

З. С. Ананич

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА БЕТА-ЛАКТАМАЗ *ESCHERICHIA COLI* И *SALMONELLA ENTERICA*

Научный руководитель: доцент, канд. мед. наук. В. В. Слипень

*Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии,
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск*

Резюме. В работе представлены данные по *in silico* анализу генов, которые кодируют бета-лактамазы и которые одновременно могут встречаться у *E.coli*, *Salmonella spp.* Было показано, что бета-лактамазы KPC-1, CTX-M, TEM-1, SHV-1 могут присутствовать у *E.coli* и у *Salmonella spp.* Проведен филогенетический анализ *blaTEM*, *blaSHV*, *blaOXA*, *blaCTX-M*, *blaAMPC*. Выявлено их структурное сходство, что подтверждает активный горизонтальный перенос генов в семействе энтеробактерий.

Ключевые слова: бета-лактамазы, горизонтальный перенос генов, сальмонеллы.

Resume. The article presents the data regarding *in silico* analysis beta-lactamases genes which can be found simultaneously in *E. coli*, *Salmonella spp.* It has been shown that beta-lactamases KPC-1, CTX-M, TEM-1, SHV-1 may be present both in *E.coli* and *Salmonella spp.* Phylogenetic analysis of genes *blaTEM*, *blaSHV*, *blaOXA*, *blaCTX-M*, *blaAMPC* revealed their structural similarities, which confirms the active horizontal gene transfer among species in the Enterobacteriaceae family.

Keywords: beta-lactamases, horizontal gene transfer, salmonella.

Актуальность. В настоящий момент отмечается тенденция к подъему уровня резистентности патогенных микроорганизмов к карбапенемам и цефалоспорином третьего поколения. Резистентность к бета-лактамам антибиотикам обеспечивают бактериальные бета-лактамазы, генетические детерминанты которых могут передаваться в процессе горизонтального переноса генов. Изучение механизмов антибиотикорезистентности органично вписывается в спектр актуальных проблем медицинской науки и практики. Согласно данным Российской Федерации, общий уровень резистентности сальмонелл к ампициллину и ампициллин/сульбактаму составляет 16,7% (6,1% штаммов резистентны, 10,6% - умеренно-резистентны), к амоксициллин/клавуланату – 9,8%, к тетрациклину – 13,8%, к ко-тримоксазолу – 6,1%. Цефалоспорины III поколения (цефтриаксон, цефотаксим) сохраняют высокую активность в отношении сальмонелл, резистентность к ним проявляет 2-3% культур[1].

Бета-лактамазы – группа бактериальных ферментов, разрушающих бета-лактамы антибиотики (пенициллины, цефалоспорины и др.). Все известные в настоящее время бета-лактамазы делят на четыре молекулярных класса, в пределах которых ферменты характеризуются общностью свойств и выраженной гомологией. Предполагается, что бета-лактамазы классов А, С и D эволюционировали из бактериальных пенициллинсвязывающих белков. Бета-лактамазы перечисленных классов относятся к ферментам серинового типа (по аминокислоте, находящейся в активном центре фермента). Ферменты класса В принадлежат к металлоэнзимам, поскольку в качестве кофермента в них присутствует атом цинка [2,3].

Наибольший интерес представляют бета-лактамазы расширенного спектра – БЛРС (Extended spectrum beta-lactamas – ESBL), обуславливающие приблизительно

80% случаев устойчивости к бета-лактамам антибиотикам. Благодаря плазмидной локализации генов распространение этих ферментов среди возбудителей инфекционных болезней человека приняло угрожающий характер [2, 4,5].

Сальмонеллы, продуцирующие БЛРС, были выделены в Тунисе (*S.Wien*), Алжире (*S.Mbandaca*), Аргентине, Турции, Мароко, Латвии (*S.Typhimurium*), Словакии (*S.Enteritidis*) и многих других странах [60-64] штаммы *Salmonella enterica* продуцирующие СТХ-М-5 выделялись в Греции, Венгрии, Латвии, США, России и Беларуси [6].

Цель: оценить генетическое сходство или различие бета-лактамаз *E.coli* и *Salmonella enterica*.

Задачи:

1. Сравнить бета-лактамазы *E.coli* и *Salmonella enterica* и выявить сходство их генетических детерминант.

2. Проанализировать эволюцию бета-лактамаз *E.coli* и *Salmonella enterica* к бета-лактамам антибиотикам.

Материалы и методы.

Проведен анализ литературы и определены бета-лактамазы, которые могут встречаться у *E.coli* и *Salmonella enterica*. Изучены сходства/различия в последовательности нуклеотидов генов бета-лактамаз *E.coli* и *Salmonella enterica*. Первичную структуру генов получали из баз проекта HumanMicrobiomeProject (<http://www.hmpdacc.org>) и NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Выравнивание и филогенетический анализ генов, оценку сходства/различий генов проводили с использованием программы MEGA7.

Результаты и их обсуждение. Согласно проведенному анализу, у *E.coli* могут присутствовать как сериновые, так и металло- бета-лактамазы. У *E.coli* могут встречаться цефалоспорины AmpC, плазмидно-кодируемые б-лактамазы класса C: MIR-1, VIL-1, MOX-1, FOX-1, группы 2b TEM-1, TEM-2 и SHV-1, группы 2be более 80 производных TEM-1, TEM-2 и SHV-1 (бета-лактамазы расширенного спектра действия), группы 2br - SHV-10, карбапенемазы класса A-KPC, карбапенемазы класса D: OXA-48. Из металло-бета-лактамаз у *E.coli* могут быть идентифицированы карбапенемазы класса BVIM, IMP, NDM. У представителей сальмонелл описаны blaTEM-1, blaSHV-1, blaOXA, blaCTX-M, blaAMPС, blaPSE, bla-KPC-1. Из них TEM-1, SHV-1 относятся к группе 2b молекулярного класса А сериновых бета-лактамаз. СТХ-М относится к группе 2be молекулярного класса А сериновых бета-лактамаз (бета-лактамазы расширенного спектра). SHV-2 относится к группе 2br молекулярного класса А сериновых бета-лактамаз. KPC-1-к карбапенемазам молекулярного класса А сериновых бета-лактамаз.

Было установлено, что бета-лактамазы KPC-1, СТХ-М, TEM-1, SHV-1 могут присутствовать у *E.coli* и у *Salmonella spp.* (табл.).

Таблица 1. – Бета-лактамазы, присутствующие одновременно у сальмонелл и *E.coli*, и их классификация

| | Сериновые | | | | | | | | | Металлоферменты(Zn ²⁺) | |
|------------------------|-----------|----|---------------------|---|--------|----|----|----|---------------|------------------------------------|---------------|
| | C | A | | | | | | | D | | B |
| | | 2a | 2b | 2be | 2br | 2c | 2e | 2f | карбопенемазы | 2d(карбапенемазы) | карбопенемазы |
| <i>E.Coli</i> | AmpC | | TEM-1, TEM-2, SHV-1 | ESBL: более 80 производных TEM-1, TEM-2, SHV-1, CTX-M | SHV-10 | | | | KPC-1 | OXA-48 | VIM,IMP,NDM |
| <i>Salmonella spp.</i> | нет | | TEM-1, SHV-1 | CTX-M | SHV-2 | | | | KPC-1 | | |

С целью расширения представления о направлении и скорости молекулярной эволюции генов бета-лактамаз энтеробактерий и некоторых сероваров сальмонелл был проведен филогенетический анализ генов бета-лактамаз. Хромосомные бета-лактамазы изначально являлись частью генома бактерий и принимали участие в метаболизме микробной клетки, а также защищали бактерии от антибиотиков, вырабатываемых грибами в природных условиях. Широкое и нередко нерациональное использование антибиотиков послужило причиной эволюции бета-лактамаз микроорганизмов по следующим направлениям: 1) появление новых классов бета-лактамаз; 2) миграция генов в состав плазмид и беспрепятственный горизонтальный перенос 3) расширение спектра активности бета-лактамаз за счёт мутаций. В результате эволюции появились различные классы бета-лактамаз с различной локализацией и субстратным профилем.

Биоинформационный анализ генов, кодирующих бета-лактамазы семейства SHV, позволил выявить, что они преимущественно локализируются на плаزمидах разных типов. Этот ген встречался у *K. pneumoniae*, сальмонелл, *E.coli*. Микроорганизмы с этим геном встречались в США, Польше, Италии, Китае.

Гены, кодирующие бета-лактамазы семейства KPC, встречались среди *K. pneumoniae*, сальмонелл, *E.coli*, выделяемых в Китае, США, Тайване, Израиле. Этот ген находился в составе плазмид разных типов. По всей видимости, был приобретен недавно, что связано с низкой встречаемостью этого гена среди этих микроорганизмов.

Гены TEM-1 широко распространены среди сальмонелл, *E.coli*, и реже встречается среди *K.pneumoniae*. У *E.coli*, *K.pneumoniae* присутствуют наиболее древние варианты TEM-1 гена. По всей видимости, TEM-1 ген активно распространяется среди сальмонелл и *E.coli*, и случайно «заносится» в популяцию *K.pneumoniae*. Гены TEM-1 переносятся в составе плазмид разных классов, по всей

видимости имеют эффективную систему интеграции в плазмиды, что обеспечивает их быстрое распространение. Изоляты с геном TEM-1 описаны в США, Ирландии, Китае, Бельгии, Германии и Беларуси.

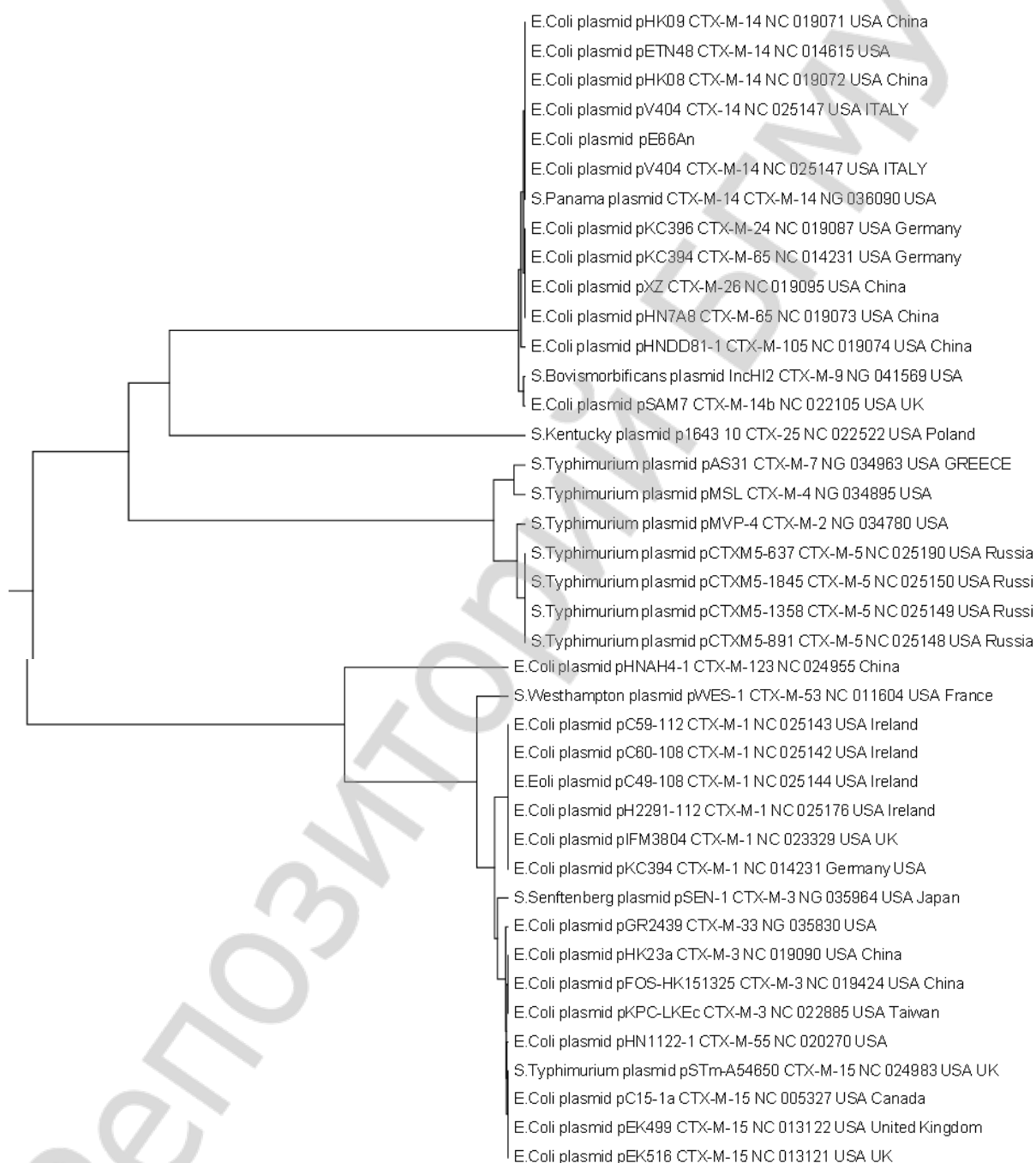


Рисунок 1– Филогенетический анализ гена blaCTX-M, кодирующего цефотаксимазы микроорганизмов

Ген blaCTX-M встречался у сальмонелл и *E.coli*. У данного семейства генов на дендрограмме присутствует два корня (рисунок), что связано с независимым внедрением данного гена из 2 разных источников и успешным распространением

двух клонов по этому гену микроорганизмов. Штаммов. Штаммы с ген blaCTX-M выделяют в Китае, США, Германии, России.

Филогенетический анализ blaTEM, blaSHV, blaOXA, blaCTX-M, blaAMPС, встречающихся у *E.coli* и сальмонелл, свидетельствует об определенном структурном сходстве каждой из этих генетических детерминант, что подтверждает существование активного горизонтального переноса генов бета-лактамаз в семействе энтеробактерий.

Выводы. Изучение генов, кодирующих бета-лактамазы, и вскрытие механизмов горизонтального переноса, в перспективе позволит ограничить горизонтальный внутривидовой и межвидовой перенос генов устойчивости, разработать способы понижения резистентности микроорганизмов к антибиотикам данного ряда.

Z.S.Ananich

**COMPARATIVE ANALYSIS OF *ESCHERICHIA COLI* AND *SALMONELLA*
ENTERICA BETA-LACTAMASES**

*Tutors: associate professor, PhD V.V. Slizen
Department microbiology, virology, immunology
Belarusian State Medical University, Minsk*

Литература

1. Ахметова Л.И. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов шигелл и сальмонелл, выделенных в Екатеринбурге / Л.И. Ахметова, С.М. Розанова // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия – 2002. – Том 2, №3. – С. 58-62.
2. Сидоренко, С. В. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам / С.В. Сидоренко, В. И. Тишкова / Успехи биологической химии. – 2004. –Т. 44. –С.263-306.
3. Woodford, N. The emergence of antibiotic resistance by mutation / N.Woodford, M.J. Ellington // Clin. Microbiol. Infect. – 2007. – V.13. – P. 5–18.
4. Bradford, P. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat / P. Bradford // Clin. Microbiol. Reviews – 2001. – V.14. – P. 933–951.
5. Страчунский, Л.С. Бета-лактамазы расширенного спектра – быстро растущая и плохо осознаваемая угроза / Л.С. Страчунский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т.7, №1. – С.92-96.
6. Livermore, D.M. Antibiotic resistance: location, location, location / D.M. Livermore, A. Pearson // Clin. Microbiol. Infect. – 2007. – V. 13. – P. 7–16.