

А.В.Фадеева, Г.А.Ерошенко, Н.Ю.Шавина, В.В.Кутырев

АНАЛИЗ SXT КОНСТИНА АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОГО ШТАММА *VIBRIO CHOLERAE* НЕО1/НЕО139 СЕРОГРУППЫ

ФКУЗ «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов

В геноме антибиотикоустойчивого штамма *Vibrio cholerae* серогруппы O50, выделенного в России в 1974 г., выявлено наличие SXT конъюгативного транспозона (SXT констина). Анализ его структуры показал, что он не содержит генов устойчивости к антибиотикам – стрептомицину, сульфаметоксазолу, триметоприму, хлорамфениколу и канамицину и, по-видимому, относится к числу предшественников антибиотикорезистентных SXT констинов, получивших распространение в геномах эпидемических штаммов *V. cholerae* O139 в 1992 г.

Ключевые слова: возбудитель холеры, геном, устойчивость к антибиотикам.

A.V.Fadeeva, G.A.Eroshenko, N.Yu.Shavina, V.V.Kutyrev

Analysis of the SXT Constin of Antibiotic-Sensitive *Vibrio cholerae* Strain of Non-O1/ Non-O139 Serogroup

Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe", Saratov

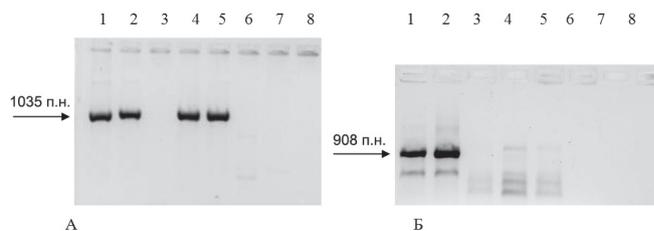
In the genome of antibiotic-sensitive *Vibrio cholerae* strain belonging to O50 serogroup, isolated in the territory of the Russian Federation in 1974, detected is the SXT conjugative trasposone – SXT constin. Analysis if its structure revealed that it does not contain genes of resistance to such antibiotics as streptomycin, sulfamethoxazole, trimethoprim, chloramphenicol, and kanamycin, being, probably, one of the predecessors of antibiotic-resistant SXT constins which spread out within the genomes of epidemic *Vibrio cholerae* O139 strains in 1992.

Key words: cholera agent, genome, antibiotic resistance.

SXT конъюгативные элементы, впервые выявленные в геноме вирулентных штаммов *Vibrio cholerae* O139 серогруппы, вызвавших большие эпидемии холеры в Юго-Восточной Азии в 1992 г., вносят значительный вклад в распространение генов антибиотикорезистентности среди штаммов возбудителя этой особо опасной инфекции. Большинство клинических штаммов O139 серогруппы, а также часть штаммов O1 серогруппы биовара эльтор содержат в геноме SXT элементы или констины (от англ. conjugative, self-transmissible, and integrating), маркером которых является ген *int_{SXT}* интегразы, обеспечивающий интеграцию этих элементов в хромосому [2]. Установлено, что гены устойчивости к антибиотикам – сульфаметоксазолу (Su), триметоприму (Tm), хлорамфениколу (Cm), стрептомицину (Sm) у штаммов O139 серогруппы, как правило, внедрены в составе сложного транспозоноподобного элемента (17 т.п.н) в ген *rumB* оперона *rumAB* SXT констина. В то же время встречаются SXT транспозоны (подобные R931 с генами устойчивости к канамицину (Kp) из бактерии *Providencia retgerii*), у которых эта сложная транспозоноподобная структура отсутствует. Высказано предположение, что гены антибиотикоустойчивости не являются неотъемлемой частью SXT семейства констинов, которые, возможно, придают какое-то другое (пока неустановленное) селективное преимущество содержащей его бактерии [2].

Нами при анализе коллекции штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 серогрупп, выделенных на территории Российской Федерации, был выявлен штамм

серогруппы O50, выделенный в Ростовской области в 1974 г., который в ПЦР давал положительный сигнал на наличие в его геноме гена *intSXT* – маркерного гена SXT констинов (рисунок, А). Проведенный предварительный анализ устойчивости штамма Р-8845 к ряду антибиотиков – Су (25–100 ед.), Тм (25), См (25), Sm (25), Кп (50), ампициллину Ап (50) и тетрациклину Тс (25) показал, что он чувствителен ко всем этим антибиотикам. Для подтверждения отсутствия в составе SXT констина штамма Р-8845 генов устойчивости к антибиотикам были использованы праймеры на гены *suII*, *dif18*, *strB*, *floR*, *npt*, сконструированные ранее [1, 2]. Ни с одной из этих пар праймеров в ПЦР не получено положительного сигнала, что свидетельствовало об отсутствии этих генов в составе SXT констина в штамме Р-8845 серогруппы O50 и объясняло отсутствие у него устойчивости к антибиотикам. Для подтверждения отсутствия сложного транспозоноподобного элемента с генами устойчи-

ПЦР детекция генов *int_{SXT}* и *rumAB* у штаммов *V. cholerae*:

1–2 – Р8845 (серогруппа O50, Ростовская обл., 1974 г.),
3 – Р4107 (O41, Ростовская обл., 1975 г.), 4 – AP1 (O139, Индия, 1992 г.),
5 – SG24 (O139, Индия, 1992 г.), 6 – T23 (O1 эльтор, Индия, 1962 г.),
7 – 4А (O1 эльтор, Индия, 1962 г.), 8 – отрицательный контроль

ности к антибиотикам были использованы праймеры LEFTF3/RUMA на ген *rumB* и межгенное пространство *rumA* [2]. В результате в ПЦР был получен положительный сигнал амплификации и образовывался амплификат размером 908 п.н., соответствовавший размерам интактного *rumAB* оперона, свидетельствовавший об отсутствии внедрения последовательности ДНК в этот участок SXT констина (рисунок, Б). У вирулентных штаммов O139 серогруппы *V. cholerae* AP1, SG24, устойчивых к стрептомицину, триметоприму, сульфаметоксазолу и содержащих гены *strB*, *dif18*, *suII*, амплификат при использовании праймеров на *rumAB* оперон не образовывался, что связано с внедрением в ген *rumB* этих штаммов протяженной транспозоноподобной последовательности с генами антибиотикоустойчивости.

Таким образом, нами впервые выявлен у штамма неO1/неO139 серогруппы – *V. cholerae* P-8845 серогруппы O50, выделенного на территории Российской Федерации в 1974 г., SXT конъюгативный элемент. В отличие от эпидемических штаммов O139 серогруппы и R931 элемента SXT констин штамма P-8845 не содержит генов устойчивости к антибиотикам Su, Tm, Cm, Sm, Kp, обычно входящих в состав этого семейства сложных конъюгативных транспозонов. По-видимому, SXT-подобный элемент, присутствующий в штамме P-8845, являет-

ся антибиотикочувствительным (*rumAB*⁺) предшественником SXT констин и может быть использован для изучения роли этих элементов в эволюции бактерий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ерошенко Г.А., Одинокоев Г.Н., Анисимова Л.В., Шавина Н.Ю., Виноградова Н.А., Кутырев В.В. Антибиотикоустойчивые штаммы возбудителя чумы и разработка способа их детекции методом полимеразной цепной реакции. Пробл. особо опасных инф. 2011; 1(107):53–7.

2. Hochhut B., Lotfi Y., Mazel D., Faruque S.M., Woodgate R., Waldor M.K. Molecular analysis of antibiotic resistance gene clusters in *Vibrio cholerae* O139 and O1 constins. Antimicrob. Agents Chemother. 2001; 45:2991–3000.

References (Presented are the Russian sources in the order of citation in the original article)

1. Eroshenko G.A., Odinokov G.N., Anisimova L.V., Shavina N.Yu., Vinogradova N.A., Kutyrev V.V. [Antibiotic-resistant strains of plague agent and development of procedure for their detection by PCR method]. Probl. Osobo. Opasn. Infek. 2011; (107):53–7.

Authors:

Fadeeva A.V., Eroshenko G.A., Shavina N.Yu., Kutyrev V.V. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russia. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Об авторах:

Фадеева А.В., Ерошенко Г.А., Шавина Н.Ю., Кутырев В.В. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrapi@microbe.ru

Поступила 09.07.12.