

Choroby odzwierzęce, czyli zoonozy, stanowią jedno z największych wyzwań obecnej opieki medycznej na świecie. WHO szacuje, że 60% wszystkich chorób infekcyjnych to zoonozy. Gady mogą być źródłem bakterii o potencjale zoonotycznym, głównie *Salmonella* spp. Bakterie *Salmonella* są jedną z głównych przyczyn infekcji jelitowych u ludzi w Europie i na świecie. Do tej pory opisano ponad 2600 wariantów serologicznych *Salmonella*. Dla ludzi są bezwzględnie patogenne, ale zwierzęta mogą być ich bezobjawowymi nosicielami. Izoluje się je od ptaków, gryzoni, psów, kotów a także gadów. Dla gadów charakterystyczne są głównie podgatunki *Salmonella enterica* subsp. *arizonae* i *diarizonae*, które określa się jako rzadko izolowane od ludzi. Szczepy pochodzące od gadów wywołują infekcje nazywane RAS (ang. *Reptile-associated salmonellosis*) które mogą być niebezpieczne dla osób z grup ryzyka, głównie dzieci i osób starszych. Do infekcji RAS może dojść po bezpośrednim lub pośrednim kontakcie z gadem. Jest to możliwe między innymi dzięki zdolności bakterii *Salmonella* do produkcji biofilmu. Biofilm to złożona struktura, składająca się z komórek bakterii przylegających do powierzchni i zewnątrzkomórkowej macierzy cukrowej i białkowej, która umożliwia przetrwanie w środowisku zewnętrznym poza organizmem gospodarza. Wśród szczepów *Salmonella* spp. izolowanych od gadów, szczególnie ważne są warianty odporne na działanie ludzkiego układu dopełniacza i zdolne do namnażania się w surowicy krwi ludzkiej.

Powodem podjęcia badań opisanych w projekcie jest ograniczona dostępność danych literaturowych na temat mikrobioty wolno żyjących węży w Polsce, a także mała liczba danych dotyczących tworzenia biofilmu i indukcji odpowiedzi immunologicznej przez serowary rzadko izolowanych podgatunków *Salmonella*.

Głównym celem projektu jest charakterystyka wybranych cech wirulencji rzadkich serowarów *Salmonella* izolowanych od węży wolno żyjących w Polsce. W ramach projektu badaniami zostaną objęte izolaty *Salmonella* spp. uzyskane od osobników zaskrońca zwyczajnego (*Natrix natrix*), zaskrońca rybołowa (*N. tessellata*), gniewosza plamistego (*Coronella austriaca*) i węża Eskulapa (*Zamenis longissimus*). Badania wstępne pozwoliły ocenić produkcję biofilmu w warunkach statycznych, a także potwierdzić wpływ dostępności składników odżywczych i temperatury na ten proces. Ponadto, wykazano zdolność do namnażania się analizowanych szczepów w obecności preparatu surowicy ludzkiej krwi, co wskazuje na oporność na ludzki układ dopełniacza. Planowane zadania projektowe będą polegały na ocenie zdolności do produkcji biofilmu w warunkach mikroprzepływu, wskazanie składników macierzy biofilmu i aktywności genów biorących w tym procesie udział, na detekcji i określeniu ekspresji wybranych genów wirulencji. Ekspresja genów i produkcja biofilmu będą sprawdzone w zmiennych warunkach temperaturowych i przy różnym dostępie składników odżywczych. Ocena wirulencji będzie badana także na modelu *in vivo* *Galleria mellonella*. Larwy tego owada będą zakażane bakteriami i obserwowana będzie ich odpowiedź na infekcję. Dodatkowo, z larw, które przeżyją, wyizolowane i zidentyfikowane zostaną białka zaangażowane w immunologiczną obronę nieswoistą, produkowane w odpowiedzi na zakażenie. Wybrane genomy szczepów różniących się patogennością i zdolnością do produkcji biofilmu zostaną zsekwencjonowane.

Spodziewanymi efektami są potwierdzenie gadów jako źródła rzadkich wariantów serologicznych *Salmonella* spp. produkujących biofilm, wykazanie zmienności genetycznej pomiędzy potencjalnie zoonotycznymi wariantami, potwierdzenie, że zarówno ekspresja genów jak i formowanie biofilmu są procesami zależnymi od zmienności środowiska bytowania, a obniżenie temperatury i niedobór składników odżywczych będzie promował ekspresję specyficznych genów i biofilmujący fenotyp izolatów umożliwiający asymptomatyczną kolonizację zwierząt i przeżycie w środowisku poza gospodarzem. Dodatkowo, w projekcie zostanie wykazany wpływ warunków środowiskowych na przeżywalność larw *Galleria mellonella* i odpowiedź nieswoistą układu immunologicznego.

Cele naukowe projektu mogą mieć praktyczne implikacje w życiu codziennym. Wyniki uzyskane w ramach projektu mogą zostać wykorzystane przez innych badaczy, a także biologów, edukatorów, weterynarzy i hodowców gadów. Poddane analizie zwierzęta żyją także w innych krajach na całym świecie, dlatego uzyskane wyniki nie mają charakteru wyłącznie lokalnego.