

## MEDICINE AND PHARMACY

**Behta Emilia**

University Assistant

Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova

**Burduniuc Olga**

MD, PhD, Associate Professor

National Agency of Public Health, Republic of Moldova

**Lozneau Irina**

Resident Doctor

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova

**Perjeru Maria**

Scientific Researcher

National Agency of Public Health, Republic of Moldova

**Florea Natalia**

MD, PhD, Associate Professor

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova

**Balan Greta**

MD, PhD, Associate Professor

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova

### **THE GENETIC BASIS OF THE ANTIBIORESISTANCE OF *SALMONELLA* SPP. ISOLATED FROM THE FOOD**

***Abstract.** The technological advancements in traveling, globalization and also growth in international trade between many countries in the world have led to the rapid dissemination of foodborne pathogens. Salmonella genus is a serious foodborne pathogen that causes severe and sometimes fatal infections. The increased number of NTS cases reported through surveillance in recent years from the United States, Europe and low- and middle-income countries of the world suggested that the control programs targeted at reducing the contamination of food animals along*

*the food chain have largely not been successful. In recent years, the development of antimicrobial resistance (AMR) among foodborne pathogens such as Salmonella have been associated with an increased number of human deaths, longer duration of hospital stay, and high costs of treatment due to therapy failure. In this work, a literature review was carried out the genetic basis of the antibioresistance of Salmonella spp., isolated from the food.*

**Keywords:** *S. enteritidis, mechanisms of antimicrobial resistance*

В последние десятилетия из-за недостаточно контролируемого и неправильно использования антибактериальных препаратов антибиотикорезистентность приняла глобальные масштабы. Широкое применение противомикробных средств не только в медицине у людей, но и в ветеринарии, у домашних, сельскохозяйственных животных, а также в производстве пищевых продуктов привело к появлению штаммов *S. enterica* с множественной лекарственной устойчивостью, включая устойчивость к хинолонам, фторхинолонам и третьему поколению цефалоспоринов, которые в настоящее время являются препаратами выбора для лечения сальмонеллеза в тяжелых случаях, а это представляет собой серьезную проблему общественного здравоохранения во всем мире [1]. В итоге, несмотря на высокие достижения в области безопасности пищевых продуктов и питьевой воды, сальмонеллез по-прежнему считается одним из самых распространенных в мире болезней пищевого происхождения. Целью обзора было описать генетическую основу антибиотикорезистентности сальмонелл.

Материалы и методы. Чтобы изучить эту тему было проанализировано более 30 научных статей, в основном из основных баз данных, таких как PubMed, EMBASE, HINARI. Наиболее актуальная, на мой взгляд, информация была включена в данный обзор.

*Salmonella spp.* принадлежат семейству Enterobacteriaceae; и состоит из двух основных видов; *S. bongori* и *S. enterica*, которая включает более чем 2500 сероваров на основе антигенных различий в липополисахаридном антигене O и двух структурах флагеллина, большинство из них признаны потенциальными патогенами человека. Непрерывный сбор и анализ обновленных данных об устойчивости к противомикробным препаратам

среди штаммов бактерий проводится по всему миру, в разных географических зонах и составляет основу наблюдения за этой проблемой [2]. Множество публикаций разных авторов объединяет то, что среди всех изолированных штаммов *S. enterica*, которые они изучали, *S. enteritidis* был наиболее доминирующим серотипом. Исследование его чувствительности к различным антибиотикам показало высокий уровень устойчивости, в том числе еще и множественную антибиотикоустойчивость более чем к трём препаратам.

Высокий процент штаммов сальмонелл, выделенных из птицы, свинины и крупного рогатого скота, устойчив как минимум к одному или двум противомикробным препаратам. Штаммы с устойчивостью и множественной лекарственной устойчивостью (MDR) также были зарегистрированы даже среди изолятов моллюсков, хоть и встречаемость таких штаммов в подобных источниках достаточно небольшая [4]. Есть доказательства того, что так широко распространённая устойчивость сальмонелл к антибиотикам обусловлена интенсивным использованием этих препаратов в качестве стимуляторов роста при кормлении животных. Все это привело к процветанию горизонтальной передачи генов устойчивости между бактериальными сообществами [7,9,10]. Устойчивость к противомикробным препаратам у *S. enterica* обеспечивается различными механизмами. Это ферментативная деградация некоторых антимикробных средств, блокирование проницаемости клеток для антибиотиков, активация систем выведения противомикробных препаратов и изменение места действия лекарств.

Был описан очень высокий уровень устойчивости к тетрациклину, фторхинолонам (ципрофлоксацин и налидиксовая кислота), ампициллину и триметоприм-сульфаметоксазолу. Это вызывает серьезную озабоченность, так как они являются препаратами первого ряда для лечения инфекций у людей и животных. В частности, фторхинолоны считаются «золотым стандартом» для лечения инвазивного сальмонеллеза у людей, а ампициллин, сульфаметоксазол и тетрациклин широко используются в ветеринарии в качестве терапии первой линии при инфекциях у животных. Множество штаммов показали одновременную устойчивость к ципрофлоксацину и налидиксовой кислоте, к

ампициллину и триметоприм-сульфаметоксазолу. Эти последние результаты вызывают особое беспокойство, потому что амоксициллин и триметоприм-сульфаметоксазол используются в качестве терапии второй линии у людей, которые не реагируют на антибиотики первой линии [5].

Сальмонеллы приобретают гены антибиотикорезистентности за счет следующих механизмов: мутации или горизонтальный перенос генов и селекция резистентных клонов из-за присутствия антибиотиков в окружающей среде. Определение последовательностей бактериального генома позволяет отслеживать предполагаемые гены лекарственной устойчивости у бактерий. Анализы полногеномной последовательности сальмонелл, выделенных из источников, связанных с пищевыми животными, проводимые авторами из различных географических зон, выявили наличие устойчивости хотя бы к одному из тестируемых антибиотиков и способность к передаче этой устойчивости на мобильных генетических элементах – плазмидах. Так были выявлены гены устойчивости к аминогликозидам,  $\beta$ -лактамам, тетрациклинам, сульфонамидам, фениколам, триметоприму, макролидам, фосфомицину и рифампицину. Фенотипическая устойчивость коррелировала с генами устойчивости в 95,4% случаев [3,6]. Большинство этих генов были локализованы на плазмидах, причем многие плазмиды несли множественные гены антибиотикорезистентности. Интересна работа американских ученых, где были идентифицированы шесть кассетных структур устойчивости к антибиотикам (ARC) и одна псевдокассета. ARC содержат от одного до пяти генов устойчивости (ARC1: *sul2*, *strAB*, *tetAR*; ARC2: *aac3-iiid*; ARC3: *aph*, *sph*; ARC4: *cmu-2*; ARC5: *floR*; ARC6: *tetB*; псевдо-ARC: *aadA*, *aac3-VIa*, *sul1*). Эти ARC присутствовали в нескольких изолятах и на плазмидах нескольких типов репликонов [6].

Анализ детерминант устойчивости изучаемых штаммов *S. enterica* выявил наличие генов  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра класса CTX-M, включающего более сотни различных изоформ. Наиболее часто встречаются ферменты, кодируемые генами кластеров CTX-M-1 и CTX-M-9. У сальмонелл довольно высокая встречаемость генов  $\beta$ -лактамаз кластеров CTX-M-1 и CTX-M-9. В

частности, у *S. enterica* – это ген blaCTX-M-14 (кластер CTX-M-9). Выявленные гены локализованы на плазмидах в окружении типовых инсерционных последовательностей, которое встречается в плазмидах энтеробактерий [13]. Устойчивость к хлорамфениколу тесно связана с приобретением и экспрессией генов насосов оттока, которые снижают токсические уровни препарата в бактериальных клетках. У сальмонелл эффлюксные насосы хлорамфеникола кодируются геном floR или cml. floR был обнаружен в большинстве случаев. Этот вывод подтверждается многими исследованиями, в которых сообщалось о наличии гена floR у различных *S. enterica* как части острова патогенности сальмонелл SPI-1 [3,8,12]. Устойчивость к тетрациклину в значительной степени связана с приобретением и экспрессией оттоковых насосов, кодируемых генами tet, что также снижает концентрацию препарата внутри бактериальных клеток. Существует гипотеза о том, что кишечный тракт является подходящей нишей для переноса tetA и tetB путем горизонтального переноса генов, поэтому эти гены популярны среди семейства Enterobacteriaceae [11]. Устойчивость к хинолонам обычно опосредуется в основном точечными мутациями в бактериальной гиразе (gyrA и gyrB) и генах топоизомеразы IV (parC и parE). Эти мутации приводят к блокированию сайта связывания топоизомеразы или нацеливания гиразы антимикробными агентами.

Единая база данных, объединяющая результаты исследований ученых со всего мира, позволяет отслеживать эпидемиологию распространенности как сальмонеллезной инфекции, так и связанной с ней антибиотикорезистентности, поэтому ВОЗ рекомендует включать в систему мониторинга молекулярно-генетические методы типирования сальмонелл [2].

### **Заключение**

1. В этиологической структуре инфекций, вызванных сальмонеллами как у людей, так и у животных, а также из окружающей среды и пищевых продуктов, превалирует *S. enteritidis*.

2. Широкое распространение антибиотикоустойчивых штаммов, особенно появление множественной лекарственной устойчивости (МЛУ) *Salmonella enterica* вызывают серьезные опасения. Механизм устойчивости к

противомикробным препаратам у *S. enterica* варьирует в зависимости от географического района и среды изоляции.

3. Высокие уровни устойчивости, к многим антибактериальным препаратам указывают на потенциальный риск для здоровья населения. Полученные данные являются основой для дальнейших исследований на крупномасштабных образцах для более точной оценки сальмонеллеза в мире.

4. В пищевой промышленности следует рассмотреть дополнительные меры гигиены и контроля инфекции, чтобы предотвратить распространение сальмонеллы и её устойчивых штаммов в пищевых продуктах.

5. Введение в систему мониторинга сальмонеллезной инфекции и её антибиотикоустойчивости молекулярно-генетических методов анализа повышает её эффективность, особенно при отслеживании происхождения вспышек сальмонеллёза пищевого происхождения

#### Список источников:

1. Adesiji YO, Deekshit VK, Karunasagar I. Antimicrobial-resistant genes associated with *Salmonella* spp. isolated from human, poultry, and seafood sources. *Food Sci Nutr*. 2014;2(4):436-442. doi:10.1002/fsn3.119
2. Bhunia AK, Bisha B, Gehring AG, Brehm-Stecher BF. Advances in Foodborne Pathogen Analysis. *Foods*. 2020 Nov 10;9(11):1635. doi: 10.3390/foods9111635. PMID: 33182540; PMCID: PMC7696508.
3. Fardsanei F, Nikkhahi F, Bakhshi B, Salehi TZ, Tamai IA, Soltan Dallal MM. Molecular characterization of *Salmonella enterica* serotype Enteritidis isolates from food and human samples by serotyping, antimicrobial resistance, plasmid profiling, (GTG)<sub>5</sub>-PCR and ERIC-PCR. *New Microbes New Infect*. 2016 Aug 4;14:24-30. doi: 10.1016/j.nmni.2016.07.016. PMID: 27656286; PMCID: PMC5021763.
4. Jajere SM. A review of *Salmonella enterica* with particular focus on the pathogenicity and virulence factors, host specificity and antimicrobial resistance including multidrug resistance. *Vet World*. 2019;12(4):504-521. doi: 10.14202/vetworld.2019.504-521. Epub 2019 Apr 6. PMID: 31190705; PMCID: PMC6515828.
5. Khan SB, Khan MA, Ahmad I, Ur Rehman T, Ullah S, Dad R, Sultan A, Memon AM. Phenotypic, genotypic antimicrobial resistance and pathogenicity of *Salmonella enterica* serovars Typhimurium and Enteritidis in poultry and poultry products. *Microb Pathog*. 2019 Apr;129:118-124. doi: 10.1016/j.micpath.2019.01.046. Epub 2019 Feb 7. PMID: 30738177.

6. McMillan Elizabeth A., Gupta Sushim K., Williams Laura E., JovΓ© Thomas, Hiott Lari M., Woodley Tiffanie A., Barrett John B., Jackson Charlene R., Wasilenko Jamie L., Simmons Mustafa, Tillman Glenn E., McClelland Michael, Frye Jonathan G. Antimicrobial Resistance Genes, Cassettes, and Plasmids Present in *Salmonella enterica* Associated With United States Food Animals. *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, 2019, p.832 URL=<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.00832> DOI:10.3389/fmicb.2019.00832, ISSN=1664-302X
7. Mała Ł, Popowska M. Antimicrobial resistance of *Salmonella* spp. isolated from food. *Rocz Panstw Zakł Hig.* 2016;67(4):343-358. PMID: 27922740.
8. Peruzy MF, Capuano F, Proroga YTR, Cristiano D, Carullo MR, Murru N. Antimicrobial Susceptibility Testing for *Salmonella* Serovars Isolated from Food Samples: Five-Year Monitoring (2015-2019). *Antibiotics (Basel)*. 2020 Jun 29;9(7):365. doi: 10.3390/antibiotics9070365. PMID: 32610532; PMCID: PMC7400401
9. Rincón-Gamboa SM, Poutou-Piñales RA, Carrascal-Camacho AK. Analysis of the assessment of antimicrobial susceptibility. Non-typhoid *Salmonella* in meat and meat products as model (systematic review). *BMC Microbiol.* 2021 Aug 2;21(1):223. doi: 10.1186/s12866-021-02268-1. PMID: 34340654; PMCID: PMC8328484.
10. Rincón-Gamboa SM, Poutou-Piñales RA, Carrascal-Camacho AK. Antimicrobial Resistance of Non-Typhoid *Salmonella* in Meat and Meat Products. *Foods*. 2021 Jul 27;10(8):1731. doi: 10.3390/foods10081731. PMID: 34441509; PMCID: PMC8392175.
11. V T Nair D, Venkitanarayanan K, Kollanoor Johny A. Antibiotic-Resistant *Salmonella* in the Food Supply and the Potential Role of Antibiotic Alternatives for Control. *Foods*. 2018 Oct 11;7(10):167. doi: 10.3390/foods7100167. PMID: 30314348; PMCID: PMC6210005.
12. Vaid RK, Thakur Z, Anand T, Kumar S, Tripathi BN. Comparative genome analysis of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovars Pullorum and Gallinarum decodes strain specific genes. *PLoS One*. 2021 Aug 19;16(8):e0255612. doi: 10.1371/journal.pone.0255612. PMID: 34411120; PMCID: PMC8375982.
13. Wu S, Hulme JP. Recent Advances in the Detection of Antibiotic and Multi-Drug Resistant *Salmonella*: An Update. *Int J Mol Sci*. 2021 Mar 28;22(7):3499. doi: 10.3390/ijms22073499. PMID: 33800682; PMCID: PMC8037659.

**Признательность:** Работа написана в рамках проекта: 20.80009.8007.09 «Изучение механизмов устойчивости к противомикробным препаратам у грамотрицательных бактерий с целью усовершенствования национальной системы эпиднадзора».

**Acknowledgment:** This paper has been written within the framework of the project: 20.80009.8007.09 "Studying the mechanisms of antimicrobial resistance in gram-negative bacilli in order to strengthen the national surveillance system"