

Identificarea unor compuși terapeutici alternativi cu acțiune antimicrobiană

Doctorand: Coșeriu Lucian-Răzvan

Conducător științific: Prof. dr. Man Adrian

Introducere

Infecțiile cauzate de bacterii pot deveni o provocare, când vine vorba de tratarea acestora, în special în cazul celor cu multiple mecanisme de rezistență. În urma descoperirii antibioticelor, speranța de viață a crescut semnificativ, dar totuși administrarea abuzivă a acestora a dus la apariția de mecanisme de rezistență greu de combătut.

Teza de doctorat se concentrează pe una dintre tulpinile microbiene des întâlnite în infecții, *Pseudomonas aeruginosa*, alegerea fiind justificată de relevanța deosebită a acestei bacterii în infecțiile provocate dar și multiplele mecanisme de rezistență ce se regăsesc în bagajul genetic al bacteriei.

Se urmăresc multiple aspecte referitoare la: profilul de rezistență al acestora și mecanismele genetice ce stau la baza rezistenței, implicațiile epidemiologice în special în cazul bacteriilor multirezistente. În cele din urmă teza prezintă influența uleiurilor esențiale cu potențial antimicrobian asupra tulpinilor cu rezistență crescută.

Studiul 1- Epidemiologia, Evoluția Profilului Antimicrobian și Amprenta Genomică a *Pseudomonas aeruginosa* înainte și în timpul COVID-19: Tranziția de la Rezistență la Susceptibilitate

Studiul s-a desfășurat pe tulpinile de *P. aeruginosa* izolate în perioada 2017-2022 fiind analizate mai multe perspective. În primul rând s-au făcut cercetări cu privire la prevalența tulpinilor, impactul pandemiei COVID-19 asupra prevalenței, distribuția acestora în secțiile Spitalului Clinic Județean Mureș (SCJM) și rezistența la antibiotice a acestora. În al doilea rând s-a studiat analiza genomică a tulpinilor, utilizând tehnici moleculare (ERIC-PCR) având ca scop identificarea de posibile clustere microbiene sau tulpini cu similaritate ridicată.

Materiale și metode:

S-au studiat informații colectate din baza de date WHONET, privind secțiile, tipurile de produse patologice, speciile și profilul de rezistență la antibiotice implicând 1994 tulpini de *Pseudomonas* spp. izolate pe o perioadă de 6 ani în SCJM. Din 50 de izolate multirezistente, analiza genomică a fost efectuată prin teste genetice (ERIC-PCR) pentru a dovedi potențiala distribuție clonală.

Rezultate

Un număr de 1994 tulpini de *Pseudomonas* spp. au fost izolate în perioada 2017-2022, dintre care *P. aeruginosa* a fost cea mai frecventă specie, 97,39% (n = 1942) cu o frecvență mai înaltă în anul 2017 (n = 538), din secția de dermatologie, produsul patologic principal fiind secreția purulentă. O scădere a ratei de recoltare a fost observată în 2020 din cauza restricțiilor COVID-19. În ceea ce privește profilul de rezistență, există câteva modificări. Susceptibilitatea *P. aeruginosa* la carbapeneme, piperacilină-tazobactam și amikacină a suferit modificări înainte și în timpul COVID-19. Amprenta moleculară a arătat trei grupuri de *P. aeruginosa*, inclusiv tulpini cu 80-99% similaritate.

Studiul 2- Descoperirea Mecanismelor de Rezistență în Izolatele Clinice de *Pseudomonas aeruginosa* cu Rezistență Extinsă: Perspective din Expresia Genică și Testele Fenotipice

Scopul studiului a fost de a descrie activitatea pompelor de eflux mex în izolate clinice multirezistente (MDR) de *P. aeruginosa* și de a compara testele de identificare a rezistenței la carbapenem cu metoda end-point PCR.

Materiale și Metode

Șaizeci de tulpini de *P. aeruginosa* MDR au fost analizate pentru detectarea carbapenemazei prin metodă difuzimetrică, metoda de inactivare a carbapenemului și Testul Hodge modificat. Metoda genetică (end-point PCR) a fost utilizată pentru a detecta 7 gene carbapenemază (*bla_{KPC}*, *bla_{OXA48-like}*, *bla_{NDM}*, *bla_{GES-2}*, *bla_{SPM}*, *bla_{IMP}*, *bla_{VIM}*) și *mcr-1* pentru rezistența la colistin. A fost de asemenea evaluată expresia genelor *mexA*, *mexB*, *mexC*, *mexE* și *mexX* corespunzătoare celor patru pompe principale de eflux.

Rezultate

Din totalul de tulpini testate, 71,66% prezintă cel puțin o genă de carbapenemază, *bla_{GES-2}* fiind gena cu cea mai mare frecvență (63,3%). În comparație cu testul PCR, acuratețea testelor fenotipice nu au depășit 25% pentru *P. aeruginosa*.

Genele pompei de eflux au fost prezente în toate tulpinile cu excepția uneia. În 85% dintre izolate, a fost detectată o supraexpresie a *mexA*, *mexB* și mai ales *mexC*. Tratamentul anterior cu ceftriaxonă a crescut activitatea *mexC* de peste 160 de ori.

Studiul 3- Efectul Antibacterian a 16 uleiuri esențiale și Modularea Expresiei Genetice a Pompelor de Eflux *mex* asupra Izolatelor Clinice Multirezistente de *Pseudomonas aeruginosa*: Este Scorțișoara un Bun Luptător?

Scopul studiului a fost de a descrie activitatea antimicrobiană a 16 uleiuri esențiale (UEs) comune asupra izolatelor clinice de *P. aeruginosa* MDR, inclusiv determinarea efectelor asupra expresiei genelor pompelor de eflux *mex*.

Materiale și metode

Un număr de 72 izolate clinice de *P. aeruginosa* colectate între 2020-2022 au fost analizate pentru sensibilitate la UEs folosind metoda Kirby-Bauer pentru identificarea uleiurilor cu potențial antimicrobian. Concentrația minimă inhibitorie (CMI) a fost determinată ulterior pentru UEs care a prezentat activitate antibacteriană după screening-ul difuzimetric. Au fost utilizate, de asemenea, controale pozitive și negative pentru validarea metodei. Deoarece uleiul esențial de scorțișoară a prezentat cea mai bună activitate antimicrobiană, acesta a fost ulterior folosit pentru a evalua influența sa asupra expresiei genelor pompelor de eflux *mex* A, B, C, E și X folosind real time RT-PCR

Rezultate

UEs de scorțișoară a inhibat toate tulpinile de *P. aeruginosa*, urmat de cimbru (37,5%, n = 27) și levănțică (12,5%, n = 9). Celelalte UEs au fost mai puțin eficiente. Testarea prin CMI a arătat că scorțișoara, la o concentrație de 0,05% v/v, a inhibat toate izolatele de *P. aeruginosa* MDR. Uleiurile esențiale de cimbru, turmeric, mentă, busuioc, cuișoare și levănțică au prezentat rezultate variate, majoritatea având activitate la concentrații mai mari de 12,5% v/v.

Prin studierea activității uleiului esențial de scorțișoară asupra pompelor de eflux *mex*, s-a constatat că *mexA* și *mexB* (66,5%) au fost în general subexprimate. Rezultatele remarcabile obținute utilizând concentrații foarte scăzute de UEs de scorțișoară, cu activitate antimicrobiană de 100% împotriva izolatelor clinice de *P. aeruginosa* MDR, XDR, PDR, completate de alterarea severă a sistemului ARN mesager, susțin potențialul său de a fi utilizat ca tratament adjuvant, cu impact asupra rezultatelor terapeutice.