

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. Il'yasov¹, 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 strains — *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 strains — *S. anginosus*, 8 strains — *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*, 4 strains — *S. sanguinis*, 3 strains — *S. parasanguinis*, 2 strains — *S. australis*, 2 strains — *S. constellatus*, 1 strain — *S. mitis*). *emm*-typing of 47 *S. pyogenes* strains revealed 15 different *emm*-subtypes belonging to 11 different *emm*-types. 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 *crp60*.

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 «Ахуrprep DNA gel extraction kit» (Ахуgen, 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 *srn60* 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 *srn60*, 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 *scpA*, *lmb*, *nga*, *slo*, кодирующих факторы патогенности *S. pyogenes* (C5a 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>)	ACCTGGTGTTTGACCTGAACТА (<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>	CTGGTGGAATACGCTTCCTG (<i>slo_f</i>)	TCATATTGAGCAACATACGCG (<i>slo_r</i>)
<i>grpB</i>	YGTGCAATTTTGGATAAT (<i>grpB_f</i>)	TTCTATAAGCCATGTTTTGT (<i>grpB_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 *scpA*, *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>scpA</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 (*scpA*, *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 *scpA* являются сцепленными, а *scpA* 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, целесообразно 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

1. 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.
2. 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.
3. 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.
4. 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.
5. Asam D, Spellerberg B. Molecular pathogenicity of *Streptococcus anginosus*. *Molecular Oral Microbiology*. 2014 Aug;29(4):145-55.
6. Tapp J, Thollessen 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.
7. 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.
8. 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.
9. 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.
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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;62:1175-85.
22. 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

1. 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.
2. 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.
3. Il'yasov Yu. *Clinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2011;2:40-3 (in Russian).
4. 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.
5. Asam D, Spellerberg B. Molecular pathogenicity of *Streptococcus anginosus*. *Molecular Oral Microbiology*. 2014 Aug;29(4):145-55.
6. Tapp J, Thollessen 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.
7. 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.
8. 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.
9. Kozlov R.S. *Clinicheskaya microbiologiya i antimicrobnaya himioterapiya*. — 2005; 7(2):154-66 (in Russian).
10. 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.
11. 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.
12. 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.
13. 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.
14. 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.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. 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