

# Wgląd w filogenezę i antybiotykooporność *Pseudomonas* spp. z gleby Białowieskiego Parku Narodowego

Wioleta Lewandowska<sup>1,2</sup>, Justyna Małgorzata Drewnowska<sup>2</sup>, Monika Zambrzycka<sup>2</sup>



<sup>1</sup>Szkoła Doktorska Nauk Ścisłych i Przyrodniczych, Uniwersytet w Białymstoku

<sup>2</sup>Katedra Mikrobiologii i Biotechnologii, Wydział Biologii, Uniwersytet w Białymstoku



## WSTĘP

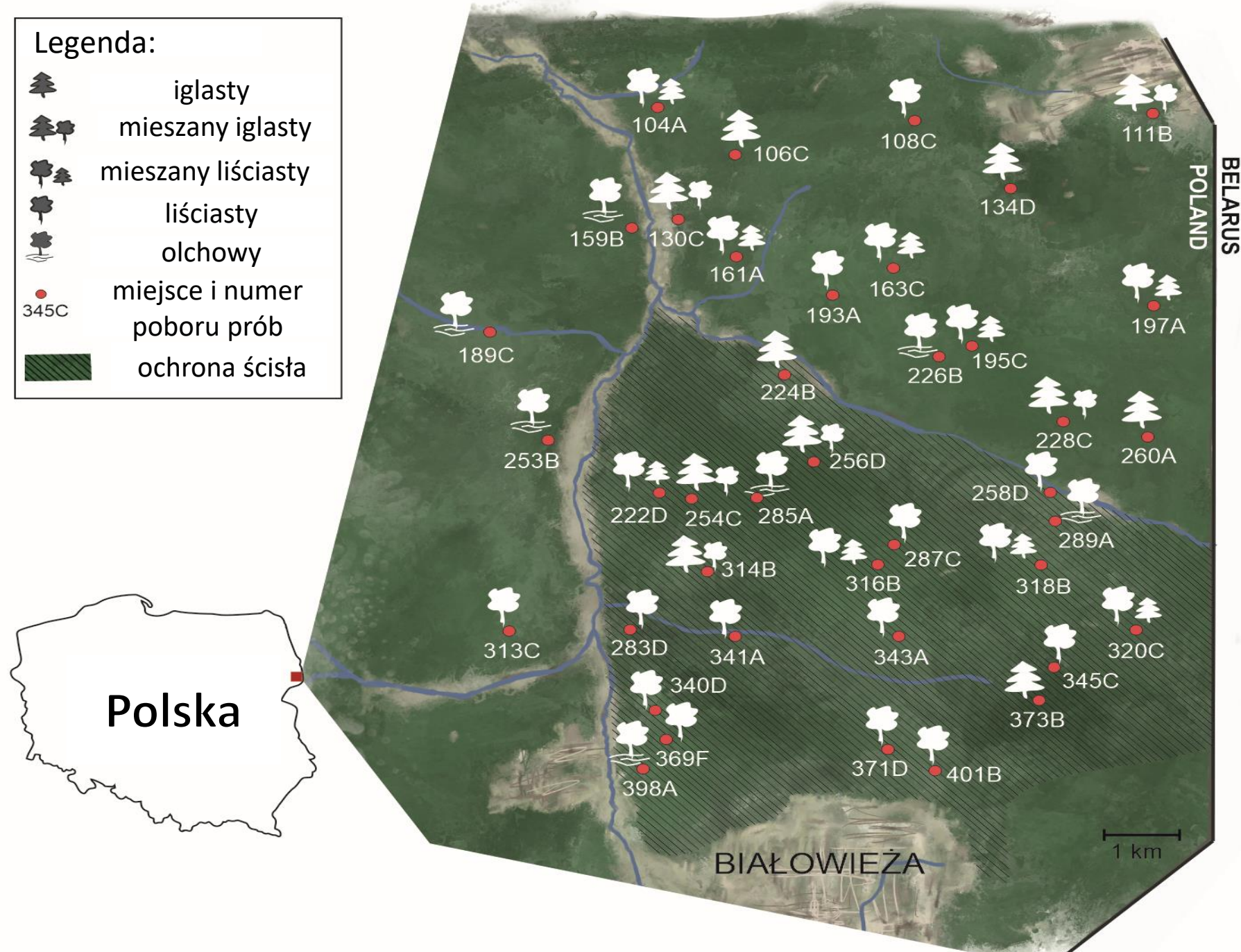
Rodzaj *Pseudomonas* obejmuje gatunki występujące w różnych środowiskach i znane z oporności na antybiotyki, jednak dotąd szeroko badano jedynie szpitalne izolaty *P. aeruginosa*. *Pseudomonas* spp. należą do patogenów oportunistycznych, mogących powodować poważne zagrożenia dla zdrowia, zwłaszcza u osób z obniżoną odpornością [1-3].

Celem badań było wypełnienie luki w wiedzy na temat oporności na antybiotyki wśród *Pseudomonas* spp., zbadano 41 izolatów z próbek gleby pobranych w rezerwacie ścisłym Białowieskiego Parku Narodowego (BPN). To wyjątkowe środowisko, pozbawione znaczących wpływów antropogenicznych, zapewnia doskonałe warunki do badań nad antybiotykoopornością z punktu widzenia środowisk naturalnych.

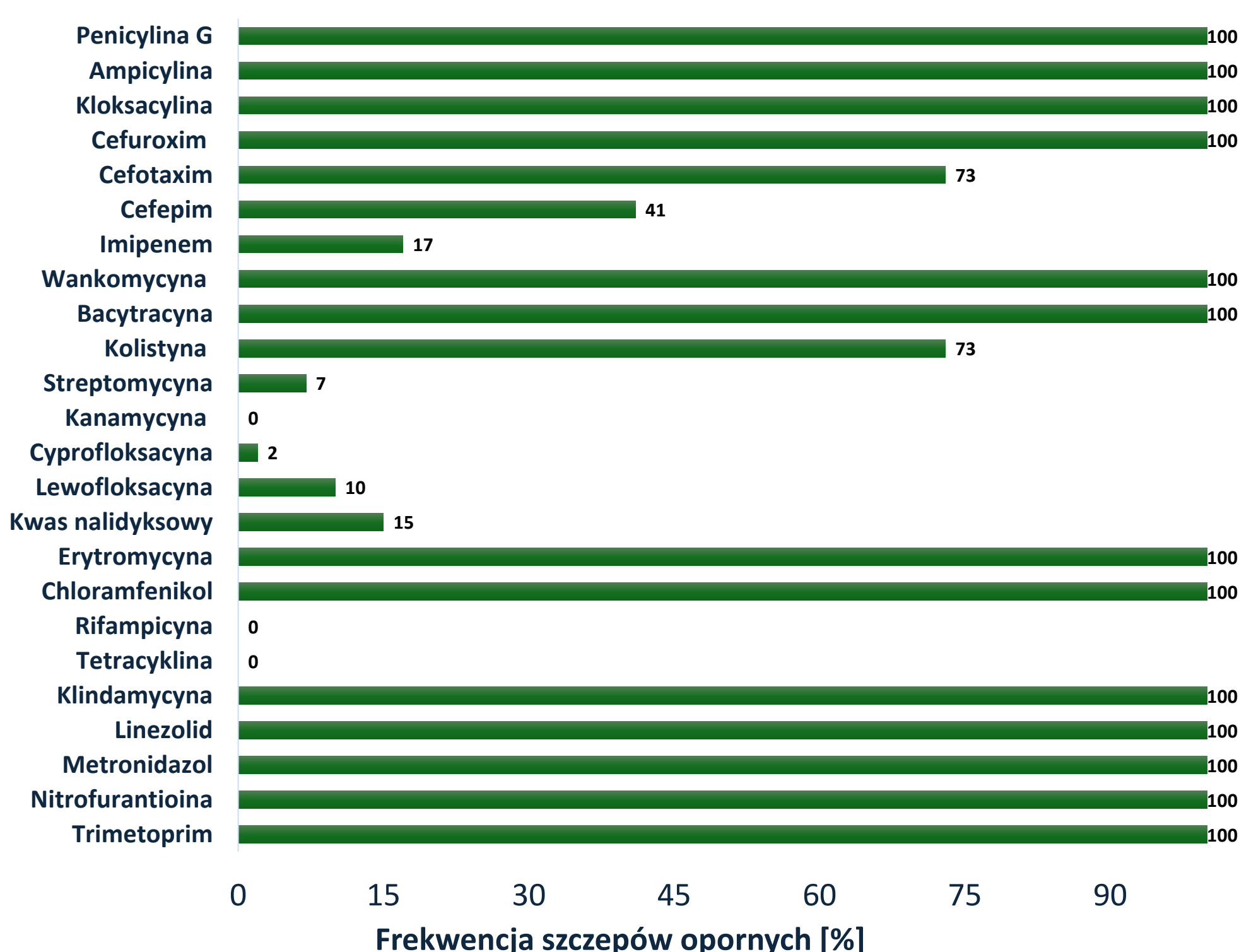
## MATERIAŁY I METODY

- do eksperymentu wyselekcjonowano 41 szczepów bakterii z rodzaju *Pseudomonas*, wyizolowanych z gleby Białowieskiego Parku Narodowego
- dokonano izolacji bakteryjnego DNA z użyciem DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)
- izolaty sklasyfikowano na podstawie sekwencji nukleotydowej fragmentu genu metabolizmu podstawowego *gyrB* i dokonano analiz filogenetycznych w jego oparciu
- wzorzec antybiotykooporności określono metodą gradientowo-dyfuzyjną z użyciem pasków testowych (Liofilchem MTS, Włochy), umożliwiającą określenie MIC (Minimum Inhibitory Concentration), na agarze Muellera-Hintona, przetestowano 24 antybiotyki

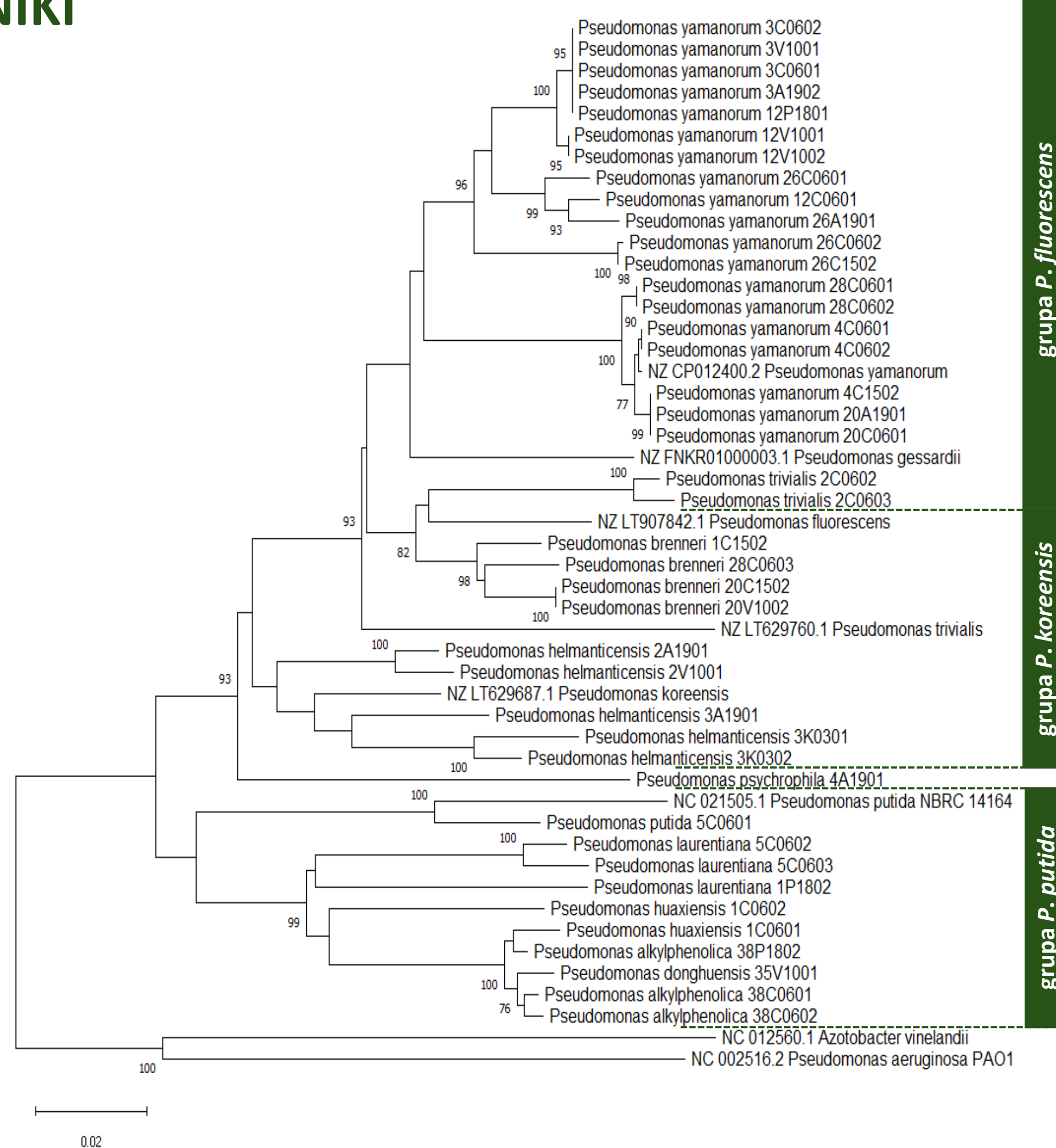
## WYNIKI



Rycina 1. Lokalizacja poboru próbek gleby i różnorodność lasów w Białowieskim Parku Narodowym (BPN).



Rycina 3. Profil oporność na antybiotyki bakterii *Pseudomonas* spp. wyizolowanych z próbek gleby pobranych w Białowieskim Parku Narodowym (BPN).



Rycina 2. Pokrewieństwo filogenetyczne *Pseudomonas* spp. wyizolowanych z próbek gleby pobranych w BPN. Drzewo filogenetyczne 41 izolatów i 8 szczepów referencyjnych skonstruowano na podstawie częściowych sekwencji genu *gyrB* (820 nt). Drzewo wykonano przy użyciu metody Neighbor-Joining (NJ) zaimplementowanej w oprogramowaniu MEGA11 [4], przy użyciu 1000-powtórzeniowego testu bootstrap.

## PODSUMOWANIE I WNIOSKI

- Drzewo filogenetyczne uzyskane na podstawie sekwencji nukleotydowej genu *gyrB* pogrupowało izolaty w klastry filogenetyczne należące do grup *P. fluorescens*, *P. koreensis* i *P. putida*, pochodzących z linii *P. fluorescens*.
- Wszystkie badane izolaty wykazywały oporność na co najmniej 12 z 24 testowanych antybiotyków. Wykryto oporność na kolistynę, cefotaksym i imipenem odpowiednio u 73, 73 i 17% izolatów. Wśród izolatów *Pseudomonas* spp. z BPN potwierdzono obecność szczepów opornych na karbapenemy.
- Bakterie z rodzaju *Pseudomonas* wykazały niezwykle wysoki poziom fenotypowej oporności na antybiotyki, biorąc pod uwagę środowisko pochodzenia.
- Wyniki potwierdzają rosnące obawy dotyczące znaczenia oporności na antybiotyki w środowisku naturalnym i wskazują na potrzebę dodatkowych badań nad czynnikami związanymi z występowaniem tego zjawiska, a także nad warunkami ekologicznymi, które mogą mieć na nie znaczący wpływ.

## LITERATURA

- Behzadi, P., Baráth, Z., Gajdács, M., 2021. It's not easy being green: a narrative review on the microbiology, virulence and therapeutic prospects of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics* 10:42.
- Botelho, J., Grosso, F., Peixe, L., 2019. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* - mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug Resist Updat* 44:100640.
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B.R., Lin, T.J., Cheng, Z., 2019. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv* 37:177-192.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Nnyaz, C., Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 35:1547-1549.