

МОЛЕКУЛЯРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СТРЕПТОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У ДЕТЕЙ МЛАДШЕГО ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА ВО ВЬЕТНАМЕ

А.Г. Носик^{1,2}, Ю.Ю. Ильясов¹, Ф.К. Линь², А.В. Дмитриев^{1,3}

¹ Институт экспериментальной медицины, Санкт-Петербург, Россия

² Институт тропической медицины, Ханой, Вьетнам

³ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

The molecular epidemiological characteristics of streptococci isolated from primary school children in Vietnam

A.G. Nosik^{1,2}, Yu.Yu. Ilyasov¹, F.K. Linh², A.V. Dmitriev^{1,3}

¹ Institute of Experimental Medicine, Saint-Petersburg, Russia

² Institute of Tropical Medicine, Ha Noi, Vietnam

³ Saint-Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russia

Резюме

Цель. Выделение стрептококков групп А, С, G у детей младшего школьного возраста и их характеристика с использованием методов молекулярной эпидемиологии.

Материалы и методы. Изоляты стрептококков групп А, С и G выделяли с поверхности миндалин и задней стенки глотки у 1359 детей младшего школьного возраста во Вьетнаме в 2012–2014 гг. Видовую принадлежность стрептококков групп С и G выявляли с помощью экспресс-метода дифференциальной ПЦР-диагностики и секвенирования гена *hnrB*. Наличие генов вирулентности *scpA*, *lmb*, *nga*, *slo* у штаммов *S. anginosus* и *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* анализировали с использованием ПЦР. *emm*-типирование штаммов *S. pyogenes* проводили согласно методике, опубликованной на сайте Centers for Disease Control and Prevention (http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/M-ProteinGene_typing.htm). Спектр антибиотикорезистентности штаммов определяли диско-диффузионным методом.

Результаты. В результате микробиологического исследования материала с миндалин и задней стенки глотки были выделены и идентифицированы 49 штаммов стрептококков группы А (*S. pyogenes*), 8 штаммов стрептококков группы С (4 штамма – *S. anginosus*, по 1 штамму – *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, *S. parasanguinis*, *S. gordonii*, *S. constellatus*) и 75 штаммов стрептококков группы G (55 штаммов – *S. anginosus*, 8 штаммов – *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, 4 штамма – *S. sanguinis*, 3 штамма – *S. parasanguinis*, 2 – штамма *S. australis*, 2 штамма – *S. constellatus*, 1 штамм – *S. mitis*). Среди 47 штаммов *S. pyogenes* было выявлено 15 *emm*-подтипов, относящихся к 11 *emm*-типам. Доминирующими оказались редко встречающиеся генотипы *emm104.0* и *emm109.1*. Выявлен геномный полиморфизм штаммов *S. anginosus* по наличию генов вирулентности. Все исследованные штаммы были чувствительны к цефалоспорином и ванкомицину и устойчивы к амикацину. 70% штаммов *S. pyogenes* были устойчивы к тетрациклину и 52,5% – к эритромицину.

Ключевые слова: патогенные стрептококки, тропический климат, *emm*-типирование, гены вирулентности, антибиотикорезистентность.

Abstract

Objectives. The goal of the study was to isolate group A, C, and G streptococci from children and characterize them by the methods of molecular epidemiology.

Materials and methods. Group A, C, and G streptococci were isolated from tonsils and back wall of pharynx of Vietnamese children during 2012–2014. *cpn60* gene based PCR approach and *rnpB* gene sequencing were used to identify streptococcal species belonging to group C and G streptococci. The presence of *scpA*, *lmb*, *nga*, *slo* virulence genes was analyzed in *S. anginosus* and *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strain. *S. emm*-typing of *S. pyogenes* was done as published (http://www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/M-ProteinGene_typing.htm). Antibiotic resistance of the strains was tested by the disk diffusion method.

Results. A total of 1359 children were examined. Group A streptococci (*S. pyogenes*) were isolated from 49 children, group C streptococci – from 8 children (4 stains – *S. anginosus*, 1 strain – *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, 1 strain – *S. parasanguinis*, 1 strain – *S. gordonii*, 1 strain – *S. constellatus*), and group G streptococci – from 75 children (55 stains – *S. anginosus*, 8 stains – *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, 4 stains – *S. sanguinis*, 3 stains – *S. parasanguinis*, 2 stains – *S. australis*, 2 stains – *S. constellatus*, 1 stain – *S. mitis*). *emm*-typing of 47 *S. pyogenes* strains revealed 15 different *emm*-subtypes belonging to 11 different *emm*-type. The subtypes *emm104.0* and *emm109.1* were found to be predominant. *S. anginosus* strains under study were genetically heterogeneous for the presence of virulence genes. All tested strains were susceptible to cephalosporins and vancomycin, and resistant to amikacin. A total of 70% and 52,5% of *S. pyogenes* were resistant to tetracycline and erythromycin, respectively.

Key words: pathogenic streptococci, tropical climate, *emm*-typing, virulence genes, antibiotic resistance.

Введение

Стрептококки группы А (*Streptococcus pyogenes*, СГА) являются наиболее частыми возбудителями заболеваний детей различных возрастных групп, а также взрослых. Эти микроорганизмы поражают слизистые оболочки, миндалины, кожу и более глубокие слои тканей, вызывая лимфангит и лимфаденит, фарингиты, скарлатину, пиодермию, рожистое воспаление, целлюлит, некротический фасциит, синдром токсического шока и др. Однако в последние годы было отмечено, что все чаще эти заболевания стали вызывать филогенетически близкие стрептококкам группы А стрептококки групп С и G (СГС и СGG), которые долгое время считались условно-патогенными [1]. Из большого числа видов, относящихся к стрептококкам групп С и G, наибольшее медицинское значение имеют представители трех видов — *Streptococcus dysgalactiae subsp. equisimilis*, *Streptococcus anginosus* и *Streptococcus constellatus*. Факторы патогенности, присутствующие у *S. pyogenes*, были обнаружены и среди СГС и СGG, а высокая степень гомологии нуклеотидных последовательностей генов вирулентности и ассоциация этих генов с мобильными генетическими элементами подтвердили гипотезу о существовании горизонтального переноса генов вирулентности между этими видами стрептококков.

В последнее время в литературе все чаще появляются данные об особенностях эпидемиологии стрептококковых заболеваний в тропиках. Были выявлены отличия в частоте выделения патогенных СГА по сравнению с частотой выделения условно-патогенных стрептококков групп С и G (СГС/СGG) у населения, обнаружены отличия в спектре вызываемых заболеваний и местах локализации, выделены новые emm-типы и т.д. Эти данные о генетической гетерогенности возбудителей стрептококковых инфекций в различных географических регионах являются принципиально важными для разработки методики и обоснования применения конкретных вакцинных препаратов.

За исключением небольшого исследования, проводившегося в 1999 г., эпидемиологические данные о стрептококковых заболеваниях во Вьетнаме отсутствуют [2]. Доступность пеницилина и других антибиотиков частично решила проблему высокого уровня заболеваний стрептококковой этиологии и развития таких постстрептококковых осложнений, как ревматическая лихорадка, ревмокардит и гломерулонефрит. Однако широкое необоснованное применение антибиотиков привело к появлению резистентных штаммов, которые являются угрозой для населения Вьетнама, Азии и всего мира.

Цель исследования — анализ большой коллекции штаммов стрептококков групп А, С и G, выделенных у детей младшего школьного возраста во Вьетнаме. Работа позволяет сделать заключение об эпидемиологии стрептококковых инфекций верхних дыхательных путей и целесообразности применения во Вьетнаме конкретных антибактериальных препаратов для их предупреждения и лечения.

Материалы и методы

Во время 6 научных экспедиций в провинции Куанг Чи, Хай Фонг, Тхай Нгуен, Хоа Бинь, Нячанг, Тай Нинь (Вьетнам) в 2012–2014 гг. проведено анкетирование 1359 детей в возрасте 7–10 лет, осуществлен осмотр ротовой полости и верхних дыхательных путей. Материал для исследования забирали стерильным сухим тампоном с поверхности миндалин и задней стенки глотки и немедленно производили посев на агаризованные среды.

Штаммы стрептококков культивировали на плотной питательной среде Columbia Base Agar (HiMedia, Индия) с добавлением 4% лошадиной сыворотки и 3% человеческой эритроцитарной массы или в жидкой питательной среде Todd-Hewitt Broth (HiMedia) при 37°C. Всего было выделено 132 штамма стрептококков различных серологических групп. Серогруппу стрептококков определяли с использованием диагностического набора фирмы «Аквапаст» (Санкт-Петербург) согласно инструкции производителя.

Геномную ДНК выделяли фенол-хлороформенной экстракцией. Видовую принадлежность стрептококков групп С и G определяли с помощью разработанного ранее экспресс-метода дифференциальной ПЦР-диагностики трёх стрептококковых видов (*S. anginosus*, *S. dysgalactiae subsp. equisimilis* и *S. constellatus*) [3], основанного на использовании видоспецифических праймеров на ген *srp60*.

emm-тип *S. pyogenes* определяли по методике, опубликованной на сайте Centers for Disease Control and Prevention (www.cdc.gov/ncidod/biotech/strep/protocol_emm-type.htm). Амплифицированные фрагменты ДНК выделяли из агарозного геля с использованием набора «Ахурпреп DNA gel extraction kit» (Ахуген, США). Секвенирование ДНК проводили на секвенаторе CEQTM 8000 (Beckman Coulter, США).

Штаммы *S. anginosus* и *S. dysgalactiae subsp. equisimilis* анализировали на наличие генов *scpA*, *lmb*, *nga*, *slo*, кодирующих факторы патогенности *S. pyogenes*, распространенность которых среди *S. anginosus* и *S. dysgalactiae subsp. equisimilis* изучена недостаточно [4, 5]. Амплификацию фрагментов ДНК проводили с использованием праймеров

(табл. 1) в следующем режиме: первичная денатурация ДНК – 3 мин при 95°C; 30 циклов амплификации – 15 с при 95°C, 1 мин при температуре отжига праймеров, 1 мин при 72°C; окончательная достройка – 10 мин при 72°C. Электрофорез ПЦР продуктов проводили в 1% агарозном геле, и ДНК визуализировали при помощи бромистого этидия в проходящем УФ-свете.

Оценку чувствительности штаммов к антибактериальным препаратам осуществляли диско-диффузионным методом согласно соответствующим методическим указаниям (МУК 4.12.1890-04). У исследуемых микроорганизмов определяли чувствительность к 10 наиболее часто используемым антибактериальным препаратам: ципрофлоксацину, норфлоксациму, тетрациклину, доксициклину, эритромицину, амикацину, ванкомицину, цефотаксиму, цефепиму и цефтазидиму.

Результаты и обсуждение

В ходе осмотра ротовой полости и верхних дыхательных путей у детей младшего школьного возраста было обнаружено, что более 15% из них имели признаки поражений органов и тканей верхних дыхательных путей и ротовой полости в виде гиперемии, отёчности, рубцовых изменений слизистых оболочек и увеличения миндалин. Это могло быть связано как с ранее перенесенными инфекциями и/или носительством патогенной и условно-патогенной микрофлоры, так и с острым инфекционным процессом. Наиболее частыми диагнозами явились острый фарингит и острый тонзиллит.

В результате микробиологического исследования материала с миндалин и задней стенки глотки от анкетированных детей, а также дифференциальной ПЦР-диагностики на основании гена *srp60* были выделены и идентифицированы 49 штаммов стрептококков группы А (*S. pyogenes*), 8 штаммов стрептококков группы С (4 штамма – *S. anginosus*, 1 штамм – *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, 3 штамма – видовой принадлежности не определена) и 75 штаммов стрептококков группы G (55 штаммов – *S. anginosus*, 8 штаммов – *S. dysgalactiae*

subsp. *equisimilis*, 12 штаммов – видовой принадлежности не определена).

Штаммы, вид которых не удалось установить методом дифференциальной ПЦР-диагностики на основании гена *srp60*, были охарактеризованы методом секвенирования гена *grpB*, кодирующего РНК-субъединицу эндорибонуклеазы Р, что позволяет выявить видовую принадлежность штаммов [6]. В результате анализа данных секвенирования были получены следующие результаты:

– среди штаммов стрептококков группы С, видовой принадлежности которых была не определена, выявлены штаммы с последовательностями *grpB*, гомологичными таковым *S. parasanguinis* (99%), *S. gordonii* (99%), *S. constellatus* (95%);

– среди штаммов стрептококков группы G, видовой принадлежности которых была не определена, выявлены штаммы с последовательностями *grpB*, гомологичными таковым *S. sanguinis* (99%), *S. parasanguinis* (99%), *S. mitis* (99%) *S. constellatus* (95%), *S. australis* (99%).

С целью выявления доминирующих на территории Вьетнама генотипов *S. pyogenes* был использован метод *emm*-типирования. В результате среди 47 отобранных штаммов *S. pyogenes* было выявлено 15 *emm*-подтипов, относящихся к 11 *emm*-типам, такие как *emm104.0* (8 штаммов), *emm109.1* (6 штаммов), *emm4.0* (4 штамма), *emm12.0* (10 штаммов), *emm12.22* (3 штамма), *emm44.0* (6 штаммов), *emm170.0* (2 штамма), а также *emm170.1*, *emm170.2*, *emm22.0*, *emm75.1*, *emm89.24*, *emm109.0*, *emm8.0*, *emm58* (по 1 штамму каждый). Интересным представляется тот факт, что редко встречающиеся генотипы *S. pyogenes* *emm104.0* и *emm109.1* были широко распространены в популяции вьетнамских штаммов.

У 54 штаммов *S. anginosus* и *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (группы С и G), выделенных во Вьетнаме, было проанализировано наличие генов *scrA*, *lmb*, *nga*, *slo*, кодирующих факторы патогенности *S. pyogenes* (С5а пептидаза, белок, связывающий ламинин, NAD-гликогидролаза, стрептолизин О соответственно), поскольку данные

Таблица 1

Праймеры, использованные в работе

Ген	Прямой праймер, 5'→3'	Обратный праймер, 5'→3'
<i>scpA</i>	ACAATGGAAGGCTCTACTGTTTC (<i>scpA_f</i>)	ACCTGGTGTTTGACCTGAACTA (<i>scpA_r</i>)
<i>lmb</i>	TTATCATCCAGCGCCTCCTAG (<i>lmb_f</i>)	GTGGTGATAACTGACTTCTTGGA (<i>lmb_r</i>)
<i>nga</i>	CACCTACATAAAAAACCGCATCA (<i>nga_f</i>)	CAAAAGTGACCTCTGACAAGGCTAA (<i>nga_r</i>)
<i>slo</i>	CTGGTGGTAATACGCTTCCTG (<i>slo_f</i>)	TCATATTGAGCAACATACGCG (<i>slo_r</i>)
<i>mpB</i>	YGTGCAATTTTGGATAAT (<i>mpB_f</i>)	TTCTATAAGCCATGTTTTGT (<i>mpB_r</i>)

об их распространенности среди *S. anginosus* и *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* крайне ограничены [4, 5, 7, 8]. Как видно из таблицы 2, гены *scrA*, *lmb*, *nga*, *slo* присутствовали у всех проанализированных штаммов *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, тогда как среди 45 штаммов *S. anginosus* было обнаружено 2 генетических варианта (табл. 2).

Устойчивость к антибактериальным препаратам была исследована диско-диффузионным методом у 40 штаммов *S. pyogenes* (группа

А), 6 штаммов *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* и 21 штамма *S. anginosus*, относящихся к группам С и G. В результате исследования было выявлено, что все штаммы были чувствительны к цефалоспорином и ванкомицину, что соответствует данным других авторов [9] (табл. 3), в то время как к амикацину все штаммы были устойчивы. При оценке чувствительности к фторхинолонам было обнаружено, что 12 (30,0%) из 40 штаммов СГА и 5 (18,5%) из 27 штаммов СГС/СГГ были устойчивы

Таблица 2

Наличие генов вирулентности у штаммов *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* и *S. anginosus*

Вид	Количество штаммов	<i>scrA</i>	<i>lmb</i>	<i>nga</i>	<i>slo</i>
<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	9 штаммов	+	+	+	+
<i>S. anginosus</i>	17 штаммов	-	-	-	-
	28 штаммов	-	+	-	-

Символы «+» и «-» обозначают наличие и отсутствие гена соответственно.

Таблица 3

Чувствительность стрептококков групп А, С и G, выделенных во Вьетнаме, к антибактериальным препаратам

Антибиотик	<i>S. pyogenes</i> (40 штаммов, СГА)			<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i> (6 штаммов, СГС/СГГ)			<i>S. anginosus</i> (21 штамм, СГС/СГГ)		
	Ч (%)	П (%)	У (%)	Ч (%)	П (%)	У (%)	Ч (%)	П (%)	У (%)
Фторхинолоны									
Ципрофлоксацин	24 (60,0)	4 (10,0)	12 (30,0)	3 (50,0)	1 (16,7)	2 (33,3)	18 (85,7)	0 (0)	3 (14,3)
Норфлоксацин	24 (60,0)	2 (5,0)	14 (35,0)	4 (66,6)	1 (16,7)	1 (16,7)	11 (52,4)	3 (14,3)	7 (33,3)
Энрофлоксацин	21 (52,5)	4 (10,0)	15 (37,5)	3 (50)	1 (16,7)	2 (33,3)	15 (71,4)	2 (9,5)	4 (19,1)
Тетрациклины									
Тетрациклин	11 (27,5)	1 (2,5)	28 (70,0)	3 (50,0)	0 (0)	3 (50,0)	11 (52,4)	1 (4,7)	9 (42,9)
Доксициклин	10 (25,0)	0 (0)	30 (75,0)	2 (33,3)	1 (16,7)	3 (50,0)	14 (66,7)	1 (4,7)	6 (28,6)
Макролиды									
Эритромицин	18 (45,0)	1 (2,5)	21 (52,5)	1 (16,7)	0 (0)	5 (83,3)	14 (66,7)	1 (4,7)	6 (28,6)
Аминогликозиды									
Амикацин	0 (0)	0 (0)	40 (100)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	21 (100)
Цефалоспорины									
Цефтазидим	40 (100)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	21 (100)	0 (0)	0 (0)
Цефепим	40 (100)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	21 (100)	0 (0)	0 (0)
Цефотаксим	40 (100)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	21 (100)	0 (0)	0 (0)
Других групп									
Ванкомицин	40 (100)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	21 (100)	0 (0)	0 (0)

Ч – чувствительные штаммы, П – штаммы с промежуточной устойчивостью, У – устойчивые штаммы.

к ципрофлоксацину, 14 (35,0%) из 40 штаммов СГА и 8 (29,6%) из 27 штаммов СГС/СГГ — устойчивы к норфлоксацину, и 15 (37,5%) из 40 штаммов СГА и 6 (22,2%) из 27 штаммов СГС/СГГ — устойчивы к энрофлоксацину. Активность препаратов тетрациклинового ряда находилась на достаточно низком уровне: к тетрациклину оказались устойчивыми 28 (70,0%), а к доксициклину — 30 (75,0%) из 40 штаммов СГА. В отношении стрептококков групп С и G также отмечена низкая активность тетрациклинов: 12 из 27 (44,4%) штаммов были устойчивы к действию тетрациклина и 9 из 27 (33,3%) штаммов — к действию доксициклина. 21 штамм (52,5%) СГА и 11 штаммов (40,7%) СГС/СГГ оказались устойчивыми к действию эритромицина.

В данном исследовании выявлен высокий уровень носительства стрептококков групп С и G (6,1%) в носоглотке детей младшего школьного возраста. Интересным представляется тот факт, что распространенность СГС/СГГ среди детей младшего школьного возраста во Вьетнаме в 1,5 раза превышает таковую СГА. Такая тенденция характерна и для Индии, где распространенность СГС/СГГ среди школьников в 8 раз превышает таковую СГА [10]. Таким образом, несмотря на то, что фарингиты по-прежнему значительно реже ассоциированы с СГС/СГГ, чем с СГА, высокий уровень колонизации носоглотки СГС/СГГ указывает на значимость данных возбудителей в патогенезе заболеваний верхних дыхательных путей [1].

Распространенность emm-типов *S. pyogenes*, выделенных на территории Вьетнама, отличалась от таковых в других регионах. В частности, при сравнении 11 emm-типов, выявленных в данном исследовании, с 51 emm-типом, выявленным в ходе исследования в США в 2000–2005 г. [11], только 6 типов оказались общими, при этом к 5 emm-типам, специфичным для Вьетнама, относился 61% штаммов.

В странах с тропическим климатом обнаруживается большое разнообразие emm-типов *S. pyogenes* без ярко выраженного доминирующего типа [12], что согласуется с результатами данной работы. Лишь 4 (emm12, emm4, emm22, emm89) из 8 emm-типов, обнаруженных на Тайване, были обнаружены и во Вьетнаме: к ним принадлежали 40,5% вьетнамских штаммов [13]. Общими для Эфиопии и Вьетнама оказались типы emm12, emm22 и emm75.1: к ним принадлежали 25,5% вьетнамских штаммов [14]. Лишь 2 из 46 emm-подтипов (emm44.0 и emm58.0), выделенных в 2005–2007 гг. на Фиджи, были обнаружены во Вьетнаме [12]. В целом, в популяции вьетнамских штаммов доминировали редко встречающиеся подтипы *S. pyogenes* emm104.0 и emm109.1, а сама популяция характеризова-

лась большим разнообразием emm-подтипов (15 emm-подтипов среди 47 штаммов).

Полученные данные имеют большое значение для выбора и применения вакцинных препаратов. Известно, что многие вакцины эффективны в отношении конкретных emm-типов *S. pyogenes*. Учитывая этот факт, можно предположить, что 26-валентная вакцина [15] будет эффективна лишь в отношении 18% вьетнамских изолятов *S. pyogenes*, а 30-валентная вакцина [16] — в отношении 43% изолятов. Принимая во внимание отсутствие выраженного доминирования определенных emm-типов во Вьетнаме, логично ожидать, что наибольшими преимуществами будет обладать вакцина, разработанная на основании консервативного эпитопа, такая как вакцина J8 [12, 17].

Распространенность генов вирулентности в штаммах *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* оказалась сходной с таковой в штаммах *S. pyogenes* — все четыре анализируемых гена (*scrA*, *lmb*, *nga*, *slo*) присутствовали во всех штаммах.

Ген *lmb* обнаружен у 62% штаммов *S. anginosus* (см. табл. 2), что согласуется с данными литературы о наличии его у *S. anginosus* [5]. В то же время ген *lmb* не был обнаружен среди изолятов *S. anginosus*, выделенных на Тайване в 2007–2011 гг. [8]. Учитывая, что как у *S. pyogenes*, так и у *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* гены *lmb* и *scrA* являются сцепленными, а *scrA* не встречается среди *S. anginosus*, остается открытым вопрос о механизме приобретения гена *lmb* штаммами *S. anginosus*.

В настоящее время отмечено возрастание значений минимальных подавляющих концентраций пенициллина и других антибиотиков для *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* и *S. pyogenes*, свидетельствуя об изменениях в популяции стрептококков и указывая на необходимость постоянного проведения мониторинга резистентности [9, 18]. Устойчивость СГС и СГГ к эритромицину широко распространена во многих странах и достигает 19% в США, 24% — в Гонконге, более 50% — в Тайване и Японии, но остается пока невысокой в Индии (8%), Германии (5,7%) и Англии (12%) [18–21]. По данным нашего исследования, устойчивость штаммов СГС/СГГ к эритромицину составила 40,7%.

Уровень устойчивости вьетнамских изолятов *S. pyogenes* к эритромицину оказался необычно высоким (52,5% штаммов), в то время как в России он составляет лишь 8% [9]. По-видимому, как эритромицин, так и тетрациклин, к которому оказались устойчивы 70% вьетнамских изолятов, нецелесообразно использовать в качестве препаратов выбора для эмпирического лечения стрептококковых заболеваний во Вьетнаме ввиду отмечающейся высокой к ним устойчивости.

В Северной Америке, Европе, Индии и России уровень устойчивости к фторхинолонам среди СГА и СГС/СГГ остается низким (менее 1%) [9, 18]. Однако иногда появляются сообщения об устойчивых к фторхинолонам штаммах СГА [22]. В настоящей работе у фторхинолонов была отмечена низкая активность в отношении СГА, резистентность к ципрофлоксацину составила 30%, к норфлоксацину — 35%, к энрофлоксацину — 37,5%, что не позволяет их рекомендовать в качестве средств адекватной терапии в данном регионе. По отношению к СГС/СГГ, выделенным во Вьетнаме, фторхинолоны проявили большую активность.

Настоящее исследование показало, что цефалоспорины III (цефотаксим, цефтазидим) и IV (цефепим) поколения и ванкомицин являются наиболее активными препаратами *in vitro* в отношении протестированных штаммов (см. табл. 3). Именно данные препараты следует считать основными препаратами для лечения заболеваний человека, вызванных стрептококками групп А, С и G. При этом применять ванкомицин, учитывая особенности его действия и спектр воздействия на представителей нормальной микрофлоры, следует лишь при тяжелых, генерализованных формах стрептококковых инфекций.

В целом, данная работа позволила охарактеризовать штаммы стрептококков групп А, С и G, выделенные от детей младшего школьного возраста во Вьетнаме, выявить гетерогенность видов *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, *S. anginosus* и *S. pyogenes* и обосновать целесообразность применения антибактериальных препаратов для лечения стрептококковых инфекций.

Литература

- Lindbaek M, Hoiby EA, Lermark G, Steinsholt IM, Hjortdahl P. Clinical symptoms and signs in sore throat patients with large colony variant beta-haemolytic streptococci groups C or G versus group A. *British Journal of General Practice*. 2005 Aug;55(517):615-9.
- Finger R, Ho SH, Ngo TT, Ritchie CD, Nguyen TN. Rapid streptococcal testing in Vietnamese children with pharyngitis. *Asia-Pacific journal of public health / Asia-Pacific Academic Consortium for Public Health*. 1999;11(1):26-9.
- Ильясов, Ю.Ю. Метод дифференциальной ПЦР-идентификации стрептококков групп С и G / Ю.Ю. Ильясов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. — 2011. — № 2. — С. 40—43.
- Franken C, Haase G, Brandt C, et al. Horizontal gene transfer and host specificity of beta-haemolytic streptococci: the role of a putative composite transposon containing *scpB* and *lmb*. *Molecular Microbiology*. 2001 Aug;41(4):925-35.
- Asam D, Spellerberg B. Molecular pathogenicity of *Streptococcus anginosus*. *Molecular Oral Microbiology*. 2014 Aug;29(4):145-55.
- Tapp J, Thollesson M, Herrmann B. Phylogenetic relationships and genotyping of the genus *Streptococcus* by sequence determination of the RNase P RNA gene, *rnpB*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003 Nov;53:1861-71.
- Geyer A, Schmidt KH. Genetic organisation of the M protein region in human isolates of group C and G streptococci: two types of multigene regulator-like (*mgrC*) region. *Molecular and General Genetics*. 2000 Jan;262(6):965-76.
- Chang YC, Lo HH. Identification, clinical aspects, susceptibility pattern, and molecular epidemiology of beta-haemolytic group G *Streptococcus anginosus* group isolates from central Taiwan. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2013 Jul;76(3):262-5.
- Козлов, Р.С. Антибиотикорезистентность *S. pyogenes* в России / Р.С. Козлов [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2005. — Т. 7, № 2. — С. 154—166.
- Bramhachari PV, Kaul SY, McMillan DJ, Shaila MS, Karmarkar MG, Sriprakash KS. Disease burden due to *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (group G and C streptococcus) is higher than that due to *Streptococcus pyogenes* among Mumbai school children. *Journal of Medical Microbiology*. 2010 Feb;59(2):220-3.
- Shulman ST, Tanz RR, Kabat W, et al. Group A streptococcal pharyngitis serotype surveillance in North America, 2000-2002. *Clinical Infectious Disease*. 2004 Aug;39(3):325-32.
- Steer AC, Magor G, Jenney AWJ, et al. eemm and C-Repeat Region Molecular Typing of Beta-Hemolytic Streptococci in a Tropical Country: Implications for Vaccine Development. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009 Aug;47(8):2502-9.
- Wu PC, Lo WT, Chen SJ, Wang CC. Molecular characterization of Group A streptococcal isolates causing scarlet fever and pharyngitis among young children: A retrospective study from a northern Taiwan medical center. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*. 2014 Aug;47(4):304-10.
- Tewodros W, Kronvall G. M protein gene (emm type) analysis of group A beta-hemolytic streptococci from Ethiopia reveals unique pattern. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005 Sep;43(9):4369-76.
- Hu MC, Walls MA, Stroop SD, Reddish MA, Beall B, Dale JB. Immunogenicity of a 26-valent group A streptococcal vaccine. *Infection and Immunity*. 2002 Apr;70(4):2171-7.
- Dale JB, Penfound TA, Tamboura B, et al. Potential coverage of a multivalent M protein-based group A streptococcal vaccine. *Vaccine*. 2013 Mar;31(12):1576-81.
- Vohra H, Dey N, Gupta S, et al. M protein conserved region antibodies opsonise multiple strains of *Streptococcus pyogenes* with sequence variations in C-repeat. *Research in Microbiology*. 2005 May;156(4):575-82.
- Behera B, Mathur P, Bhardwaj N, et al. Antibiotic susceptibilities, streptococcal pyrogenic exotoxin gene profiles among clinical isolates of group C or G *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* & of group G *S. anginosus* group at a tertiary care centre. *Indian Journal of Medical Research*. 2014 Mar;139:438-45.
- Asmah N, Eberspaecher B, Regnath T, Arvand M. Prevalence of erythromycin and clindamycin resistance among clinical isolates of the *Streptococcus anginosus* group in Germany. *Journal of Medical Microbiology*. 2009 Feb;58(2):222-7.
- Ip M, Lyon DJ, Leung T, Cheng AFB. Macrolide resistance and distribution of *erm* and *mef* genes among beta-haemolytic streptococci in Hong Kong. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Disease*. 2002 Mar;21(3):238-40.
- Brown DFJ, Hope R, Livermore DM, et al. Non-susceptibility trends among enterococci and non-pneumococcal streptococci from bacteraemias in the UK and Ireland, 2001-06. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2008 Nov;62:II75-85.
- Biedenbach DJ, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN. Characterization of fluoroquinolone-resistant beta-hemolytic

Streptococcus spp. isolated in North America and Europe including the first report of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis*: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2006 Jun;55(2):119-27.

References

- Lindbaek M, Hoiby EA, Lermark G, Steinsholt IM, Hjortdahl P. Clinical symptoms and signs in sore throat patients with large colony variant beta-haemolytic streptococci groups C or G versus group A. *British Journal of General Practice*. 2005 Aug;55(517):615-9.
- Finger R, Ho SH, Ngo TT, Ritchie CD, Nguyen TN. Rapid streptococcal testing in Vietnamese children with pharyngitis. *Asia-Pacific journal of public health / Asia-Pacific Academic Consortium for Public Health*. 1999;11(1):26-9.
- Ильясов Ю. Clinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2011;2:40-3 (in Russian).
- Franken C, Haase G, Brandt C, et al. Horizontal gene transfer and host specificity of beta-haemolytic streptococci: the role of a putative composite transposon containing *scpB* and *lmb*. *Molecular Microbiology*. 2001 Aug;41(4):925-35.
- Asam D, Spellerberg B. Molecular pathogenicity of *Streptococcus anginosus*S. *Molecular Oral Microbiology*. 2014 Aug;29(4):145-55.
- Tapp J, Thollessen M, Herrmann B. Phylogenetic relationships and genotyping of the genus *Streptococcus* by sequence determination of the RNase P RNA gene, *mpb*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 2003 Nov;53:1861-71.
- Geyer A, Schmidt KH. Genetic organisation of the M protein region in human isolates of group C and G streptococci: two types of multigene regulator-like (*mgrC*) regionS. *Molecular and General GeneticS*. 2000 Jan;262(6):965-76.
- Chang YC, Lo HH. Identification, clinical aspects, susceptibility pattern, and molecular epidemiology of beta-haemolytic group G *Streptococcus anginosus* group isolates from central Taiwan. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2013 Jul;76(3):262-5.
- Kozlov R.S. Clinicheskaya microbiologiya i antimicrobnaya himioterapiya. — 2005; 7(2):154-66 (in Russian).
- Bramhachari PV, Kaul SY, McMillan DJ, Shaila MS, Karmarkar MG, Sriprakash KS. Disease burden due to *Streptococcus dysgalactiae* subsp *equisimilis* (group G and C streptococcus) is higher than that due to *Streptococcus pyogenes* among Mumbai school children. *Journal of Medical Microbiology*. 2010 Feb;59(2):220-3.
- Shulman ST, Tanz RR, Kabat W, et al. Group A streptococcal pharyngitis serotype surveillance in North America, 2000-2002. *Clinical Infectious DiseaseS*. 2004 Aug;39(3):325-32.
- Steer AC, Magor G, Jenney AWJ, et al. emm and C-Repeat Region Molecular Typing of Beta-Hemolytic Streptococci in a Tropical Country: Implications for Vaccine Development. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009 Aug;47(8):2502-9.
- Wu PC, Lo WT, Chen SJ, Wang CC. Molecular characterization of Group A streptococcal isolates causing scarlet fever and pharyngitis among young children: A retrospective study from a northern Taiwan medical center. *Journal of Microbiology Immunology and Infection*. 2014 Aug;47(4):304-10.
- Tewodros W, Kronvall G. M protein gene (emm type) analysis of group a beta-hemolytic streptococci from Ethiopia reveals unique patternS. *Journal of Clinical Microbiology*. 2005 Sep;43(9):4369-76.
- Hu MC, Walls MA, Stroop SD, Reddish MA, Beall B, Dale JB. Immunogenicity of a 26-valent group A streptococcal vaccine. *Infection and Immunity*. 2002 Apr;70(4):2171-7.
- Dale JB, Penfound TA, Tamboura B, et al. Potential coverage of a multivalent M protein-based group A streptococcal vaccine. *Vaccine*. 2013 Mar;31(12):1576-81.
- Vohra H, Dey N, Gupta S, et al. M protein conserved region antibodies opsonise multiple strains of *Streptococcus pyogenes* with sequence variations in C-repeatS. *Research in Microbiology*. 2005 May;156(4):575-82.
- Behera B, Mathur P, Bhardwaj N, et al. Antibiotic susceptibilities, streptococcal pyrogenic exotoxin gene profiles among clinical isolates of group C or G *Streptococcus dysgalactiae* subsp *equisimilis* & of group G *S. anginosus* group at a tertiary care centre. *Indian Journal of Medical Research*. 2014 Mar;139:438-45.
- Asmah N, Eberspaecher B, Regnath T, Arvand M. Prevalence of erythromycin and clindamycin resistance among clinical isolates of the *Streptococcus anginosus* group in Germany. *Journal of Medical Microbiology*. 2009 Feb;58(2):222-7.
- Ip M, Lyon DJ, Leung T, Cheng AFB. Macrolide resistance and distribution of *erm* and *mef* genes among beta-haemolytic streptococci in Hong Kong. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious DiseaseS*. 2002 Mar;21(3):238-40.
- Brown DFJ, Hope R, Livermore DM, et al. Non-susceptibility trends among enterococci and non-pneumococcal streptococci from bacteraemias in the UK and Ireland, 2001-06. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2008 Nov;62:II75-85.
- Biedenbach DJ, Toleman MA, Walsh TR, Jones RN. Characterization of fluoroquinolone-resistant beta-hemolytic *Streptococcus* spp. isolated in North America and Europe including the first report of fluoroquinolone-resistant *Streptococcus dysgalactiae* subspecies *equisimilis*: Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-2004). *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2006 Jun;55(2):119-27.

Авторский коллектив:

Носик Александра Геннадьевна — научный сотрудник Института экспериментальной медицины, тел 8-981-746-76-24, e-mail: nosik276@gmail.com

Ильясов Юрий Юрьевич — научный сотрудник Института экспериментальной медицины; тел.: 8(812)234-93-19, e-mail: kolpino@hotmail.com

Линь Фам Кхак — научный сотрудник Института тропической медицины, e-mail: bslnhndvn@gmail.com

Дмитриев Александр Валентинович — заместитель директора Института экспериментальной медицины по научной работе; профессор кафедры фундаментальных проблем медицины и медицинских технологий факультета стоматологии и медицинских технологий СПбГУ, д.б.н.; тел.: 8(812)234-68057, e-mail: admirtiev10@yandex.ru