



Charakterystyka genomowa oraz ocena wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe *Salmonella* Enteritidis izolowanych od drobiu w latach 1980-1986 - wyniki wstępne

Anna Lalak¹ ✉, Magdalena Skarżyńska¹, Magdalena Zając¹, Renata Kwit¹, Emilia Mikos - Wojewoda¹, Ewelina Skrzypiec¹, Dominika Wojdat, Dariusz Wasyl¹

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

Wstęp

Salmonellozy mimo ponad 100-letniej historii nadal należą do najbardziej rozpowszechnionych chorób na świecie. Utrzymujący się wzrost zakażeń u zwierząt oraz zatruc pokarmowych u ludzi spowodowanych *Salmonella* Enteritidis wskazuje na pandemiczny charakter ekspansji tego serowaru, który dominuje od wielu lat zarówno w Polsce, jak i na świecie. Niebezpieczeństwo wynikające ze zwiększonej inwazyjności tego serowaru stanowi problem na skalę światową. Głównym źródłem zakażeń człowieka *S. Enteritidis* są jaja oraz drób.

Celem prowadzonych badań było wyjaśnienie przyczyn sukcesu epidemiologicznego *S. Enteritidis* poprzez określenie stopnia zmienności genomowej i transferu genów oraz oceny wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe szczepów wyizolowanych od drobiu na przestrzeni lat 1980-1986.

Materiały i metody

Do badań wybrano 29 szczepów *Salmonella* Enteritidis pochodzących z „historycznej” kolekcji izolatów zgromadzonych w Zakładzie Mikrobiologii Państwowego Instytutu Weterynaryjnego – Państwowego Instytutu Badawczego, pozyskanych z przypadków klinicznych jak i od zwierząt zdrowych. Izolaty *S. Enteritidis* pochodziły od kur (n=23), kaczek (n=5) i gęsi (n=1).

Badanie wrażliwości na substancje przeciwdrobnoustrojowe w/w szczepów przeprowadzono metodą mikrorozcieńczeń w bulionie z użyciem panelu EUVSEC3 Mikropłytek Sensititre (Trek D.S.) przeznaczonym do oznaczania najmniejszego stężenia antybiotyku hamującego wzrost (MIC) *Salmonella* i *E. coli*. Wyniki interpretowano przy użyciu epidemiologicznych wartości odcięcia (ECOFF) rekomendowanych przez EUCAST.

Izolację DNA wykonano z użyciem Maxwell RSC Cultured Cells DNA Kit (Promega), a jego jakość oceniono przy użyciu Qubit 3.0. Biblioteki przygotowano przy użyciu zestawu KAPA HyperPlus Kit (Roche). Sekwencjonowanie genomowe (WGS) wszystkich szczepów wykonano z wykorzystaniem platformy Illumina.

Dodatkowo, w analizie filogenetycznej, użyto 51 dostępnych w zasobach Enterobase sekwencji szczepów uzyskanych w analizowanym okresie, w 5 krajach Europy Zachodniej.

Wyniki

W badaniu oporności szczepów wykazano wysoką wrażliwość *S. Enteritidis* na 15 substancji przeciwdrobnoustrojowych. Żaden ze szczepów nie wykazywał fenotypowych cech oporności na badane środki przeciwdrobnoustrojowe, co potwierdziła również analiza genomowa.

U 26 szczepów potwierdzono obecność relikonów plazmidów IncFIB i IncFII, związanych z przenoszeniem genów oporności i wirulencji. Analiza sekwencji genomów *S. Enteritidis* wykazała obecność 10-11 wysp patogenności (SPI) związanych zarówno z kolonizacją przewodu pokarmowego jak i tworzeniem biofilmu (Ryc. 1).

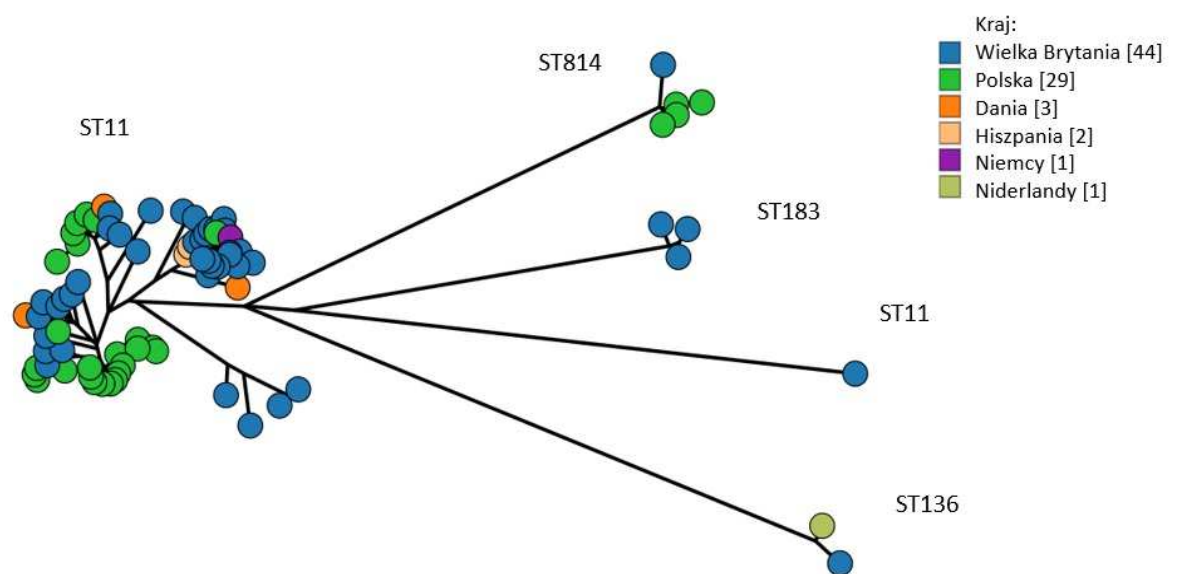
Badane szczepy zaliczono do dwóch typów sekwencyjnych: dominującego w Polsce i innych krajach ST11 i ST814 stwierdzonego w Polsce i Wielkiej Brytanii (Ryc. 2). Wszystkie szczepy zaliczone do ST814 pochodziły od kaczek i charakteryzowały się brakiem wyspy patogenności SPI-13 odpowiedzialnej za wirulencję przy zakażeniu drobiu.

Finansowanie

Badanie zostało sfinansowane z dotacji Ministra Nauki i Szkolnictwa Wyższego w ramach grantu nr S/557 przyznanego na lata 2023-2025 i realizowanego w Państwowym Instytucie Weterynaryjnym w Puławach.



Ryc. 1. Pokrewieństwo filogenetyczne i charakterystyka genomowa izolatów *Salmonella* Enteritidis



Ryc. 2. Porównanie filogenetyczne *Salmonella* Enteritidis izolowanych w Polsce ze szczepami pochodzącymi od zwierząt i ludzi z krajów europejskich uzyskanych w latach 1980-1986 i dostępnych w bazie Enterobase

Wnioski

Badane szczepy charakteryzowały się dużą homogenicznością pod względem ST oraz SPI. Nie zauważono żadnego grupowania w obszarze replikonów plazmidów i źródła izolacji szczepów. Warto jednak podkreślić większą niż obecnie różnorodność typów sekwencyjnych. Brak oporności wskazuje, że nie można temu zjawisku przypisać sukcesu epidemiologicznego *S. Enteritidis*. Na podstawie wstępnych badań nie udało się zidentyfikować konkretnej determinanty warunkującej to zjawisko i dlatego konieczne są dalsze, głębsze analizy.