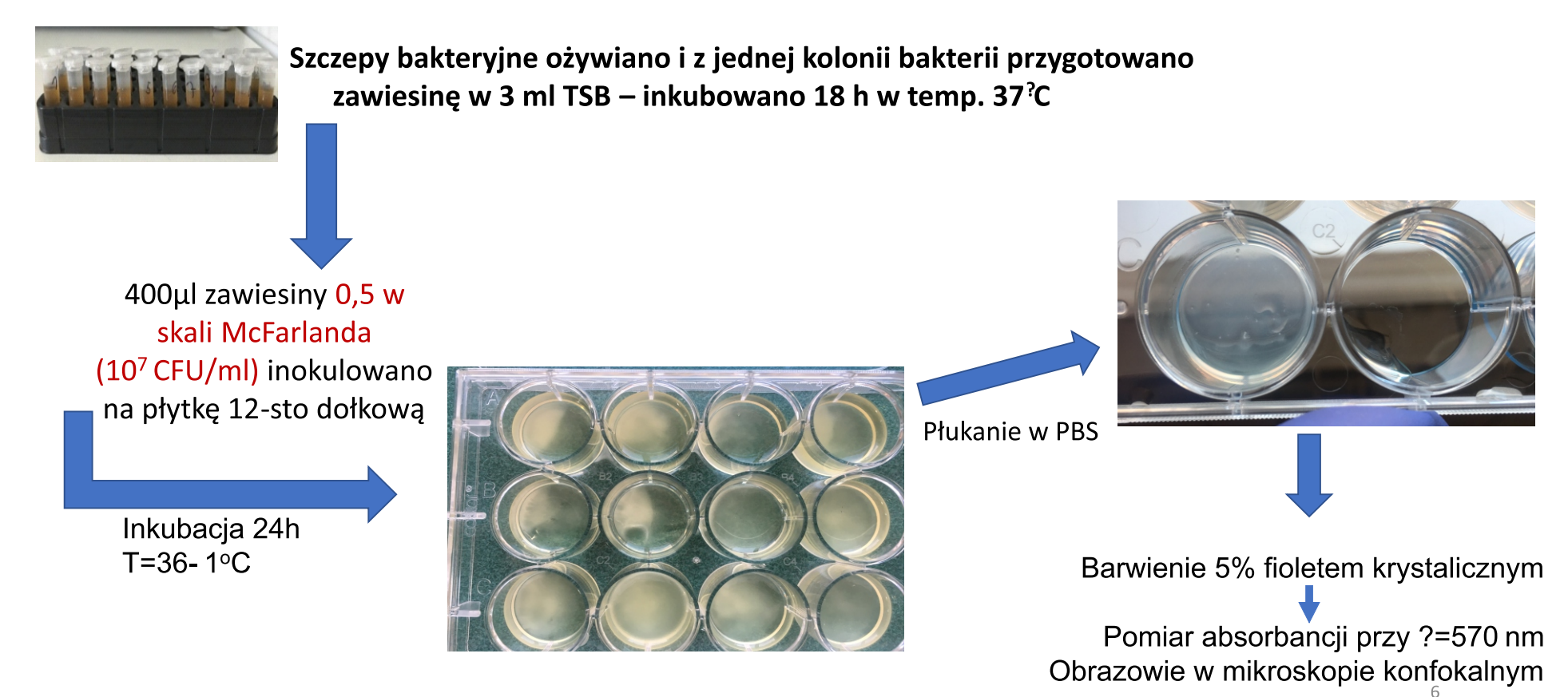
⁴ Zakład Mikrobiologii Klinicznej, Uniwersytecki Szpital Dziecięcy w Krakowie

Wstęp: Przewlekłe zapalenie zatok przynosowych (PZZP) to jedna z najbardziej uciążliwych chorób. Większość pacjentów cierpiących z powodu PZZP boryka się z szeregiem dolegliwości, które znacząco zmniejszają ich komfort życia. PZZP to choroba o **złożonej etiologii**, a zakażenia bakteryjne mogą być jednym z czynników sprawczych. Mikroorganizmy występujące w zatokach mogą nie mieć wpływu na podstawowy przebieg choroby, jednak prawdopodobnie prowadzą do zaostrzenia stanu zapalnego, a jednym z warunków ich przetrwania w zatokach jest zdolność do tworzenia biofilmu. Prowadzi to do nawrotów uciążliwych objawów choroby, pomimo stosowania antybiotyków.

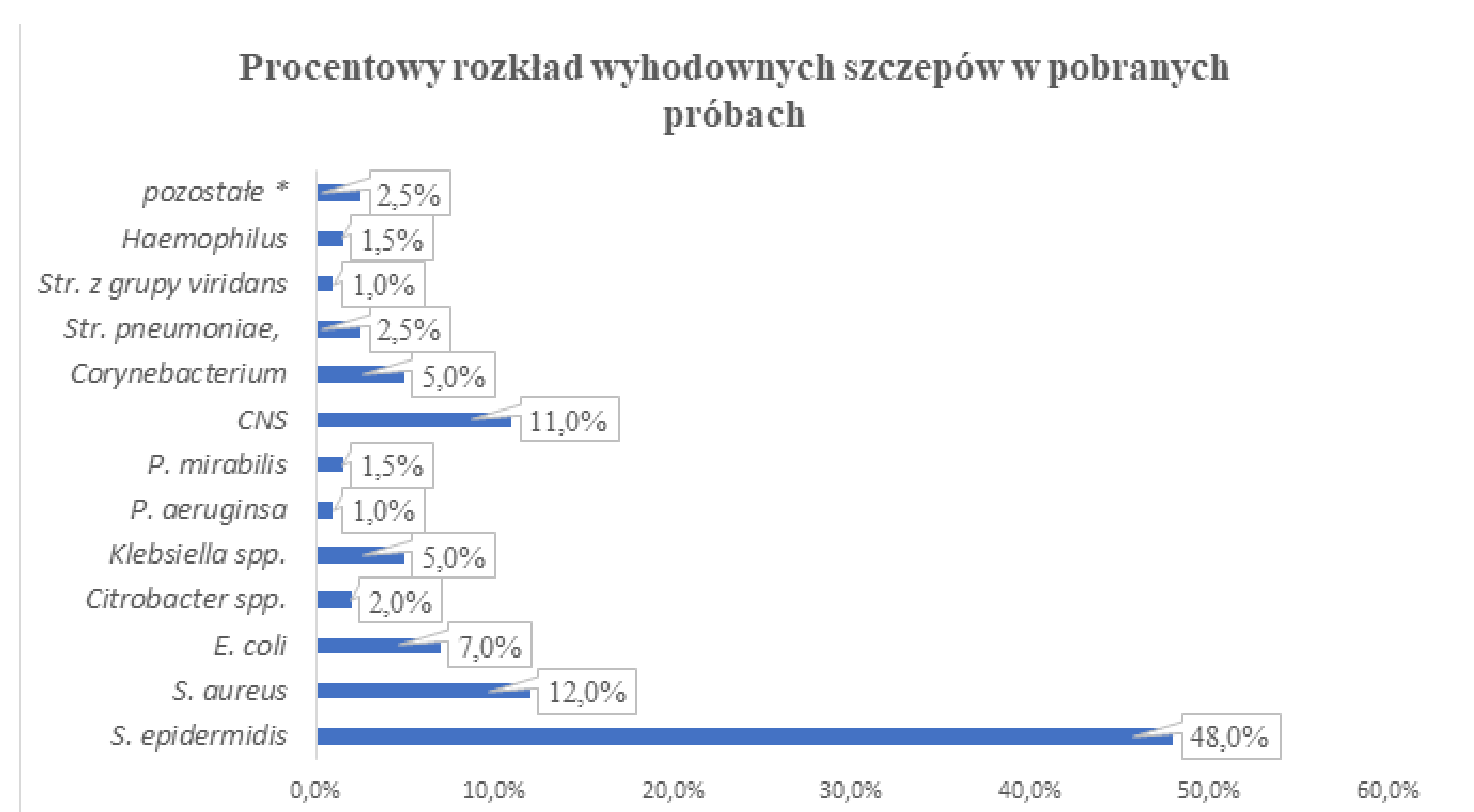
Cele pracy: Identyfikacja najczęściej występujących drobnoustrojów u pacjentów z PZZP, poddanych endoskopowej operacji zatok oraz ocena tworzenia przez nie biofilmu.

Materiały i metody: Badaniami objęto 50 pacjentów z PZZP, na podstawie zgody Komisji Bioetycznej UJ (1072.6120.78.2018 z dnia 20 kwietnia 2018 r). W trakcie operacji endoskopowej pobrano wymazy i wycinki z błony śluzowej z 3 lokalizacji: **przewodu nosowego środkowego, zatoki szczękowej i zatoki czołowej** celem identyfikacji drobnoustrojów występujących u pacjentów z PZZP, którzy byli wielokrotnie poddawani antybiotykoterapii. Łącznie pobrano 150 wymazów oraz 150 bioptatów. Wymazy posiewano na podłoża agarowe, rekomendowane dla diagnostyki bakterii przez EUCAST, a wycinki poddano homogenizacji i zanurzono w bulionie cukrowym (Graso). Wychodzone bakterie poddano standardowej identyfikacji do gatunku, a pomocniczo używano również testów BD Phenix Panels (Becton Dickinson). Ponadto sprawdzono mechanizmy oporności na antybiotyki dla wybranych drobnoustrojów wg standardu EUCAST.

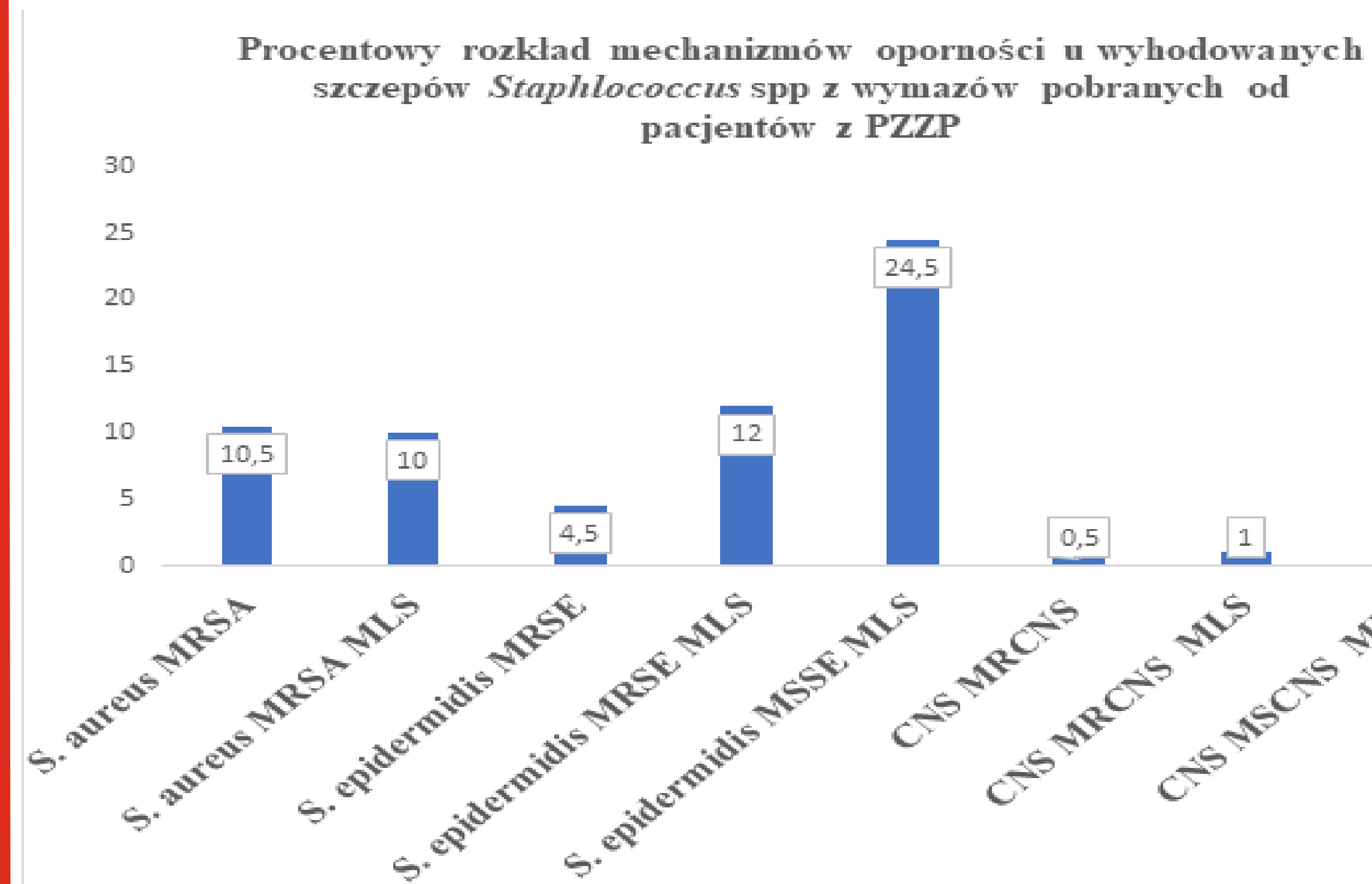
Dla części izolatów zakładano hodowle biofilmu in vitro, celem określenia zdolności do tworzenia biofilmu. Hodowlę biofilmu prowadzono na płytkach 12-o dołkowych (Axygen) przez 24 godziny w temperaturze 36°C z dostępem CO₂. Ocenę tworzenia biofilmu dokonano przy pomocy metody z fioletem krystalicznym i pomiaru absorbancji przy długości fali 570nm (rycina 1). Siłę biofilmowania porównywano ze szczepem referencyjnym *S. epidermidis* ATCC 35984/RP62A.



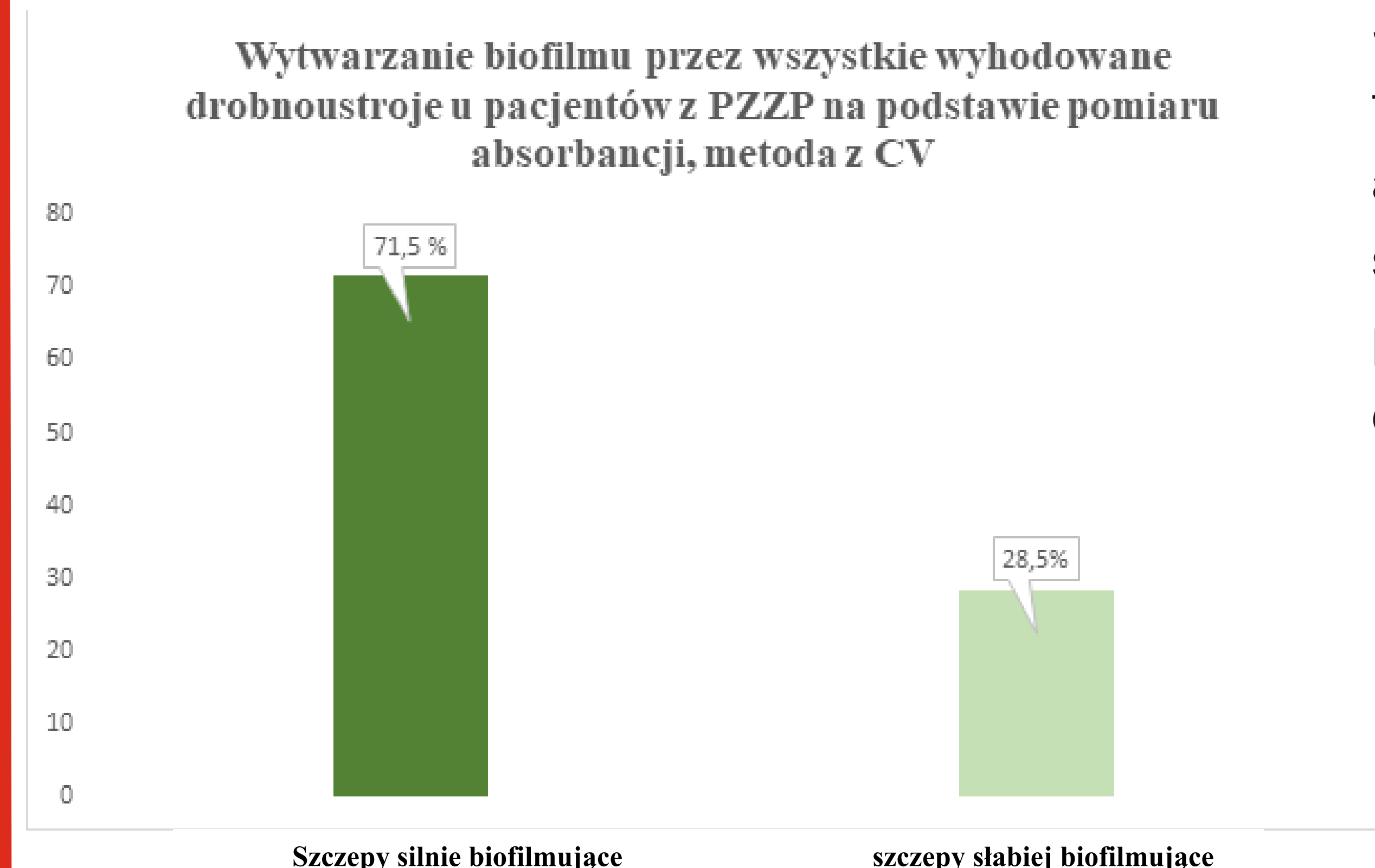
Rycina 1. Metodyka hodowli i badania biofilmu



Rycina 2. Najczęściej hodowane drobnoustroje u pacjentów z PZZP (* E. faecalis, M. catarrhalis, N. meningitidis, H. alvei, M. morgani)



Rycina 3. Mechanizmy oporności u wyizolowanych gronkowców.



Rycina 4. Ocena zdolności tworzenia biofilmu na podstawie pomiaru absorbancji =570nm.

Wnioski:

1. Różnorodność taksonomiczna wychodzonych drobnoustrojów może świadczyć o złożonej etiologii PZZP, a bakterie, które kolonizują nosogardło (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*) mogą przyczyniać się do występowania PZZP.

2. Standardowe leczenie antybiotykami może jedynie prawdopodobnie złagodzić objawy chorobowe, w związku z występowaniem mechanizmów oporności i zdolnością patogenów do tworzenia biofilmu.

Wyniki: W 71% pobranych materiałów stwierdzono występowanie szczepów potencjalnie patogennych - najczęściej izolowano *S. aureus* (12%), *E. coli* (7%) oraz szczepy z rodzaju *Klebsiella spp* (5%) i *P. aeruginosa* (1%). Pozostałe wychodzone drobnoustroje można uważać za skład mikrobioty, ponieważ kolonizują okolice nosogardła (rycina 2).

Na podstawie analizy mechanizmów oporności stwierdzono, że prawie połowa wychodzonych szczepów z rodzaju *Staphylococcus* wytwarzała mechanizm metycylinyoporności lub/i MLS (tj. Makrolidy-Lizkozamidy-Streptograminy) (rycina 3). Wśród wychodzonych pałeczek Gram – ujemnych nie stwierdzono występowania szczepów ESBL dodatnich w badanej próbie.

Spośród przebadanych drobnoustrojów 71% wykazało zdolność do tworzenia biofilmu, z czego 40,5% szczepów uzyskało pomiar absorbancji powyżej lub równy granicy punktu odcięcia dla szczepów silnie tworzących biofilm (rycina 5). Silniej tworzyły biofilm (54% przebadanych szczepów) pałeczki Gram-ujemne, natomiast Gram-dodatnich - 37,5% (rycina 5).



Rycina 6. Porównanie możliwości tworzenia biofilmu na podstawie pomiaru absorbancji (570nm) bakterii Gram-dodatnich do Gram-ujemnych.

