

## RANDOM AMPLIFIED POLYMORPHIC DNA (RAPD) TYPING ΣΤΕΛΕΧΩΝ *P. aeruginosa* ΣΕ ΝΕΡΟ MTN

Θ. Κωνσταντινίδης<sup>1</sup>, Θ. Παρασίδης<sup>1,3</sup>, Γ. Ρωμανίδου<sup>2</sup>, Ι. Αλεξανδροπούλου<sup>1,3</sup>, Κ. Κανταρτζή<sup>2</sup>, Ε. Μουρβάτη<sup>2</sup>, Μ. Πανοπούλου<sup>3</sup>, Σ. Παναγούτσος<sup>2</sup>

Περιφερειακό Εργαστήριο Δημόσιας Υγείας ΑΜΘ  
Πανεπιστημιακή Νεφρολογική Κλινική Τμήματος Ιατρικής Δ.Π.Θ.  
Εργαστήριο Μικροβιολογίας, Τμήματος Ιατρικής Δ.Π.Θ.

### Εισαγωγή

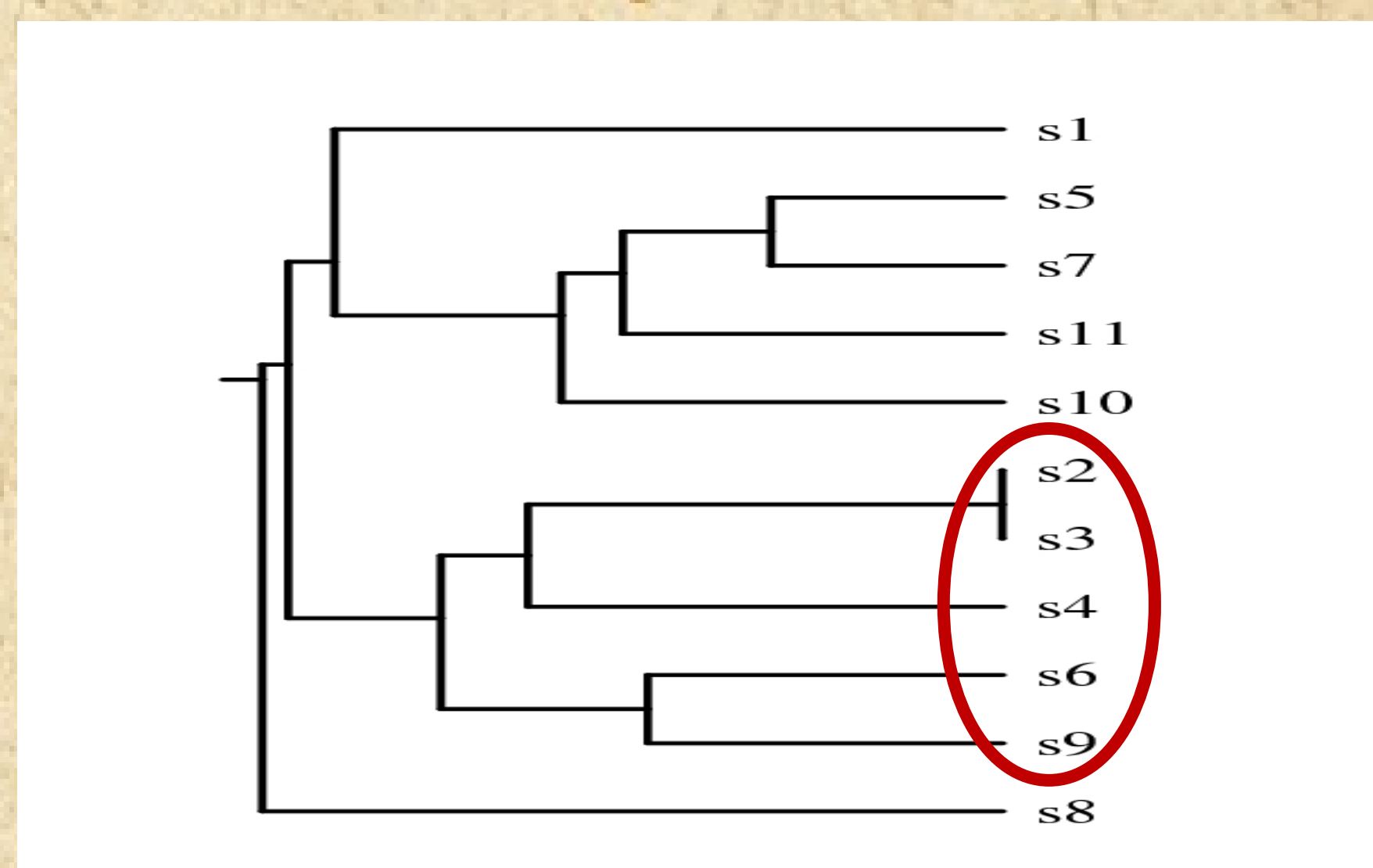
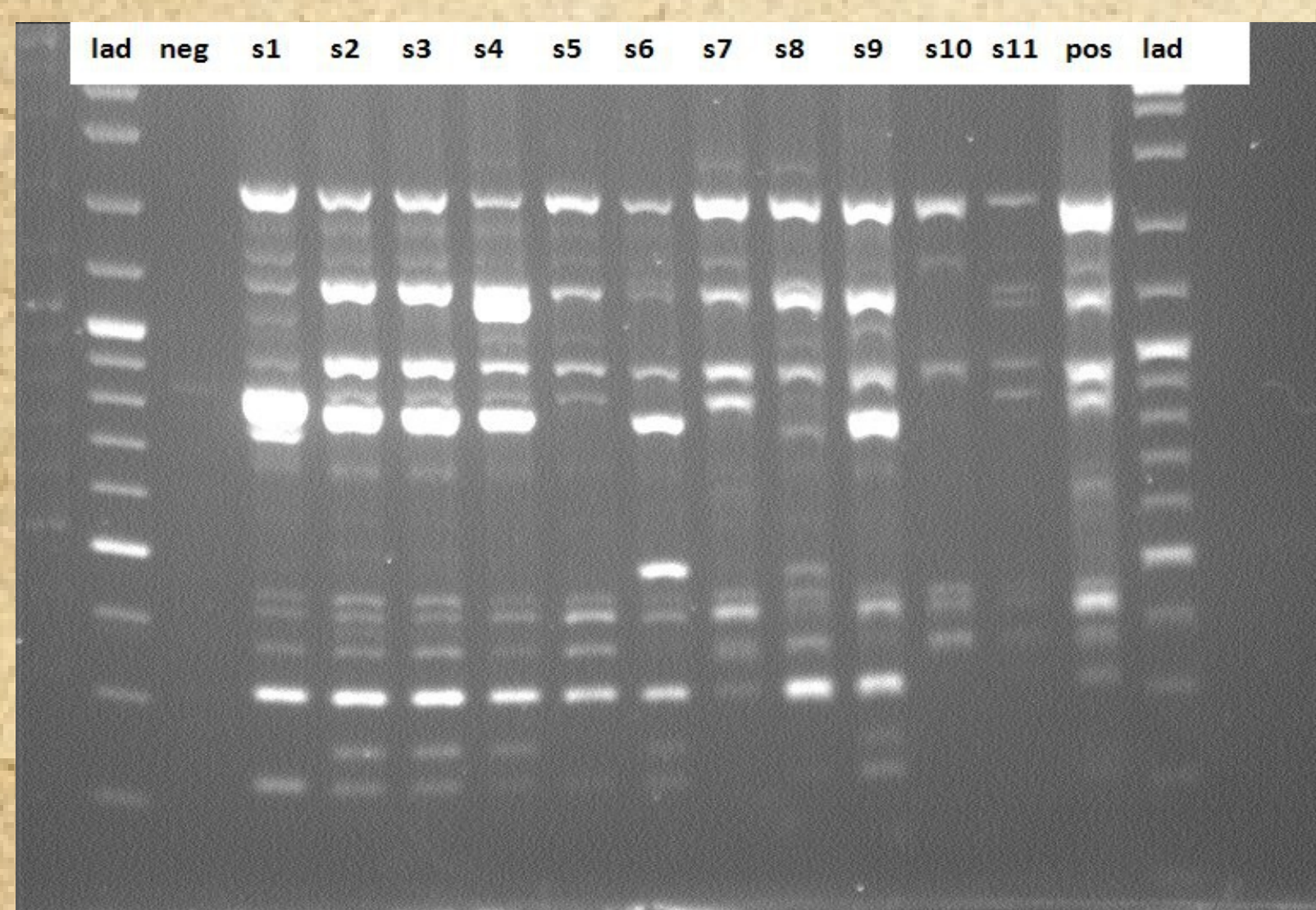
Αυξημένο μικροβιακό φορτίο του νερού στις Μονάδες Τεχνητού Νεφρού (MTN) αποτελεί ένα σημαντικό πρόβλημα στην καθημερινή κλινική πράξη. Με βάση της διεθνής βιβλιογραφίας, η *P. aeruginosa* είναι συχνότερος μικροοργανισμός που απομονώνεται από το νερό, θέτοντας σε κίνδυνο τους αρρώστους. Ο σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η απομόνωση στελεχών *P. aeruginosa* σε νερό αιμοκάθαρσης στις Μονάδες Τεχνητού Νεφρού (MTN) σε διάστημα πέντε ετών, μοριακή τυποποίηση των στελεχών αυτών καθώς και η σύγκρισή τους με τα κλινικά στελέχη που απομονώθηκαν από τους αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς την ίδια χρονική περίοδο.

### Υλικά-Μέθοδοι

Η ανάλυση των δειγμάτων έγινε σύμφωνα με το ΕΛΟΤ EN ISO16266:2009 σε m-pseudomonas agar CN. Η ταυτοποίηση των στελεχών καθώς και ο έλεγχος ευαισθησίας πραγματοποιήθηκαν σε αυτοματοποιημένο σύστημα Vitek 2 (BioMerieux). Για την εξαγωγή του γενετικού υλικού χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό kit "DNeasy blood & Tissue kit" (QIAGEN). Για τη μοριακή ανάλυση (RAPD-PCR) χρησιμοποιήθηκαν δυο εκκινητές. Τέλος, τα προϊόντα της PCR ηλεκτροφορήθηκαν σε πηκτή αгарόζης περιεκτικότητας 1,5%. Όλα τα κλινικά στελέχη που απομονώθηκαν από τους αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς διατηρήθηκαν στο Εργαστήριο Μικροβιολογίας στους -40°C.

### Αποτελέσματα

Συλλέχθηκαν 560 δείγματα από το νερό της αιμοκάθαρσης, από τα οποία απομονώθηκαν μόνο 4 στελέχη *P. aeruginosa* (0.7%). Η μοριακή ανάλυση έδειξε την ύπαρξη μεγάλης γενετικής ποικιλίας μεταξύ των περιβαλλοντικών και κλινικών στελεχών. Ωστόσο, δύο περιβαλλοντικά στελέχη έδειξαν πανομοιότυπα RAPD προφίλ με τα δυο κλινικά στελέχη που απομονώθηκαν από τους ασθενείς το 2009 και 2012 και διαφορετικά από τα υπόλοιπα κλινικά στελέχη.



Εικόνα 1

A RAPD patterns στελεχών *P. aeruginosa*,

B Δεντρόγραμμα απομονωθέντων στελεχών (s1-s4 περιβαλλοντικά, s5-s11 κλινικά στελέχη)

### Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν πολύ χαμηλό ποσοστό μόλυνσης του νερού MTN από τα στελέχη *P. aeruginosa* με μεγάλη γενετική ποικιλία τόσο μεταξύ τους όσο και μεταξύ των κλινικών στελεχών. Παρόλα αυτά, η ανίχνευση των στελεχών της *P. aeruginosa* με πανομοιότυπο RAPD προφίλ επιβάλλει ένα αυστηρό πρόγραμμα τακτικού ελέγχου. Η ύπαρξη μεγάλης γενετικής ποικιλίας μεταξύ των στελεχών της *P. aeruginosa* είναι γνωστή από την διεθνή βιβλιογραφία. Η μέθοδος της RAPD-PCR, είναι απλή, γρήγορη, αξιόπιστη και μπορεί να ανιχνεύσει την ποικιλότητα αυτή. Συνεπώς ο γονοτυπικός διαχωρισμός των στελεχών με τη μέθοδο της RAPD-PCR, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε επιδημιολογικές έρευνες, κάτι που είναι σημαντικό για την εξακρίβωση της πηγής της λοίμωξης.