



Populační struktura a rezistence k antimikrobiálním látkám u kmenů *Listeria monocytogenes* izolovaných ze zvířat, lidí, potravin a prostředí

Renáta Karpíšková, Kristýna Brodíková, Ivana Koláčková

Abstrakt

Listerióza je závažné infekční onemocnění lidí i zvířat. Zatímco humánní případy podléhají povinnému hlášení a hygienickému dozoru včetně detailní genotypové charakterizace kmenů, u zvířat se toto sledování v ČR neprovádí. V předchozích letech byla studie zaměřena na sběr izolátů *Listeria monocytogenes* od zvířat, jejich základní charakterizaci a stanovení antibiotické rezistence. Z výsledků vyplynulo, že u zvířat a lidí dominuje jeden sekveční typ (ST), jedná se o ST1 klonálního komplexu (CC)1.

Cílem této studie byla analýza diverzity animálních izolátů *L. monocytogenes* CC1 metodou celogenomového sekvenování. Dále bylo cílem porovnání sekvencí animálních izolátů s izoláty humánními, z potravin a prostředí, získanými v desetiletém období.

Genomová DNA byla extrahována z osmi animálních izolátů *L. monocytogenes* pomocí kitu Blood and Tissue (Qiagen, Německo) a sekvenace byla provedena na platformě Illumina (NextSeq) externí firmou (Eurofins Genomics, Německo). Zpracování sekvenačních dat probíhalo s využitím softwaru Ridom SeqSphere+ (Ridom GmbH, Münster, Německo).

Celogenomová analýza (cgMLST) byla provedena u osmi animálních izolátů *L. monocytogenes* náležejících ke klonálnímu komplexu CC1. Výsledky naznačují možnou epidemickou souvislost u tří izolátů *L. monocytogenes* CC1 u skotu (kozy, dojnice). Dále jsme získané sekvence porovnali se sekvencemi získanými z izolátů *Listeria monocytogenes* od lidí, z potravin a prostředí. Byly detekovány dva klastry s pravděpodobnou epidemickou souvislostí. Jeden zahrnoval 12 izolátů pocházejících ze všech sledovaných zdrojů a druhý zahrnoval tři izoláty výhradně humánního původu. Výsledky této analýzy potvrzují, že hlavním zdrojem *L. monocytogenes* CC1 pro člověka byli přežvýkavci, a dále mléko (mléčné výrobky) či maso skotu. Zvířata se mohou nakazit na farmách, ale i z prostředí (kontaminovaná voda, půda, píče).

Celogenomová sekvenace potvrdila, že izoláty původně určené fenotypovou metodou jako rezistentní ke co-trimoxazolu, nenesou žádný ze známých genů kódujících rezistenci k sulfametoxazolu, nebo trimetoprimu a jsou hodnoceny jako izoláty k této antimikrobiální látce citlivé.



VĚDECKÝ VÝBOR VETERINÁRNÍ

Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 296/70, Brno 621 00

<https://www.vri.cz/vyzkum/vedecky-vybor-veterinari/>

tel +420 533 331 111

Tato studie jako první v České republice popisuje genetickou diverzitu isolátů *L. monocytogenes* CC1 získaných od zvířat (n=8) a porovnává jejich genetickou příbuznost s izoláty stejného klonálního komplexu pocházející od lidí (n=31), z potravin (n=6) a prostředí (n=4). Výsledky podtrhují význam celogenomového sekvenování bakterií animálního i potravinového původu pro epidemiologické účely a predikci virulence, případně možných zdrojů.

Population structure and antimicrobial resistance in *Listeria monocytogenes* strains isolated from animals, humans, food and the environment

Abstract

Listeriosis is a serious infectious disease of humans and animals. While human cases are subject to mandatory reporting and sanitary surveillance, including detailed genotypic characterisation of strains, this monitoring is not performed in animals in the Czech Republic. In previous years, the study focused on the collection of *Listeria monocytogenes* isolates from animals, their basic characterisation and the determination of antibiotic resistance. The results showed that one sequence type (ST) dominates in animals and humans, the ST1 clonal complex (CC)1.

The aim of this study was to analyze the clonal diversity of *L. monocytogenes* in animal CC1 isolates by whole-genome sequencing. Furthermore, the aim was to compare the animal isolates with human, food and environmental isolates obtained over a 10-year period.

Genomic DNA was extracted from eight animal isolates of *L. monocytogenes* using the Blood and Tissue kit (Qiagen, Germany) and sequenced on the Illumina platform (NextSeq) by an external company (Eurofins Genomics, Germany). Sequence data processing was performed using Ridom SeqSphere+ software (Ridom GmbH, Münster, Germany).

Whole-genome analysis (cgMLST) was performed on eight animal isolates of *L. monocytogenes* belonging to the CC1 clonal complex. The results suggest a possible epidemic association for three *L. monocytogenes* CC1 isolates in cattle (goats, dairy cows). We further compared the sequences obtained with those obtained from *Listeria monocytogenes* isolates from humans, food and the environment. Two clusters with a probable epidemic association were detected. One included 12 isolates originating from all sources studied and the other included three isolates of exclusively human origin. The results of this analysis confirmed that the main sources of *L. monocytogenes* CC1 for humans were ruminants, and also milk (dairy products) or meat from cattle. Animals can become infected on farms but also from the environment (contaminated water, soil, forage).

**VĚDECKÝ VÝBOR VETERINÁRNÍ****Výzkumný ústav veterinárního lékařství, v. v. i., Hudcova 296/70, Brno 621 00****<https://www.vri.cz/vyzkum/vedecky-vybor-veterinari/>****tel +420 533 331 111**

Whole-genome sequencing confirmed that isolates initially identified by phenotypic methods as resistant to co-trimoxazole do not carry any of the known genes encoding resistance to sulfamethoxazole or trimethoprim and are assessed as susceptible to this antimicrobial agent.

This study is the first in the Czech Republic to describe the genetic diversity of *L. monocytogenes* CC1 isolates obtained from animals (n=8) and to compare their genetic relatedness with isolates of the same clonal complex from humans (n=31), food (n=6) and the environment (n=4). The results underline the importance of whole genome sequencing of bacteria of animal and food origin for epidemiological purposes and prediction of virulence or possible sources.