

Егорова С.А.¹, Кафтырева Л.А.^{1,2}, Сужаева Л.В.¹, Забровская А.В.¹, Войтенкова Е.В.¹, Матвеева З.Н.¹,
Останкова Ю.В.¹, Лихачев И.В.¹, Сатосова Н.В.², Кицбабашвили Р.В.³, Смирнова Е.В.⁴, Семченкова Л.И.⁴,
Быстрая Т.Е.⁴, Сокольник С.Е.⁵, Уткина Н.П.⁵, Сихандо Л.Ю.⁵

УСТОЙЧИВОСТЬ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ И КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ШТАММОВ *SALMONELLA*, ВЫДЕЛЕННЫХ В 2014–2018 гг. В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ, РОССИЯ

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

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

³АНО «Медицинский Центр XXI век», 194044, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург», филиал № 3, 192012, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербург», филиал № 6, 198329, Санкт-Петербург, Россия

В статье представлены результаты многолетнего мониторинга (2014–2018 гг.) чувствительности к антибиотикам штаммов *Salmonella*, выделенных от детей и взрослых с диарейным синдромом в Санкт-Петербурге. 746 изученных штаммов относились к 42 сероварам, из них более 90,0% принадлежали к трем: *S. enteritidis* (79,6%), *S. typhimurium* (6,8%) и *S. infantis* (3,8%). Определение чувствительности к 7 классам антибиотиков, проведенное согласно рекомендациям EUCAST, выявило устойчивость у 78,6% штаммов. Резистентность к хинолонам, обнаруженная у 63,3% штаммов (*S. enteritidis* -71,0%, *S. typhimurium* - 15,7%, *S. infantis* - 89,3%), у всех штаммов, за исключением одного, характеризовалась низким уровнем (МПК ципрофлоксацина 0,12–0,5 мг/л) и была обусловлена пятью видами однонуклеотидных замен в гене *gyrA*: Asp87Tyr - 36,1% штаммов (*S. infantis*); Ser83Phe - 22,2% (*S. enteritidis*); Asp87Asn - 19,4% (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. hadar*, *S. newport*); Ser83Tyr -11,1% (*S. enteritidis*, *S. infantis*) и Asp87Gly - 8,3% (*S. enteritidis*). У одного штамма *S. kentucky* с устойчивостью высокого уровня (МПК ципрофлоксацина выше 8,0 мг/л) выявлены одновременно две замены Ser83Phe и Asp87Asn. Два штамма (*S. typhimurium* и *S. corvallis*) имели плазмидоопосредованную резистентность к хинолонам (ген *qnrS*). Устойчивость к цефалоспорином расширенного спектра обнаружена у штаммов шести сероваров (1,6%). Выявлены гены бета-лактамаз расширенного спектра генетических групп CTX-M1 (10 штаммов сероваров *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. abony*, *S. coeln* и *S. virchow*), CTX-M2 (2 штамма *S. typhimurium*), CTX-M9 (три штамма *S. enteritidis*), у одного штамма *S. typhimurium* выявлены одновременно CTX-M1 и CTX-M2. У двух штаммов (*S. newport* и *S. enteritidis*) обнаружены гены цефалоспориныазы молекулярного класса C CMY-2. Наше исследование показало, что в Санкт-Петербурге штаммы *Salmonella*, ведущего возбудителя острых кишечных инфекций бактериальной этиологии у детей и взрослых, характеризуются устойчивостью к антибиотикам, используемым для лечения сальмонеллезов.

Ключевые слова: *Salmonella*; резистентность; хинолоны; цефалоспорины; БЛРС; AmpC, бета-лактамазы; *gyrA*; *qnrS*.

Для цитирования: Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Сужаева Л.В., Забровская А.В., Войтенкова Е.В., Матвеева З.Н., Останкова Ю.В., Лихачев И.В., Сатосова Н.В., Кицбабашвили Р.В., Смирнова Е.В., Семченкова Л.И., Быстрая Т.Е., Сокольник С.Е., Уткина Н.П., Сихандо Л.Ю. Устойчивость к антимикробным препаратам и клинически значимые механизмы резистентности штаммов *Salmonella*, выделенных в 2014–2018 гг. в Санкт-Петербурге, Россия. Клиническая лабораторная диагностика. 2019; 64 (10): 620–626. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-620-626>

Egorova S.A.¹, Kaftyreva L.A.^{1,2}, Suzhaeva L.V.¹, Zabrovskaya A.V.¹, Voitenkova E.V.¹, Matveeva Z.N.¹, Ostantkova Y.V.¹, Likhachev I.V.¹, Satosova N.V.², Kitsbabashvili R.V.³, Smirnova E.V.⁴, Semchenkova L.I.⁴, Bystraya T.E.⁴, Sokol'nik S.E.⁵, Utkina N.P.⁵, Sikhando L.Y.⁵

ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND CLINICAL SIGNIFICANT RESISTANCE MECHANISMS OF
SALMONELLA ISOLATED IN 2014–2018 IN ST.PETERSBURG, RUSSIA

¹Saint-Petersburg Pasteur Institute, 197101, Saint-Petersburg, Russia;

²State 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, 191015, Saint-Petersburg, Russia;

³ANO «Medical Center XXI Century», 194044, Saint-Petersburg, Russia;

⁴FBUZ «Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg», division № 3, 192012, Saint-Petersburg, Russia;

⁵FBUZ «Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg», division № 6, 198329, Saint-Petersburg, Russia

The article presents the results of antimicrobial resistance monitoring of *Salmonella* isolated from children and adults with diarrhea in St. Petersburg in 2014–2018. In 746 isolates of 42 serovars more than 90,0% belonged to three: *S. enteritidis* (79,6%), *S. typhimurium* (6,8%) and *S. infantis* (3,8%). The antimicrobial susceptibility testing (according to the EUCAST) to 7 classes of antimicrobials revealed the resistance in 78,6% of *Salmonella*. Low-level quinolone resistance (MIC of ciprofloxacin 0,12–0,5 mg/l) was detected in 63,3% isolates (*S. enteritidis* -71,0%, *S. typhimurium* - 15,7%, *S. infantis* - 89,3%) and was due to five kinds of single nucleotide substitutions in *gyrA*: Asp87Tyr - 36,1% of studied isolates (only *S. infantis*); Ser83Phe - 22,2% (only *S. enteritidis*); Asp87Asn - 19,4% (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. hadar*, *S. newport*); Ser83Tyr -11,1% (*S. enteritidis* and *S. infantis*) and Asp87Gly - 8,3% (only *S. enteritidis*). Only in one *S. kentucky* isolate with high-level fluoroquinolone resistance (MIC

of ciprofloxacin > 8,0 mg/l) two substitutions (Ser83Phe and Asp87Asn) were detected. Two *Salmonella* isolates (*S. typhimurium* and *S. corvallis*) had plasmid-mediated quinolone resistance (*qnrS*). Extended-spectrum cephalosporin resistance was found in 6 *Salmonella* serovars (1,6%). The *bla*-genes were detected: of genetic group CTX-M1 – in 10 isolates (serovars *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. abony*, *S. coeln* and *S. virchow*), CTX-M2 – in 2 *S. typhimurium* isolates, CTX-M9 – in three *S. enteritidis* isolates. In one *S. typhimurium* CTX-M1 and CTX-M2 were detected. The gene of CMY-2 (molecular class C cephalosporinase) was revealed in two isolates (*S. newport* and *S. enteritidis*). Our study showed that *Salmonella* (the main bacterial pathogen of acute diarrhea in children and adults) isolated in Saint-Petersburg had antimicrobial resistance to drugs of choice for salmonellosis treatment.

Key words: *Salmonella*; resistance; quinolones; cephalosporins; ESBL; AmpC; beta-lactamases; *gyrA*; *qnrS*.

For citation: Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Suzhaeva L.V., Zabrovskaya A.V., Voitenkova E.V., Matveeva Z.N., Ostankova Y.V., Likhachev I.V., Satosova N.V., Kitsbabashvili R.V., Smirnova E.V., Semchenkova L.I., Bystraya T.E., Sokol'nik S.E., Utkina N.P., Sikhando L.Y. Antimicrobial resistance and clinical significant resistance mechanisms of *Salmonella* isolated in 2014-2018 in St. Petersburg, Russia. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2019; 64 (10): 620-626 (in Russ.) DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2019-64-10-620-626>

For correspondence: Egorova S.A., PhD, senior researcher of laboratory of enteric infections; e-mail: 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>; ResearcherID: K-2708-2014

Suzhaeva Lyudmila V. <https://orcid.org/0000-0001-7292-9933>;

Zabrovskaya Anna V., <https://orcid.org/0000-0003-2655-7555>

Voitenkova Elena V., <https://orcid.org/0000-0001-7702-2492>;

Matveeva Zoya N., <https://orcid.org/0000-0002-7173-2255>;

Ostankova Yulia V., <https://orcid.org/0000-0003-2270-8897>, ResearcherID: G-4252-2017

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

Acknowledgment. The study had no sponsorship.

Received 01.10.2019

Accepted 08.10.2019

Введение. Несмотря на то, что в РФ в последние 10 лет заболеваемость сальмонеллезом снижается (с 35,2 на 100 тыс. населения в 2009 г. до 22,9 в 2018 г.), ежегодно регистрируют около 50 тыс. случаев заболеваний сальмонеллезом, причем в 2018 г. зарегистрировано 83 очага групповых заболеваний с общим количеством пострадавших более 2 000 человек, из которых около 70,0% составляли дети [1]. В перечне антимикробных препаратов (АМП), которые могут быть использованы для лечения сальмонеллезов, препаратами выбора являются фторхинолоны и цефалоспорины расширенного спектра (ЦРС) [2-6]. Эффективная антибактериальная терапия осложняется наличием в популяции *Salmonella* штаммов, устойчивых к рекомендованному АМП. В странах ЕС в 2017 г. у *Salmonella* отмечены высокие показатели резистентности к сульфаниламидам (32,8%), тетрациклам (30,2%) и аминопенициллинам (27,5%), а также множественной устойчивости к АМП (3 и более класса АМП) (28,6%) [7]. Доля штаммов, устойчивых к фторхинолонам и ЦРС в целом была относительно невысокой (13,0 и 1,9%, соответственно), хотя выявлены значительные серовароспецифические отличия [7]. Анализ и сравнение данных, полученных в РФ в разные годы, затруднены тем обстоятельством, что критерии интерпретации и методические подходы к тестированию многих АМП в последние годы неоднократно менялись не только в РФ, но и в мире. Документ, регламентирующий процедуру определения чувствительности микроорганизмов к АМП (МУК 4.2.1890-04), был принят в нашей стране в 2004 г., основан на рекомендациях CLSI и является действующим в настоящее время [8]. В 2014 г. были введены Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (в дальнейшем по тексту – КР), основанные

на рекомендациях EUCAST [9]. По данным различных авторов на отдельных территориях РФ в разные годы доля штаммов *Salmonella*, устойчивых к ЦРС, составляла от 0 до 45,3%, фторхинолонам – от 0 до 59,2% [10-20]. Целью проведенного нами исследования была оценка чувствительности штаммов *Salmonella*, выделенных в рамках пятилетнего мониторинга в Санкт-Петербурге, к АМП с использованием современных международных подходов, а также выявление механизмов резистентности к клинически значимым группам АМП.

Материал и методы. Изучены 746 штаммов *Salmonella*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2014-2018 гг. из проб испражнений детей и взрослых, обследованных по различным показаниям (больные ОКИ, контактные, декретированные лица). Видовая идентификация штаммов проведена методом время-пролетной масс-спектрометрии на приборе Microflex LRF (Bruker Daltonics, Германия), идентификация до серовара – в реакции агглютинации на стекле с диагностическими сальмонеллезными адсорбированными сыворотками (ФГУП СПбНИИВС ФМБА РФ). Список АМП, использованных для тестирования, соответствовал европейским рекомендациям [21] и включал бета-лактамы (ампициллин, амоксициллин/клавулановая кислота, цефтазидим, цефотаксим, меропенем), хинолоны (налиндиксовая кислота, пефлоксацин, цiproфлоксацин), аминогликозиды (гентамицин, тобрамицин, амикацин), нитрофурантоин, тетрациклин, хлорамфеникол и триметоприм/сульфаметоксазол. Тестирование проводили диско-диффузионным методом с использованием дисков и агара Мюллера-Хинтона (Oxoid, Великобритания) согласно КР [9]. Для оценки чувствительности к хинолонам использовали комплексный подход: скрининг устойчивых штаммов диско-диффузионным методом с

налидиксовой кислотой и пепфлоксацином, определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) ципрофлоксацина методом микроразведений в бульоне. Продукцию бета-лактамаз молекулярных классов А и С подтверждали фенотипически, оценивая их чувствительность к ингибиторам с использованием набора реагентов “ESBL+AmpC Screen Kit” (Rosco Diagnostica, Дания) согласно руководству EUCAST [22]. Бактериальную ДНК выделяли с помощью реагента InstaGen Matrix (BioRad, США). Детекцию генов бета-лактамаз, а также *qnr*(A,B,S,C,D) и *aac*-(6')-Ib проводили, используя опубликованные праймеры [23-28], методом ПЦР с флуоресцентной детекцией продуктов амплификации с красителем SYBR GREEN с анализом кривых плавления. У 36 штаммов оценили характер мутаций в гене *gyrA* путем амплификации и прямого секвенирования QRDR-региона согласно опубликованному протоколу [29]. Секвенирование по Сенгеру проводили с использованием Applied Biosystem 3500 Genetic Analyzer. Полученные нуклеотидные последовательности сравнивали в программе BLAST с референсной последовательностью гена *gyrA* штамма *S. typhimurium* LT2 (GenBank CP014051.2). 95% доверительные интервалы долей (95%ДИ) рассчитаны по методу Уилсона.

Результаты. Чувствительность штаммов *Salmonella* к АМП. Антигенная структура включенных в исследование штаммов была представлена 42 сероварами. Доминирующее положение занимал серовар *S. enteritidis*, доля которого в разные годы колебалась незначительно и в среднем составила 79,6% (95%ДИ 76,6-82,4). На долю сероваров *S. typhimurium* и *S. infantis* приходилось 6,8% (95%ДИ 5,2-8,9) и 3,8% (95%ДИ 2,6-5,4), соответственно. Другие серовары были представлены единичными штаммами (9,8%; 95%ДИ 7,9-12,1).

Результаты изучения чувствительности штаммов к АМП представлены в таблице. Устойчивость к 1 и более классу АМП отмечена у 78,6% исследованных штаммов: *S. enteritidis* – 85,0%, *S. typhimurium* – 60,8%, *S. infantis* – 89,3%. Следует отметить, что у других сероваров доля устойчивых штаммов была достоверно ниже (34,2%), чем у трех ведущих. Наиболее высокие показатели устойчивости штаммов *Salmonella* отмечены в отношении фторхинолонов и нитрофуранов: 63,3 и 57,8% штаммов, соответственно. Причем доля устойчивых штаммов была достоверно выше у сероваров *S. enteritidis* (71,0 и 66,2%) и *S. infantis* (89,3 и 82,1%), большинство штаммов которых имели сочетанную резистентность к этим двум группам АМП. Устойчивость к аминопенициллинам выявлена у 5,6% штаммов, и достоверно выше отмечена у серовара *S. typhimurium* (41,2%). Выявлено 12 штаммов *Salmonella*, устойчивых к ЦРС (1,6%), достоверной разницы в зависимости от серовара не обнаружено. Для тетрациклина и триметоприм/сульфаметоксазола при относительно невысоких долях устойчивых штаммов (13,0 и 6,3%, соответственно), отмечены достоверно более высокие показатели у штаммов *S. infantis* (78,6 и 60,7%) и *S. typhimurium* (37,3 и 17,6%). Устойчивость к аминогликозидам выявлена у 1,1% штаммов (достоверно выше у *S. typhimurium*, чем у *S. enteritidis*), к хлорамфениколу – 4,8% (без достоверных различий в сероварах). Множественная устойчивость к АМП выявлена у 13,0% штаммов, но у серовара *S. infantis* доля достигала 82,1% (достоверно выше, чем у других сероваров), *S. typhimurium* – 19,6%. Большинство полирезистентных штаммов (63,6%) были устойчи-

вы к 4 классам АМП, профили устойчивости включали хинолоны, нитрофураны и тетрациклины в сочетании с дополнительным классом АМП. Около половины (43,6%) полирезистентных штаммов серовара *S. enteritidis* характеризовались идентичным профилем: устойчивостью к хинолонам, нитрофуранам, тетрациклину и хлорамфениколу. Профиль множественной резистентности, наиболее характерный для *S. infantis* (56,5% штаммов), включал хинолоны, нитрофураны, тетрациклин и триметоприм/сульфаметоксазол. Выявлены три штамма *Salmonella*, устойчивые к шести классам АМП (*S. typhimurium*, *S. bredeney*).

Механизмы резистентности штаммов *Salmonella* к бета-лактамам АМП. Из 42 штаммов, устойчивых к аминопенициллинам, 21 штамм принадлежал к серовару *S. typhimurium* (41,2% штаммов этого серовара), 13 штаммов – *S. enteritidis* (2,2%), 2 штамма – *S. infantis* (7,1%), 3 штамма – *S. kentucky* (из 5 изученных штаммов данного серовара), 2 штамма – *S. bredeney* (из 5 штаммов) и 1 штамм – *S. london* (из 3 штаммов). Детекция механизма резистентности у штаммов, устойчивых к аминопенициллинам, не требовала выполнения дополнительных фенотипических тестов, в ходе молекулярного исследования у 38 штаммов (90,5%) выявлены гены *bla*_{TEM-1}; гены, кодирующие продукцию бета-лактамаз генетических семейств SHV, OXA и PSE, не обнаружены.

Механизмы резистентности к ЦРС изучили у 18 штаммов, устойчивых к индикаторным препаратам из этой группы (цефтазидиму и цефотаксиму): *S. enteritidis* (7 штаммов), *S. typhimurium* (6 штаммов), *S. abony* (1 штамм), *S. coeln* (1 штамм), *S. virchow* (1 штамм), *S. newport* (1 штамм), *Salmonella* 1,4,12:i:- (1 штамм). Кроме 12 устойчивых штаммов, выделенных в 2014-18 гг., в исследование включили шесть штаммов, обнаруженных в период с 2002 по 2013 гг. У 16 штаммов результат подтверждающего фенотипического теста (синергизм ЦРС с клавулановой кислотой) указывал на продукцию бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), у этих штаммов выявлены гены, кодирующие БЛРС генетического семейства CTX-M трех генетических групп: *bla*_{CTX-M1} (10 штаммов сероваров *S. typhimurium*, *S. enteritidis*, *S. abony*, *S. coeln* и *S. virchow*), *bla*_{CTX-M2} (2 штамма *S. typhimurium*), *bla*_{CTX-M9} (три штамма *S. enteritidis*), у одного штамма *S. typhimurium* выявлены одновременно *bla*_{CTX-M1} и *bla*_{CTX-M2}. У двух штаммов (*S. newport* и *S. enteritidis*) результат подтверждающего фенотипического теста (синергизм ЦРС с клоксациллином) свидетельствовал о продукции цефалоспориноаз AmpC, молекулярные исследования выявили ген *bla*_{CMY-2}. Все штаммы *Salmonella*, продуцирующие БЛРС и AmpC, имели множественную резистентность: наиболее часто – к хинолонам (12 штаммов) и нитрофуранам (11). Два штамма *S. typhimurium* оставались чувствительны только к карбапенемам.

Механизмы резистентности штаммов *Salmonella* к хинолонам. Устойчивость к хинолонам выявлена у 472 штаммов (63,3%) и характеризовалась низким уровнем (МПК ципрофлоксацина 0,12-0,25 мг/л). Обнаружен один штамм *S. kentucky* с высоким уровнем устойчивости (МПК ципрофлоксацина более 8,0 мг/л). У всех штаммов, за исключением двух, результаты скрининга диско-диффузионным методом (устойчивость к налидиксовой кислоте и пепфлоксацину) свидетельствовали о хромосомном механизме резистентности. У двух штаммов «парадоксальный» фенотип резистентности к хинолонам

(устойчивость к ципрофлоксацину и пefлоксацину, но чувствительность к налидиксовой кислоте) указывал на плазмидоопосредованный механизм. Детекцию мутаций в хромосомном гене *gyrA* провели у 36 штаммов, выявлены пять видов однонуклеотидных замен в 83 и 87 кодонах: Asp87Tyr – у 36,1% изученных штаммов (*S. infantis*); Ser83Phe – 22,2% (*S. enteritidis*); Asp87Asn – 19,4% (*S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. hadar*, *S. newport*); Ser83Tyr – 11,1% (*S. enteritidis*, *S. infantis*) и Asp87Gly – 8,3% (*S. enteritidis*). У штамма *S. kentucky* с высоким уровнем устойчивости к фторхинолонам выявлены одновременно две замены Ser83Phe и Asp87Asn. Серовар *S. enteritidis* характеризовался наибольшим разнообразием мутаций (4 из 5 выявленных), наиболее характерна Ser83Phe (13 из 17 исследованных штаммов). Серовар *S. infantis* был представлен в основном штаммами с заменой Asp87Tyr (13 из 15 штаммов). Частота выявления тех или иных однонуклеотидных замен во многом определялась выборкой штаммов, которая была представлена в основном сероварами *S. enteritidis* и *S. infantis*. У всех 746 штаммов провели поиск генов, ответственных за реализацию описанных у *Salmonella* плазмидоопосредованных механизмов резистентности к хинолонам: механизм защиты мишени (гены *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qnrC* и *qnrD*) и механизм ферментной инактивации антибиотика (ген *aac-(6)-Ib*). У двух штаммов (*S. typhimurium* и *S. corvallis*) с «парадоксальным» фенотипом резистентности к хинолонам обнаружен ген *qnrS*.

Обсуждение. Во всех странах среди большого разнообразия выделяемых сероваров доминируют *S. enteritidis* и *S. typhimurium* (в странах ЕС в 2017 г. два этих серовара, включая монофазный вариант *S. typhimurium*, обуславливали около 80,0% случаев сальмонеллезов), *S. infantis* занимают 3-4 место в зависимости от региона [7]. В РФ доля этих сероваров колеблется ежегодно незначительно и составляет для *S. enteritidis*, *S. typhimurium* и *S. infantis* 70,0-80,0%, 2,0-7,0% и 5,0-9,0%, соответственно [1,30]. Результаты пятилетнего мониторинга антибиотикорезистентности штаммов *Salmonella* подтвердили циркуляцию глобально распространенных сероваров в Санкт-Петербурге в 2014-2018 гг., где на их суммарную долю приходилось более 90,0% выделенных от людей штаммов при доминировании *S. enteritidis* (79,6%).

Практически 8 из 10 штаммов *Salmonella*, выделенных в Санкт-Петербурге в последние пять лет, характеризовались устойчивостью к различным классам АМП, причем резистентность отмечена в значительно большей степени у штаммов трех ведущих сероваров, чем у редко выделяемых. Заслуживают особого внимания высокие показатели клинически значимой резистентности к АМП, рекомендованным для лечения сальмонеллезов. Устойчивость к фторхинолонам (препаратам выбора при генерализованных, осложненных и тяжелых формах сальмонеллеза) выявлена у 63,3% штаммов, нитрофуранам (широко используемым для лечения ОКИ) – 57,8%. Удельный вес штаммов, устойчивых к ЦРС (препаратам для лечения тяжелых и осложненных форм сальмонеллеза у детей и лиц с тяжелыми сопутствующими заболеваниями), был невысоким (12 штаммов, 1,6%), но это значительно больше, чем в 2003-2005 гг., когда при исследовании более 1000 штаммов в Санкт-Петербурге были обнаружены только два устойчивых к ЦРС (0,2%) [21]. Устойчивость к АМП, не используемым в настоящее время для лечения ОКИ (включая сальмонеллезы),

отмечена у штаммов *Salmonella* значительно реже, чем к фторхинолонам и нитрофуранам. Устойчивость к тетрациклину и триметоприм/сульфаметоксазолу, выявляемая достоверно чаще у штаммов *S. infantis*, являлась частью фенотипа множественной устойчивости, характерной для этого серовара. Учитывая тот факт, что *S. infantis* – один из ведущих сероваров, к которому относятся штаммы, выделяемые из пищевых продуктов и от сельскохозяйственных животных, высокие показатели устойчивости ко многим АМП связаны с использованием антибиотиков в ветеринарии и животноводстве, которое способствует приобретению и сохранению в штаммах этого серовара различных детерминант резистентности. Выявлены серовароспецифические особенности резистентности к АМП: для штаммов доминирующего серовара *S. enteritidis* характерны высокие показатели устойчивости к хинолонам (71,0% штаммов) и нитрофуранам (66,2%). У штаммов *S. typhimurium* отмечена высокая доля штаммов, устойчивых ко многим классам АМП (до 40,0% к ампициллину), самая высокая доля устойчивых к ЦРС штаммов (5,9%), каждый пятый штамм имел фенотип множественной резистентности. Серовар *S. infantis* отличался чрезвычайно высокой долей штаммов с множественной устойчивостью (82,1%), спектр которой включал клинически значимые АМП. Подобные серовароспецифические отличия отмечены и в странах Евросоюза [7,31]. В ходе нашего исследования обнаружены бета-лактамазы, наиболее часто выявляемые в мире у штаммов *Salmonella* [31, 33]. Устойчивость к аминопенициллинам была обусловлена продукцией бета-лактамазы TEM-1. Штаммы, устойчивые к ЦРС, продуцировали БЛРС генетических групп СТХ-М1,-2 и 9, а также цефалоспорины молекулярного класса С генетической группы СМУ-2. Рекомендованный EUCAST алгоритм фенотипической детекции [22] показал высокую достоверность при детекции и дифференциации ферментов БЛРС и AmpC.

Устойчивость к фторхинолонам характеризовалась низким уровнем, что затрудняло фенотипическую детекцию таких штаммов, требовало комплексного подхода к определению чувствительности *Salmonella* и интерпретации результатов согласно современным методическим рекомендациям. Включение диска с налидиксовой кислотой в алгоритм скрининга позволило не только достоверно выявить устойчивые штаммы, но и фенотипически дифференцировать механизмы устойчивости. По данным литературы устойчивость к хинолонам у подавляющего большинства штаммов *Salmonella* обусловлена хромосомными механизмами, плазмидоопосредованные встречаются редко [31-33]. В нашем исследовании у штаммов *Salmonella* выявлены пять вариантов однонуклеотидных замен в гене *gyrA* (Ser83Phe, Ser83Tyr, Asp87Tyr, Asp87Asn, Asp87Gly). Обнаружение штаммов *S. infantis* с редко выявляемой у *Salmonella* мутацией Asp87Tyr может свидетельствовать о циркуляции клональной линии этого серовара в Санкт-Петербурге. Выявленный в ходе исследования штамм *S. kentucky* с высоким уровнем устойчивости к фторхинолонам, обусловленной двумя хромосомными мутациями, может относиться к циркулирующему в мире клону *S. kentucky* ST198.

Сравнение наших результатов с данными, полученными в странах Евросоюза, показало, что устойчивости к фторхинолонам у штаммов *Salmonella* в Санкт-Петербурге почти в пять раз превышает европейские

Устойчивость к антибиотикам штаммов *Salmonella* в Санкт-Петербурге в 2014-18 гг. (доля устойчивых штаммов)

Фенотип	Всего (n=746)			<i>S. enteritidis</i> (n=594)			<i>S. typhimurium</i> (n=51)			<i>S. infantis</i> (n=28)			Другие серовары (n=73)		
	n	%	95% ДИ	n	%	95% ДИ	n	%	95% ДИ	n	%	95% ДИ	n	%	95% ДИ
Чувствительный	160	21,4	18,7-24,5	89	15,0	12,3-18,1	20	39,2	21,0-52,9	3	10,7	3,7-27,2	48	65,8	54,3-75,6
Устойчивый	586	78,6	75,5-81,3	505	85,0	81,9-87,7	31	60,8	47,1-73,0	25	89,3	72,8-96,3	25	34,2	24,4-45,7
Клинически значимая устойчивость к:															
Цефалоспори- нам расширен- ного спектра	12	1,6	0,9-2,8	8	1,3	0,7-2,6	3	5,9	2,0-15,9	0	0	0-12,1	1	1,4	0,2-7,4
Фторхиноло- нам	472	63,3	59,8-66,7	422	71,0	67,3-74,5	8	15,7	8,2-28,0	25	89,3	72,8-96,3	17	23,3	15,1-34,2
Множествен- ная	97	13,0	10,8-15,6	55	9,3	7,2-11,9	10	19,6	11,0-32,5	23	82,1	64,4-92,1	9	12,3	6,6-21,8
Устойчивость к другим антимикробным препаратам:															
Аминопени- циллинам	42	5,6	4,2-7,5	13	2,2	1,3-3,7	21	41,2	28,8-54,8	2	7,1	2,0-22,6	6	8,2	3,8-16,8
Аминоглико- зидам	8	1,1	0,5-2,1	3	0,5	0,2-1,5	9	17,6	3,6-30,3	1	3,6	0,6-17,7	2	2,7	0,8-9,5
Триметоприм/ сульфаметок- сазолу	47	6,3	4,8-8,3	17	2,9	1,8-4,5	9	17,6	9,6-30,3	17	60,7	42,4-76,4	4	5,5	2,2-13,3
Хлорамфени- колу	36	4,8	3,5-6,6	28	4,7	3,3-6,7	4	7,8	3,1-18,5	0	0	0-12,1	4	5,5	2,2-13,3
Тетрацикли- нам	97	13,0	10,8-15,6	45	7,6	5,7-10,0	19	37,3	25,3-51,0	22	78,6	60,5-89,8	11	15,1	8,6-25,0
Нитрофуран- ам	431	57,8	54,2-61,3	393	66,2	62,3-69,9	3	5,9	2,0-15,9	23	82,1	64,4-92,1	12	16,4	9,7-26,6

показатели (63,3 и 13,0% штаммов, соответственно) [7]. Устойчивость к ЦРС была сопоставима: 1,6% штаммов в Санкт-Петербурге и 1,9% – в странах Евросоюза. Несмотря на то, что в Санкт-Петербурге множественная устойчивость отмечена реже (13,0% штаммов по сравнению с 28,6%), тем не менее, у штаммов серовара *S. infantis* она достигала 82,1% штаммов по сравнению с 39,4% в странах Евросоюза. Такая разница обусловлена тем, что в РФ основной вклад в суммарные показатели устойчивости *Salmonella* вносит серовар *S. enteritidis*, тогда как в странах Евросоюза спектр выделяемых сероваров значительно шире и доля *S. enteritidis* не превышала 50,0% в 2017 г. [34].

Локализация детерминант резистентности обуславливает различия в показателях устойчивости штаммов различных сероваров. Гены, кодирующие продукцию бета-лактамаз, локализованы на плаزمиде, что позволяет им распространяться в штаммах вне зависимости от вида микроорганизма и серовара: так, устойчивость к ЦРС отмечена у штаммов различных сероваров. Напротив, устойчивость к хинолонам, обусловленная хромосомными мутациями, выявленная с высокой частотой у штаммов двух сероваров (*S. enteritidis* и *S. infantis*), вероятно является следствием клонального распространения в Санкт-Петербурге нескольких генетических линий, что косвенно подтверждается идентичными профилями множественной резистентности и идентичностью хромосомных мутаций у большинства штаммов *S. enteritidis* и *S. infantis*.

В 2017 г. Всемирная организация здравоохранения опубликовала список резистентных бактерий, представляющих угрозу для здоровья человека и требующих неотложной разработки новых АМП [35]. *Salmonella*, устойчивые к фторхинолонам (доля которых в Санкт-Петербурге превышает 60,0%), отнесены к высокому

уровню приоритетности. Мониторинг антибиотикорезистентности штаммов *Salmonella*, выделенных от человека, сельскохозяйственных животных, пищевых продуктов и внешней среды, должен быть неотъемлемой частью эпидемиологического надзора за сальмонеллезом в РФ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА (4–7, 13, 20–28, 31–35
см. REFERENCES)

- О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека; 2019. 254 с. Available at: <https://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-bлагополuchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf>
- Андреева И.В., Стецюк О.У. Отпуск без проблем: современные подходы к профилактике и лечению диареи путешественников. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018; 20(3):172-80.
- 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>
- Методические указания «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». МУК 4.2.1890-04. Утверждено Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200038583>
- Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Available at: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf>

10. Ахметова Л.И., Розанова С.М. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов шигелл и сальмонелл, выделенных в Екатеринбурге. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2000; 2(3): 58-62.
11. Милутина Л.Н., Гурьева О.В. Эволюция лекарственной резистентности сальмонелл, выделенных от детей, и ее клиническая значимость. *Лаборатория*. 2011; 3: 5-7.
12. Шитова О.И., Казьянин А.В., Захарова Ю.А. Эпидемиологические особенности, биологическая характеристика и чувствительность к антимикробным препаратам сальмонелл, циркулирующих в Пермском крае. *Сибирский медицинский журнал*. 2011; 26(2):116-20.
14. Елиусизова А.Б., Шубин Ф.Н., Кузнецова Н.А., Бахолдина С.И. Чувствительность к фторхинолонам сальмонелл в Сибири и на Дальнем Востоке. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2010; 4: 51-4.
15. Халиуллина С.В., Анохин В.А., Герасимова Е.С., Леонтьева Н.С., Малышева Л.М., Гутор И.А. Антибиотикорезистентность современных возбудителей внебольничных бактериальных кишечных инфекций у детей. *Практическая медицина*. 2010; 1(40): 85-8.
16. 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.
17. Решетнева И.Т., Перьянова О.В., Дмитриева Г.М., Остапова Т.С. Антибиотикорезистентность сальмонелл, выделенных на территории Красноярского края. *Гигиена и санитария*. 2015; 94 (2): 35-8.
18. Евмененкова И.Г., Мурач Л.В. Анализ резистентности штаммов *Salmonella* spp. к антибиотикам в Смоленском регионе за 2012-2017 гг. *Смоленский Медицинский Альманах*. 2018; 1: 93-6.
19. Кузнецова Н.А., Соловьева А.С., Раков А.В. Чувствительность к антибиотикам у штаммов *Salmonella Enteritidis*, циркулирующих на территории Сибири и Дальнего Востока, поданным многолетнего мониторинга. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2018; 3: 50-8.
29. Козырева В.К., Эйдельштейн М.В., Топальский Д.В., Азизов И.С., Козлов Р.С. Независимое приобретение резистентности к хинолонам у клонально-родственных нозокомиальных штаммов вследствие гипермутабельности. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2012; 14(2): 153-61.
30. Рожнова С.Ш., Акулова Н.К., Христюхина О.А. Этиологическая структура сальмонеллезов у детей раннего возраста. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015; 1(80): 56-8.
6. 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.
7. EFSA and ECDC, 2019. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2017. *EFSA Journal*. 2019;17 (2):5598, 278 pp. Available at: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5598>
8. Guidelines "Antimicrobial susceptibility testing of microorganisms". MUK 4.2.1890-04. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200038583>. (in Russian)
9. Guidelines "Antimicrobial susceptibility testing of microorganisms". Available at: <http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf>. (in Russian)
10. Ahmetova L.I., Rozanova S.M., Susceptibility to antimicrobials of Salmonellae and Shigellae isolated in Ekaterinburg. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2000; 2(3): 58-62. (in Russian)
11. 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)
12. Shitova O.I., Kaz'yanin A.V., Zakharova Yu.A. Epidemiological features, biological characteristics and antimicrobial susceptibility of Salmonella circulating in the Perm region. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*. 2011; 26(2):116-120. (in Russian)
13. Kozyreva V.K., Ilina E.N., Malakhova M.V., Carattoli A., Azizov I.S., Tapalski D.V. et al. Long-term dissemination of CTX-M-5-producing hypermutable Salmonella enterica serovar typhimurium sequence type 328 strains in Russia, Belarus, and Kazakhstan. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(9): 5202-10.
14. Eliusizova A.B., Shubin F.N., Kuznetsova N.A., Bakholdina S.I. Fluoroquinolone susceptibility of Salmonella in Siberia and the Far East. *Tikhookeanskiy meditsinskiy zhurnal*. 2010; 4: 51-4. (in Russian)
15. Khaliullina S.V., Anokhin V.A., Gerasimova E.S., Leont'eva N.S., Malysheva L.M., Gutor I.A. Antimicrobial resistance of modern pathogens of community-acquired bacterial intestinal infections in children. *Prakticheskaya meditsina*. 2010; 1(40): 85-8. (in Russian)
16. 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 infektologii*. 2015; 7(1): 80-6. (in Russian)
17. Reshetneva I.T., Per'yanova O.V., Dmitrieva G.M., Ostapova T.S. Antimicrobial resistance of Salmonella isolated in the Krasnoyarsk Territory. *Gigiena i sanitariya*. 2015; 94 (2): 35-8. (in Russian)
18. Evmenenkova I.G., Murach L.V. Analysis of resistance of strains of salmonella spp. To antibiotics in the Smolensk region for 2012-2017. *Smolenskiy Meditsinskiy Al'manakh*. 2018; 1: 93-6. (in Russian)
19. Kuznetsova N.A., Solovyeva A.C., Rakov A.V. Antibiotic resistance of Salmonella Enteritidis strains, circulated in territory of the Siberia and Far East, at multi-year monitoring. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya. Nauka*. 2018; 3: 50-8. (in Russian)
20. European Centre for Disease Prevention and Control. EU protocol for harmonised monitoring of antimicrobial resistance in human Salmonella and Campylobacter isolates – June 2016. Stockholm: ECDC; 2016. Available at: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-Salmonella-Campylobacter-harmonised-monitoring.pdf>
21. 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.
22. The EUCAST guideline on detection of resistance mechanisms v 2.0 (2017-07-11). Available at: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf
23. Dallenne C., Da Costa A., Decré D., Favier C., Arlet G. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important beta-lactamases in Enterobacteriaceae. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65(3): 490-5.
24. Weill F.X., Fabre L., Grandry B., Grimont P.A.D., Casin I. Multiple-antibiotic resistance in *Salmonella enterica* serotype Paratyphi B

REFERENCES

1. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2018: State report. M.: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-Being; 2019. 254p. Available at: <https://rosпотребнадзор.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno-epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf>. (in Russian)
2. Andreeva I.V., Stetsiuk O.U. Current approaches to prophylaxis and treatment of travelers' diarrhea. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2018; 20(3):172-80. (in Russian)
3. Guidelines for treatment of salmonellosis in children. Available at: <http://niidi.ru/dotAsset/6501246b-27f5-4d17-964d-7dc4defb8b43.pdf>. (in Russian)
4. 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.
5. 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. Gastroent. Nutr.* 2014;59(1):132-52.

- isolates collected in France between 2000 and 2003 is due mainly to strains harboring Salmonella genomic islands 1, 1-B, and 1-C. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005; 49(7): 2793-2801.
25. Robicsek A., Strahilevitz J., Sahm D.F., Jacoby G.A., Hooper D.C. Qnr prevalence in ceftazidime-resistant Enterobacteriaceae isolates from the United States. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(8): 2872-4.
 26. Cavaco L., Hasman H., Xia S., Aarestrup F. qnrD, a Novel Gene Conferring Transferable Quinolone Resistance in Salmonella enterica Serovar Kentucky and Bovismorbificans Strains of Human Origin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53(2):603-8.
 27. Wang M., Guo Q., Xu X., Wang X., Ye X., Wu S., et al. New plasmid-mediated quinolone resistance gene, qnrC, found in a clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2009; 53(5):1892-7.
 28. Park C.H., Robicsek A., Jacoby G.A., Sahm D., Hooper D.C. Prevalence in the United States of aac(6')-Ib-cr encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2006; 50(11): 3953-5.
 29. Kozyreva V.K., Edelstein M.V., Tapalski D.V., Azizov I.S., Kozlov R.S. Independent Acquisition of Quinolone Resistance in Clonally Related Nosocomial Strains of Salmonella Typhimurium Due to Hypermutability. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2012; 14(2):153-161. (in Russian)
 30. Rozhnova S.Sh., Akulova N.K., Khristukhina O.A. Etiological Structure Salmonellosis in toddlers. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika.* 2015; 1(80): 56-8. (in Russian)
 31. 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
 32. Tadesse G., Tessema T.S., Beyene G., Aseffa A. Molecular epidemiology of fluoroquinolone resistant Salmonella in Africa: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE.* 2018; 13(2):e0192575.
 33. McDermott P.F., Tyson G.H., Kabera C., Chen Y., Li C., Folster J.P., et al. Whole-genome sequencing for detecting antimicrobial resistance in nontyphoidal Salmonella. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016; 60: 5515–20.
 34. EFSA and ECDC (European Food Safety Authority and European Centre for Disease Prevention and Control), 2018. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2017. *EFSA Journal.* 2018;16(12):5500, 262.
 35. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. News Release 27.02.2017. Available at <http://www.who.int/ru/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

Поступила 01.10.2019
Принята к печати 08.10.19