

УДК: 579.842.23:57.017.5 + 615.33

**ІДЕНТИФІКАЦІЯ ШТАМІВ *YERSINIA SPP.* ТА
ВИЗНАЧЕННЯ ЇХ
АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ
В'ялих Ж.Е., Сутулова А.А., Киликко Л.В.**

**Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
ім. Л.В.Громашевського АМН України, Київ
Харківська обласна санітарно-епідеміологічна
станція, Харків**

Кишковий ієрсиніоз реєструється в Україні у вигляді спорадичних випадків і епідемічних спалахів. Серед осіб з гострими кишковими інфекціями виявляють від 6,0% до 10,8% хворих на ієрсиніоз, але значна частина випадків цього захворювання не діагностується і реєструється під іншими діагнозами. В результаті не проводиться цілеспрямована терапія ієрсиніозної інфекції та адекватні протиепідемічні заходи [1, 2].

Даних щодо збудників ієрсиніозів та їх властивостей накопичено недостатньо, що потребує подальшого вивчення та узагальнення. В поодиноких роботах є загальні відомості про рівні чутливості цих мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, але їх можна оцінити як вкрай неповні [3].

Метою даної роботи було визначення видової належності свіжовиділених штамів ієрсинії та дослідження чутливості цих штамів до антибактеріальних препаратів.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були 68 свіжовиділених штамів *Yersinia spp.*, що надійшли з лабораторії особливо небезпечних інфекцій Харківської обласної СЕС та Українського науково-дослідного протичумного інституту ім. І.І.Мечнікова (м.Одеса) до Музею патогенних мікроорганізмів (МПМ) Інституту епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського для поповнення колекції та підготовки культур для довготривалого зберігання. Із загальної кількості штамів 58 були ізольовані із внутрішніх органів гризунів та змивів з овочів. З них 54 штамми були первинно ідентифіковані як *Y. enterocolitica*, 2 – *Y. kristensenii* та 2 штамми *Yersinia* не ідентифіковано до виду. Ще 10 штамів *Y. enterocolitica* були виділені під час спалахів ієрсиніозу від хворих.

Виділення ієрсинії з біологічного матеріалу та абіогенних об'єктів здійснювалось бактеріологічним методом з використанням середовищ Ендо, м'ясопептонного агару (МПА) та середовища накопичення (фосфатно-буферний розчин рН 7,2). У всіх штамів була перевірена рухливість при 22 °С та 37 °С на стовпчиках напіврідкого 0,3% МПА. Ідентифікація проводилася за допомогою середовищ Гіса з глюкозою, рамнозою, мальтозою, рафінозою, лактозою, сахарозою, сорбітом та середовищ для визначення уреазної активності, декарбоксилаз амінокислот із лізином і орнітином. Як контроль були використані штамми *Y. enterocolitica* ПЧІ 198, *Y. pseudotuberculosis* т.І.

При надходженні культур до МПМ у всіх цих штамів було повторно перевірено культурально-морфологічні властивості загальноприйнятим методом [4], а саме, морфологія колоній на середовищах Ендо, МПА, біохімічні властивості, рухливість при 22 °С та 37 °С. Рухливість визначали на стовпчиках напіврідкого 0,3% МПА. Біохімічні властивості досліджували за допомогою мікротест-системи EN-TEROtest 24 виробництва Lachema (Чехія). Як контроль застосовувались музейні типові штамми *Y. enterocolitica* МПМ 383, *Y. kristensenii* МПМ 105, *Y. pseudotuberculosis* МПМ 2421.

Чутливість до антибіотиків визначали на середовищі АГВ диско-дифузійним методом [5] з використанням дисків з ампіциліном, хлорамфеніколом, тетрацикліном, цефепимом, цефтазидимом, цефоперазоном, нетілміцином, тобраміцином, гентаміцином, ципрофлоксацином, іміпінемом виробництва Науково-дослідного центру фармакотерапії (НИЦФ, м. Санкт-Петербург, Росія). Згідно інструкції виробника дисків, в залежності від діаметрів зон затримки росту досліджуваних штамів навколо дисків з антибіотиками, штамми відносили до чутливих, помірно стійких та стійких.

Контроль якості дисків з антибіотиками та живильних середовищ здійснювали згідно Інформаційних листів №189 – 2005 та № 05.4.1\1670 [5, 6].

Результати та їх обговорення

При дослідженні біологічних властивостей 10 свіжовиділених штамів *Y. enterocolitica*, ізольованих від хворих під час спалахів ієрсиніозу, встановлено що всі вони були нерухливі при температурі 37 °С і рухливі при 22 °С та повністю відповідали біохімічним ознакам виду *Y. enterocolitica*, а саме: на середовищі Ендо давали ріст лактозонегативних невеликих (1-2 мм) колоній, були позитивними за орнітиндекарбоксилазою, уреазною активністю, ферментацією целобіози, сахарози, трегалози, манітолу, сорбітолу та глюкози. Із 10 штамів 9 були індолопозитивними, 1 – індолонегативним. За такими ознаками як наявність лізиндекарбоксилази, аргинінгідролази, утилізація цитрату, ферментація рамнози, рафінози, мелібіози, дульциту всі штамми були негативні.

Щодо свіжовиділених 58 штамів ієрсинії, які були отримані при дослідженні овочів та внутрішніх органів гризунів, то 57 із них дали ріст лактозонегативних колоній на середовищі Ендо і один штам – лактозопозитивних колоній з металевим блиском. При дослідженні рухливості всі 58 штамів були рухливі при 22 °С, при 37 °С 56 штамів були нерухливі й 2 – рухливі.

При перевірці біохімічних властивостей цих штамів встановлено, що 1 штам відповідає ознакам *Citrobacter sedlakii*, 1 – *Escherichia coli*, 2 штамми не вдалося ідентифікувати. Таким чином встановлено, що з цієї групи штамів родовим характеристикам *Yersinia* відповідали 54 із 58-ми.

Із вищезазначених 54 штамів 50 були первинно ідентифіковані як *Y. enterocolitica*, 2 – *Y. kristensenii*, 2 – *Yersinia spp.* Із 50 штамів, ідентифікованих первинно як *Y. enterocolitica* у 48 підтверджено видові ознаки. Ці штамми були позитивними за ор-

нітиндекарбоксилазою, гідролізом сечовини, ферментацією целобіози, сахарози, трегалози, манітолу, сорбітолу та глюкози. Всі вони були індолопозитивними. За такими ознаками як наявність лізиндекарбоксилази, аргинінгідролази, ферментація рамнози, рафінози, мелібіози, дульциту, утилізація цитрату всі штами були негативні. 5 штамів із 48 не ферментували інозитол.

Два штами із 50 відповідали біохімічним властивостям *Y.kristensenii*, вони не ферментували сахарозу, лактозу, мали слабку уреазну активність та були індолопозитивним.

У 2 штамів первинно ідентифікованих як *Y.kristensenii* було підтверджено їх належність до цього

виду. Вони були індолонегативні, не ферментували сахарозу, лактозу, рафінозу, рамнозу, не мали лізиндекарбоксилази, аргинінгідролази, були позитивні за орнітиндекарбоксилазою, уреазою, целобіозою, трегалозою, манітолом, глюкозою, сорбітолом.

Із 2 штамів, що відповідали родовим ознакам *Yersinia*, але не були ідентифіковані до виду, один штам мав біохімічні характеристики *Y.enterocolitica*, другий не вдалося ідентифікувати до виду.

При дослідженні антибіотикорезистентності 62 штамів ієрсиній, встановлено, що майже всі досліджувані штами (95,2%) були стійкими до ампіциліну (табл.1).

Таблиця 1.- Розподіл за чутливістю до антибіотиків штамів *Y.enterocolitica* та *Y.kristensenii* (n = 62)

Назва антибіотиків	Рівні чутливості до антибіотиків, кількість штамів, %		
	стійкі	помірно стійкі	чутливі
Ампіцилін	95,2	4,8	0,0
Хлорамфенікол	16,1	8,1	75,8
Тетрациклін	27,4	12,9	59,7
Ципрофлоксацин	1,6	0,0	98,4
Іміпенем	0,0	0,0	100,0
Цефепим	0,0	0,0	100,0
Цефоперазон	0,0	0,0	100,0
Цефтазидим	0,0	0,0	100,0
Гентаміцин	1,6	0,0	98,4
Тобраміцин	4,8	1,6	93,6
Нетілміцин	1,6	0,0	98,4

До хлорамфеніколу проявляли чутливість 75,8 % штамів, а до тетрацикліну – 59,7 % – це антибіотики, які часто використовують при лікуванні ієрсиніозу та псевдотуберкульозу.

Найбільш сильну інгібуючу дію мали цефалоспорици (цефепим, цефоперазон, цефтазидим), карбапенем (іміпенем), аміноглікозиди (гентаміцин, тобраміцин, нетілміцин), фторхінолони (ципрофлоксацин).

Із даних літератури відомо, що в сільському господарстві широко застосовують антимікробні препарати для профілактики різноманітних інфекцій, що веде до формування резистентності мікроорганізмів до дії антибіотиків [7]. Можливо, цим можна пояснити появу резистентності у збудників ієрсиніозів до антибіотиків, оскільки корми, якими годують сільськогосподарських тварин та птахів можуть вживати і гризуни, що мешкають поруч. Інфікування овочей ієрсиніями здійснюється, як правило, в місцях життєдіяльності гризунів або утримання сільськогосподарських тварин, у організмі яких можуть переживати антибіотикорезистентні мікроорганізми.

Можливо, в природних екосистемах має місце обмін детермінантами резистентності в середині роду Enterobacteriaceae.

Тому важливо, поряд із дослідженням контамінації ієрсиніями різних об'єктів, проводити моніторинг їх антибіотикорезистентності.

Висновки

- 3 метою поповнення колекції МПМ була проведена повторна ідентифікація 68 штамів *Yersinia*. Встановлено, що всього родовим характеристикам *Yersinia* відповідали 64 із 68 штамів, у 62 з них була підтверджена первинна видова ідентифікація.
- При дослідженні антибіотикорезистентності встановлено, що найбільш високу інгібуючу дію на ієрсинії мали цефалоспорици III покоління, іміпенем, аміноглікозиди, фторхінолони. До хлорамфеніколу та тетрацикліну були чутливі відповідно 75,8 % та 59,7 % досліджених штамів, 95,2% штамів були резистентними до ампіциліну.
- Рекомендовано проводити моніторинг антибіотикорезистентності циркулюючих штамів *Yersinia spp.*

Література

1. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н. и соавт. Псевдотуберкулез. – Москва: Медицина, 2001. – 241 с.
2. Федоров Э.И., Головчак Г.С. Санитарно-микробиологические аспекты проблемы иерсиниозов // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2000. – т.4. – № 1. – 86 – 88.
3. Головчак Г.С. Епідеміологічна характеристика ієрсиніозів в умовах урбанізованих територій та удосконалення системи епідеміологічного нагляду: Автореферат дис... канд. мед. наук. – Київ, Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В.Громашевського, 2000. – 20 с

4. Поздеев О.К. Медицинская микробиология. - Москва: ГЭОТАР-Мед, 2001. – 765 с.
5. Український Центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. Інформаційний лист № 189 -2005 від 8.07..2005 р. “Уніфікація методу визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків.” – Київ, 2005. – 4 с.
6. Український центр державного санітарно-епідеміологічного нагляду. Інформаційний лист № 05.4.1 / 1670 від 15.11.2000 р. “Бактеріологічний контроль поживних середовищ.” – Київ, 2000. – 12 с.
7. Piddock, L.J.V., Wray, C., et al. / Quinolone resistance in Salmonella spp: veterinary pointers // *Lancet.*– 2000.– P.125.

УДК: 579.842.23:57.017.5 + 615.33

Вялых Ж.Э., Сутулова А.А., Килипко Л.В.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ШТАММОВ *YERSINIA SPP.* И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИХ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ

Институт эпидемиологии и инфекционных болезней им. Л.В.Громашевского АМН Украины
Харковская обласная санитарно-эпидемиологическая станция, Харьков

Проведена видовая идентификация свежевыделенных штаммов *Y. enterocolitica* и *Y. kristensenii* при помощи биохимических тестов (всего 68 штаммов), исследована их антибиотикорезистентность. 95,2% исследованных штаммов были устойчивы к ампициллину, 75,8 % – к хлорамфениколу, 59,7 % – к тетрациклину. 98,4 – 100,0% штаммов были чувствительны к ципрофлоксацину, цефалоспорином, аминогликозидам, имипенему. **Ключевые слова:** иерсинии, биохимические свойства, антибиотикорезистентность.

UDC: 579.842.23:57.017.5 + 615.33

Vyalykh Zh.E., Sutulova A.A., Kilipko L.V.

IDENTIFICATION STRAINS OF *YERSINIA SPP.* AND TESTING OF RESISTANCE

Gromashevsky Insnitute of Epidemiology and Infectious Diseases of AMS of Ukrain, Kyiv

The species identification of freshly isolated strains was performed with the help of biochemical testing (the total number of strains was 68) also the sensitivity of this strains to antibiotics was researched. 95,2% of strains which were researched were resistant to ampicilline, 75,8 % – to chloramphenicol, 59,7 % – to tetracycline, 98,4 – 100,0% of them were sensitive to ciprofloxacin, cephalosporins, aminoglycosids, imipenem.

Key words: Yersinia, biochemical propertie, resistance.

УДК: 579.842.23:57.017.5 + 615.33

В'ялих Ж.Е., Сутулова А.А., Килипко Л.В.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ ШТАМІВ *YERSINIA SPP.* ТА ВИЗНАЧЕННЯ ЇХ АНТИБІОТИКОЧУТЛИВОСТІ

Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім.
Л.В.Громашевського АМН України, Київ
Харківська обласна санітарно-епідеміологічна станція, Харків

Проведена видова ідентифікація свіжовиділених штамів *Y. enterocolitica* та *Y. kristensenii* за допомогою біохімічних тестів (всього 68 штамів), досліджено їх антибіотикорезистентність. 95,2% досліджених штамів були стійкими до ампіциліну, 75,8 % – до хлорамфеніколу, 59,7 % – до тетрацикліну. 98,4 – 100,0% штамів були чутливі до ципрофлоксацину, цефалоспорином, аміноглікозидам, імипенему.

Ключові слова: іерсинії, біохімічні властивості, антибіотикорезистентність.