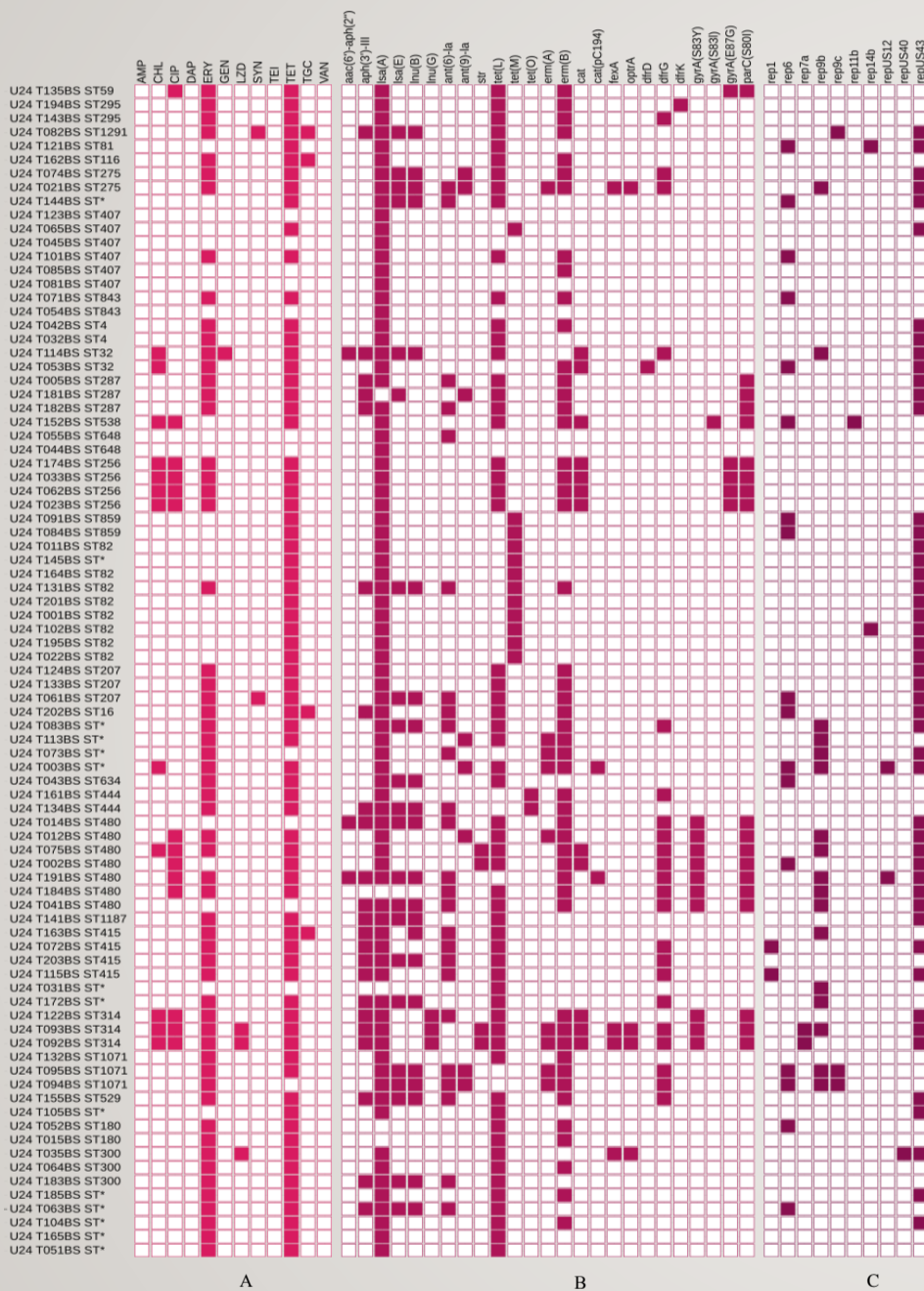


Oporność na środki przeciwdrobnoustrojowe oraz charakterystyka genomowa szczepów *E. faecalis* i *E. faecium* izolowanych ze stad indyków w Polsce

Renata Kwit, Inga Bona, Magdalena Zając, Magdalena Skarzyńska, Anna Lalak, Ewelina Skrzypiec, Paulina Pasim, Emilia Mikos-Wojewoda, Weronika Koza, Dominika Wojdat, Dominika Pastuszka, Sylwia Hudzik-Pałosz, Dariusz Wasyl

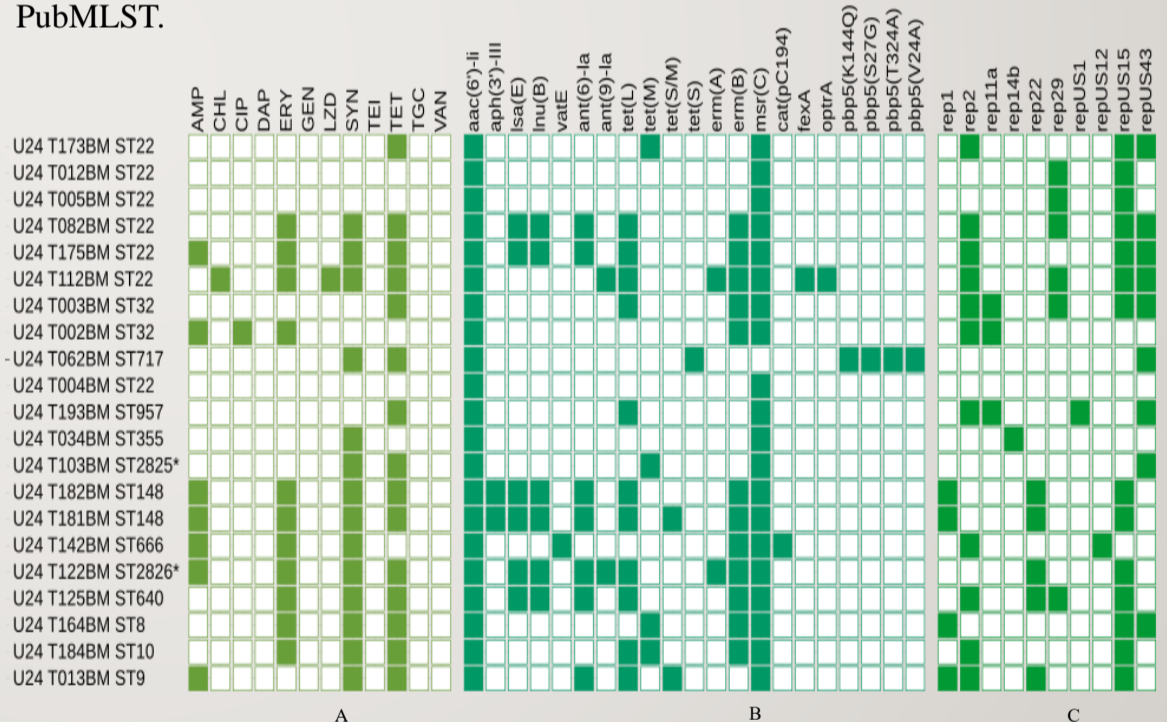
Państwowy Instytut Weterynaryjny Państwowy Instytut Badawczy, Dział Bakteriologii i Chorób Bakteryjnych Zwierząt

Wstęp: Rozprzestrzenianie oporności na środki przeciwdrobnoustrojowe wśród patogenów stanowi poważny problem zdrowia publicznego, dlatego ważne jest monitorowanie tego zjawiska oraz poznanie mechanizmów oraz czynników wpływających na jego rozwój. *Enterococcus (E.) faecium* i *E. faecalis*, ze względu na rosnące znaczenie kliniczne, szerokie rozpowszechnienie oraz wysoką zdolność do nabywania i przekazywania genów oporności, mogą zostać wykorzystane jako mikroorganizmy wskaźnikowe, obrazujące to zjawisko. Prezentowane wyniki dotyczą badań pilotażowych charakteryzujących szczepy *E. faecalis* i *E. faecium* izolowanych ze stad indyków w Polsce.



Ryc. 1. Profil fenotypowej odporności (A), mapa genów oporności (B) oraz replikony plazmidowe (C) szczepów *E. faecalis*. Pełne kwadraty symbolizują obecność konkretnych genów, determinantów a puste, ich brak w różnych szczepach. * oznacza nieopisane dotąd typy sekwencyjne.

Materiały i metody: Badania przeprowadzono na szczepach: *E. faecium* (n=21) oraz *E. faecalis* (n=85) wyizolowanych w 2024 roku. Wartości MIC (minimalne stężenie hamujące wzrost bakterii) określono metodą mikrorozcieńczeń w bulionie, z wykorzystaniem panelu EUVENC Mikropłytek Sensitire (Trek D. S.) dla 12 substancji przeciwbakteryjnych (wankomycyny (VAN), teikoplaniny (TEI), chinuprystyny/dalfoprystyny (SYN), tetracykliny (TET), daptomycyny (DAP), cyprofloksacyny (CIP), erytromycyny (ERY), tygecykliny (TGC), linezolidu (LZD), gentamycyny (GEN), ampicyliny (AMP) oraz chloramfenikolu (CHL)). Wyniki zinterpretowano przy użyciu epidemiologicznych wartości odcięcia (ECOFF) opracowanych przez EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). WGS (whole-genome sequencing) wykonano na NextSeq platform (2x300bp; Illumina). Analizy przeprowadzono przy użyciu platformy Staramr (Galaxy Version 0.9.1) w oparciu o bazy danych ResFinder, PlasmidFinder, PointFinder, PubMLST.



Ryc. 2. Profil fenotypowej odporności (A), mapa genów oporności (B) oraz replikony plazmidowe (C) szczepów *E. faecium*. Pełne kwadraty symbolizują obecność konkretnych genów, determinantów a puste ich brak w różnych szczepach. * oznacza nieopisane dotąd typy sekwencyjne.

Wyniki: Typowanie sekwencji wielogenowych (MLST) potwierdziło dużą różnorodność wśród typów sekwencyjnych (ST) izolatów. Ujawniono obecność nieopisanych dotąd typów ST, wynikających zarówno z pojawienia się nowych wariantów genów jak i nowych kombinacji znanych już alleli. ST22 był dominującym typem wśród *E. faecium*, natomiast u *E. faecalis* były to ST82 oraz ST480. Oporność na co najmniej jedną z badanych substancji przeciwdrobnoustrojowych potwierdzono u 85.71% *E. faecium* (n=18) oraz 88.23% *E. faecalis* (n=75). Ponadto 25.88% *E. faecalis* oraz 57.14% *E. faecium* charakteryzowało się wielolekoopornością. Wśród szczepów *E. faecium* najczęściej występowała oporność na tetracyklinę (71.43%), synergistycznie działające połączenie antybiotyków: chinuprystyny i dalfoprystyny (66.67%) oraz erytromycynę (52.38%). W przypadku *E. faecalis* największy odsetek stanowiły szczepy odporne na tetracyklinę (85.88%), erytromycynę (69.41%) oraz cyprofloksacynę (16.47%). U żadnego z badanych szczepów, niezależnie od gatunku, nie potwierdzono oporności na wankomycynę. Oporność fenotypowa wynikała z obecności genów *tet(M)*, *tet(L)*, *tet(O)*, *tet(S)*, oraz *tet(S/M)* dla tetracykliny, *erm(A)*, *erm(B)* dla erytromycyny oraz mutacji genów *parC* i *gyrA* punktowych w obrębie regionu QRDR (quinolone resistance-determining region) w przypadku oporności na cyprofloksacynę. Liczba replikonów plazmidowych wahała się od 0 do 5 dla *E. faecium* i 0-3 dla *E. faecalis*. Przy czym 28.2% *E. faecalis* i tylko 4.8% *E. faecium* nie posiadało żadnego replikonu plazmidowego. Najczęściej odnotowanym replikonem był repUS43.

Wnioski: MLST potwierdziło dużą różnorodność genetyczną wśród izolatów *Enterococcus* spp. Wysoka oporność na antybiotyki, zwłaszcza tetracyklinę i erytromycynę, a także istotny odsetek szczepów wielolekoopornych, potwierdza rosnące zagrożenie związane z rozprzestrzenianiem antybiotykoodporności w środowisku. Obecność licznych replikonów plazmidowych, może sugerować ich aktywną rolę w poziomym transferze genów oporności. Różnice w liczbie replikonów oraz genów determinujących oporność, między gatunkami mogą wskazywać na odmienne strategie adaptacyjne lub presje selekcyjne.