

А. С. Шульга, К. А. Червяковская

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ДЕТЕРМИНАНТ УСТОЙЧИВОСТИ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ АНТИБИОТИКАМ У САЛЬМОНЕЛЛ

Научный руководитель канд. мед. наук В. В. Слипень

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. Изучены сальмонеллы, выделяемые в различных областях Республики Беларусь от пациентов с сальмонеллезами, из внешней среды, продуктов питания, и проведена оценка у них частоты встречаемости генов устойчивости к бета-лактамным антибиотикам. Показано, что устойчивые к бета-лактамным антибиотикам формы сальмонелл имеют широкое распространение в Беларуси. Устойчивость к аминопеницилинам у сальмонелл, в основном, обусловлена геном *blaTEM*, который идентифицирован у 59% изученных изолятов.

Ключевые слова: сальмонеллы, устойчивость к бета-лактамным антибиотикам, ген *blaTEM*

Resume. This article presents the results regarding genetic background of salmonella resistance to beta-lactam antibiotics. Different serological variants of *Salmonella enterica* were collected from different regions of Belarus from patients, environment and food. Resistant to beta-lactam antibiotics salmonella were shown to be widespread in Belarus. Resistance to aminopenicillins, mainly, was due to gene *blaTEM* identified in 59% of the studied isolates.

Keywords: salmonella, resistance to beta-lactam antibiotics, gene *blaTEM*

Актуальность. Сальмонеллёзы представляют актуальную проблему здравоохранения, санитарно-эпидемиологического и ветеринарного надзора в большинстве стран мира, что связано с высоким уровнем заболеваемости и отсутствием предпосылок к его снижению, обусловленных массовым производством и экспортом продуктов питания, активизацией туризма, появлением устойчивых к антибиотикам вариантов [1]. В глобальном масштабе возбудители сальмонеллезов вызывают 93,8 миллионов заболеваний в год, из которых 80,3 миллиона случаев передаются пищевым путем и 155000 случаев приводят к летальному исходу. Лечение сальмонеллеза у взрослых не проблематично, в связи с высокой эффективностью применения эмпирической терапии ципрофлоксацином. Но его нельзя применять у детей, из-за чего их лечат бета-лактамными антибиотиками, например ампициллином [5]. Сейчас отмечается рост циркуляции резистентных форм микроорганизмов, в том числе среди сальмонелл. Поэтому, исследование резистентности сальмонелл к антибиотикам актуально, особенно, для пациентов детского возраста [3, 4].

Цель: динамическое наблюдение за циркулирующими серовариантами сальмонелл с целью ограничения распространения устойчивых к антибиотикам вариантов и обеспечения микробиологической безопасности продуктов питания.

Задачи:

1. Изучить распространенность резистентных серовариантов сальмонелл.
2. Определить, каким геном в большинстве случаев обусловлена резистентность к бета-лактамным антибиотикам.

Материал и методы. Изучены 81 культура сальмонелл. Экстракцию ДНК

проводили путем инкубации бактериальной петли 18-24 часовой чистой культуры сальмонелл при 98 °С в течение 10 минут в 5% суспензии Chelex-100 в 1xTAE буфере, после чего дебрис осаждали центрифугированием при 13000 g – 10 мин. Исследовали супернатант. Детекцию генов бета-лактамаз классов TEM, SHV, ACC проводили методом ПЦР. Готовили реакционную смесь объемом 50 мкл использованием специфических праймеров. Продукты амплификации выявляли электрофорезом 12 мкл образцов в 1,5% агарозном геле с бромидом этидия (0,5 мкг/мл).

Результаты и их обсуждение. Была оценена распространенность гена blaTEM, обуславливающего резистентность к бета-лактамным антибиотикам, и проведена оценка корреляции между присутствием генов устойчивости и спектром фенотипической резистентности. Были тестирована 81 культура сальмонелл, принадлежавших к разным серовариантам (табл.1). На наличие гена TEM из 81 предоставленных представителей было исследовано 34 сальмонеллы. Из 34 исследованных сальмонелл, двадцать штаммов (59%) содержали в геноме ген blaTEM и в процессе ПЦР у этих штаммов образовывались специфические ампликоны размером 800 п.о (рисунок).

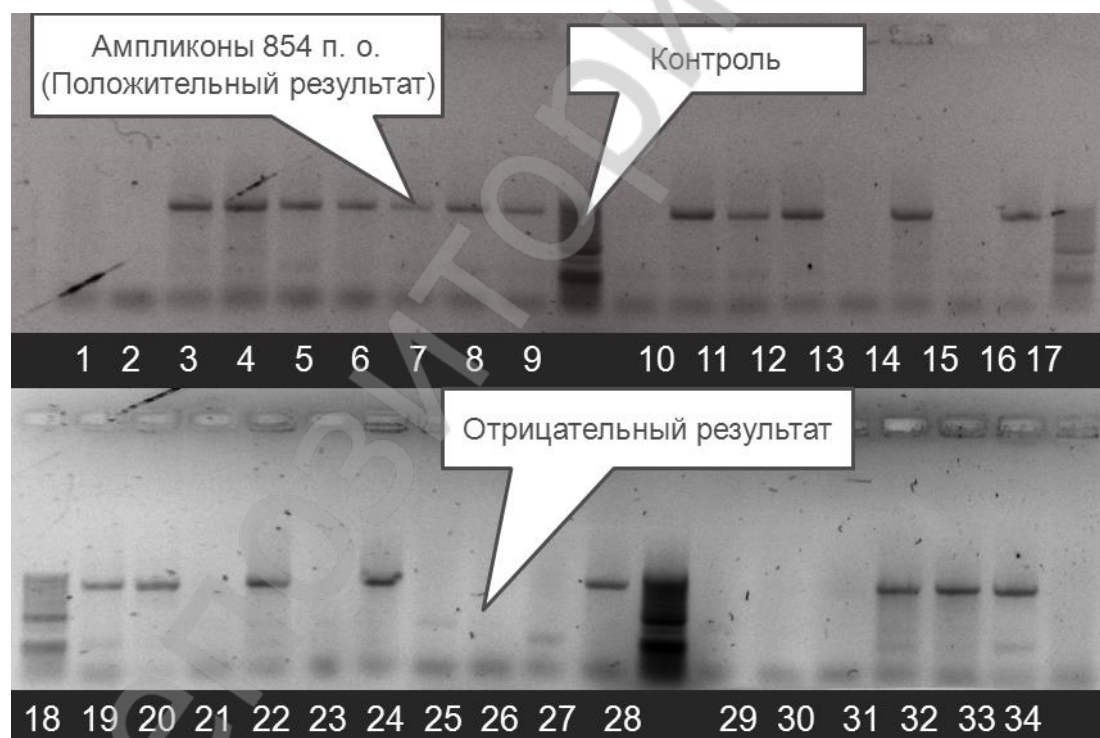


Рисунок 1 - Результаты амплификации гена TEM

Ген blaTEM идентифицирован у разных серовариантов сальмонелл - *S. Tiphymurium*, *S. Enteritidis*, *S. Bredeney*, *S. Derby*, *S. Enteribiolis* (табл. 2). Все штаммы с геном blaTEM проявляли резистентных к ампициллину.

Была оценена территориальная распространенность сальмонелл, чья резистентность обусловлена TEM геном. В среднем в каждой области 70%

сальмонелл резистентны к бета-лактамам. Наибольшее количество антибиотико-резистентных сальмонелл обнаружено в витебской и могилевской области 90 и 80% соответственно (табл.3).

Таблица 1. Процентное соотношение серовариантов исследованных сальмонелл

№	Серовариант	Количество	%	№	Серовариант	Количество	%
1	S. Tiphymurium	32	39,5	11	S. London	2	2,5
2	S. Enteritidis	13	16	12	S. Menoloza	1	1,2
3	S. Virchov	5	6,2	13	S. Enteribiolis	1	1,2
4	S. Infantis	5	6,2	14	S. Welteieden	1	1,2
6	S. Гр. В	4	4,9	15	S. Stanleyville	1	1,2
5	S. Panama	3	3,7	16	S. Chester	1	1,2
7	S. Bredeney	2	2,5	17	S. Clackamas	1	1,2
8	S. Derby	2	2,5	18	S. Newport	1	1,2
9	S. Heidelberg	2	2,5	19	S. Гр. С	1	1,2
10	S. Choleraesuis	2	2,5	20	S. Гр.0:4	1	1,2

Таблица 2. Наличие TEM гена у представителей различных серовариантов

№	Серовариант	Число исследованных на наличие гена представителей	Наличие TEM гена	
			Количество	%
1	S. Tiphymurium	22	15	68,2
2	S. Enteritidis	8	2	75
3	S. Bredeney	1	1	100
4	S. Derby	2	2	100
5	S. Enteribiolis	1	0	0

Таблица 3. Территориальная распространенность сальмонелл, резистентных к бета-лактамам

Область	Города	Количество исследованных	Наличие TEM гена	
			Количество	%
Минская	Кривичи	3	2	66,6
	Солигорск			
	Слуцк			
Гродненская	Гродно	13	7	53,8
	Скидель			
	Лида			
	Новогрудок			
Гомельская	Жлобин	3	2	66,6
	Рогочев			
	Калинковичи			
Витебская	Орша	10	9	90
Могилевская	Могилев	5	4	80

Выводы:

1. Устойчивые формы сальмонелл имеют широкое распространение на

территории Республики Беларусь.

2. Устойчивость к аминопеницилинам у сальмонелл, в основном, обусловлена геном TEM.

3. Учитывая распространённость возникновения сальмонеллеза, риск заражения любой возрастной группы, высокий уровень распространённости резистентности к бета-лактамам среди различных серовариантов во многих регионах республики, актуальными остаются разработка терапии для пациентов детского возраста и совершенствование профилактики заболеваемости.

A. S. Shulga, K. A. Chervyakovskaya
**IDENTIFICATION OF SALMONELLAS GENETIC DETERMINANTS OF
STABILITY TO BETA-LACTAM ANTIBIOTICS**

Tutor: Candidate of Medical Sciences V. V. Slisen

*Department of Microbiology, Virology, Immunology
Belarusian State Medical University, Minsk*

Литература

1. Ахметова, Л.И. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов шигелл и сальмонелл, выделенных в Екатеринбурге/ Розанова С.М., Ахметова Л.И. //Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия – 2002. – Том 2, №3. – С. 58- 62.

2. Briggs, C.E. Characterization of an Antibiotic Resistance Gene Cluster of *Salmonella typhimurium* DT104 / Briggs, C.E// Antimicrob. Agent.Chemoth. – 1999. - Vol. 43, No. 4 - P. 846–849.

3. Characterization of Extended-Spectrum b-Lactamase (TEM-52)-Producing Strains of *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium with Diverse Resistance Phenotypes/ H. Vahaboglu, M. Fuzi, S. Cetin [et.al.]// J.Clin. Microbiol. – 2001. – Vol. 39, N 2. - P. 791–793.

4. Malorny, B. Multicenter validation of the analytical accuracy of *Salmonella* PCR: towards an international standard/ Malorny, B. Bunge C., Hoorfar J. [et.al.] / Appl. Environ. Microbiol. - 2003. – Vol. 69. – P. 290–296.

5. WHO Surveillance Programme for Control of Foodborne Infections and Intoxications: results and trends across greater Europe [Электронный ресурс]/ J. Infect.- 2001. – Vol. 43.- P. 80–84. (дата обращения 31.04.16).