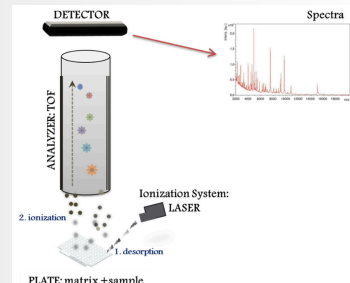
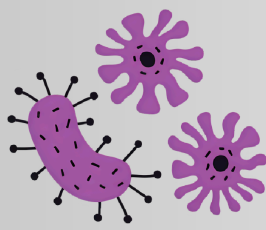


Ocena oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe w glebach cmentarnych przy użyciu podejścia metagenomicznego

Patrycja Tarnawska, Maciej Walczak
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

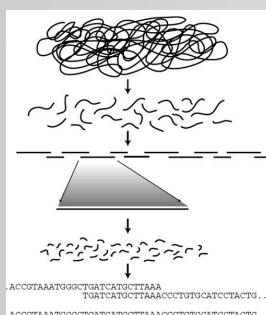
METODYKA



1. Materiał badawczy:

- gleba cmentarna: z ekshumacji oraz powierzchniowa
- spoza cmentarzy - powierzchnia i z głębokości
- piezometry - w miejscu akumulacji odcieków z cmentarzy oraz poza ich wpływem

2. Określenie liczebności bakterii opornych na antybiotyki: amoksycylina, cefuroksym, doksycyklina, tetracyklina



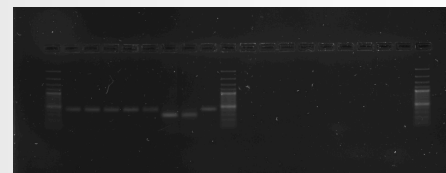
5. Sekwencjonowanie metagenomowe typu shotgun wybranych próbek

3a. MALDI-TOF

3b. Izolacja DNA



4. Multipleks PCR w kierunku genów oporności



Opis próbek wykorzystanych do sekwencjonowania:

A1 - Lubień Kujawski, **ekshumacja** - 2015

B1 - Lubień Kujawski, **ekshumacja** - 1991

C1 - Wąbrzeźno, **ekshumacja** - 1990

D1 - Wąbrzeźno, **ekshumacja** - 1993

E1 - Więcbork, **ekshumacja** - 1994

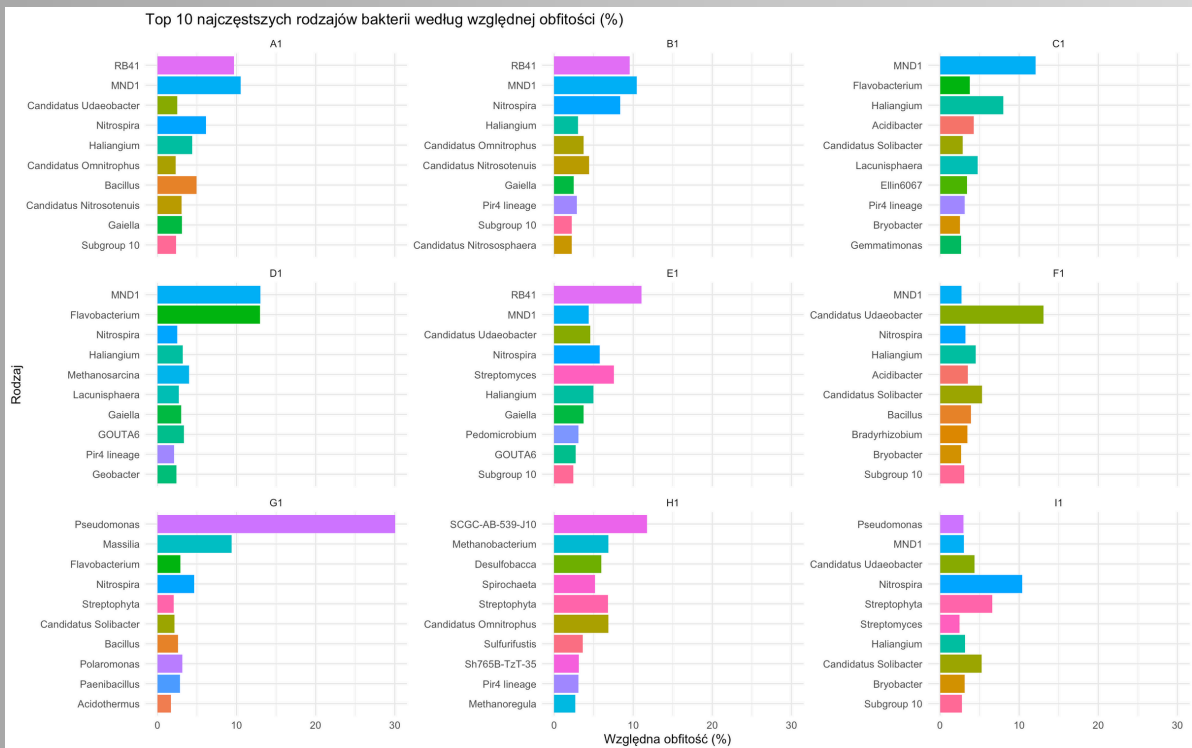
F1 - Lubień Kujawski, spoza cmentarza, góra

G1 - Lubień Kujawski, spoza cmentarza, dół

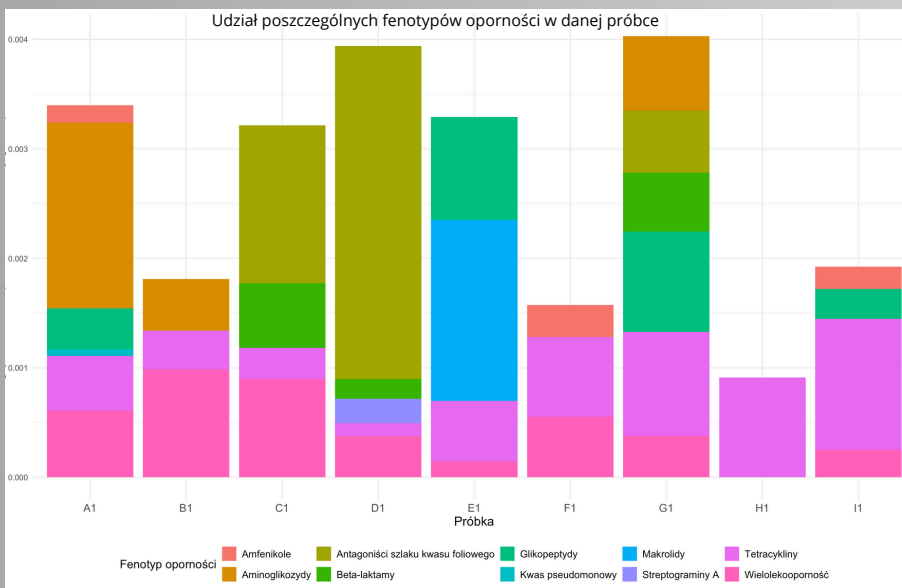
H1 - Lubień Kujawski, piezometr, dół

I1 - Lubień Kujawski, piezometr, góra

WYNIKI



Ryc. 1 Top 10 najczęstszych rodzajów bakterii



Ryc. 2 Fenotypy oporności w danej próbce

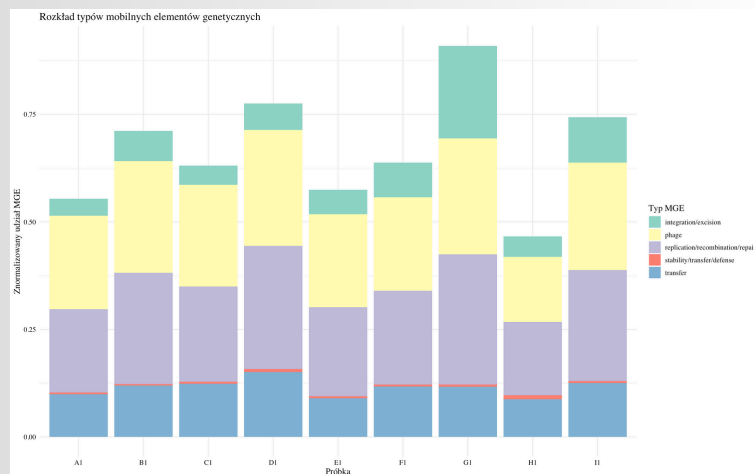
WNIOSKI

Etapy badań 1-4

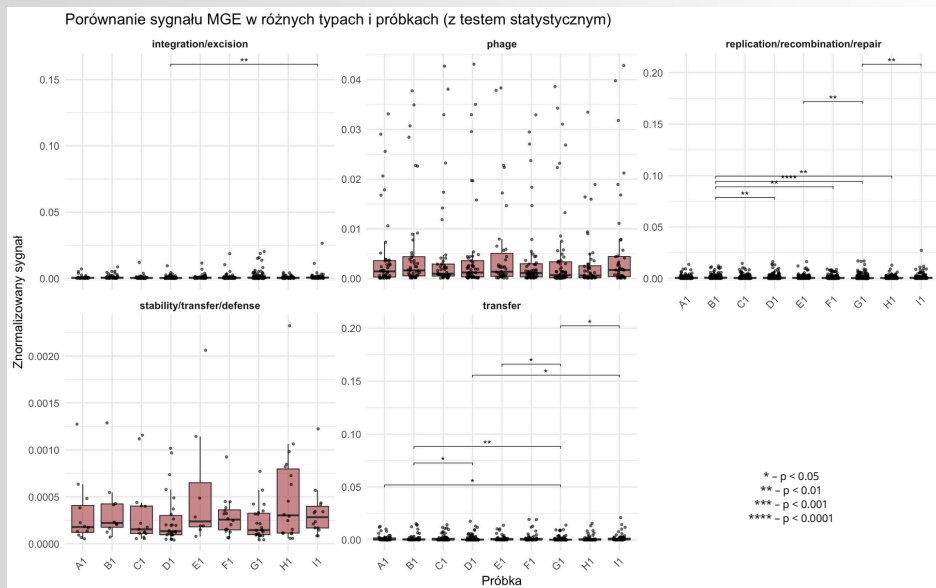
- zarejestrowano najwięcej bakterii opornych na cefuroksym i amoksycylinę, znacznie mniej na tetracyklinę i doksycylinę
- najczęściej notowane geny oporności: blaTEM, blaSHV, blaOXA, tetC, tetB i sul1 oraz Int1
 - ogółem - brak statystycznie istotnych różnic

Sekwencjonowanie typu shotgun

- zaobserwowano zróżnicowanie taksonomiczne, bez wyraźnego schematu wśród badanych grup, podobnie w kontekście obserwowanych fenotypów oporności
- integracja/wycinanie oraz transfer genów wykazują istotne różnice między próbkami, co może świadczyć o zróżnicowanej aktywności elementów mobilnych
- w przypadku genów związanych z fagami oraz stabilnością i obroną nie zaobserwowano istotnych różnic, co sugeruje ich względnie stałą obecność i rozproszenie we wszystkich badanych próbkach
- uzyskane wyniki wskazują, że gleby cmentarne stanowią źródło występowania antybiotykooporności, jednak nie jest ono wyższe, niż w próbkach kontrolnych, co sugeruje, że nie stanowią raczej zagrożenia w tym zakresie



Ryc. 3 Rozkład typów mobilnych elementów genetycznych



Ryc. 4 Porównanie sygnałów MGE dla danej próbki