

DOI: 10.26693/jmbs04.02.256

УДК 616-032: 616.34-008.89 (477.64)

Войтович О. М.<sup>1</sup>, Войтович О. В.<sup>2</sup>, Колєсніченко Н. О.<sup>1</sup>

## ФЕНОТИПИ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ САЛЬМОНЕЛ, ЗБУДНИКІВ ГОСТРИХ КИШКОВИХ ІНФЕКЦІЙ У ЗАПОРІЗЬКІЙ ОБЛАСТІ

<sup>1</sup>Запорізький національний університет, Україна

<sup>2</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна

helenVoit@gmail.com

svvoit@gmail.com

Погіршення епідеміологічної ситуації з сальмонельозом, зокрема тенденція до збільшення захворюваності на сальмонельоз в світі зі збільшенням частки стійких до антибіотиків штамів збудника, обґрунтовує актуальність вивчення цієї проблеми. Стійкість бактерій до антибіотиків є найбільш небезпечним фактором їх патогенності. Увага мікробіологів до сальмонели сфокусована на вивченні проліферації штамів, стійких до цефалоспоринов і хінолонів.

Метою дослідження стало вивчення спектру сальмонел, як збудників гострих кишкових інфекцій, і вивчення фенотипів їх стійкості до антибіотиків.

Було вивчено 92 штами сальмонел, виділених від пацієнтів з гострими кишковими інфекціями, реконвалесцентів та бактеріальних носіїв у жителів Запорізької області. Виділення сальмонел з досліджуваного матеріалу проводили на диференційно-діагностичних середовищах вісмут-сульфіт агарі та Олькеницького стандартними методами. Чутливість до антимікробних препаратів визначали диско-дифузійним методом за Бауер-Кірбі на агарі Мюллера-Хінтона із застосуванням стандартних паперових дисків.

У статті представлені дані про видовий спектр сальмонел, що викликають гострі кишкові інфекції мешканців Запорізької області. Досліджувалися такі небезпечні фактори патогенності сальмонел як резистентність до двох основних груп антибактеріальних препаратів, що застосовуються у лікуванні гострих кишкових інфекцій. Вивчали фенотипи резистентності сальмонел до таких груп антибактеріальних препаратів як β-лактамі антибіотики (цефалоспоринони) та хінолони. Серед десяти виділених нами видів сальмонел з найбільшою частотою виділялась *S. blegdam*, що дозволило вважати цей вид сальмонел основним збудником гострих кишкових інфекцій в Запорізькій області. Аналізуючи резистентність виділених видів сальмонел, були виявлені наступні фенотипи резистентності: БЛРС

до β-лактамів у 4% сальмонел, ЦВР до β-лактамів у 2% сальмонел, та фенотип IV до хінолонів у 8% сальмонел.

**Ключові слова:** сальмонела, β-лактамі антибіотики, хінолони, фенотип резистентності.

**Вступ.** Сальмонели – найрозповсюдженіші збудники гострих кишкових інфекцій, які можна вважати справжніми індикаторами санітарно-гігієнічного стану місць громадського харчування великих міст у всьому світі [2]. Погіршення епідеміологічної ситуації з сальмонельозу, зокрема тенденція до зростання захворюваності на сальмонельоз у світі зі збільшенням частки резистентних до антибактеріальних препаратів (АБП) штамів збудника обґрунтовує актуальність дослідження цієї проблеми [1, 6]. Увага мікробіологів щодо сальмонел зосереджена на дослідження поширення штамів, резистентних до цефалоспоринов та хінолонів. Резистентність бактерій саме до цих АБП є найбільш небезпечним фактором їх патогенності, однак особливу небезпеку становлять саме мультирезистентні штами [5]. При цьому визначення спектру АБП до яких сальмонели проявляють стійкість є мало інформативним підходом до вивчення резистентності, натомість визначення фенотипів або генотипів антибіотикорезистентності є раціональшим підходом [5].

**Мета дослідження** – визначення спектру сальмонел, збудників гострих кишкових інфекцій та виявлення фенотипів їх стійкості до антибіотиків.

**Об'єкт і методи дослідження.** Були досліджені штами сальмонел, виділені на території Запорізької області в період червень-грудень 2016 року з випорожнень 92 хворих на гострі кишкові інфекції, реконвалесцентів та бактеріоносіїв. Застосовували бактеріологічні методи дослідження. Виділення сальмонел з досліджуваного матеріалу проводили на диференційно-діагностичних середовищах вісмут-сульфіт агарі та Олькеницького

стандартними методами. Чутливість до антимікробних препаратів визначали диско-дифузійним за Бауер-Кірбі на агарі Мюллера-Хінтона з застосуванням стандартних паперових дисків. Аналіз резистентності сальмонел до АБП і встановлення фенотипів їх резистентності проводили за допомогою програми WHONET-5,5 (Copyright© 1989-2008 World Health Organization).

#### Результати досліджень та їх обговорення.

Аналіз отриманих даних свідчить, що спектр збудників сальмонельозу при гострих кишкових інфекціях є достатньо великим і представлений наступними 10 видами: *S. blegdam*, *S. montevideo*, *S. typhimorium*, *S. munchen*, *S. san-diego*, *S. tshiongroe*, *S. give*, *S. newport*, *S. agona* та *S. enteritidis*. Часто та зустрічає мости окремих видів істотно різнилася. Найчастіше серед сальмонел збудників гострих кишкових інфекцій виділялись *S. blegdam* (61,5%) та *S. typhimorium* (21%). Частота виявлення *S. montevideo*, *S. munchen* та *S. tshiongroe* коливалася в межах 3,3–5,5%. Інші види, такі як *S. blegdam*, *S. typhimorium*, *S. san-diego*, *S. give*, *S. newport*, *S. agona* та *S. enteritidis* виявлялись лише в одиничних випадках, що могло би свідчити про не типовість цих видів для нашого регіону. Однак цікаво зазначити, що епідеміологія сальмонельозів змінюється, і близько 10 років тому в Запорізькій області серед збудників сальмонельозу найчастіше ідентифікували *S. typhimorium* [2].

Аналіз демографічних показників захворюваності на сальмонельоз показав, що найбільшу кількість хворих (32%) становили люди середнього віку. На другому місці (17%) знаходилися немовлята і діти раннього віку. Подальший розподіл захворюваності був такий: 16% становили хворі раннього зрілого віку, 10% – підліткового віку, 8% – дошкільного віку, 6% – пізнього зрілого віку і 3% – юнацького віку.

Дослідження резистентності до антибіотиків дозволило встановити, що у групі дітей (хворі до 14 років), жінок та чоловіків майже 100% виділених сальмонел були чутливими до амікацину, що підтверджується роботами інших авторів [2].

В групі дітей резистентність до цефалоспоринов II–IV покоління була виявлена у 7% сальмонел і проміжна резистентність – у 10%. Резистентність до хінолонів II – III покоління у цій же групі була виявлена у 7%, а проміжна резистентність – у 34% сальмонел.

В групах жінок і чоловіків резистентність до цефалоспоринов II–IV покоління була виявлена відповідно у 8% та 6% сальмонел, а проміжна резистентність – відповідно у 23% та 6% сальмонел. Резистентність до хінолонів II–III покоління в групах жінок і чоловіків була виявлена відповідно у 4% та 6% сальмонел, а проміжна резистентність – відповідно у 46% та 35% сальмонел.

Виявлений нами спектр стійкості сальмонел до АБП дозволив встановити фенотипи їх резистентності. До β-лактамів досліджені нами сальмонели в основному були чутливими. Однак до цефалоспоринов 4% сальмонел мали фенотип БЛРС, що свідчило про наявність у цих бактерій розширеного спектру β-лактамаз, закодованих у плазмідах TEM, SHV, CTX-M та OXA. Фенотип ЦВР був виявлений у 2% сальмонел, що вказує на наявність у них хромосомних генів цефалоспориноаз високого рівня. Фенотип БЛРС при цьому був виявлений серед штамів таких видів як *S. blegdam*, *S. enteritidis* та *S. san-diego*, тоді як фенотип ЦВР тільки у *S. blegdam*. Резистентність сальмонел до хінолонів представлена одним тільки фенотипом. Фенотип IV стійкості до хінолонів мали 8% досліджених нами сальмонел. Наявність такого фенотипу вказувала як на модифікацію мішені дії хінолонів, тобто на наявність мутацій у генах топоізомераз II та IV, так і на посилення ефлюксу антибіотиків. Фенотип IV стійкості до хінолонів представлений серед штамів *S. blegdam*, *S. typhimorium*, *S. montevideo* та *S. tshiongroe*. Отримані нами дані узгоджуються з результатами роботи інших дослідників, які вивчали фенотипи резистентності сальмонел [3, 4].

#### Висновки

1. Виявлено посилення екологічної ролі *S. blegdam* як основного збудника сальмонельозів у Запорізькій області.
2. Серед штамів сальмонел, резистентних до АБП, були виявлені такі фенотипи резистентності до β-лактамів, як БЛРС (4% сальмонел) і ЦВР (2% сальмонел), а також фенотип IV стійкості до хінолонів (8% сальмонел).

**Перспективи подальших досліджень.** Безумовно перспективними є дослідження з моніторингу резистентності сальмонел до антибіотиків; дослідження генів антибіотикорезистентності з метою швидкого прогнозування появи резистентних штамів сальмонел.

#### References

1. Malysk NH, Zarytskyi AM, Hlushkevych TH. Salmonelozy v Ukraini: problemni pytannia epidemiolohichnoho nahliadu. *Profilaktychna medytsyna*. 2016; 1-2: 33-40. [Ukrainian]
2. Polishchuk NM, Kozyrieva VH, Koviagina LS, Tsviatkova VO, Serhach OM. Epidemiolohichni osoblyvosti salmoneloziv na terytorii Zaporizkoi oblasti. *ZMZh*. 2012; 5: 46-8. [Ukrainian]

3. Divek VT Nair, Venkitanarayanan K, Kollanoor Johny A. Antibiotic-Resistant Salmonella in the Food Supply and the Potential Role of Antibiotic Alternatives for Control. *Foods*. 2018; 7: 167-91. PMID: 30314348. PMCID: PMC6210005. doi: 10.3390/foods7100167
4. Ferrari RG, Panzenhagen PHN, Conte-Junior CA. Phenotypic and Genotypic Eligible Methods for Salmonella Typhimurium Source Tracking. *Front Microbiol*. 2017; 8: 2587. PMID: 29312260. PMCID: PMC5744012. doi: 10.3389/fmicb.2017.02587
5. Kariuki S, Gordon M, Feasey N, Parry CM. Antimicrobial resistance and management of invasive Salmonella disease. *Vaccine*. 2015; 33: 21–9. PMID: 25912288. PMCID: PMC4469558. doi: 10.1016/j.vaccine.2015.03.102
6. Mughini-Gras L, Smid J, Enserink R, Franz E, Schouls L, Max Heck. Tracing the sources of human salmonellosis: A multi-model comparison of phenotyping and genotyping methods. *Infection, Genetics and Evolution*. 2014; 28: 251-60. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2014.10.003>

УДК 616-032: 616.34-008.89 (477.64)

**ФЕНОТИПЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ САЛЬМОНЕЛЛ, ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОСТРЫХ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ЗАПОРОЖСКОЙ ОБЛАСТИ**  
**Войтович Е. Н., Войтович А. В., Колесниченко Н. А.**

**Резюме.** Ухудшение эпидемиологической ситуации с сальмонеллезом, в частности тенденция к увеличению заболеваемости сальмонеллезом в мире с увеличением доли устойчивых к антибиотикам штаммов возбудителя, обосновывает актуальность изучения этой проблемы. Устойчивость бактерий к антибиотикам является наиболее опасным фактором их патогенности. Внимание микробиологов к сальмонелле сфокусировано на изучении пролиферации штаммов, устойчивых к цефалоспорином и хинолонам.

Целью исследования явилось изучение спектра сальмонелл, как возбудителей острых кишечных инфекций, и изучение фенотипов их устойчивости к антибиотикам.

Было изучено 92 штамма сальмонелл, выделенных от пациентов с острыми кишечными инфекциями, реконвалесцентов и бактериальных носителей у жителей Запорожской области. Выделение сальмонелл из исследуемого материала проводили на дифференциально-диагностических средах висмут-сульфит агаре и Олькеницкого стандартными методами. Чувствительность к антимикробным препаратам определяли диско-диффузным методом Бауэр-Кирби на агаре Мюллера-Хинтон с применением стандартных бумажных дисков.

В статье представлены данные о видовом спектре сальмонелл, возбудителей острых кишечных инфекций жителей Запорожской области. Исследовались такие опасные факторы патогенности сальмонелл как резистентность к двум основным группам антибактериальных препаратов, которые применяются в лечении острых кишечных инфекций. Изучали фенотипы резистентности сальмонелл к таким группам антибактериальных препаратов как  $\beta$ -лактамы (цефалоспорины) и хинолоны. Среди десяти выделенных нами видов сальмонелл с наибольшей частотой выделялась *S. blegdam*, что позволило считать этот вид сальмонелл основным возбудителем острых кишечных инфекции в Запорожской области. Анализируя резистентность выделенных видов сальмонелл, были выявлены следующие фенотипы резистентности: БЛРС к  $\beta$ -лактамам у 4% сальмонелл, ЦВР к  $\beta$ -лактамам у 2% сальмонелл, и фенотип IV к хинолонам у 8% сальмонелл.

**Ключевые слова:** сальмонелла,  $\beta$ -лактамы, антибиотики, хинолоны, фенотип резистентности.

UDC 616-032: 616.34-008.89 (477.64)

**Phenotypes of Salmonella Antibiotic Resistance as Pathogens of Acute Intestinal Infections in Zaporizhzhya Region**  
**Voitovich O. M., Voitovich O. V., Kolesnichenko N. O.**

**Absrtract.** The article presents spectrum data of salmonella species causing acute intestinal infections of the inhabitants of the Zaporizhzhya region.

Salmonella can be considered a genuine indicator of the sanitary and hygienic status of catering in large cities around the world. The deterioration of the epidemiological situation with salmonellosis, in particular the tendency to increase the incidence of salmonella in the world with an increase in the proportion of antibiotic-resistant strains of the pathogen, substantiates the relevance of studying this problem. Bacteria resistance to antibiotics is the most dangerous factor of their pathogenicity. The attention of microbiologists regarding salmonella is focused on the study of the proliferation of strains resistant to cephalosporins and quinolones.

*The purpose of the study* was to research the spectrum of salmonella as pathogens of acute intestinal infections and study the phenotypes of their resistance to antibiotics.

*Material and methods.* We studied 92 strains of salmonella isolated from patients with acute intestinal infections, convalescents and bacterial carriers in Zaporizhzhya region inhabitants. Salmonella was isolated from the investigated material on differential diagnostic media of bismuth-sulphite agar and Olkenitsky's agar by standard methods. Sensitivity to antimicrobial drugs was determined by the disc diffusion method.

*Results and discussion.* We also investigated such dangerous pathogenicity factors of salmonella as their resistances to two main groups of antibiotics used in treatment of acute intestinal infections. The phenotypes of salmonella resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics (cephalosporins) and quinolones were studied. The most frequently detected kind of salmonella were *S. blegdam* with a frequency of 61.5% and *S. typhimorium* with a frequency of 21%. Such frequency of isolation let us consider these species, especially *S. blegdam*, the main pathogens of acute intestinal infection in the Zaporizhzhya region. Analyzing the sensitivity of isolated salmonella strains, the following phenotypes of resistance were found: *ESBL* and high level of *AmpC* to  $\beta$ -lactams, and phenotype IV to quinolones.

*Conclusions.* Thus, the study revealed the ecological role of *S. blegdam* as the main causative agent of salmonella in the Zaporizhzhya region. Among the strains of salmonella resistant to antibiotics, there were revealed the following phenotypes of resistance to  $\beta$ -lactams: *ESBL* (4% of salmonella), high level of *AmpC* (2% of salmonella), and also the resistance phenotype IV to quinolones (8% of salmonella).

**Keywords:** salmonella,  $\beta$ -lactam antibiotics, quinolones, phenotype of resistance.

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.*

Стаття надійшла 31.01.2019 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування