

КРАТКОЕ СООБЩЕНИЕ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

Е.А.Березняк, А.В.Тришина, Н.А.Селянская, И.В.Архангельская, И.Р.Симонова, М.И.Ежова

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ШТАММОВ *VIBRIO CHOLERAE* NONO1/NONO139, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ГИДРОЭКОСИСТЕМ В 2016-2017 ГГ. В РОСТОВЕ-НА-ДОНУ

Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт

Цель. Оценить распространение антимикробной резистентности штаммов *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 в водных объектах г. Ростова-на-Дону. *Материалы и методы.* Отбор проб проводили в стационарных точках открытых водоемов Ростова-на-Дону с мая по сентябрь 2016 г. и 2017 г. Чувствительность/устойчивость *V. cholerae* nonO1/nonO139 определяли к антибактериальным препаратам (АБП), рекомендованным для экстренной профилактики и лечения холеры, методом серийных разведений на агаре Мюллера-Хинтона. *Результаты.* Всего выделено в 2016 г. 196 штаммов, в 2017 г. — 75 штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139. При серотипировании установлено, что все штаммы были отнесены к 17 серогруппам, преобладали представители O16 и O76 серогрупп. Анализ распределения штаммов по устойчивости к антибактериальным препаратам (АБП) показал, что чувствительных штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 не выявлено. Все микроорганизмы обладали устойчивостью к фуразолидону. Доли устойчивых к ко-тримоксазолу и ампициллину изолятов составили 35,2% и 40% в 2016 г. и 33,6% и 28,3 % в 2017 г. соответственно. Все микроорганизмы распределились по десяти фенотипам и характеризовались наличием от 1 до 4 детерминант резистентности. *Заключение.* По сравнению с данными за 2011-2014 гг. в 2016-2017 гг. в Ростове-на-Дону среди штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 резистентность к фуразолидону выросла с 47% до 100%. К ко-тримоксазолу резистентность возросла с 7,8% до 35,2 — 40%. В 2016 г. Были выявлены штаммы, устойчивые к гентамицину (1,5%), которые отсутствовали ранее.

Журн. микробиол., 2019, № 2, С. 87—91

Ключевые слова: мониторинг, *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 серогрупп, антибиотикорезистентность

Е.А.Березняк, А.В.Тришина, Н.А.Селянская, И.В.Архангельская, И.Р.Симонова, М.И.Ежова

ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF *VIBRIO CHOLERAE* NONO1/NONO139 STRAINS ISOLATED FROM HYDROECOSYSTEMS IN 2016-2017 IN ROSTOV-ON-DON

Rostov-on-Don State Institute for Plague Control, Russia

Aim. To assess the prevalence of antimicrobial resistance of *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 strains in water bodies in Rostov-on-Don. *Materials and methods.* Sampling was carried out at fixed points of open reservoirs in Rostov-on-Don from May to September in 2016 and 2017. Sensitivity/resistance of *V. cholerae* nonO1/nonO139 to antibacterial drugs (ABP) recommended for emergency prevention and treatment of cholera was determined by serial dilution on Müller-Hinton agar. *Results.* 196 strains of *V. cholerae* nonO1/nonO139 were isolated in 2016, 75 — in 2017. When serotyping it was found that all strains were assigned to 17 serogroups, representatives of O16 and O76 serogroups prevailed. Analysis of the distribution of strains on resistance to ABP showed that sensitive strains of *V. cholerae* nonO1/nonO139 were not detected. All microorganisms were resistant to furazolidone. The proportions of isolates resistant to co-trimoxazole and ampicillin were 35.2% and 40% in 2016, and 33.6% and 28.3% in 2017 respectively. All microorganisms were

distributed over ten phenotypes and were characterized by the presence of 1 to 4 determinants of resistance. *Conclusion.* The resistance of *V. cholerae* nonO1/nonO139 strains isolated in Rostov-on-Don water bodies to furazolidone increased from 47% in 2011 — 2014 to 100% in 2016 — 2017. Resistance to co-trimazole increased from 7.8% to 35.2 — 40%. Strains resistant to gentamicin (1.5%) earlier absent were detected in 2016.

Zh. Mikrobiol. (Moscow). 2019, No. 2, P. 87—91

Key words: monitoring, *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 serogroups, antibiotic resistance

Распространение резистентности к антибактериальным препаратам (АБП) является одной из самых острых проблем современности, несущей биологические и экономические угрозы для всех стран. Проблема устойчивости микроорганизмов к антибиотикам приобрела особую актуальность в странах с развитой системой здравоохранения и ведением интенсивного сельского хозяйства за последние 20 лет, снижая эффективность мероприятий по профилактике и лечению инфекционных болезней человека и животных [8, 10].

В последние годы появилось множество доказательств того, что микроорганизмы, обнаруживаемые в окружающей среде, имеют огромное количество разнообразных генов антибиотикорезистентности, а экологические места обитания, особенно водоемы, реки и озера, являются идеальной средой для передачи этих генов среди бактерий, способствуя селекции антибиотикорезистентных штаммов и глобальному распространению устойчивости к АБП [2].

Холерные вибрионы неO1/неO139 широко известны и как естественные обитатели открытых водоемов, и как возбудители острых кишечных инфекций различной степени тяжести, вызывая пристальное внимание исследователей. Эти штаммы являются по сути природными резервуарами ранее не встречавшихся комбинаций генов устойчивости к АБП, способных передаваться штаммам *V. cholerae* O1 и O139 серогрупп, расширяя их патогенный и эпидемический потенциал [14].

Обращает на себя внимание частая встречаемость антибиотикорезистентных штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 в водных объектах. В последние годы такие микроорганизмы были зарегистрированы в Индии, Китае, Вьетнаме, Индонезии, Марокко, бассейне Карибского моря, Мексике, России [4,11,12,15]. Среди выделенных в 2011-2014 гг. в Ростовской области штаммов холерных вибрионов неO1/неO139 серогрупп были как чувствительные, так и штаммы с множественной устойчивостью (от 1 до 6 маркеров) [6].

В геноме холерных вибрионов неO1/неO139 серогрупп обнаружены специализированные мобильные структуры, содержащие гены антибиотикорезистентности, способные передаваться между штаммами. Наличие мобильных генетических элементов и мегаинтегрона создает благоприятные условия для успешного горизонтального переноса генов от штамма к штамму и не исключает дальнейшего нарастания числа резистентных микроорганизмов [9, 13, 16].

Широкое распространение штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139, устойчивых к антимикробным соединениям, вариабельность и непредсказуемость спектра антибиотикоустойчивости позволили ученым рассматривать эту группу микроорганизмов как источник ранее не встречавшихся комбинаций генов резистентности для эпидемически значимых серогрупп вибрионов [7].

Цель исследования — оценить распространение антимикробной резистентности штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 в водных объектах Ростова-на-Дону.

Отбор проб проводили ежемесячно с мая по сентябрь 2016-2017 гг. в водоемах Ростова-на-Дону. Выделение и идентификацию штаммов проводили в соответствии с МУК 4.2.2218-07.

Серологическую идентификацию изолированных штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 осуществляли с помощью набора сывороток диагностических холерных неO1/неO139 серогрупп моноспецифических кроличьих против типовых штаммов холерных вибрионов O2-O84 серогрупп в реакции слайд-агглютинации [1].

Чувствительность к АБП определяли методом серийных разведений на агаре Мюллера-Хинтона рН $7,3 \pm 0,2$ (HiMEDIA, Индия). Интерпретацию результатов определения чувствительности культур вибрионов проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09. Для определения чувствительности/устойчивости *V.cholerae nonO1/nonO139* использовали препараты, рекомендованные для экстренной профилактики и лечения холеры. Препараты первого ряда: доксицилин, ципрофлоксацин, ко-тримоксазол, фуразолидон, гентамицин, налидиксовая кислота. Препараты второго ряда: левомицетин, ампициллин, цефтриаксон.

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью стандартных средств программы «Microsoft Office Excel».

Из стационарных точек открытых водоемов Ростова-на-Дону было выделено в 2016 г. 196 штаммов, в 2017 г. — 75 штаммов *V. cholerae nonO1/nonO139*. Все культуры не содержали генов холерного токсина *ctxA* и токсин-корегулируемых пилей *tcpA*, были типичны по культурально-морфологическим и биохимическим свойствам.

При серотипировании установлено, что в изучаемый период в водоемах Ростова-на-Дону циркулировали *V.cholerae nonO1/nonO139*, которые были отнесены к 17 серогруппам, преобладали представители O16 и O76 серогрупп.

Все выделенные штаммы были протестированы на чувствительность/устойчивость к противомикробным препаратам. Анализ распределения штаммов по устойчивости к антибактериальным препаратам показал, что чувствительных ко всем АБП штаммов *V. cholerae nonO1/nonO139* не выявлено. Все микроорганизмы обладали устойчивостью к фуразолидону. Доля устойчивых к ко-тримоксазолу и ампициллину штаммов, выделенных в 2016 г. и в 2017 г. составила 35,2% и 40% и 33,6% и 28,3% соответственно.

Устойчивость холерных вибрионов неO1/неO139 серогрупп к левомицетину и гентамицину в 2016 г. составила 0,5 и 1,5% соответственно при отсутствии выделения таких штаммов в следующем году. В 2017 г. возросло число холерных вибрионов, устойчивых к налидиксовой кислоте (2,6% против 1% в 2016 г.). Все изолированные из водоемов города штаммы *V.cholerae nonO1/nonO139* показали чувствительность к доксицилину, ципрофлоксацину, цефтриаксону.

При анализе фенотипов антибиотикорезистентности исследуемых штаммов *V.cholerae nonO1/nonO139* было отмечено, что все микроорганизмы распределились на 10 фенотипов и характеризовались наличием от 1 до 4 детерминант резистентности при отсутствии культур, чувствительных ко всем тестируемым АБП.

Резистентность к двум АБП зафиксирована у 34,6% в 2016 г. и 52,0% в 2017 г. Чаще всего в 2016 г. встречались фенотипы: ко-тримоксазол/фуразолидон — 18,8% и фуразолидон/ампициллин — 15,8%. В 2017 г. доля таких фенотипов возросла до 24,0% и 28% соответственно. Множественной антибиотикорезистентностью (к трем и более препаратам) обладало в 2016 г. — 18,4%, а в 2017 г. — 17,3% штаммов *V.cholerae nonO1/nonO139*. К трем АБП часто встречающимся был фенотип ко-тримоксазол/ампициллин/фуразолидон. Такие штаммы в 2016 г. обнаружены в 16,4%, в 2017 г. в 13,4% случаев. В 2016 и 2017 гг. зарегистрированы единичные случаи выделения штаммов *V. cholerae nonO1/nonO139* с маркерами устойчивости к четырем АБП.

Таким образом установлено, что в изучаемый период циркулировали штаммы *V.cholerae nonO1/nonO139*, которые были отнесены к 17 серогруппам, доминировали представители O16 и O76 серогрупп. Сравнительный анализ серотипирования штаммов 2016 — 2017 гг. с предыдущими исследованиями (2003-2008 гг., 2009-2011 гг.) не выявил значительных изменений в составе доминирующих серогрупп вибрионов [3]. У штаммов *V.cholerae nonO1/nonO139*, выделенных из водных объектов окружающей среды на территории Ростова-на-Дону в 2016-2017 гг., не обнаружены гены холерного токсина и токсин-корегулируемых пилей адгезии.

Проведенные в 2011 — 2014 гг. в Ростовской области исследования по изучению чувствительность к АБП штаммов *V.cholerae* nonO1/nonO139 показали [6], что доля штаммов чувствительных ко всем антибиотикам, составила 17,6%, в 2016-2017 гг. таких изолятов не выделено. Резистентностью к фуразолидону в 2011-2014 гг. обладали 47% штаммов, в 2016-2017 гг. их доля увеличилась до 100%. К ко-тримаказолу резистентность возросла с 7,8% до 35,2 — 40% в 2016-2017 гг. В 2016 г. появились штаммы, устойчивые к гентамицину (1,5 %), которые отсутствовали в 2011-2014 гг. В то же время, устойчивость холерных вибрионов неO1/неO139 серогрупп к тетрациклину и левомицетину составила в 2011-2014 гг. 13,7% и 43%, а в 2016-2017 гг. — 0 и 0,5%, соответственно. Резистентность к этим антибактериальным препаратам носит индуцибельный характер, в связи с чем фенотипически может не проявляться [5].

По результатам исследований зарегистрирована база данных «Фенотипы антибиотикорезистентности холерных вибрионов различных серогрупп, выделенных на территории Ростовской области». Свидетельство о государственной регистрации №2018620078 от 12 января 2018 г.

Мониторинг резистентности к АБП представителей семейства *Vibrionaceae* дает возможность прогнозировать, в каком направлении идут изменения антимикробной резистентности, что позволит своевременно принять меры по обеспечению биологической безопасности региона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авдеева Е.П. Совершенствование метода серологической идентификации холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп: Автореф. дисс. канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2006.
2. Виноградова К.А., Булгакова В.Г., Полин А.Н. и др. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам: резистомы, её объём, разнообразие и развитие. Антибиотики и химиотерапия. 2013, 5-6:38-48.
3. Григоренко Л.В., Кругликов В.Д., Мазруха А.Б. и др. Холерные вибрионы неO1/неO139, выделенные в ходе мониторинга водоемов и стоков Ростова-на-Дону с 2009 по 2011 год. Проблемы особо опасных инфекций. 2013, 4:48-50.
4. Монахова Е.В., Архангельская И.В. Холерные вибрионы неO1/неO139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире. Пробл. особо опасных инф. 2016, 2:14-23.
5. Селянская Н.А., Рыжко И.В., Веркина Л.М. Индукция *in vitro* трансмиссивной устойчивости к тетрациклину, левомицетину и ампициллину у культур *Vibrio cholerae* неO1/ неO139 серогрупп, выделенных в 1990-2005 гг. Антибиотики и химиотерапия. 2011, (56) 7-8: 16-21.
6. Селянская Н.А., Веркина Л.М., Архангельская И.В. и др. Мониторинг антибиотикорезистентности штаммов холерных вибрионов неO1/неO139 серогрупп, выделенных из объектов окружающей среды в Ростовской области в 2011—2014 гг. Здоровье населения и среда обитания. 2015, 7:33-6.
7. Baron S., Larvor E., Chevalier S. et al. Antimicrobial Susceptibility among Urban Wastewater and Wild Shellfish Isolates of Non-O1/Non-O139 *Vibrio cholerae* from La Rance Estuary (Brittany, France). *Front. Microbiol.* 2017, 8:1637.
8. Bassetti M., Pecori D., Peghi M. Multidrug-resistant Gram-negative Bacteria-Resistant Infections: Epidemiology, Clinical Issues and Therapeutic Options. *Italian Journal of Medicine.* 2016, 10(4):364-375.
9. Carraro N., Rivard N., Ceccarelli D. et al. IncA/C Conjugative Plasmids Mobilize a New Family of Multidrug Resistance Islands in Clinical *Vibrio cholerae* Non-O1/Non-O139 Isolates from Haiti. *mBio.* 2016, 7(4): 00509-16 doi: 10.1128
10. Curcio D. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections: Are you Ready for the Challenge? *Current Clinical Pharmacology.* 2014, 9(1):27-38. DOI: 10.2174/15748847113089990062.
11. Diep T.T., Nguyen N.T., Nguyen T.N. et al. Isolation of New Delhi metallo-βactamase 1 (NDM-1)-producing non-O1, non-O139 strain carrying *ctxA*, *st*, and *hly* genes in southern Vietnam. *Microbiol Immunol.* 2015, 59(5):262-267. doi: 10.1111/1348-0421.122482015.
12. Li F., Du P., Li B. et al. Distribution of virulence-associated genes and genetic relationships in non-O1/O139 aquatic isolates from China. *Appl Environ Microbiol.* 2014, 80(16): 4987-4992. doi: 10.1128/AEM.01021-14.

13. Mala W., Faksri K., Samerpitak K. et al. Antimicrobial resistance and genetic diversity of the SXT element in *Vibrio cholerae* from clinical and environmental water samples in northeastern Thailand. *Infect. Genet. Evol.* 2017, 52: 89-95.
14. Rodriguez-Blanco A., Lemos M., Osorio C. Integrating conjugative elements as vectors of antibiotic, mercury, and quaternary ammonium compound resistance in marine aquaculture environments. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012, 56(5): 2619-26.
15. Shrestha U. T., Adhikari N., Maharjan R. et al. Multidrug resistant *Vibrio cholera* O1 from clinical and environmental samples in Kathmandu city. *BMC Infect. Dis.* 2015, 15 (1): 104.
16. Spagnoletta M., Ceccarelli D., Rieux A. et al. Acquisition and evolution of SXT-R391 integrative conjugative elements in the seventh pandemic *Vibrio cholerae* lineage. *mBio.* 2014, 5 (4): 1356-14.

Поступила 06.08.18

Контактная информация: Березняк Елена Александровна, к.б.н.,
344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40, р.т. (863)234-23-11

ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

А.Ю.Антипова, М.А.Бичурина, И.Н.Лаврентьева, Арег А. Тотолян

ПРОГРАММА ЭЛИМИНАЦИИ КОРИ В АФРИКАНСКОМ РЕГИОНЕ ВОЗ: СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Корь в Африканском регионе ВОЗ (АРВ), который объединяет 47 стран, характеризуется тяжелой течением с высоким риском смерти из-за недоедания, недостатка витамина А, сопутствующих инфекций. Эндемичными для АРВ являются вирусы кори генетической линии В (В1, В2, В3). Стратегия элиминации кори в АРВ была основана на сочетании программ дополнительной иммунизации (ПДИ) детей до 14 лет и плановой вакцинации не менее 90% детей 9-15 мес. Было рекомендовано повторять ПДИ каждые 3-5 лет для вакцинации детей, не привитых или неудачно привитых в календарные сроки. В ряде стран АРВ количество случаев кори снизилось на 83-97% в течение первого года реализации этой стратегии. Рекомендуемый возраст плановой вакцинации в АРВ составляет 9 месяцев — это мера снижения детской смертности от кори. Однако уровень сероконверсий при этом не достаточный (85%). Для элиминации кори в АРВ к 2020 г. в настоящее время рекомендовано использование двухдозовой схемы — вакцинация и ревакцинация. Охват вакцинацией одной дозой коревой вакцины в Африканском регионе увеличился до 74% в 2015 г. Но высокая заболеваемость корью в регионе сохраняется. В 2013—2016 гг. в АРВ зарегистрировано 103 161 случаев кори среди детей до 6 лет; из них 79% не вакцинированы (или прививочный статус не известен). В 2013 году программа вакцинопрофилактики кори в ряде стран АРВ была нарушена из-за эпидемии лихорадки Эбола. В странах, где закончилась эпидемия, рекомендовано возобновить вакцинацию лицам, которые могли пропустить плановую иммунизацию. Проблемы реализации элиминации кори в АРВ: недостаточная оснащенность медицинских центров оборудованием и квалифицированными кадрами, слабая информированность населения, плохо развитая система сообщения, вооруженные конфликты.

Журн. микробиол., 2019, № 2, С. 91—99

Ключевые слова: Африканский регион ВОЗ, корь, программа элиминации, заболеваемость, вакцинация, охват прививками