

Charakterystyka molekularna bakterii z rodzaju *Salmonella* izolowanych od dzikich ptaków w Polsce

Anna Lalak¹✉, Renata Kwit¹, Magdalena Skarzyńska¹, Magdalena Zając¹, Emilia Mikos - Wojewoda¹, Ewelina Skrzypiec¹, Weronika Koza¹, Dariusz Wasyl¹

¹ Państwowy Instytut Weterynaryjny – Państwowy Instytut Badawczy, Zakład Mikrobiologii, ul. Al. Partyzantów 57, Puławy

Wstęp

Pałeczki *Salmonella* (*S.*) stanowią drugi, po *Campylobacter*, czynnik epizootologiczny w zatruciach pokarmowych u ludzi na terenie Polski i UE. W celu monitorowania oraz ograniczania występowania *Salmonella* spp. wdrożono w krajach EU, a więc i w Polsce, programy zwalczania *Salmonella* u drobiu. Ciągłe nieznanym rezerwuarem *Salmonella* pozostają jednak zwierzęta dzikie w tym dzikie ptaki.

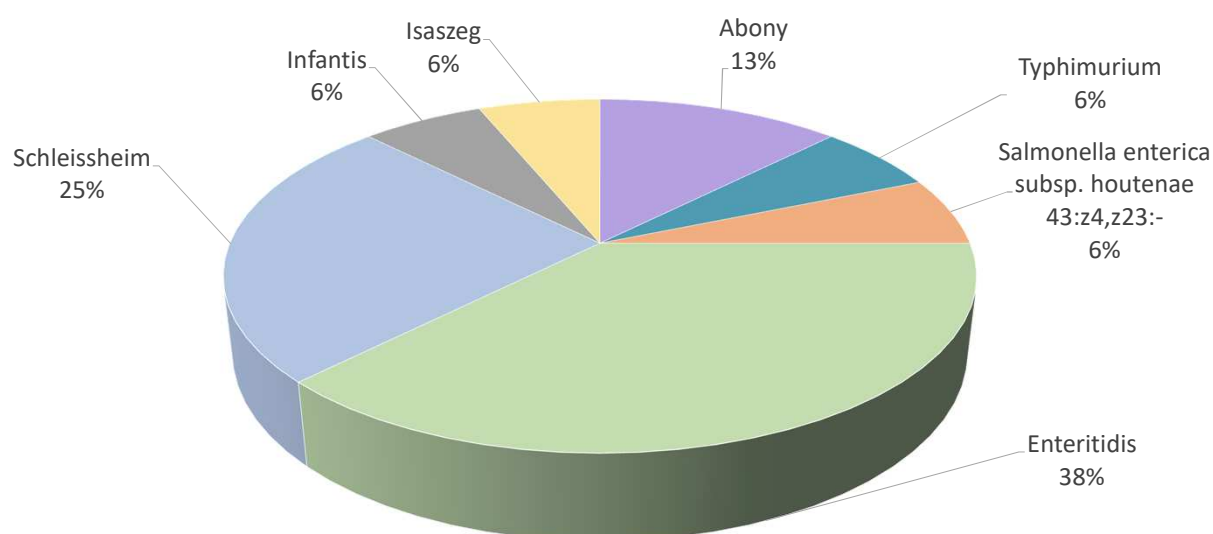
Celem badania była ocena częstości występowania i charakterystyka molekularna *Salmonella* spp. izolowanych od dzikich ptaków.

Materiały i metody

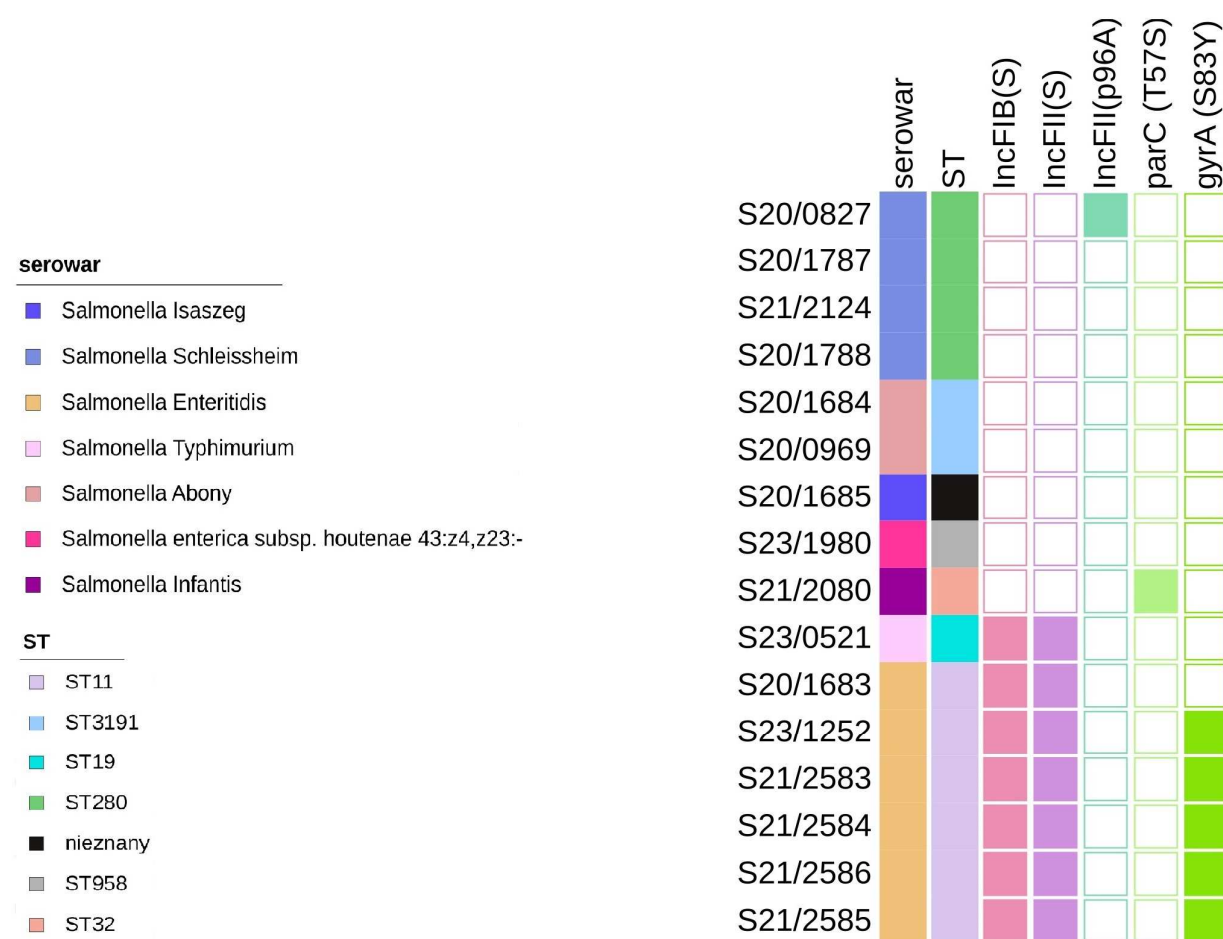
Materiał do badań stanowiło 16 szczepów *Salmonella* spp. wyizolowanych z 150 próbek pobranych w latach 2020 – 2023 od 30 gatunków dzikich ptaków. Badania przeprowadzono posługując się referencyjną metodą opisaną w normie PN-EN ISO 6579-1:2017-04+A1:2020-09. Identyfikację serologiczną prowadzono metodą aglutynacji szkiełkowej, zgodnie ze schematem White-Kauffmann-Le Minor. Wszystkie uzyskane izolaty *Salmonella* spp. poddano badaniom wrażliwości na 15 substancji przeciwdrobnoustrojowych metodą mikrorozcieńczeń w bulionie (MIC - minimalne stężenie antybiotyków hamujące wzrost bakterii). Wyniki interpretowano zgodnie z wytycznymi EUCAST (Europejski Komitet ds. Testowania Wrażliwości Drobnoustrojów). DNA wyizolowano za pomocą Maxwell RSC Cultured Cells DNA Kit (Promega) a jego jakość oceniono przy użyciu NanoDrop™ One. Sekwencjonowanie genomowe przeprowadzono przy użyciu sekwencjatora NextSeq (v2.5 2x150 bp, Illumina). Analizę sekwencji wykonano z wykorzystaniem narzędzi bioinformatycznych dostępnych na platformie CGE (Centrum of Genomic Epidemiology): ResFinder 4.1 - identyfikacja nabytych genów oporności na antybiotyki, PlasmidFinder 2.1 - identyfikacja plazmidów, MLST 2.23.0 - określenie typów MLST, MGE v1.0.3 – geny oporności i mobilne elementy genetyczne.

Wyniki

Pałeczki *Salmonella* wykryto w 10,67% próbek (16/150). Pochodziły one od bocianów, żurawia i myszołowa, co stanowiło odpowiednio 20,0%, 20,0% i 9,1% próbek od tych gatunków. Wyizolowane szczepy *Salmonella* zaliczono do 7 serowarów, wśród których dominował *S. Enteritidis*, następnie *S. Schlessheim* i *S. Abony* (Ryc. 1). Analiza profilu oporności izolatów wykazała, że większość zidentyfikowanych szczepów *Salmonella* była wrażliwa na badane substancje przeciwdrobnoustrojowe. Istotną informacją jest oporność większości szczepów *S. Enteritidis* na chinolony. Analiza WGS wykazała, że wszystkie izolaty tego serowaru należą do typu sekwencyjnego ST11 a oporność na chinolony jest skutkiem mutacji punktowych w genach *gyrA* (S83Y). We wszystkich szczepach *S. Enteritidis* oraz *S. Typhimurium* stwierdzono występowanie replikonów plazmidów IncFIB oraz IncFII. Z kolei *S. Isaszeg* zakwalifikowano do nowego typu sekwencyjnego, w którym zidentyfikowano nowe warianty genów *sucA* oraz *thrA*.



Ryc. 1. Częstość występowania zidentyfikowanych serowarów *Salmonella* w badanych próbkach



Ryc. 2. Charakterystyka genomowa izolatów *Salmonella* spp.

Wnioski

Badania dowodzą, że dzikie ptaki stanowią rezerwuara różnych serowarów *Salmonella*, w tym istotnych z punktu widzenia zdrowia publicznego, t.j. Enteritidis, Typhimurium i Infantis, a jednocześnie posiadających mutacje warunkujące oporność na chinolony - krytycznie ważne substancje przeciwdrobnoustrojowe. Przeprowadzone analizy wskazują na możliwość szerzenia w populacji dzikich ptaków nowych typów sekwencyjnych *Salmonella*. Uzasadnia to potrzebę kontynuacji badań, zwłaszcza, w odniesieniu do bocianów, które są migrującym gatunkiem synantropijnym, i wydają się być najczęstszym wektorem patogenu dla zwierząt gospodarskich i ludzi.