

УДК: 636.09:637.12:579.864

Л. М. ВИГОВСЬКА, кандидат ветеринарних наук
Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМІВ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*

*Актуальність інфекцій, що викликаються *Yersinia Pseudotuberculosis*, зберігається на протязі тривалого часу у всьому світі, що пов'язано з частотою захворюваності, важкістю перебігу і складністю терапії, обумовленої виникненням і поширенням стійких до антимікробних препаратів варіантів. Псевдотуберкульоз реєструють у всіх вікових групах, найбільш часто зустрічають серед дітей від 1 року до 4 років. В статті наведені результати досліджень біологічних властивостей (культурально-морфологічних, біохімічних, антибіотикорезистентності) штамів *Yersinia Pseudotuberculosis*, виділених на території України.*

Ключові слова: Псевдотуберкульоз, біологічні властивості, антибіотикорезистентність, інгібіція, чутливість.

Псевдотуберкульоз – гостре інфекційне захворювання, що характеризується поліморфізмом клінічних проявів з переважним ураженням шлунково-кишкового тракту, шкіри і опорно-рухового апарату [1]. Збудник псевдотуберкульозу відноситься до сімейства ентеробактерій, роду *Yersinia*. Містить соматичний О-і жгутикових Н-антигени. За О-антигену виділяють 8 серологічних варіантів збудника псевдотуберкульозу. Захворювання у людини найчастіше викликають I і III, рідше II, IV, V та інші серовари. Важливою властивістю збудника є здатність рости на поживних середовищах при низьких температурах. Збудник стійкий до повторного заморожування, здатний тривалий час існувати в ґрунті, воді, на різних харчових продуктах, а в умовах низької температури і підвищеної вологості – розмножуватися і накопичуватися. Провідний шлях передачі інфекції – харчовий [2, 3]. До основних факторів передачі відносяться овочеві страви (салати з овочів) і молочні продукти, що вживаються в їжу без попередньої термічної обробки. На сьогодні засобами етіотропної терапії для лікування псевдотуберкульозу є цефалоспорини 3 покоління, аміноглікозиди (амікацин, нетилміцин), фторхінолони, карбапенеми [4, 5]. Ускладнює терапію даного захворювання виникнення і поширення стійких до антимікробних препаратів варіантів.

Мета роботи – вивчення чутливості до антибактеріальних препаратів, в тому числі з групи аміноглікозидів (нетилміцин, стрептоміцин, гентаміцин, канаміцин, нетилміцин) карбапенемів (іміпенем, меропенем), цефалоспоринів III-IV поколінь (цефазолін, цефалексин, цефуроксим, цефаклор, цефотаксим, цефтриаксон, цефоперазон, цефтазідім, цефепім, цефалотин, цефамандол), фторхінолонів II-III-IV поколінь (налідиксова кислота, ципрофлоксацин,

норфлоксацин, пefфлоксацин, офлоксацин, ломефлоксацин, левофлоксацин) штамів *Yersinia pseudotuberculosis*.

Матеріали і методи. Морфологію культур вивчали в мазках з добових бульйонних культур, пофарбованих за Грамом. Для вивчення культуральних властивостей культури культивували на рідкому і щільному середовищі ГРМ «Німедіа» впродовж 24 год за температури 37° С та 23° С [6]. Для вивчення ферментативних властивостей досліджуваних культур проводили висіви уколом у стовпчик напіврідких живильних середовищ Гісса з цукрами; культивували 24 год за температури 37° С [7]. Антибіотикорезистентність визначали стандартним дискофузіальним методом. У роботі використовували комерційні диски з антибактеріальними препаратами виробництва «НИЦФ» Санкт-Петербург.

Результати досліджень. Нами досліджено 38 штамів *Y. Pseudotuberculosis*, виділених з об'єктів епідеміологічного нагляду на території України. 16 штамів виділено від польових мишей; 6 – від зайців; 2 – від шурів; 1 – від лисиці; 6 – від хворих людей; 2 – змиви з капусти; 1 – картопля; 1 – морква, 1 – болгарський перець; 1 – змив з чистого посуду. Досліджені штами *Y. pseudotuberculosis* – поліморфні грамнегативні палички. При 25° С рухливі, при 37° С нерухомі. При температурі вище 28° С *Y. pseudotuberculosis* дисоціює в шорстку (R) форму, при якій має місце поліморфізм колоній за розміром, формою і кольором. Проба на уреазу позитивна, проба на оксидазу – негативна; всі штами ферментують глюкозу, манить, мальтозу, арабінозу, не ферментують лактозу, ксилозу, сахарозу, сорбіт, інозит, дульцит. Наявність ферментації манози і рамнози було індивідуальним у деяких штамів.

Досліджені штами *Yersinia pseudotuberculosis* були чутливі та високочутливі до **аміноглікозидів, карбапенемів** (іміпенем, меропенем), **цефалоспоринів, фторхінолонів** (таблиця 1). Досліджені штами виявилися високочутливими до **хлорамфеніколу**. Проте в багатьох випадках спостерігалася стимуляція росту культури навколо диску з антибіотиком, суцільний ріст резистентних колоній в проміжку діаметрів зони інгібіції (таблиця 1, рисунок 1 – фузидін, рисунок 2 – ципрофлоксацин) та/ або ріст резистентних колоній в зоні інгібіції росту культури (таблиця 1); наявність даних ознак дисоціації необхідно враховувати при підборі засобу етіотропної терапії для лікування псевдотуберкульозу.

До дії антибіотиків інших груп чутливість штамів *Yersinia Pseudotuberculosis* була не однозначною.

Більшість культур була не чутлива до бензилпеніциліну та оксациліну з групи **пеніцилінів**; до пиперациліну та ампіциліну більшість досліджених культур проявляли чутливість; до карбеніциліну культури були чутливі та високочутливі.

До **макролідів** (еритроміцин, олеандоміцин, кларітроміцин) більшість культур виявилася не чутливою та малочутливою; до азітроміцину більшість культур була чутлива та високочутлива; частина культур проявляла низьку чутливість.

До **лінкозамідів** (лінкоміцин, кліндаміцин) культури були не чутливими, малочутливими, чутливими та високочутливими.

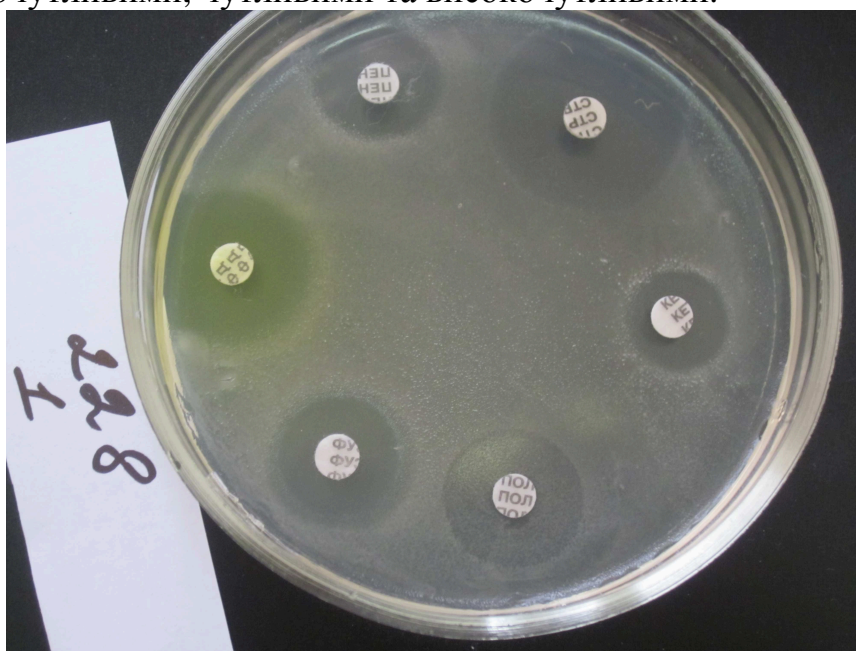


Рис.1. Чутливість до антибіотиків штаму *Yersinia Pseudotuberculosis* 228:

Диски: пен – бензилпеніцилін; стр – стрептоміцин; кет – кетоконазол; пол – поліміксин; фуз – фузідін; фд – фурадонін.

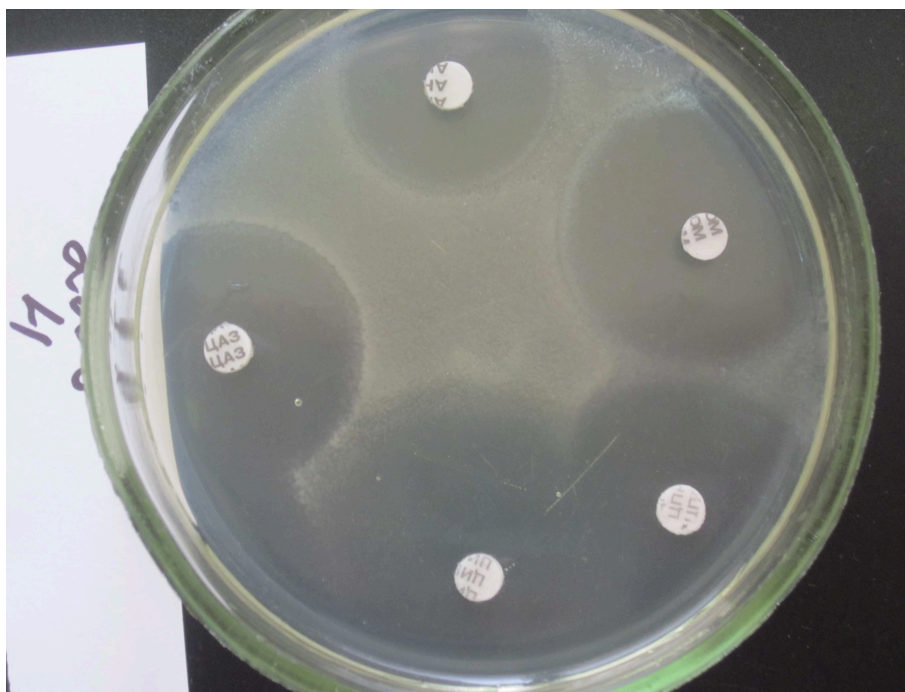


Рис.2. Чутливість до антибіотиків штаму *Yersinia Pseudotuberculosis* 228:

Диски: цаз – цефтазідім; цип – ципрофлоксацин; цпр – цефоперазон; цом – цефтибутен; ан - амікацин

Назва антибіотику	Штами <i>Yersinia Pseudotuberculosis</i> . Діаметри інгібіції росту культур, мм															Таблиця 1	
	213	3394	228	229	52	757	20 ig	270	73	66	141	631	473	630	755	108	
Penicillins																	
Benzylpenicillin	20/15*	10*,+	16 *	12 *,+	9 *	12	0,≈12	8 #, ≈ 22	0	28	12 *	24 +	16	14 *,#	20 +	13 +	
Carbencillinum	26/18	24*	22	24	24	24	20*	28 *	21	28	26 *	30	26*,+	26 *	28	28 +	
OXACILLIN	10	8	0	0		0*	7	14*,+	7#	24 *	0	0	0	0	0	30	
Piperacillin	36/28	24	36 *	32	28	32*	28 *	42	34/28	42	42*	40	28	32 *	30 *	30	
Ampicillin	20/16*	18*,+	20 *	22 *	14 *,+	16 *	10 *,+	18 *	14 *	20 *	18 *	24*	20 *	20 *	14 *	28	
Cephalosporins																	
Cefazolin	24 +	24 *	30 *	26	29 *	28 *	24 *	30 *	22	28	24 *	36	20	28 *	32	26 *	
Cefalexin	26/20	24	26 *	36 *	28*	28	22*,+	26	24 *	24	24 *	30	22 *	28 *	26 *	28 *	
Cefuroxime	24	30	34 *	28 *	30	24*	18*,+	34	26 *	40	34	32 *	26	28 *	30	30 *	
Cefaclor	36/26	28	34 *	28	26 *	32*	28 *	36	32*	34	36 *	34	36	32 *	30 *	26 +	
Cefotaxime	38/28	28	38 *	32	28	28 *	34 *	42 *	32 *	38 +	40 *	46	28	40 *	30	30	
Ceftriaxone	44+	40	36 *	34	34 *	34	30 *	46	54	40	44 *	44	30	34	36	34	
cefoperazone	24	30	32	30	32	28	24 *	34	26 *	28	36	38	28	32 *	32 *	32 *	
Ceftazidime	28	24	32 *	26	24	26 *	26 *	32	24 *	26	30 *	32 *	24	26 *	30 *	30 +	
cefepime	36/26	28 *	34 *	34	26 *	32 *	28 *	34	32	34 *,+	44	34	30	28 *	26 *	24	
CEFALOTIN	36/26 *	38 +	28		28 *	28 *	22 *,+	38*,+	24 *	40 *,+	40	30 *	38/28	26 *	34 *,+	30	
cefamandole	34 *	32 +	36	38	36 *	32 *	26 *	34 *	26 *	36	28	46	32	36 *	30	30 +	
Aminoglycosides																	
streptomycin	26	18	24	24	38	22	28/20	30	26	24	28	25	17 +	38/20	20	20 +	
kanamycin	20	18	30/20	24	32 +	26/18	26/22	26	32 +	26	30	26	20	26 *,+	20	26 +	
Gentamicin	26	22	26	24	26	22	22	38/24	30	22	26	26	22	30	20	22	
netilmicin	24	22 *	28*,+	26	28	34/24	30/22	42/26	38/26	24	42/30 +	34	24	25	24	25+	
AMIKACIN	22	24	24	22	30	24 +	32/26	28	34/22	24	34	30	26+	32 +	20	16	
TOBRAMYCIN	24	24	24	22	32	26 +	30 +	34/24	20	22 +	22	32	24	28 +	18	22	
Macrolides																	
Erythromycin	14 +	12	18	12	20 +	10	9	16 +	10	14 +	14 +	20	8	8	0	0	
Azithromycin	16	20	24	24	18	18	20	22	20	28	28	24	16	26	14	22	
oleandomycin	10 +	0	8+	9 +	8 ≈	0	6	20	12 +	0	7	20 +	0	0	0	0	
Clarithromycin	14	10	14			12 *	15	14 *,+	12 *,+	14	18 *	14	10	8	8	10 +	
Lynkozamides																	
Lincomycin	10	14 +	20	20	24 *	0	16 *	24 *	14 *	24	24	40	18	28	8 +	16	
Clindamycin	20	20*	16*	-	22-14	16*	20/14	20 *	24/18	16 +	24	24 +	18	16	14 +	18	
Tetracycline																	
Tetracycline	32	32	34	30 +	30 +	30	30	32 *	26	46/30+	32 *	32	34/26	30	30 +	32	
Doxycycline	30	22	28 *,+	28	22	22	26*	28 *	26 *	30	28	26	28/20	26	26	26	
Fluoroquinolones																	
Nalidixic-ta	42/32	30	36 *	36	42	30	34 *	34	30	32 +	36	50	30	32	34 +	30	
Ciprofloxacin	38	36	44/36	40-26	34	30	46/34	38	40	32	42	40	44/26	32	40	28	
norfloxacin	30	30	36	44-32	38/20+	41/30	40/26	46/34	40	28	50/40+	50/32	38	28	26	24	

pefloksatsin	28	34	40/30	40-28	38-30	41/26*	38/26	46/36	38	26	52/46	42/22	32	26	34 +	30 +
OFLOXACIN	38	30 +	46			42/32	42/34	36	40	40/32	56 +	48/36+	28	32	38	0
LOMEFLOXACIN	32	28	40/28	38 +	34	30	46/32	38	38/32	36	36	46	30 +	32	28 +	30
Levofloxacin	50/30	36	44/38	36/22	30/40	30	42 +	48/40	38/28	40+	44/30	38	30 +	28 *	30	28 +
nitrofuran																
Fuzidin	14	12	14 *	14 *	18 *	14 *	9	30	18/15	10 +	16 *	18	14 +	12	14 *,+	24
Furadonin	20	22 +	16 *	18	18 *	22 *	20 *	26	20 *	28	26 *	34	28 +	24 *	24 *	26
Furamagum	16	22	22	16	20 *	18	14	24	16	17 *	24 *	24	20	16 *	19	18
Furazolidone	20	14	14	20/12	14	10	14 *	18	14	50	16	18	16 +	14 *	14	20 +
Asolo																
Ketoconazole	14*	14 *	12 *	26 *	20 *	26 *	10 *	22 *,+	22 *	18+	28 *	29 *	12*,+	10 *	10 *	26 +
Fluconazole	10	0	7	0	9 +	0	0	0	#, ≈20	7	≈24	18	0	0	0	12 +
Itraconazole	0	8	0	18/8	8 #	0	0	0	9*, #	0	14 *	0	0	0	0	10 +
Clotrimazole	18*	9 *,+	0	14 *,+	0	0	0	26*.	15/10	0	22 *	20 *	14/10	0	9#	14+
Carbapenems																
imipenem	36/28	20	26 *.	36	30 *	36	26	36	28	38 +	38	44	26	28	24	22 +
Meropenem	30	28	34	24 +	28	28	28 +	32 *	28 *	36	28	38	20	26	26	26/14
Amphotericin B	10*,+	0*	8	8*,+	14 *,+	0	0	14 *,+	0 *	7	16 *	10 +	12 +	0	0	0
Chloramphenicol	26	38	32	30	30	26	30/26	34	30	30	40	34	30	26	30	34
Vancomycin	20	12 *,+.	20	46	18	24 *	10	16 *	19 *	24	34	28	24 *	24	14 *,+	20
Polymyxin	#14	#14	16	#18	12 +	#22	18 *	#18	7, ≈ 16	18 p.k.	#22	#24	0	#20 *	#22	#20
Rifampicin	14	16 +	20+	18 +	14	14	15 +	14	20/12	22/18	20	22	14	16	20 +	14

* - стимуляція росту культури навколо зони інгібіції

+ - ріст резистентних колоній в зоні інгібіції росту культури

- суцільний ріст резистентних колоній в зоні інгібіції росту культури

20/12 – суцільний ріст резистентних колоній в проміжку діаметрів зони інгібіції від 20 мм до 12 мм

≈ - зона преципітації

Усі культури проявляли високу чутливість до тетрацикліну (*тетрацикліни*); до доксіцикліну були чутливі та високочутливі.

Нітрофурани (фузідін, фурагін, фуразолідон) – культури проявляли в окремих випадках резистентність; малу чутливість, частіше – чутливість та високу чутливість; до фурадоніну культури були чутливі та високочутливі.

До більшості препаратів з групи **азолів** (флуконазол, ітриконазол, клотрімазол) культури (за виключенням окремих випадків) виявилися резистентними. До кетаконазолу частина культур проявила високу чутливість; частина – чутливість; частина – резистентність.

До **ванкоміцину** більшість штамів була високочутливою та чутливою, окремі культури виявилися резистентними.

До **ріфампіцину** культури були малочутливими в більшості випадків або чутливими.

До **поліміксину** більшість культур проявляла резистентність: в перші години культивування навколо дисків з поліміксином утворювалась зона інгібіції росту культур іноді діаметром до 20 мм; на 5-8 годину культивування в зоні інгібіції утворюються резистентні колонії; на 16-18 годину культивування спостерігається суцільний ріст резистентних колоній (рисунок 1).

Аналізуючи отримані результати необхідно враховувати наявність резистентних колоній в зоні інгібіції росту культури (таблиця 1, рисунки 1, 2) та стимуляції росту культури навколо зони інгібіції (таблиця 1, рисунок 1 – бензилпеніцилін, рисунок 2 – цефтазідім).

Висновки та перспективи подальших досліджень.

1. Вивчені штами *Y. pseudotuberculosis* мають типові для виду культурально-морфологічні та біохімічними властивості.

2. Досліджені штами *Y. pseudotuberculosis* чутливі та високочутливі до досліджених препаратів з груп **аміноглікозидів, карбапенемів, цефалоспоринів, фторхінолонів, тетрациклінів**; високочутливі до **хлорамфеніколу**, що дає можливість розглядати ці препарати як перспективні при терапії паратуберкульозу.

3. Необхідно враховувати наявність резистентних колоній в зоні інгібіції росту культури, наявність суцільного росту резистентних колоній в проміжку діаметрів зони інгібіції та стимуляції росту культури навколо зони інгібіції.

4. До дії антибіотиків інших фармакологічних груп чутливість штамів *Y. pseudotuberculosis* була не однозначною; до багатьох антибіотиків культури були резистентні.

5. Вважаємо перспективним подальше вивчення біологічних властивостей досліджених культур у плані визначення механізмів виникнення їх чутливості до антибіотиків та молекулярно-генетичних властивостей

Список використаної літератури:

1. Ющенко Г. В. Экологические аспекты эпидемиологии и клиники иерсиниоза и псевдотуберкулеза. – М., 1983. – С. 5–10.
2. Борисов Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология, иммунология: Учебник. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2005. С.131-150.
3. Addition of new serogroups and improvement of the antigenic designs of *Yersinia pseudotuberculosis* / M. Tsubokura, K. Otsuki, Y. Kawasoka et al. // Curr. Microbiol. – 1984. – Vol. 11. – P. 89–92.
4. Скрыпник В. Г. Выделяемость и чувствительность к антибиотикам иерсиний у крупного рогатого скота / В. Г. Скрыпник // Ветеринария : Респ. межвед. темат. науч. сб. – К., 1988. – Вып. 64. – С. 25–27.
5. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий / В. Ю. Литвин, А. Л. Гинцбург, В. И. Пушкарева и др. – М., 1998.
6. Герхарда Ф. Методы общей бактериологии Том 1 / Под ред. Ф. Герхарда и др; пер. с англ. – М.: Мир, 1983. – С 60.
7. Градов Н. Б. и др. Лабораторный практикум по общей микробиологии. – М.: ДеЛипринт, 2001.– С.121-122.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*/ Л. Н. Выговская

*Актуальность инфекций, вызываемых *Yersinia Pseudotuberculosis*, сохраняется в течение длительного времени во всем мире, что связано с частотой заболеваемости, тяжестью и сложностью терапии, обусловленной возникновением и распространением устойчивых к антимикробным препаратам вариантов. Псевдотуберкулез регистрируют во всех возрастных группах, наиболее часто встречаются среди детей от 1 года до 4 лет. В статье приведены результаты исследований биологических свойств (культурально-морфологических, биохимических, антибиотикорезистентности) штаммов *Yersinia Pseudotuberculosis*, выделенных на территории Украины.*

Ключевые слова: Псевдотуберкулез, биологические свойства, антибиотикорезистентность, ингибирование, чувствительность.

STUDY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF STRAINS *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*/ L. Vygovska

*Relevance of infections caused by *Yersinia Pseudotuberculosis*, stored for a long time in the world, due to the incidence, severity and complexity of current therapy due to the emergence and spread of antimicrobial-resistant variants.*

Pseudotuberculosis record in all age groups, the most frequently met with children from 1 year to 4 years. The paper presents the results of studies of biological properties (cultural, morphological, biochemical, antibiotic resistance) strains of Yersinia Pseudotuberculosis, dedicated in Ukraine.

Key words: *pseudotuberculosis, biological properties, antibiotic resistance, inhibition, sensitivity.*

Рецензент – доктор ветеринарних наук, професор, член-кореспондент НААН України, **В. О.Ушкалов**

Рукопис надійшов 29. 07. 2013р