

Чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области

Н. А. СЕЛЯНСКАЯ¹, А. В. ТРИШИНА¹, Л. М. ВЕРКИНА¹,
И. В. АРХАНГЕЛЬСКАЯ¹, В. Д. КРУГЛИКОВ¹, Ю. М. ЗЛЕНКО²

¹ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

² «1002» Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Минобороны РФ, Ростов-на-Дону

Antibiotic Susceptibility of *Vibrio cholerae* non O1/non O139 Serogroups Isolated from Environment in the Rostov Region

N. A. SELYANSKAYA, A. V. TRISHINA, L. M. VERKINA, I. V. ARKHANGELSKAYA, V. D. KRUGLIKOV, YU. M. ZLENKO

Rostov-on-Don Plague Institute, Rostov-on-Don

1002 Sanitary and Epidemiological Control Centre, Ministry of Defense of the Russian Federation, Rostov-on-Don

Анализ антибиотикограмм штаммов *Vibrio cholerae* не O1/ не O139 серогрупп (ctxA⁻tcpA⁻), выделенных из внешней среды в Ростовской области в 2011 г. (22 штамма), показал, что все культуры были чувствительны к ципрофлоксацину, аминогликозидам, цефтриаксону, триметоприму/ сульфаметоксазолу, устойчивы к левомицетину и фуразолидону. У 32% изолятов обнаружена резистентность к тетрациклину, у 18% — к рифампицину, у 9% — к налидиксовой кислоте. Штаммов *V. cholerae*, чувствительных ко всем изученным антибактериальным препаратам, обнаружено не было. 37% холерных вибрионов были устойчивы к двум антибактериальным препаратам, а остальные имели множественную резистентность и содержали от 3 до 6 г-детерминант антибиотикоустойчивости. Поскольку гены антибиотикорезистентности у холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп часто расположены на мобильных генетических элементах (плазмидах, интегронах, SXT-элементе), многие штаммы этих микроорганизмов, а также природная среда могут выполнять роль резервуара антибиотикорезистентности. Наличие г-детерминант антибиотикорезистентности у изученных штаммов в различных сочетаниях, варибельность антибиотикоустойчивости у изолятов, выделенных на одной территории в относительно небольшой промежуток времени, вызывают необходимость мониторинга антибиотикочувствительности этих микроорганизмов и назначения антибиотика для этиотропной терапии только на основе антибиотикограммы культуры, выделенной от конкретного больного.

Ключевые слова: антибактериальные препараты, холерные вибрионы, антибиотикорезистентность.

Analysis of the antibioticograms of 22 strains of *Vibrio cholerae* non O1/non O139 serogroups (ctxA⁻ tcpA⁻) isolated from the environment in the Rostov Region in 2011 showed that all the cultures were susceptible to ciprofloxacin, aminoglycosides, ceftriaxone, trimetoprim/sulfamethoxazole and resistant to levomycetin and furazolidone. 32%, 18% and 9% of the isolates were resistant to tetracycline, rifampicin and nalidixic acid respectively. No strains of *V. cholerae* susceptible to all the tested antimicrobials were detected. 37% of the *V. cholerae* isolates was resistant to two antibacterials and the others showed multiple resistance and contained 3–6 r-determinants of antibiotic resistance. Since the antibiotic resistance genes in *Vibrio cholerae* non O1/non O139 serogroups are often located on mobile genetic elements (plasmids, interferons, SXT elements), many strains of such organisms, the same as the natural environment, could serve as reservoirs of antibiotic resistance. The presence of antibiotic resistance r-determinants in the investigated strains in various combinations, the antibiotic resistance variability in the isolates collected on the same territory within a relatively short period of time require monitoring of antibiotic susceptibility in them and the use of the antibiotic for the etiotropic therapy only in strict accordance with the antibioticogram of the culture isolated from the concrete patient.

Key words: antibacterials, *Vibrio cholerae*, antibiotic resistance.

Холерные вибрионы не O1 / не O139 серогрупп широко распространены во внешней среде, являясь естественными обитателями водоёмов, где обнаружение их колеблется от 27,6% до 60% в отдельных регионах Российской Федерации [1–3]. Многие штаммы *Vibrio cholerae* не O1/ не O139 обладают патогенными свойствами и способны вызы-

вать холероподобные диареи различной степени тяжести, а также заболевания с внекишечной локализацией и септицемии с летальным исходом [4].

Преобладание водного пути в распространения заболеваний, вызываемых холерными вибрионами не O1/ не O139 серогрупп, подтверждается эпидемиологическими наблюдениями. Например, на Украине заболеваемость желудочно-кишечными патологиями, обусловленными вибрионами не O1/ не O139 серогруппы, коррелировала с 90% высеваемостью этих вибри-

© Коллектив авторов, 2014

Адрес для корреспонденции: 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, д. 117. Ростовский-на-Дону ПЧИ. E-mail: plague@ic.ru

Таблица 1. Антибиотикограммы штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011 г.

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Значения МПК для контрольных штаммов, мг/л		Диапазон значений МПК
	S*	R*	9741	5879	22 штамма из внешней среды
Доксициклин	≤2,0	>8,0	0,25	0,25	1,0–64,0
Тетрациклин	≤4,0	>8,0	1,0	1,0	4,0–64,0
Левомецетин	≤4,0	≥16,0	2,0	2,0	16,0
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	2,0	1,0	2,0–16,0
Ципрофлоксацин	<0,1	≥1,0	0,002	0,001	0,06–0,125
Стрептомицин	≤16,0	>32,0	4,0	2,0	2,0
Гентамицин	≤4,0	>8,0	2,0	0,5	1,0
Ампициллин	≤4,0	>16,0	4,0	2,0	4,0–32,0
Цефтриаксон	<1,0	≥8,0	0,04	0,01	0,1–0,25
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	2,0	1,0	2,0–64,0
Фуразолидон	≤4,0	≥16,0	2,0	2,0	16,0–32,0
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/38,0	≥8,0/152,0	1,0/5,0	2,0/10,0	1,0/5,0–4,0/20,0

Примечание. * – S – чувствительный; R – устойчивый; ** – пограничные значения МПК (МУК 4.2.2495-09)

онов из речной воды [5, 6]. В Каракалпакии среди 147 лиц, инфицированных холерными вибрионами не O1/ не O139 серогрупп, 56 % заразились через воду, 34% — посредством пищевых продуктов [7]. По данным Т. А. Кондратенко (1995), 80% случаев заражения населения происходит при использовании для хозяйственно-бытовых нужд воды реки Дон и её притоков, содержащей *V.cholerae* не O1/ не O139 [8]. Водный путь инфицирования обусловил 30,7% случаев заболеваний, вызванных вибрионами не O1/ не O139 серогрупп [9], во время вспышки в Ростове-на-Дону и области в 60–70 гг. XX века [10].

Увеличение в последние 10 лет в Российской Федерации количества холерных вибрионов не O1 / не O139 серогрупп, выделяемых из объектов окружающей среды, потенциальная способность отдельных серогрупп этих микроорганизмов вызывать эпидемии [11], требует проявления к ним пристального внимания и проведения постоянного мониторинга с определением антибиотикочувствительности каждой выделенной культуры.

Цель исследования: анализ профилей антибиотикорезистентности штаммов холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп, выделенных из внешней среды в Ростовской области в 2011 г.

Материал и методы

Штаммы. Из музея живых культур ФКУЗ Ростовского-на-Дону противочумного института были взяты штаммы *V.cholerae* не O1/ не O139 (ctxA⁻tcpA⁻), выделенные из внешней среды в Ростовской области в 2011 г. (22 штамма). Антибиотикочувствительные штаммы *V.cholerae* O1 P-5879 ctxA⁺tcpA⁺toxR⁺ (1972 г., г. Таганрог) и *V.cholerae* не O1/ не O139 P-9741 (KM 162) использовали в качестве контроля.

Антибактериальные препараты: доксициклин, тетрациклин, левомецетин (хлорамфеникол), рифампицин, стрептомицин, гентамицин, ампициллин, фуразолидон — препараты отечественного производства; налидиксовая кислота (невиграмон, Chinoin, Венгрия), ципрофлоксацин (квинтор, Торрент Фарм. Лтд, Индия), триметоприм/сульфаметоксазол (бикотрим, Adgio, Индия), цефтриаксон (офрамакс, Ranbaxy, Индия).

Чувствительность/устойчивость изучаемых штаммов к антибактериальным препаратам определяли методом серийных разведений в плотной питательной среде [агар Мюллера–Хинтона, pH 7,5 (HIMEDIA, Индия)]. Посевная доза взвешей 16–18 часовых агаровых культур составляла $n \times 10^6$ м.к. по отраслевому стандарту мутности ГИСК им. Л.А.Тарасевича (ОСО-42-25-59-86 П).

Интерпретацию результатов проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09 (2009) [12].

Доверительные интервалы для частот и долей рассчитывали по методу Вальда с коррекцией по Агрести-Коуллу с вероятностью 95% [13].

Результаты и обсуждение

Все исследованные штаммы *V.cholerae* не O1/ не O139 обладали типичными для рода *Vibrio* и вида *Vibrio cholerae* морфологическими, культуральными, биохимическими свойствами, в ПЦР не содержали генов ctxA и tcpA. У 9 (40,9%) штаммов была установлена принадлежность к определённой серологической группе, преобладали представители O16 (6 штаммов) и O73 (2 штамма) серогрупп.

Все штаммы были чувствительны к ципрофлоксацину (МПК 0,06–0,125 мг/л), аминогликозидам (стрептомицину и гентамицину) (МПК 1,0–2,0 мг/л), цефтриаксону (МПК 0,1–0,25 мг/л), триметоприму/ сульфаметоксазолу (МПК 1,0/5,0–4,0/ 20,0 мг/л) и характеризовались устойчивостью к левомецетину (МПК 16,0 мг/л) и фуразолидону (МПК 16,0–32,0 мг/л). У 32% (16–53) изученных штаммов выявлена устойчивость к тетрациклинам (МПК 64,0 мг/л), у 18% (6,7–39) — к рифампицину (МПК 16,0–64,0 мг/л), 9% (1,3–29) — к налидиксовой кислоте (МПК 16,0 мг/л), 50% (30–69,3) — к ампициллину (МПК 32,0 мг/л) (табл. 1, 2).

Штаммов *V.cholerae*, чувствительных ко всем изученным антибактериальным препаратам, обнаружено не было. Все выделенные культуры содержали от 2 до 6 г-детерминант антибиотикостойкости, что может существенно осложнять этиотропную терапию вызванных ими заболеваний.

Таблица 2. Распределение штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011 г., по чувствительности/ устойчивости к антибактериальным препаратам

Антибактериальный препарат	Количество штаммов <i>V.cholerae</i> не O1/ не O139			
	S*		R*	
	абс.	отн., % (ДИ)**	абс.	отн., % (ДИ)**
Доксициклин	15	68 (47–83,8)	7	32 (16–53)
Тетрациклин	15	68 (47–83,8)	7	32 (16–53)
Левомецетин	0	0	22	100
Налидиксовая кислота	20	91 (71–98,6)	2	9 (1,3–29)
Ципрофлоксацин	22	100	0	0
Стрептомицин	22	100	0	0
Гентамицин	22	100	0	0
Ампициллин	11	50 (30–69,3)	11	50 (30–69,3)
Цефтриаксон	22	100	0	0
Рифампицин	18	82 (60,8–93,3)	4	18 (6,7–39)
Фуразолидон	0	0	22	100
Триметоприм/сульфаметоксазол	22	100	0	0

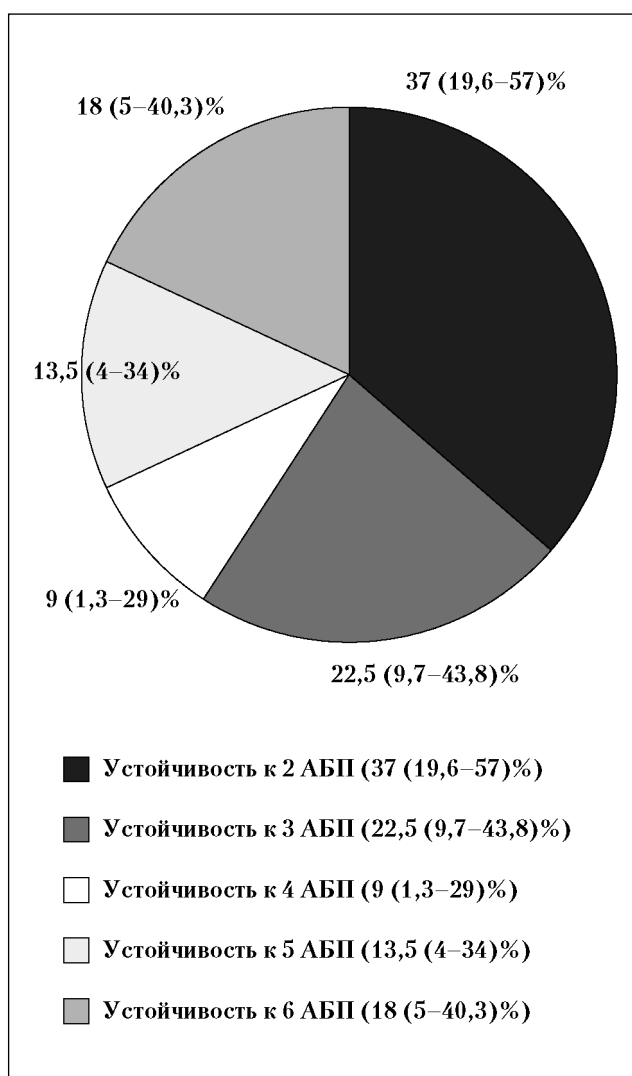
Примечание. * – S – чувствительный; R – устойчивый; ** – доверительный интервал.

Характеристика профилей антибиотикорезистентности изученных штаммов представлена в табл. 3.

Резистентность к левомецетину и фуразолидону, обнаруженная у всех холерных вибрионов, у четырёх штаммов сочеталась с устойчивостью к ампициллину (18% (5–40,3)), у одного штамма – к рифампицину (4,5% (<0,01–23,5)). Остальные штаммы имели ещё и устойчивость к тетрациклину и доксициклину, которая сочеталась с резистентностью к ампициллину (один штамм), рифампицину (два штамма (9% (1,3–29))), рифампицину и ампициллину, рифампицину и налидиксовой кислоте (по два штамма) (табл. 3). Таким образом, наблюдалась вариабельность маркёров антибиотикорезистентности у штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных в одном регионе в течение одного 2011 года.

При анализе частоты выделения полиантибиотикоустойчивых форм вибрионов не O1 / не O139 серогрупп выявлено, что к двум антибактериальным препаратам были устойчивы 8 штаммов (37% (19,6–57)), а остальные имели множественную антибиотикорезистентность (рисунок). К трём препаратам оказалось устойчиво 5 культур (22,5 (9,7–43,8)%), к четырём – 2 штамма (9 (1,3–29)%), к пяти – 3 (13,5 (4–34)%), к шести – 4 (18 (5–40,3)%). Таким образом, большинство изученных штаммов холерных вибрионов не O1 / не O139 серогрупп обладало полиантибиотикоустойчивостью.

Наличие у изученных культур резистентности к традиционно применяемым антибактериальным препаратам согласуется с сообщениями о выделении из внешней среды в различных регионах мира антибиотикоустойчивых штаммов холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп. Так, в Камеруне штаммы *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенные из воды, оказались высокорезистентны к триметоприму/ сульфаметоксазолу и тетрациклину [14], а в Южной Индии такие штаммы были рези-



Распределение штаммов холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011 г. по устойчивости к антибактериальным препаратам (АБП), %

Таблица 3. Характеристика профилей антибиотикорезистентности штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011 г.

Профили резистентности	Число г-детерминант антибиотикоустойчивости	Количество культур	
		абс.	отн.,% (ДИ)*
Чувствительные	0	0	0
<i>St Fur^r</i>	2	8	37 (19,6—57)
<i>St Fur^r Ap</i>	3	4	18 (5—40,3)
<i>St Fur^r Rif^r</i>	3	1	4,5 (<0,01—23,5)
<i>St Fur^r Dx Tc</i>	4	2	9 (1,3—29)
<i>St Fur^r Dx Tc Rif^r</i>	5	2	9 (1,3—29)
<i>St Fur^r Dx Tc Ap</i>	5	1	4,5(<0,01—23,5)
<i>St Fur^r Dx Tc Rif^r Ap</i>	6	2	9 (1,3—29)
<i>St Fur^r Dx Tc Rif^r Nal^r</i>	6	2	9 (1,3—29)

Примечание. *St* – устойчивость к левомицетину (хлорамфениколу); *Fur^r* – фуразолидону; *Dx* – доксициклину; *Rif^r* – рифампицину; *Nal^r* – налидиксовой кислоте; *Tc* – тетрациклину; *Ap* – ампициллину; * – доверительный интервал.

стентны ещё и к цефотаксиму, налидиксовой кислоте, стрептомицину, фуразолидону, неомицину, офлоксацину, ципрофлоксацину, норфлоксацину, гентамицину, хлорамфениколу [15]. Распространению антибиотикорезистентности способствуют мобильные генетические элементы с генами антибиотикоустойчивости, присутствующие в штаммах холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп [16], поэтому многие серогруппы, а также природная среда могут выполнять роль резервуара антибиотикорезистентности [17].

Заключение

Выделенные из внешней среды в Ростовской области в 2011 г. штаммы холерных вибрионов не

O1/ не O139 серогрупп имеют высокий уровень резистентности, спектр которого включает от 2 до 6 антибактериальных препаратов, что исключает эффективность их применения в случае возникновения патологического процесса при попадании возбудителей в организм человека.

Наличие антибиотикоустойчивости в различных сочетаниях, её вариабельность у штаммов *V.cholerae* не O1/ не O139, выделенных на одной территории в относительно небольшой промежуток времени, вызывают необходимость постоянного мониторинга антибиотикочувствительности этих микроорганизмов и назначения антибиотика для этиотропной терапии только на основе антибиотикограммы культуры, выделенной от конкретного больного.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Евтодиенко В.Г., Слюсарь В.Н., Гуцу А.В. и др.* К вопросу об организации эпиднадзора по холере в республике Молдова. Холера и патогенные для человека вибрионы. Сб мат пробл комиссии Координационного науч. совета по сан-эпидемиол охране территории РФ - Ростов-на-Дону, 2007; 20: 37—38.
2. *Кривдина Т.М., Бычкова В.А., Щербакова Т.А., Ткаченко Н.М., Дубовая Н.Н., Терентьева Н.В., Терентьева А.И.* Оценка результатов лабораторных исследований на возбудителей холеры озера Смолино за 2007—2011 гг. Санит охрана территорий. Профилактика природно-очаговых болезней. Мат X съезда ВНПОЭМП, М.: 12—13 апреля 2012 г. Инфекц иммун 2012; 1—2: 161.
3. *Авдеева Е.П., Мазрухо Б.Л., Воронежская Л.Г. и др.* Особенности циркуляции различных по происхождению холерных вибрионов не O1/ не O139 серогрупп. Эпидемиол инфекц бол 2006; 2: 19—22.
4. *Семиотрочев В.Л., Ривкус Ю.З.* Классификация заболеваний, вызываемых микроорганизмами рода *Vibrio*. Здоров насел среда обитания 2012; 2: 227: 32—36.
5. *Доброштан Е.В.* Сравнительные аспекты противэпидемического надзора за холерой эльтор и другими вибрионами. Актуал вопр микробиол лаб диагностики и профилакт холеры: тез Всесоюз науч конф. Ростов-на-Дону, 1988; 343—344.
6. *Зайдёнов А.М., Новиков Д.И., Саморядова И.А., Воронежская Л.Г., Курдякова Т.А., Седина С.Г., Сэбирова Р.С., Кенжеттаев А.Я., Каратаева Р.С., Шахмаев Я.А.* Изучение факторов распространения заболеваний, вызванных неагглютинирующимися вибрионами с использованием данных серотипирования штаммов. ЖМЭИ 1987; 7: 28—31.
7. *Кондратенко Т.А., Швагер М.М., Антонян Б.Х.* Экология, миграционные процессы и их влияние на эпидемическую ситуацию в Ростовской области. Холера: мат Рос науч-практ конф. Ростов-на-Дону, 1995; 56—57.
8. *Донец В.С., Скирда Г.И., Прометной В.И. и др.* Эпидемиологические особенности острых кишечных заболеваний, вызванных НАГ-вибрионами. Остр кишечн инфекц. Л.: 1980; 52—53.
9. *Кругликов В.Д., Монахова Е.В., Архангельская И.В. и др.* Характеристика штаммов холерных вибрионов не O1 / не O139 серогрупп, вызвавших заболевания людей в Ростовской области. Журн микробиол 2011; 5: 18—22.
10. *Cariri F.A., Costa A.P., de Melo C.C. et al.* Characterization of potentially virulent non-O1 / non-O139 *Vibrio cholerae* strains isolated from human patients. Clin Microbiol Infect 2010; 16: 1: 62—67.
11. *Виноградова К.А., Булакова В.Г., Полин А.Н., Кожевни П.А.* Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистомы, её объём, разнообразие и развитие. Антибиотики и химиотер 2013; 5—6: 38—48.
12. *Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллёз, сап, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам 4.2.2495-09. М.: 2009; 59.*
13. *Гржибовский А.М.* Доверительные интервалы для частот и долей. Экол чел 2008; 5: 57—60.
14. *Tatah A.J., Pulcherie K.M., Mande N.L., Akum N.H.* Investigation of water sources as reservoirs of *Vibrio cholerae* in Bepanda, Douala and determination of physic-chemical factor maintaining its endemicity. Onderstepoort J Vet Res 2012; 79: 2: 1.
15. *Jagadeeshan S., Kumar P., Abraham W.P. Thomas S.* Multiresistant *Vibrio cholerae* non O1/ non O139 from waters in South India: resistance patterns and virulence-associated gene profiles. J Basic Microbiol 2009; 49: 6: 538—544.
16. *Mohapatra H., Molapatra S.S., Manti C.K., Colwell R.R., Singh D.V.* *V.cholerae* non O1 non O139 strains isolated before 1992 from Varanasi, India, are multiple drug resistant, contain *int SXT*, *dfp* 18 and *aad A5* genes. Environ Microbiol 2008; 10: 4: 866—973.
17. *Campos L.C., Zahner V., Avelar K.E. et al.* Genetic diversity and antibiotic resistance of clinical and environmental *Vibrio cholerae* suggests that many serogroups are reservoirs of resistance. Epidemiol Infect 2004; 132: 5: 985—992.