

## МЕТОДИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ШТАММОВ *SALMONELLA* К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ

### (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

<sup>1</sup>ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера Роспотребнадзора, 197101, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова» Минздрава РФ, 191015, Санкт-Петербург, Россия

*Бактерии рода Salmonella являются ведущими возбудителями инфекций, передающихся пищевым путём: ежегодно в Российской Федерации регистрируют около 50 тыс. случаев сальмонеллёзов. Антимикробная терапия рекомендована в случае тяжёлого течения заболевания у детей до 6 лет и лиц старше 50 лет, у пациентов с тяжёлыми сопутствующими состояниями, в случае генерализации инфекции. Бета-лактамы, хинолоны, азитромицин входят в перечень препаратов, рекомендуемых для лечения сальмонеллёзов, включая брюшной тиф. Эффективность терапии во многом зависит от правильного определения чувствительности штамма к антибиотикам: выбора метода тестирования, индикаторных препаратов и интерпретации полученных результатов. Род Salmonella относится к семейству Enterobacteriaceae и характеризуется общими для энтеробактерий механизмами резистентности к хинолонам и бета-лактамам, но оценка чувствительности штаммов Salmonella к антибиотикам этих групп имеет ряд особенностей. В статье представлены современные данные о чувствительности штаммов Salmonella, включая возбудителя брюшного тифа Salmonella Typhi, к антимикробным препаратам и ведущих клинически значимых механизмах резистентности. Подробно описаны методические особенности определения чувствительности штаммов Salmonella к антибиотикам, применяемым для лечения сальмонеллёзов (хинолонам, бета-лактамам, азитромицину). Представлены особенности интерпретации результатов тестирования штаммов Salmonella с позиций современных международных и российских рекомендаций. Представлены алгоритмы определения чувствительности Salmonella к хинолонам, цефалоспорином, карбапенемам, критерии интерпретации результатов, позволяющие проводить детекцию клинически значимых механизмов резистентности к бета-лактамам (продукция бета-лактамаз различных молекулярных классов), хинолонам (хромосомные мутации и приобретённые гены резистентности).*

**Ключевые слова:** *Salmonella*; резистентность к антимикробным препаратам; БЛРС; карбапенемаза; фторхинолоны.

**Для цитирования:** Егорова С. А., Кафтырева Л. А. Методические особенности определения чувствительности штаммов *Salmonella* к антимикробным препаратам (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64(6): 368-375. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-6-368-375>

Egorova S.A.<sup>1</sup>, Kaftyreva L.A.<sup>1,2</sup>

### METHODICAL ASPECTS OF ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING OF *SALMONELLA* (REVIEW OF LITERATURE)

<sup>1</sup>Saint-Petersburg Pasteur Institute, 197101, Saint-Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>State Educational Institution of the Higher Professional Education «North-Western state medical University n.a. I. I. Mechnikov» of the Ministry of Health of the Russian Federation

*Salmonella is one of the leading food-borne infection pathogen: annually in the Russian Federation about 50 thousand cases of salmonellosis are registered. Antimicrobial therapy is necessary in the case of severe infection in children under 6 years and persons over 50 years, in patients with severe accompanying disease, as well as in the case of generalization of the infection. Beta-lactam antibiotics, quinolones and azithromycin are included in the list of drugs recommended for antimicrobial therapy of salmonellosis, including typhoid fever. The effectiveness of therapy largely depends on the appropriate antimicrobial susceptibility testing: the choice of testing method, indicator antibiotics and result interpretation. Salmonella belong to the Enterobacteriaceae family and are characterized by common mechanisms of resistance to quinolones and beta-lactams, but antimicrobial susceptibility testing of Salmonella to these groups of antibiotics has a number of features. The article presents current data on the susceptibility of Salmonella, including S. Typhi, to antibiotics and leading clinically significant resistance mechanisms. The methodical aspects of Salmonella antimicrobial susceptibility testing of the drugs used for the treatment of salmonellosis (quinolones, beta-lactams and azithromycin) are described in detail. Interpretation of Salmonella testing results according the modern international and Russian recommendations are presented. The authors propose the algorithms for Salmonella antimicrobial susceptibility testing of quinolones, cephalosporins and carbapenems, as well as criteria for result interpretation, allowing the detection of clinically significant mechanisms of resistance to beta-lactams (production of beta-lactamases of different molecular classes) and quinolones (chromosomal mutations and acquired resistance genes).*

**Key words:** *Salmonella*; resistance; antimicrobial susceptibility; ESBL; carbapenemase; quinolones.

**For citation:** Egorova S.A., Kaftyreva L.A. Methodical aspects of antimicrobial susceptibility testing of *Salmonella* (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (6): 368-375 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-6-368-375>

**For correspondence:** Egorova S.A., PhD, senior researcher of laboratory of enteric infections; egorova72@mail.ru

**Information about authors:**

Egorova Svetlana A., <https://orcid.org/0000-0002-7589-0234>

Kaftyreva Lidiya A., <https://orcid.org/0000-0003-0989-1404>

**Conflict of interest.** *The authors declare no conflict of interest.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsorship.*

Received 23.04.2019

Accepted 30.04.2019

В странах Евросоюза *Salmonella* spp. занимают второе место (после *Campylobacter* spp.) в рейтинге возбудителей инфекций, передающихся с пищевым путём: в 2016 г. зарегистрировано 94,5 тыс. случаев сальмонеллёза [1]. По данным Государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 г.» в последние 10 лет заболеваемость сальмонеллёзами составляла в среднем 32,9 на 100 тыс. населения, ежегодно регистрировались около 50 тыс. случаев заболеваний.

Для лечения неосложнённого сальмонеллёзного гастроэнтерита лёгкой и средней тяжести не рекомендовано использовать antimicrobные препараты (АМП), поскольку показано, что назначение АМП не сокращает продолжительность симптомов, но в ряде случаев повышает частоту и длительность бактериовыделения [2]. Современные рекомендации по лечению диареи (в том числе, сальмонеллёзной этиологии) предлагают antimicrobную терапию при тяжёлом течении заболевания у детей до 6 лет и лиц старше 50 лет, у пациентов с тяжёлыми сопутствующими состояниями, в случае генерализации инфекции. В качестве эмпирической терапии сальмонеллёзной инфекции в разные годы использовали хлорамфеникол, ампициллин, триметоприм/сульфаметоксазол. В связи с разработкой новых более безопасных и эффективных АМП, для лечения сальмонеллёзов стали применять фторхинолоны и цефалоспорины расширенного спектра (ЦРС) [3]. В настоящее время в качестве стартовой эмпирической терапии рекомендовано использование фторхинолонов, триметоприм/сульфаметоксазола, цефалоспоринов расширенного спектра или азитромицина [4-8].

Системы надзора, действующие в экономически развитых странах, направлены в первую очередь на выявление устойчивости штаммов *Salmonella* к АМП наиболее важным для медицины: фторхинолонам и ЦРС. В странах Евросоюза доля штаммов, устойчивых к этим группам препаратов, составляла у трёх ведущих сероваров *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis*: к фторхинолонам – 13,0%, 8,5%, 23,4%, соответственно; к ЦРС – менее 1,0%, 2,0%, 6,9%, соответственно [9]. На административных территориях РФ актуальна проблема устойчивости *Salmonella* к АМП, используемым для лечения сальмонеллёзов: доля штаммов *Salmonella*, устойчивых к ЦРС, составляла от 0 до 45,3%, фторхинолонам – от 0 до 53,6% [10-13]. В этих условиях может возникнуть необходимость коррекции стартовой эмпирической antimicrobной терапии по результатам тестирования возбудителя. Несмотря на то, что *Salmonella* относятся к семейству *Enterobacteriaceae* и характеризуются общими для энтеробактерий механизмами приобретённой резистентности к хинолонам и бета-лактамам, оценка чувствительности штаммов *Salmonella* к этим группам АМП имеет ряд особенностей. Методические вопросы проведения исследования (приготовление агара/бу-

льона Мюллера-Хинтон и инокулома, способ посева, условия инкубации и учёта результатов) представлены в российских Клинических рекомендациях «Определение чувствительности микроорганизмов к antimicrobным препаратам» (далее по тексту – КР) и не отличаются от других энтеробактерий [14].

**Определение чувствительности штаммов *Salmonella* к хинолонам.** Группа хинолонов включает нефторированные (налидиксовая кислота) и фторированные (ципрофлоксацин, пefлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин, левофлоксацин и др.) хинолоны. Основным механизмом резистентности у штаммов энтеробактерий является модификация мишени - ферментов, участвующих в репликации ДНК (ДНК-гиразы и топоизомеразы). Мутации в генах, кодирующих структуру этих ферментов (гены *gyrA*, *gyrB*, *parC*, *parE*), снижают их сродство к хинолонам, что выражается в повышении минимальной подавляющей концентрации (МПК). Устойчивость к этой группе препаратов в большинстве случаев развивается ступенчато. Первая мутация, как правило, в гене *gyrA*, ведёт к развитию устойчивости высокого уровня к налидиксовой кислоте - МПК повышается до 128-256,0 мг/л и более. При этом МПК цiproфлоксацина повышается до 0,12-0,5 мг/л (устойчивость низкого уровня к фторхинолонам) [15]. Такие штаммы энтеробактерий (кроме *Salmonella*) остаются в клинической категории «чувствительный» к фторхинолонам и их сложно выявить при рутинном тестировании диско-диффузионным методом (ДДМ), если не тестировать налидиксовую кислоту, которая является чувствительным индикатором хромосомного механизма устойчивости, даже низкого уровня. Устойчивость низкого уровня к фторхинолонам у штаммов энтеробактерий (кроме *Salmonella*) не расценивается как клинически значимая. Согласно «Экспертным правилам оценки чувствительности бактерий к antimicrobным препаратам», приведённым в КР, в результате исследования можно внести комментарий о том, что при лечении инфекции фторхинолонами у такого штамма может возникнуть резистентность высокого уровня.

При использовании хинолонов в процессе лечения возможна селекция штаммов с дополнительными мутациями, у таких штаммов повышается МПК цiproфлоксацина до 4,0 мг/л и выше (возникает устойчивость высокого уровня к фторхинолонам), штамм переходит в клиническую категорию «устойчивый» и его легко выявить при тестировании цiproфлоксацина ДДМ.

В отличие от других энтеробактерий, у штаммов *Salmonella* устойчивость низкого уровня к фторхинолонам (МПК цiproфлоксацина 0,12-0,5 мг/л) признана клинически значимой. Неэффективность фторхинолонов (используемых в стандартной дозировке) при лечении брюшного тифа, вызванного такими штаммами *S. Typhi*, подтверждена многочисленными рандомизированными клиническими исследованиями (категория доказательств

А) [16-18]. Такие данные имеются и в отношении других сероваров *Salmonella* (категория доказательств С). Некоторые исследователи указывают на эффективность использования максимально высоких доз современных фторхинолонов (гатифлоксацина) в отношении *S. Typhi* с устойчивостью низкого уровня [19].

Чувствительность штаммов *Salmonella* к фторхинолонам можно определять различными методами. Наиболее достоверным показателем для оценки предположительной эффективности терапии фторхинолонами является МПК ципрофлоксацина (определенная методами серийных разведений, градиентной диффузии и др.). Согласно рекомендациям Европейского комитета по определению чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (EUCAST) и КР для штаммов *S. Typhi* (и других *Salmonella*, вызывающих инвазивные инфекции) используются особые критерии интерпретации для ципрофлоксацина ( $S \leq 0,06$  мг/л;  $R > 0,06$  мг/л), отличающиеся от критериев, используемых для энтеробактерий ( $S \leq 0,25$  мг/л;  $R > 0,5$  мг/л). Штаммы *Salmonella*, для которых МПК ципрофлоксацина превышает 0,06 мг/л, следует считать устойчивыми ко всем фторхинолонам. Из рекомендаций EUCAST и КР исключены пограничные значения диаметров зон подавления роста для ципрофлоксацина при тестировании штаммов *Salmonella*, поскольку показано, что полученные результаты недостоверны при тестировании штаммов *Salmonella* [20].

Если в лаборатории нет технической возможности определить МПК ципрофлоксацина, допускается определение чувствительности к фторхинолонам ДДМ. В этом случае в качестве предиктора чувствительности/резистентности к этой группе препаратов следует использовать диск с пefлоксацином (5 мкг): штамм *Salmonella* расценивают как «чувствительный» к фторхинолонам, если диаметр зоны подавления роста составляет 24 мм и выше, «устойчивый» - менее 24 мм. Учитывая отсутствие категории «умеренно-устойчивый» для пefлоксацина, а также возможные «технические» колебания результатов ДДМ в пределах 1-2 мм, существует вероятность ошибочной интерпретации результатов, особенно если зона подавления роста составляет 23-25 мм. Объективно оценивая возможные сложности при интерпретации результатов, EUCAST рекомендовал использовать

для тестирования диски пefлоксацина тех производителей, которые при тестировании референс - штамма *E. coli* ATCC 25922 дают зону подавления роста  $28 \pm 1$  мм.

По данным референс-центра по мониторингу возбудителя брюшного тифа (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера) в РФ в 2005-2017 г. практически все изученные штаммы *S. Typhi*, устойчивые к фторхинолонам, имели хромосомный механизм резистентности [21]. Исследования, проводимые в различных странах в отношении устойчивых штаммов *Salmonella* других сероваров, указывают на то, что хромосомный механизм является ведущим при формировании устойчивости к хинолонам [15]. Учитывая тот факт, что налидиксовая кислота является достоверным маркером данного механизма резистентности, целесообразно включать диск налидиксовой кислоты наряду с пefлоксацином в тестирование *Salmonella* ДДМ.

В редких случаях возможно возникновение устойчивости к фторхиноломам вследствие плазмидопосредованных механизмов (гены *qnr*; *aac(6')-Ib-cr*) [22]. В этом случае у штамма *Salmonella* возникает «парадоксальный» фенотип устойчивости к хинолонам: МПК ципрофлоксацина повышается до 0,12-0,5 мг/л (устойчивость низкого уровня), но штамм остается чувствительным к налидиксовой кислоте (МПК менее 16,0 мг/л; диаметр зоны подавления роста 16 мм и более). В этом случае использование диска налидиксовой кислоты в дополнение к пefлоксацину при тестировании штаммов *Salmonella* помогает дифференцировать механизмы устойчивости (рис. 1).

**Определение чувствительности штаммов *Salmonella* к бета-лактамам.** Устойчивость энтеробактерий к бета-лактамам АМП вызвана в большинстве случаев инактивацией антибиотика ферментами бета-лактамазами. Спектр активности бета-лактамазы, продуцируемой штаммом энтеробактерий, обуславливает фенотип устойчивости к группам бета-лактамов: аминопенициллинам, ЦРС, карбапенемам. По данным национальных систем надзора стран Европы и США, доля штаммов *Salmonella*, устойчивых к аминопенициллинам, составляла 29,5 и 12,4%, соответственно [1; 23] и обусловлена, продукцией бета-лактамазы широкого спектра TEM-1; бета-лактамазы генетических семейств SHV и OXA выявлены значительно реже [23]. Такая



Рис. 1. Алгоритм определения чувствительности штаммов *Salmonella* к фторхинолонам диско-диффузионным методом. d - диаметр зоны подавления роста.

устойчивость преодолевается «ингибиторозащищенными» пенициллинами и ЦРС, поэтому не имеет клинического значения.

Устойчивость к ЦРС у энтеробактерий обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС): «классических» молекулярного класса А по классификации Ambler (подавляются такими ингибиторами β-лактамаз как клавулановая кислота, сульбактам, тазобактам), цефалоспоринов молекулярного класса С (AmpC), не чувствительных к классическим ингибиторам. В 1980-х г. г. появились штаммы *Salmonella*, устойчивые к ЦРС, причём распространение таких штаммов отмечено даже в странах с низкими доходами, где использование цефалоспоринов ограничено из-за их относительно высокой стоимости. Согласно данным национальных систем надзора стран Евросоюза, США, Канады высокая частота устойчивости к ЦРС характерна для определённых сероваров *Salmonella*: *S. Kentucky* (17,1%), *S. Dublin* (66,7%), *S. Heidelberg* (31,0%), *S. Infantis* (от 2,6 до 6,9%), монофазная *Salmonella* 1,4,5,12:i:- (6,0%) [1; 22-24]. В РФ доля штаммов *Salmonella*, устойчивых к ЦРС, составляет от 0 до 45,3%, и характерна для сероваров *S. Typhimurium* и *S. Enteritidis* [10-13].

Молекулярно-генетические исследования показали, что у штаммов *Salmonella* распространена продукция БЛРС генетического семейства СТХ-М, цефалоспориноз AmpC генетического семейства CMY-2. В Корее доля штаммов, устойчивых к ЦРС, за период с 2010 по 2017 г. г. выросла с 0 до 25,0%, выявлена продукция СТХ-М79, СТХ-М15, CMY-2 [25]. По данным национальной системы надзора США в 2015 г. в коллекции штаммов *Salmonella*, устойчивых к ЦРС, в подавляющем большинстве выявлены гены *bla*<sub>CMY</sub> у единичных штаммов - *bla*<sub>SHV</sub>, *bla*<sub>CTX-M</sub> [23]. В РФ выявлена продукция БЛРС генетического семейства СТХ-М у сероваров *S. Typhimurium*, *S. Virchow*, *S. Enteritidis* и цефалоспоринозы CMY-2 у штаммов *S. Newport* [11; 26; 27].

Особое клиническое значение имеет устойчивость к бета-лактамам у штаммов *S. Typhi*, поскольку при брюшном тифе обязательно проводят антимикробную терапию, причём ЦРС являются препаратами первой линии при лечении детей и пациентов пожилого возраста. У штаммов *S. Typhi*, так же как и у других сероваров *Salmonella*, устойчивость к аминопенициллинам обусловлена продукцией бета-лактамазы широкого спектра TEM-1. Такие штаммы характеризуются множественной устойчивостью к ампициллину, хлорамфениколу, триметоприм/сульфаметоксазолу, тетрациклину, детерминанты резистентности к этим АМП локализованы на плазмиде. Исследования, проведенные в 1995-2015 г. г. в азиатских странах, на которые ежегодно приходится до 80,0% случаев брюшного тифа (Индия, Вьетнам, Непал, Бангладеш, Камбоджа, Лаос, Тайланд, Китай), показали, что доля таких штаммов *S. Typhi* составляла от 16,0 до 37,0% [28; 29].

Штаммы *S. Typhi*, устойчивые к ЦРС, в мире выделяются редко. В странах Азии (Индия, Кувейт, Нигерия, Корея, Пакистан, Бангладеш), Африки (Нигерия, Конго) идентифицированы штаммы, продуцирующие как «классические» БЛРС генетических семейств СТХ-М (как правило, СТХ-М15), SHV-12, так и цефалоспоринозы AmpC (CMY-2, ACC-1). Штаммы, выделенные в европейских странах (Германия, Норвегия, Нидерланды, Испания) и США, имели азиатское происхождение [22; 30-35]. В РФ по данным референс-центра в 2005-2016

г. г. доля штаммов *S. Typhi*, устойчивых к аминопенициллинам, продуцировавших TEM-1, составляла около 3,0%, штаммы, устойчивые к ЦРС, не выявлены [21].

Детекция БЛРС у штаммов *Salmonella* рекомендована в рамках проведения инфекционного контроля. Согласно руководству EUCAST по детекции механизмов резистентности к АМП для этих целей следует тестировать так называемые «индикаторные» препараты из группы ЦРС: цефтазидим и цефотаксим [36]. Поскольку БЛРС различных генетических семейств характеризуются субстратной специфичностью, что может выражаться в больших различиях в значениях МПК между цефотаксимом и цефтазидимом, при скрининге следует тестировать оба эти препарата. Тесты, подтверждающие продукцию БЛРС у штаммов *Salmonella*, следует проводить в том случае, если МПК цефотаксима и/или цефтазидима превышает 1,0 мг/л или диаметр зоны подавления роста вокруг диска с цефотаксимом (5 мкг) и цефтазидимом (10 мкг) составляет менее 22 и 21 мм, соответственно. В основе подтверждающих тестов лежит выявление синергизма между цефотаксимом/цефтазидимом и ингибитором бета-лактамаз класса А – клавулановой кислотой. Для этого можно использовать любой из методов: комбинированных дисков (сравнение зон подавления роста вокруг дисков с цефалоспорином и их комбинаций с клавулановой кислотой); двойных дисков (выявление «пробки шампанского» - расширения зоны подавления роста вокруг диска с цефалоспорином в сторону диска с амоксициллин/клавулановой кислотой); градиентной диффузии и разведений в бульоне, основанные на сравнении МПК цефалоспоринов и их комбинаций с клавулановой кислотой [36]. У штаммов, одновременно продуцирующих классические БЛРС и AmpC, результаты подтверждающих тестов могут быть неопределёнными или ложноотрицательными. Для подтверждения продукции БЛРС у таких штаммов рекомендуется проводить тесты синергизма, используя цефепим, который не гидролизуется AmpC β-лактамазами.

Фенотипическая дифференциация «классических» БЛРС и AmpC у энтеробактерий основана на определении чувствительности к цефокситину (при высоком уровне экспрессии AmpC МПК цефокситина превышает 8,0 мг/л) и клоксациллину, который является эффективным ингибитором AmpC-бета-лактамаз. В этом случае для метода комбинированных дисков используются диски или таблетки, содержащие цефотаксим и цефтазидим в сочетании с клавулановой кислотой и клоксациллином [36]. Доступны наборы производства MAST (Великобритания), Rosco (Дания), Liophilchem (Италия). Алгоритм выявления БЛРС и AmpC у штаммов *Salmonella* представлен на рис. 2.

В последние годы у штаммов энтеробактерий, вызывающих инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), с высокой частотой обнаруживают устойчивость к карбапенемам, ранее являющимся препаратами резерва для инфекций, вызванных полирезистентными возбудителями. Основной механизм резистентности энтеробактерий к этой группе препаратов - продукция карбапенемаз: сериновых молекулярных классов А (KPC и др.), D (OXA-48 и др.), металло-бета-лактамаз молекулярного класса В (NDM, VIM, IMP и др.). Несмотря на то, что карбапенемы не используют для лечения сальмонеллёзов, штаммы *Salmonella* различных сероваров, продуцирующие карбапенемазы, выделены от людей, животных и из продуктов животного

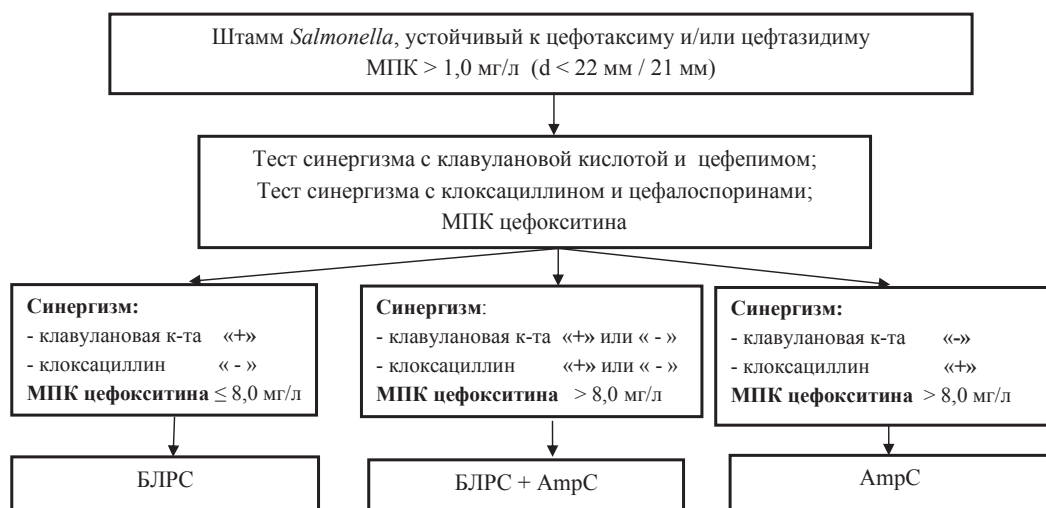


Рис. 2. Алгоритм детекции БЛРС и цефалоспориноаз AmpC у штаммов *Salmonella*.

МПК- минимальная подавляющая концентрация; d - диаметр зоны подавления роста; БЛРС – бета-лактамаза расширенного спектра; AmpC – цефалоспориноаза AmpC; «+» - положительный результат теста, синергизм выявлен; «-» - отрицательный результат теста, синергизм не выявлен.

происхождения в Великобритании, Франции, Германии, Швейцарии, США, Китае, Индии, Пакистане, Австралии, Марокко, Колумбии. Во многих случаях отмечено, что инфицирование людей произошло в странах Индийского субконтинента и Африки [37]. У штаммов *Salmonella* обнаружены карбапенемазы пяти генетических семейств, имеющие высокую клиническую значимость: KPC (*S. Typhimurium*, *S. Cubana*), OXA-48 (*S. Typhimurium*, *S. Kentucky*, *S. Saintpaul*), металло-бета-лактамазы IMP (*S. Waycross*, *S. Typhimurium*), VIM (*S. Kentucky*, *S. Infantis*), NDM (*S. Seftenberg*, *S. Stanley*, *S. Agona*, *S. Indiana*, *S. Corvallis*, S.1,4,5,12:i:-). Пока не выявлены устойчивые штаммы *S. Typhi*, но резистентность к карбапенемам, обусловленная продукцией OXA-48, описана у штамма *S. Paratyphi B*, выделенного в 2013 г. в Великобритании от пациента, вернувшегося из Африки [37].

Выявление продукции карбапенемаз у штаммов энтеробактерий может вызвать трудности в том случае, если значения МПК карбапенемов у штаммов-продуцентов не достигают пограничных значений вследствие низкого уровня экспрессии. При детекции карбапенемаз скрининговые значения отличаются от клинических пограничных значений [36]. Меропенем (из группы карбапенемов) характеризуется наилучшим сочетанием чувствительности и специфичности при детекции карбапенемаз: подозрение на продукцию карбапенемаз вызывают штаммы с МПК > 0,12 мг/л (зона подавления роста < 28 мм).

При выявлении «подозрительного» штамма рекомендовано выполнить фенотипические подтверждающие тесты, основанные на выявлении синергизма меропенема и ингибиторов различных карбапенемаз. Доступны методы комбинированных дисков MAST (Великобритания), Rosco (Дания), Liohilchem (Италия), в состав которых входят диски или таблетки, содержащие меропенем и его комбинации с ингибиторами: бороновой кислотой (ингибитор карбапенемаз молекулярного класса А), дипикколиновой кислотой или EDTA (ингибиторы карбапенемаз класса В), клоксациллином (ингибитором AmpC β-лактамаз).

Доступны отечественные тест-системы для ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс®MDR MBL-FL», «АмплиСенс®MDR KPC/OXA-48-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, РФ) для детекции генов наиболее распространенных карбапенемаз у штаммов или в пробах клинического материала. Алгоритм, рекомендуемый для выявления карбапенемаз у штаммов *Salmonella* представлен на рис. 3.

Определение чувствительности штаммов *Salmonella* к бета-лактамам не вызывает методических затруднений при условии тестирования индикаторных препаратов и постановки подтверждающих тестов (фенотипических или молекулярных). Экспертная оценка результатов остается предметом дискуссий. Согласно рекомендациям EUCAST, используемые методы тестирования и пограничные значения позволяют выявить устойчивость к бета-лактамам у большинства штаммов энтеробактерий, включая *Salmonella*, продуцирующих различные бета-лактамазы (БЛРС, AmpC, карбапенемазы), поэтому дополнительное подтверждение продукции БЛРС или карбапенемазы не является обязательным. В тоже время, часть штаммов с низким уровнем продукции бета-лактамаз могут попадать в категорию «чувствительный» или «умеренно резистентный». Из экспертных правил EUCAST исключены рекомендации о том, что штаммы с подтвержденной продукцией БЛРС (или карбапенемаз) следует расценивать как устойчивые ко всем цефалоспорином и азтреонаму (или карбапенемам). Для таких штаммов существует вероятность неэффективности лечения соответствующими бета-лактамами АМП. По мнению многих авторов степень доказательств эффективности бета-лактамов в отношении штаммов с низким уровнем продукции бета-лактамаз недостаточна. Значения МПК или диаметров зон, полученные рутинными методами, могут варьировать в зависимости от используемых сред, дисков, методов и квалификации персонала. В отличие от EUCAST, российские КР (2014, 2015, 2018 г. г.) рекомендуют информировать клинициста о

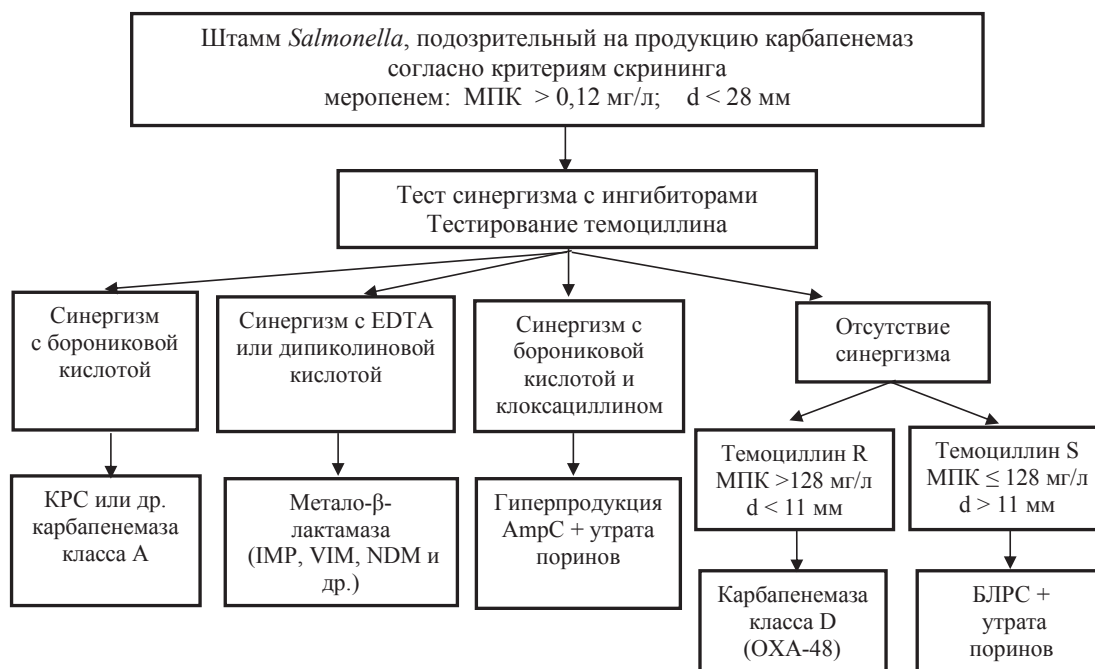


Рис. 3. Алгоритм детекции карбапенемаз у штаммов *Salmonella*. AmpC – цефалоспориноаза AmpC; БЛРС – бета-лактамаза расширенного спектра; МПК- минимальная подавляющая концентрация; d - диаметр зоны подавления роста; R – резистентный; S- чувствительный; EDTA – этилендиаминтетрауксусная кислота.

возможной нечувствительности штамма-продуцента БЛРС (или карбапенемазы) к цефалоспорином и азтреонаму (или карбапенемам), даже если этот штамм формально попадает в категорию «чувствительный» [14].

При тестировании возбудителя брюшного тифа, учитывая генерализованный характер инфекции и возможность тяжёлых осложнений, в случае выявления продукции БЛРС (или карбапенемазы) штамм *S. Typhi* следует расценивать как «устойчивый» ко всем цефалоспорином (или карбапенемам) независимо от полученных результатов тестирования.

**Определение чувствительности штаммов *Salmonella* к азитромицину.** В связи с высокими уровнями устойчивости к фторхинолонам штаммов *Salmonella* во многих странах для лечения брюшного тифа и сальмонеллёзов используют азитромицин [7; 8; 38]. Из-за отсутствия критериев интерпретации при определении чувствительности к азитромицину методами разведений или ДДМ, чувствительность штаммов *Salmonella* к этому препарату можно оценить только ориентировочно, сравнивая МПК штамма со значениями, полученными для «дикой» популяции (штаммы, которые не имеют механизмов резистентности): по данным EUCAST большая часть популяции *Salmonella* имеет диапазон МПК азитромицина от 4,0 до 16,0 мг/л. Масштабное исследование более 1500 штаммов *S. Typhi*, выделенных в семи азиатских странах, показало, что для 99,5% штаммов МПК азитромицина не превышала 16 мг/л и лечение азитромицином пациентов, инфицированных такими штаммами, было успешным в 91% случаев [28].

Согласно рекомендациям EUCAST и КР азитромицин используют при лечении инфекции, вызванных штаммам *S. Typhi*, у которых МПК не превышает 16 мг/л. Использо-

вание ДДМ для определения чувствительности к азитромицину осложняется тем, что зона подавления роста *S. Typhi* вокруг диска с этим антибиотиком формирует нечёткую границу, диаметр зоны не имеет прямой зависимости от МПК. Для штаммов с МПК 8,0 мг/л диаметр зоны может колебаться от 13 до 25 мм [28]. Для определения чувствительности к азитромицину следует использовать методы, позволяющие получить значение МПК азитромицина.

**Заключение.** Род *Salmonella* включает более 2500 серологических вариантов, не более 100 сероваров вызывают заболевания у человека, а широкое эпидемическое распространение имеют 40-50 из них. Учитывая неуклонный рост резистентности к клинически значимым препаратам, у штаммов *Salmonella* необходимо определять чувствительность к АМП не только с целью назначения адекватной этиотропной терапии, но и для мониторинга чувствительности/резистентности штаммов разных серологических вариантов, результаты которого должны учитываться при формировании тактики эмпирической антимикробной терапии сальмонеллёзов, включая брюшной тиф. Особенности определения чувствительности к АМП у штаммов *Salmonella* заключаются в том, что для локализованной (гастроинтестинальный вариант) и генерализованной (тифоподобный и септический варианты) форм инфекции используют разные подходы к тестированию и интерпретации результатов для хинолонов по сравнению с другими энтеробактериями. В бланке направления пробы биологического материала в диагностическую лабораторию для выявления бактерий рода *Salmonella* должна быть указана форма заболевания (локализованная или генерализованная).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (1-4, 7-9, 11, 15-20, 22-25, 28-38 см. REFERENCES)

5. Клинические рекомендации (протокол ведения) «Сальмонеллез у взрослых». ФГБУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» МЗ РФ, ФГБУ «НИИ гриппа» МЗ России. Available at: <http://nnoi.ru/uploads/files/Salmonelles.pdf>
6. Клинические рекомендации (протокол лечения) оказания медицинской помощи детям, больным сальмонеллезом. ФГБУ НИИДИ ФМБА России. Утв. 09.10.2013. Available at: <http://niidi.ru/dotAsset/6501246b-27f5-4d17-964d-7dc4defb8b43.pdf>
10. Милюткина Л.Н., Гурьева О.В. Эволюция лекарственной резистентности сальмонелл, выделенных от детей, и ее клиническая значимость. *Лаборатория*. 2011; 3: 5-7.
12. Гончар Н.В., Лазарева И.В., Рычкова С.В., Кветная А.С., Альшаник Л.П., Фомичева Ю.В. и др. Заболеваемость детей сальмонеллезом и уровень резистентности клинических штаммов сальмонелл к антибактериальным препаратам в Санкт-Петербурге. *Журнал инфектологии*. 2015; 7(1): 80-6.
13. Жирнова Л.Ю., Уткина Н.П., Сихандо Л.Ю., Пеленко Т.Ф., Егорова С.А., Кафтырева Л.А. и др. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов *Salmonella*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2014-2015 гг. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6(3): 27.
14. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Available at: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf>
21. Кафтырева Л.А., Егорова С.А., Макарова М.А., Тюленев С.В., Трифонова Г.Ф., Калинина О.В. Особенности резистентности к антимикробным препаратам возбудителя брюшного тифа, зарегистрированного на территории Российской Федерации в 2005-2016 гг. *Профилактическая и клиническая медицина*. 2017; 2(63): 14-9.
26. Козырева В.К., Эйдельштейн М.В., Тапальский Д.В., Азизов И.С., Романов А.В., Козлов Р.С. Клональное распространение СТХ-М-5-продуцирующих нозокоммиальных штаммов *Salmonella* Typhimurium в России, Беларуси и Казахстане. *Клиническая Микробиология и Антимикробная Химиотерапия*. 2012; 14(1): 38-50.
27. Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Войтенкова Е.В., Смирнова Е.В., Толузакова Н.В., Черткова С.А. Механизмы резистентности к фторхинолонам и цефалоспорином штаммов *Salmonella*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2014-2016 гг. *Инфекция и иммунитет*. 2016; 6(3): 23.

REFERENCES

1. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA Journal*. 2017; 15(12): 5077.
2. Sirinavin S., Garner P. Antibiotics for treating *Salmonella* gut infections. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2000; 2: CD001167.
3. Crump J.A., Sjölund-Karlsson M., Gordon M.A., Parry C.M. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. *Clin. Microbiol. Rev.* 2015; 28 (4): 901-37.
4. Riddle M.S., DuPont H.L., Bradley A. Connor B.A. ACG Clinical Guideline: Diagnosis, Treatment, and Prevention of Acute Diarrheal Infections in Adults. *Am. J. Gastroenterol.* 2016; 111: 602-22.
5. Guidelines (protocol of treatment) "Salmonellosis in adults". Available at: <http://nnoi.ru/uploads/files/Salmonelles.pdf>. (in Russian)
6. Guidelines for treatment of salmonellosis in children. Available at: <http://niidi.ru/dotAsset/6501246b-27f5-4d17-964d-7dc4defb8b43.pdf>. (in Russian)
7. Guarino A., Ashkenazi S., Gendrel D., Vecchio A.L., Shamir R., Szajewska H. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition/ European Society for Pediatric Infectious Diseases evidence-based guidelines for the management of

- acute gastroenteritis in children in Europe: update 2014. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2014; 59(1): 132-52.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Yellow Book, 2017, Chapter 2. Travelers' Diarrhea. Available from <https://wwwnc.cdc.gov/travel/yellowbook/2018/the-pre-travel-consultation/travelers-diarrhea>.
9. The European Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016. European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control. *EFSA Journal*. 2016; 2:5182.
10. Milyutina L.N., Gur'eva O.V. Evolution of antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from children, and its clinical significance. *Laboratoriya*. 2011; 3: 5-7. (in Russian)
11. Egorova S., Kaftyreva L., Grimont P.A.D, Weill F-X. Prevalence and characterization of extended-spectrum cephalosporin resistant non-typhoidal *Salmonella* isolates in adults in St-Petersburg, Russia (2002-2005). *Microbial Drug Resistance*. 2007; 13(2):102-7.
12. Gonchar N.V., Lazareva I.V., Rychkova S.V., Kvetnaya A.S., Al'shanik L.P., Fomicheva Yu.V. et al. Salmonellosis in children and antimicrobial resistance of *Salmonella* in Saint-Petersburg. *Zhurnal infekologii*. 2015; 7(1): 80-6. (in Russian)
13. Zhirnova L.Yu., Utkina N.P., Sikhando L.Yu., Pelenko T.F., Egorova S.A., Kaftyreva L.A. et al. Antimicrobial susceptibility of *Salmonella* isolated in Saint-Petersburg in 2014-2015. *Infektsiya i immunitet*. 2016; 6(3): 27. (in Russian)
14. Guidelines "Antimicrobial susceptibility testing of microorganisms". Available at: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf>. (in Russian)
15. Piddock L.J. Fluoroquinolone resistance in *Salmonella* serovars isolated from humans and food animals. *FEMS Microbiol. Rev.* 2002; 26: 3-16.
16. Crump J.A., Kretsinger K., Gay K. Clinical response and outcome of infection with *Salmonella enterica* serotype Typhi with decreased susceptibility to fluoroquinolones: a United States FoodNet multi-centre retrospective study. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2008; 52: 1278-84.
17. Parry C.M., Ho V.A., Phuong L.T., Van Be Bay P., Lanh M.N., Tung L.T. et al. Randomized controlled comparison of ofloxacin, azithromycin, and an ofloxacin-azithromycin combination for treatment of multidrug-resistant and nalidixic acid-resistant typhoid fever. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007; 51: 819-25.
18. Dolecek C., Phi La T.T., Rang N.N., Phuong L.T., Vinh H., Tuane P.Q. et al. A Multi-Center Randomised Controlled Trial of Gatifloxacin versus Azithromycin for the Treatment of Uncomplicated Typhoid Fever in Children and Adults in Vietnam. *PLoS ONE*. 2008; 3(5): e2188.
19. Thompson C.N., Karkey A., Dongol S., Arjyal A., Wolbers M., Darton T. et al. Treatment Response in Enteric Fever in an Era of Increasing Antimicrobial Resistance: An Individual Patient Data Analysis of 2092 Participants Enrolled into 4 Randomized, Controlled Trials in Nepal. *Clin. Infect. Dis.* 2017; 64 (11): 1522-1531.
20. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Available at: [http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints)
21. Kaftyreva L.A., Egorova S.A., Makarova M.A., Tjulenev C.V., Trifonova G.F., Kalinina O.V. Features of antimicrobial resistance of S.Typhi isolated in Russian Federation in 2005-2016. *Profilakticheskaya i klinicheskaya meditsina*. 2017; 2(63): 14-9. (in Russian)
22. Rodriguez-Martinez J.M., Cano M.E., Velasco C., Martinez-Martinez L., Pascual A. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update. *J. Infect. Chemother.* 2011; 17(2): 149-182.
23. CDC. National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS): Human Isolates Surveillance Report for 2015 (Final Report). Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2018. Available at: [https://www.cdc.gov/narms/pdf/2015-NARMS-Annual-Report-cleared\\_508.pdf](https://www.cdc.gov/narms/pdf/2015-NARMS-Annual-Report-cleared_508.pdf)
24. Canadian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (CIPARS) annual report, 2013. Available at: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/surveillance/canadian-integrated-program-antimicrobial-resistance-surveillance-cipars/cipars-2013-annual-report.html>

25. Jeon H.Y., Kim Y.B., Lim S.K., Lee Y.J., Seo K.W. Characteristics of cephalosporin-resistant *Salmonella* isolates from poultry in Korea, 2010–2017. *Poultry Science*. 2019; 98(2): 957-965.
26. Kozyreva V.K., Eydel'shteyn M.V., Tapal'skiy D.V., Azizov I.S., Romanov A.V., Kozlov R.S. Clonal expansion of CTX-M-5-producing nosocomial *Salmonella* Typhimurium in Russian, Belarus and Kazakhstan. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya terapiya*. 2012;14(1):38-50. (in Russian)
27. Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Voytenkova E.V., Smirnova E.V., Toluzakova N.V., Chertkova S.A. Resistance mechanisms of *Salmonella* isolated in Saint-Petersburg in 2014-2016 to fluoroquinolones and cefaphosporins. *Infektsiya i immunitet*. 2016; 6(3): 23. (in Russian)
28. Parry C.M., Thieu N.T.V., Dolecek C., Karkey A., Gupta R., Turner P. et al. Clinically and microbiologically derived azithromycin susceptibility breakpoints for *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2015; 59:2756-64.
29. Kuijpers L.M.F., Phe T., Veng C.H., Lim K., Ieng S., Kham C. et al. The clinical and microbiological characteristics of enteric fever in Cambodia, 2008-2015. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2017; 11(9): e0005964.
30. Hendriksen R.S., Leekitcharoenphon P., Mikoleit M., Jensen J.D., Kaas R.S., Roer L. et al. Genomic dissection of travel-associated extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Salmonella enterica* serovar Typhi isolates originating from the Philippines: a one-off occurrence or a threat to effective treatment of typhoid fever? *J. Clin. Microbiol*. 2015; 53(2): 677-80.
31. Gul D., Potter R.F., Riaz H., Ashraf S.T., Wallace M.A., Munir T. et al. Draft genome sequence of a *Salmonella enterica* serovar Typhi strain resistant to fourth-generation cephalosporin and fluoroquinolone antibiotics. *Genome Announc*. 2017; 5:e00850-17.
32. Akinyemi K.O., Iwalokun B.A., Alafe O.O., Mudashiru S.A., Fakorede C. *bla* CTX-M-I group extended spectrum beta lactamase-producing *Salmonella* Typhi from hospitalized patients in Lagos, Nigeria. *Infect. Drug. Resist*. 2015; 11(8): 99-106.
33. Akinyemi K.O., Iwalokun B.A., Oyefolu A.O., Fakorede C.O. Occurrence of extended-spectrum and AmpC  $\beta$ -lactamases in multiple drug resistant *Salmonella* isolates from clinical samples in Lagos, Nigeria. *Infect. Drug Resist*. 2017; 10:19-25.
34. Ahamed Riyaaz A.A., Perera V., Sivakumaran S., de Silva N. Typhoid Fever due to Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Salmonella enterica* Serovar Typhi: A Case Report and Literature Review. *Case Reports in Infectious Diseases*. 2018; Article ID 4610246.
35. Ramachandran A., Shanthi M., Sekar U. Detection of *bla*<sub>CTX-M</sub> Extended Spectrum Beta-lactamase Producing *Salmonella enterica* Serotype Typhi in a Tertiary Care Centre. *J. Clin. Diagn. Res*. 2017; 11(9): DC21-DC24.
36. The EUCAST guideline on detection of resistance mechanisms v 2.0 (2017-07-11). Available at: [http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms)
37. Fernández J., Guerra B., Rodicio M.R. Resistance to Carbapenems in Non-Typhoidal *Salmonella enterica* Serovars from Humans, Animals and Food. *Veterinary sciences*. 2018; 5(2): 40.
38. Effa E.E., Bukirwa H. Azithromycin for treating uncomplicated typhoid and paratyphoid fever (enteric fever). *Cochrane Database Syst. Rev*. 2011;5(10): CD006083.

Поступила 23.04.19

Принята к печати 30.04.19