

Ukryte patogeny- identyfikacja czynników etiologicznych zakażeń układu moczowego u pacjentów dializowanych i po przeszczepie nerki z zastosowaniem sekwencjonowania 16S rRNA

Zakażenie układu moczowego (ang. urinary tract infections, UTI) należy do najczęstszych chorób infekcyjnych. Dochodzi do niego w przypadku obecności drobnoustrojów w drogach moczowych. Pacjenci dializowani stanowią grupę wysokiego ryzyka zakażeń układu moczowego. Za infekcje w obrębie układu moczowego najczęściej odpowiadają bakterie Gram (+) z rodzaju gronkowców (*Staphylococcus aureus* lub *Staphylococcus epidermidis*), a także pałeczki Gram (-) *Pseudomonas aeruginosa*. Zdecydowanie rzadziej przyczyną tego rodzaju powikłań są drobnoustroje grzybicze. U biorców nerki, zakażenia układu moczowego stanowią najczęstsze powikłania infekcyjne, z częstością występowania w pierwszym roku po transplantacji sięgającą 60%. Najczęstsze czynniki etiologiczne UTI u chorych po przeszczepieniu nerki są podobne jak w przypadku powikłanych UTI w populacji ogólnej. Najczęściej identyfikowanym patogenem w posiewach moczu jest *Escherichia coli*. Stwierdza się też obecność *Pseudomonas* spp. oraz *Klebsiella* spp. Powikłania infekcyjne występujące u pacjentów leczonych metodami dializ są istotnym problemem w procesie leczenia nerkozastępczego. Dializacyjne zakażenie ujścia cewnika, a także tunelu cewnika dializacyjnego stanowią poważne powikłania, które zwiększają częstość hospitalizacji u tych pacjentów, a nawet mogą być bezpośrednią przyczyną zagrożenia ich życia. Zakażenia układu moczowego są powikłaniem istotnym nie tylko ze względu na powszechne występowanie, ale potencjalnie negatywny wpływ na funkcję wydalniczą przeszczepu, przeżycie chorego i przeszczepionej nerki. Zakażenia, wśród których dominują UTI, stanowią najczęstszą przyczynę ostrego uszkodzenia przeszczepionej nerki. Wśród powikłań potransplantacyjnych, bakteriami jest niezależnym czynnikiem ryzyka utraty przeszczepu w wyniku zgonu lub niewydolności nerki przeszczepionej oraz śmiertelności całkowitej. W rutynowych badaniach diagnostycznych prób moczu wykrywa się typowe uropatogeny, natomiast izolacja i identyfikacja drobnoustrojów o wysokich wymaganiach, wybrednych oraz niehodowlanych na podłożach mikrobiologicznych jest często niemożliwa. Spowodowane to jest przede wszystkim różną wrażliwością mikroorganizmów na tlen, co wymaga odpowiednich metod pobierania materiału, transportu i ściśle beztlenowych warunków hodowli. Ponadto, powolny wzrost tych organizmów w połączeniu z czasochłonną identyfikacją często powoduje nierozstrzygnięcie identyfikacji gatunkowej. Ponadto drobnoustroje te są często izolowane z zakażeń mieszanych powodowanych przez znane patogeny i dlatego znaczenie tych wybrednych bakterii beztlenowych zostaje w dużej mierze pomijane. Szacuje się, że około 14% mikroorganizmów nie jest wykrywanych metodami fenotypowymi, przy czym ta szacunkowa wartość, biorąc pod uwagę wyniki najnowszych badań nad mikrobiomami człowieka, jest prawdopodobnie zaniżona. W projekcie tym stawiamy hipotezę, że drobnoustroje trudnodowlane i niehodowlane są częstymi czynnikami etiologicznymi UTI, obecnie nie wykrywalnymi metodami mikrobiologii klasycznej. Hipotezę badawczą weryfikować będziemy przy użyciu sekwencjonowania 16S rRNA w technologii sekwencjonowania następnej generacji (NGS) z wykorzystaniem systemu Miseq (Illumina). Wybrane wyniki NGS weryfikowane będą z użyciem sekwencjonowania typu Sanger. W niniejszym badaniu podejście niezależne od hodowli, oparte na celowanym sekwencjonowaniu, pozwoli na ocenę całego elementu bakteryjnego mikrobiomu moczu osób poddawanych dializom, po transplantacji nerki oraz osób zdrowych (stanowiących grupę kontrolną), zbadanie różnorodności bakterii w moczu oraz na identyfikację również nietypowych, wybrednych bakterii beztlenowych, obecnie nieidentyfikowanych technikami mikrobiologii klasycznej. Będzie to pierwsze takie badanie na świecie, biorąc pod uwagę badane grupy chorych, uwzględniające pacjentów dializowanych i pacjentów po przeszczepie. Zatem wykorzystanie NGS w diagnostyce UTI pozwoli na znacznie pełniejszą charakterystykę elementu bakteryjnego mikrobiomu, w tym potwierdzenie obecności uropatogenów, na skrócenie czasu ich identyfikacji oraz w przyszłości na szybszą i spersonalizowaną terapię w leczeniu infekcji. Szczegółowe zrozumienie i poznanie patogenów wywołujących ZUM u chorych dializowanych oraz biorców przeszczepów nerek pozwoli również na poprowadzenie racjonalnej antybiotykoterapii, i zapewni nowe perspektywy dla zmniejszenia ryzyka odrzucenia przeszczepu.