

Заключение

Специфическая активность и специфичность сывороток кроличьих лептоспирозных, полученных при иммунизации живой вирулентной и инактивированной прогреванием культурами возбудителя, не отличаются.

В экспериментальном производстве лептоспирозных сывороток возможно использование в качестве антигена биологически безопасных инактивированных штаммов, что исключает необходимость проведения работ в заражном блоке.

Срок годности кроличьей лептоспирозной лиофилизированной сыворотки с применением стабилизатора составляет 5 лет.

Литература

1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней: СП 1.3.2322-08. – М.: Минздрав России, 2008. – 44 с.
2. Монцевичюте-Эрингене В. Статистическая обработка результатов // Патология, физиология и экспериментальная терапия. – 1964. – № 4. – С. 71-78.
3. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней // Практ. руководство. – М.: Шико, 2013. – С. 489-490.
4. Эпидемиология, диагностика и профилактика заболевания людей лептоспирозами: МУ 3.1.1128-02. – М.: Минздрав России, 2002. – 44 с.
5. Jameson P., Creiff D., Sidney E., Crossber C. Thermal stability of freeze-dried mammalian interferons: analysis of freeze-drying conditions and accelerated storage test for murine interferon // J. Criobiology. – 1979. – № 16. – P. 301-314.

Ответственный автор

Андреевская Нина Михайловна – старший научный сотрудник научно-производственного отдела ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора
Тел.: (3952)-22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru

УДК: 616.932:579.843.1Vibrio:57.063.8]-07(470+571)

МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДЕТЕКЦИЯ ICEs ЭЛЕМЕНТОВ СЕМЕЙСТВА SXT/R391 В ШТАММАХ *VIBRIO CHOLERAЕ*, ВЫДЕЛЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ РФ

М.В. Подшивалова¹, И.Б. Захарова¹, Я.А. Лопастейская¹, Л.М. Веркина²,
Н.А. Селянская², Д.В. Викторov¹

¹ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград;

²ФКУЗ Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

В работе представлены результаты исследований антибиотикорезистентных штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных на территории РФ в период 2009 – 2013 гг. В штаммах, устойчивых к триметоприму/сульфаметоксазолу, детектирован интегративный элемент (ICE) семейства SXT/R391. При типировании выявленных ICE в мультилокусной ПЦР показана их принадлежность к SXT^{ET} вариантам, несущим последовательности *sulll* и *dfrA1*.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, SXT элемент, полимеразная цепная реакция.

MOLECULAR DETECTION OF SXT/R391 ICES IN VIBRIO CHOLERAE STRAINS ISOLATED ON THE TERRITORY OF THE RUSSIAN FEDERATION

M. V. Podshivalova¹, I. B. Zakharova¹, Ya. A. Lopasteyskaya¹, L. M. Verkina², N. A. Selyanskaya², D. V. Viktorov¹

¹Volgograd Plaque Control Research Institute, Volgograd; ²Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute, Rostov-on-Don

The results of the studies of antibiotic resistant *Vibrio cholerae* strains isolated in Russia in 2009-2013 are presented. The presence of integrative element ICE of SXT/R391 family was detected trimethoprim/sulfamethoxazole-resistant strains. Using multilocus polymerase chain reaction the presence of SXTET variants carrying *sulIII*, *dfrA1* sequence was revealed.

Key words: *Vibrio cholerae*, SXT element, polymerase chain reaction (PCR)

Одними из известных типов мобильных генетических элементов бактерий являются ICEs (integrative conjugative elements). Данные элементы имеют в своем составе набор генов конъюгативного переноса и систем контроля удаления из хромосомы и интеграции в нее [1]. За счет этого ICEs способны к горизонтальному генетическому переносу, в результате которого могут передаваться детерминанты вирулентности, а также формироваться множественная устойчивость к антибиотикам. В настоящей работе основное внимание было уделено семейству элементов SXT/R391, встречающихся преимущественно у *Vibrio cholerae* и имеющих важное значение в распространении генов лекарственной устойчивости в популяциях холерного вибриона.

Целью данного исследования являлся анализ наличия последовательностей SXT/R391 в штаммах *V. cholerae*, выделенных в различных регионах РФ в 2009-2013 гг.

Материалы и методы

В работе использовали 54 штамма *V. cholerae* Eltor O1 из коллекции Ростовского-на-Дону научно-исследовательского противочумного института, выделенные в различных регионах РФ в 2009 – 2012 гг., а также 65 штаммов *V. cholerae* non O1/O139, изолированных из внешней среды на территории Волгоградской области в 2013 г. Культуры *V. cholerae* выращивали на щелочном агаре (pH 7.8) при 37 °С. ДНК выделяли методом протеиназного лизиса по руководству [2]. Для ПЦР-детекции SXT/R391 элементов использовали праймеры, специфичные гену интегразы *int_{SXT}*. Амплификацию мишеней проводили по программе: прогрев 94 °С 2 мин, 40 циклов (94 °С 30 сек, 55 °С 30 сек, 72 °С 45 сек), финальная элонгация 72 °С 10 мин. Для молекулярного типирования вариантов SXT/R391 нами была использована мультипраймерная система, включающая набор олигонуклеотидов, специфичных гену интегразы *int_{SXT}*, гену устойчивости к сульфаметоксазолу *sulIII*, гену устойчивости к стрептомицину *strB* и детерминантам устойчивости к триметоприму – дигидрофолатредуктазам *dfr18* и *dfrA1*, характерным для вариантов SXT^{MO10} и SXT^{ET}, соответственно. Продукты ПЦР анализировали в 1,5 % агарозных гелях по стандартной методике [3].

Результаты и обсуждение

ПЦР-скрининг исследуемых штаммов с праймерами, специфичными *int_{SXT}*, выявил 3 штамма *V. cholerae* O1 Eltor, несущих ICE элементы семейства SXT/R391. Анализ данных штаммов в мультилокусной ПЦР продемонстрировал, что *V. cholerae* O1 Eltor 13740, 17827, 18826 содержат ICE элемент SXT^{ET} - типа, несущий последовательности *sulIII* и *dfrA1*. Сопоставление выявленных генетических профилей SXT элементов с профилями чувствительности к антибиотикам различных классов продемонстрировало наличие ожидаемых фенотипов резистентности у SXT⁺ штаммов.

В штаммах *V. cholerae* non O1/O139 ICE элемент семейства SXT/R391 содержался практически во всех исследуемых образцах, однако результаты типирования продемонстрировали его принадлежность к варианту ICE, отличному от типичных SXT^{MO10} и SXT^{ET}.

Заключение

Обнаружение последовательностей ICEs, принадлежащих к различным типам SXT/R391 элементов в исследованных антибиотикорезистентных штаммах *V. cholerae*, подтверждает важную роль данных генетических структур в формировании множественной устойчивости возбудителя холеры к антимикробным соединениям. Широкая распространенность ICEs семейства SXT/R391 у резидентной вибриофлоры свидетельствует о потенциальной возможности образования рекомбинантных ICEs, несущих новые комбинации детерминант устойчивости к антибиотикам.

Литература

1. Hastings P., Rosenberg S., Slack A. Antibiotic-induced lateral transfer of antibiotic resistance. – Trends Microbiol. – 2004. – Vol. 12, № 9. – P. 401-404.
2. Gene Print STR System. Technical Manual. – Promega Corp. – Madison, USA.
3. Маниатис Т., Фрич Э., Сэмбрук Д. Молекулярное клонирование. – Пер. с англ., М.: Мир, 1984. – 392 с.

Ответственный автор

М.В. Подшивалова – научный сотрудник Волгоградского противочумного института
Тел.: (3952) 22-13-12. E-mail: confirk2014@mail.ru
