

Давидович Н.В., Галиева А.С., Давыдова Н.Г., Малыгина О.Г., Кукалевская Н.Н., Симонова Г.В., Бажукова Т.А.

## СПЕКТР И ДЕТЕРМИНАНТЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ ОРАЛЬНЫХ СТРЕПТОКОККОВ

ФГБОУ ВО Северный государственный медицинский университет Минздрава РФ, 163000, г. Архангельск, Россия

*Профили чувствительности оральных стрептококков к антибактериальным препаратам могут отражать информацию о наличии у макроорганизма множества детерминант резистентности. Целью работы являлось выделение спектра оральных стрептококков из микробиоты ротовой полости пациентов и оценка их чувствительности к широкому перечню антибиотиков. Всего 342 микробных стрептококковых изолята были выделены из образцов слюны и отделяемого зубодесневого кармана и протестированы на антибиотикочувствительность. Видовая идентификация стрептококков проводилась с использованием биохимических тест-систем API. Оценка антибиотикорезистентности выполнялась с помощью E-тестов. Для выявления носительства генов устойчивости к тетрациклинам и макролидам применялся метод ПЦР в режиме реального времени. В ходе исследования было идентифицировано шесть видов оральных стрептококков: *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. anginosus* и *S. mutans*. Все стрептококки были чувствительны к линезолиду и меропенему. Доля пенициллин-резистентных стрептококков в подгруппе *S. oralis/mitis/mutans* составила 47,8% против 23,5% в подгруппе *S. salivarius/sanguinis/anginosus* ( $p=0,020$ ). Выявлялись значимые уровни резистентности к макролидам (эритромицин) – 47,9%, тетрациклинам (тетрациклин) – 44,4% и хинолонам (офлоксацин) – 41%. Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) была выявлена у 31,9% изолятов оральных стрептококков, доминировало сочетание устойчивости к эритромицину, тетрациклину и офлоксацину у 79 изолятов (23,1%). Наиболее распространенными генотипами устойчивости оральных стрептококков к макролидам и тетрациклину у 127 стрептококковых изолятов, проявляющих сочетанную устойчивость, были *ermB-mefE+* и *tetM+tetQ-* соответственно. Таким образом, в структуре антибиотикорезистентных оральных стрептококков преобладали стрептококки группы *S. oralis/mitis/mutans*, проявляя в том числе МЛУ. Так, находясь в одном из самых густонаселенных биотопов макроорганизма, оральные стрептококки могут являться посредниками для переноса детерминант резистентности более патогенным и клинически-значимым микроорганизмам, в связи с чем необходим тщательный мониторинг за уровнем их восприимчивости к антимикробным препаратам.*

**Ключевые слова:** микробиота полости рта, оральные стрептококки, профили чувствительности, детерминанты антибиотикорезистентности.

**Для цитирования:** Давидович Н.В., Галиева А.С., Давыдова Н.Г., Малыгина О.Г., Кукалевская Н.Н., Симонова Г.В., Бажукова Т.А. Спектр и детерминанты резистентности клинических изолятов оральных стрептококков. Клиническая лабораторная диагностика. 2020; 65 (10): 632-637. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-10-632-637>

*Davidovich N.V., Galieva A.S., Davydova N.G., Malygina O.G., Kukalevskaya N.N., Simonova G.V., Bazhukova T.A.*

SPECTRUM AND RESISTANCE DETERMINANTS OF ORAL STREPTOCOCCI CLINICAL ISOLATES

FSBEI HE Northern State Medical University (Arkhangelsk) of the Ministry of Health of the Russian Federation, 163000, Arkhangelsk, Russia

*The profiles of oral streptococci sensitivity to antibacterial drugs may reflect information about the presence of macroorganism resistance determinants. The aim of the work was to isolate the spectrum of oral streptococci from the microbiota of the oral cavity of patients and to determine their sensitivity to a wide range of antibiotics. A total of 342 microbial streptococcal isolates were isolated from saliva samples and a periodontal pocket and tested for antibiotic sensitivity. Species identification of streptococci was carried out using biochemical API test systems. Evaluation of antibiotic resistance was performed using E-tests. Real-time PCR was used to identify the presence of tetracycline and macrolide resistance genes. The study identified six types of oral streptococci: *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. anginosus* and *S. mutans*. All streptococci were sensitive to linezolid and meropenem. The proportion of penicillin-resistant streptococci in the subgroup *S. oralis / mitis / mutans* was 47,8% versus 23,5% in the subgroup *S. salivarius / sanguinis / anginosus* ( $p = 0.020$ ). Significant levels of resistance were revealed to macrolides (erythromycin) – 47,9%, tetracyclines (tetracycline) – 44,4% and quinolones (ofloxacin) – 41%. Multiple drug resistance (MDR) was detected in 31,9% of oral streptococcal isolates, a combination of erythromycin, tetracycline and ofloxacin resistance was prevalent in 79 isolates (23,1%). The most common genotypes of macrolides and tetracycline resistant oral streptococci (in 127 streptococcal isolates with combined resistance) were *ermB-mefE+* and *tetM+tetQ-*, respectively.*

*Thus, *S. oralis / mitis / mutans* group streptococci predominated in the structure of antibiotic-resistant oral streptococci, including MDR. So, being in one of the most densely populated biotopes of a macroorganism, oral streptococci can mediate the transfer of resistance determinants to more pathogenic and clinically significant microorganisms, which requires careful monitoring of their level of susceptibility to antimicrobial agents.*

**Key words:** oral microbiota, oral streptococci, sensitivity profiles, determinants of antibiotic resistance.

**For citation:** Davidovich N.V., Galieva A.S., Davydova N.G., Malygina O.G., Kukalevskaya N.N., Simonova G.V., Bazhukova T.A. Spectrum and resistance determinants of oral streptococci clinical isolates. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65 (10): 632-637 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-10-632-637>

**For correspondence:** Davidovich Nataliia Valerievna, candidate of medical sciences, associate professor of the Department of Clinical Biochemistry, Microbiology and Laboratory Diagnostics; e-mail: [nvdavidovich@gmail.com](mailto:nvdavidovich@gmail.com)

**Information about authors:**

Davidovich N.V., <https://orcid.org/0000-0002-6414-9870>;  
Galieva A.S., <http://orcid.org/0000-0002-7037-7730>;  
Davydova N.G., <http://orcid.org/0000-0002-0700-4261>;  
Malygina O.G., <http://orcid.org/0000-0002-3822-796X>;  
Kukalevskaya N.N., <https://orcid.org/0000-0003-3371-1485>;  
Simonova G.V., <http://orcid.org/0000-0003-4041-7217>;  
Bazhukova T.A., <https://orcid.org/0000-0002-7890-2341>.

**Conflict of interests.** *The authors declare the absence of conflict of interests.*

**Acknowledgment.** *The study is supported by the project «Norwegian-Russian network in antimicrobial stewardship in dental practice in the Circumpolar Region» (project leader – associate professor of Department of Clinical Dentistry, Arctic University in Tromsø, PhD, FHEA Mohammed A. Haroni).*

Received 13.03.2020  
Accepted 15.05.2020

**Введение.** Представители рода *Streptococcus* «viridans» (оральные стрептококки) являются одними из основных комменсальных микроорганизмов, колонизирующих верхние дыхательные пути, превалируя в микробиоте ротовой полости [1]. Оральные стрептококки, в среднем, составляют 28% микроорганизмов, выделенных из зубного налета, 29% из десневой борозды, 45% с корня языка и 46% из слюны [2]. Видовое распределение стрептококков по биотопам полости рта представлено следующим образом: *S. salivarius* на корне языка, *S. mitis* на слизистой оболочке щек, *S. oralis* в слюне, *S. mutans* и *S. sanguinis* на поверхности зубов [3, 4].

Факторы агрессии оральных стрептококков – внеклеточные полисахариды, особенно декстран, играют важную роль в адгезии и инвазии, приводя к развитию тяжелых инфекций, в том числе инфекционного эндокардита, пневмонии, инфекционно-токсического шока (преимущественно у иммунокомпрометированных лиц) [5]. Кроме того, некоторые виды стрептококков группы «viridans», такие как *S. mutans*, имеют высокую ассоциированность с развитием кариеса. Данный микроорганизм в раннем возрасте передается от матери к ребенку вертикальным или горизонтальным путем. Лабораторные эксперименты демонстрируют, что кариес у животных развивается только после заселения безмикробной полости *S. mutans* и только в присутствии сахарозы. Кариогенные свойства *S. mutans* связаны с его способностью к адгезии и выработке кислоты из пищевых сахаров [6].

В последнее время внимание исследователей сосредоточено на изучении важнейших предпосылок появления и распространения антибиотикорезистентности в том числе среди микроорганизмов полости рта [7]. Хотя оральные стрептококки изначально считались чувствительными к пенициллину, уже с 1962 г. появились первые сообщения о штаммах, проявляющих к нему резистентность при исследовании десневой микрофлоры пациентов, получавших профилактику пенициллином при ревматической лихорадке [8]. В последние годы регистрировались высокие уровни резистентности оральных стрептококков к пенициллину и другим бета-лактамам антибиотикам, а также к макролидам, тетрациклинам и аминогликозидам, в то время как к устойчивым к хлорамфениколу и ванкомицину были отнесены лишь редкие изоляты [9].

Важнейшим триггером к распространению генов резистентности является способность оральных стрептококков обмениваться генетическим материалом с другими бактериями, колонизирующими те же или иные

биотопы организма [10]. В свою очередь, профили резистентности стрептококков группы «viridans» могут являться маркерами чувствительности близкородственных бактерий к различным классам антибактериальных препаратов. Поэтому, целью нашего исследования стало выявление оральных стрептококков из микробиоты ротовой полости пациентов и оценка их чувствительности к широкому спектру антибиотиков.

**Материал и методы.** Всего 342 микробных стрептококковых изолята были выделены и протестированы на антибиотикочувствительность в ходе исследования образцов слюны и отделяемого зубодесневого кармана 91 пациента в возрасте от 29 до 52 лет (из которых 29% мужчин и 71% женщин), в последние три месяца не осуществлявших прием антибактериальных препаратов. Взятие биологического материала проводилось при первичном посещении стоматолога. От каждого пациента было получено добровольное информированное согласие.

Образцы слюны в объеме 1,0 мл были забраны у всех обследованных после предварительного полоскания рта физиологическим раствором в пробирки типа «Эппендорф» объемом 2,0 мл. Взятие материала из зубодесневого кармана осуществлялось с помощью бумажного эндодонтического штифта, который помещали в зубодесневую борозду или карман на 30 секунд для сорбции жидкой части, а затем переносили в пробирку типа «Эппендорф» с транспортной средой Стюарта (Pronadisa, Conda, Испания) в объеме 0,5 мл. Доставка материала в лабораторию осуществлялась в термоконтейнере в течение 1-2 часов.

Микробиологические методы включали идентификацию оральных стрептококков в соответствии со стандартными методиками [11, 12], включающими определение культуральных и морфологических свойств колоний, выросших на колумбийском кровяном агаре с добавлением селективной стрептококковой добавки (HiMedia Laboratories, Индия). Видовая биохимическая дифференцировка стрептококков группы viridans была проведена с помощью набора для идентификации Streptococcaceae и родственных микроорганизмов API 20 Strep (BioMérieux, Франция).

Чувствительность выделенных стрептококков определяли к широкому спектру антибактериальных препаратов: пенициллин (P), цефотаксим (CTX), цефтриаксон (CRO), меропенем (MEP), эритромицин (E), тетрациклин (TE), клиндамицин (CD), офлоксацин (OFX), триметоприм-сульфаметоксазол (SXT), линезолид (LNZ), с помощью E-тестов (The Liofilchem MIC Test Strips, Ита-

Видовое разнообразие стрептококков, выделенных из двух биотопов полости рта

Вид орального стрептококка	Количество выделенных изолятов по биотопам (доля от общего числа выделенных стрептококков)		Всего выделено изолятов (доля от общего числа выделенных стрептококков) (n=342)
	Слюна (n=217)	Отделяемое ЗДК (n=125)	
<i>S. oralis</i>	62 (18,13%)	14 (4,09%)	76 (22,22%)
<i>S. salivarius</i>	56 (16,37%)	18 (5,26%)	74 (21,63%)
<i>S. mitis</i>	51 (14,91%)	21 (6,14%)	72 (21,05%)
<i>S. sanguinis</i>	25 (7,31%)	23 (6,73%)	48 (14,04%)
<i>S. anginosus</i>	12 (3,51%)	28 (8,19%)	40 (11,7%)
<i>S. mutans</i>	11 (3,22%)	21 (6,14%)	32 (9,36%)

Примечание. ЗДК – зубодесневой карман.

лия) согласно инструкциям к наборам. Категоризацию минимальной подавляющей концентрации антибиотика проводили согласно критериям Глобальных лабораторных стандартов CLSI, 2019 [13,14].

Для выявления носительства генов устойчивости к тетрациклину и макролидам применялся метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РТ-ПЦР) в соответствии с инструкциями к наборам производителя (Thermo Fisher Scientific, США).

Статистическая обработка полученных результатов, оценка распределения показателей, сравнительный анализ выборок проведен с помощью пакета программ для статистической обработки данных STATA 2.0 (Stata Corp, TX, USA). Для сравнения долей использовали z-критерий. Различие между сравниваемыми величинами признавалось достоверным при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** В ходе микробиологического обследования было выделено 342 микробных изолята стрептококков группы *viridans*, из которых 217 из слюны, 125 – из отделяемого зубодесневого кармана. Среди них было идентифицировано 6 видов оральных стрептококков: *S. oralis* (76 изолятов), *S. salivarius* (74 изолята), *S. mitis* (72 изолята), *S. sanguinis* (48 изолятов), *S. anginosus* (40 изолятов) и *S. mutans* (32 изолята). Видовое разнообразие оральных стрептококков и их распределение по биотопам полости рта представлено в табл. 1.

При исследовании чувствительности выделенных изолятов к группам антибактериальных препаратов стрептококки были разделены на две подгруппы, имеющие схожие профили чувствительности. Так, группа *S. oralis*, *S. mitis* и *S. mutans* (n=180) отличалась большей устойчивостью к антибиотикам, чем группа *S. salivarius*, *S. sanguinis* и *S. anginosus* (n=162).

Спектр чувствительности оральных стрептококков к десяти антимикробным препаратам различных групп представлен в табл. 2. Все исследованные стрептококки были чувствительны к линезолиду и меропенему, также все изоляты, за исключением двух (0,6%), обладали чувствительностью к цефотаксиму. Более 88% изолятов были чувствительны к клиндамицину, доля цефтриаксон-чувствительных изолятов составила 80,1%. Чувствительность к пенициллину наблюдалась только у 181 изолята стрептококков (52,9%), при этом доля пенициллин-резистентных стрептококков в подгруппе *S. oralis/mitis/mutans* составила 47,8% против 23,5% в подгруппе *S. salivarius/sanguinis/anginosus* ( $p=0,020$ ). У выделенных стрептококков выявлялись значимые уровни резистентности к макролидам (эритромицин) – 47,9%, тетрациклину (тетрациклин) – 44,4% и хинолонам

(офлоксацин) – 39,5%. При этом доли E-, TE- и OFX-резистентных изолятов в подгруппе *S. oralis/mitis/mutans* были соответственно в 1,4; 2,5 и 1,9 раз выше, чем в подгруппе *S. salivarius/sanguinis/anginosus* ( $p=0,036$ ;  $p=0,011$ ;  $p=0,018$  соответственно). Уровень резистентности к триметоприму-сульфаметоксазолу также был выше у подгруппы *S. oralis/mitis/mutans* – 26,7% против 6,8% ( $p=0,032$ ).

Множественная лекарственная устойчивость (МЛУ – снижение чувствительности или резистентность к трем и более группам антибиотиков) была выявлена у 31,9% изолятов оральных стрептококков. При этом доминировало сочетание устойчивости к эритромицину, тетрациклину и офлоксацину у 79 изолятов (23,1 %) в сочетании с устойчивостью к пенициллину (выявлена у 56 изолятов) или без нее. Два изолята (*S. oralis* и *S. mitis*) проявляли устойчивость сразу к семи антибактериальным препаратам, включая пенициллин, цефалоспорины (цефтриаксон и цефотаксим), эритромицин, тетрациклин, клиндамицин и офлоксацин. При этом для изолята *S. mitis* минимальные подавляющие концентрации пяти антибактериальных препаратов находились за верхними референтными границами определения (СТХ>32, E>256, TE>256, CD>256, OFX>32 мкг/мл). Доля МЛУ-изолятов подгруппы *S. oralis/mitis/mutans* была на 47% выше по сравнению с подгруппой *S. salivarius/sanguinis/anginosus* (41,1% и 21,6% соответственно,  $p=0,048$ ) (табл. 2).

При определении молекулярно-генетических маркеров устойчивости к макролидам и тетрациклину было исследовано носительство генов *ermB*, *mefE*, *tetM* и *tetQ* у 127 стрептококковых изолятов, проявляющих сочетанную устойчивость к эритромицину и тетрациклину. В отношении устойчивости к макролидам, наиболее распространенными комбинациями генов были *ermB-mefE+* и *ermB+mefE+* у 68 (53,5%) и 32 изолятов (25,2%) *S. oralis/mitis/mutans* соответственно. Комбинация *ermB+mefE-* была обнаружена только у 2 изолятов (1,6%), тогда как 15 (11,8%) эритромицин-устойчивых изолятов оральных стрептококков были *ermB-* и *mefE-* негативными (табл. 3).

За устойчивость к тетрациклину отвечала комбинация *tetM+tetQ-* (88,19%). Комбинация *tetM-tetQ+* была выявлена у 8 изолятов (6,3%), тогда как *tetM-* и *tetQ-* негативными были 7 (5,51%) изолятов (табл. 3).

**Обсуждение.** Бактерии, принадлежащие к роду *Streptococcus* являются первыми колонизаторами полости рта, играя важную роль в формировании микробной экосистемы. Оральные стрептококки продуцируют ряд



Чувствительность оральных стрептококков к спектру антибактериальных препаратов

АБ	Категория МПК, мкг/мл	<i>S. oralis/mitis/ mutans</i> (n=180)	<i>S. salivarius/ sanguinis/ anginosus</i> (n=162)	Всего (n=342)
P	S (≤0,12)	76 (42,2%)	105 (64,8%)	181 (52,9%)
	I (0,25-2)	18 (10%)	19 (11,7%)	37 (10,8%)
	R (>4)	<b>86 (47,8%)<sup>1</sup></b>	38 (23,5%)	<b>124 (36,3%)</b>
CTX	S (≤1)	178 (98,9%)	162 (100%)	340 (99,4%)
	R (>4)	2 (1,1%)	-	2 (0,6%)
CRO	S (≤1)	131 (72,8%)	143 (88,3%)	274 (80,1%)
	I (2)	11 (6,1%)	15 (9,2%)	26 (7,6%)
	R (≥4)	<b>38 (21,1%)<sup>2</sup></b>	4 (2,5%)	42 (12,3%)
MEP	S (≤2)	180 (100%)	162 (100%)	342 (100%)
E	S (≤0,25)	27 (15%)	57 (35,2%)	84 (24,6%)
	I (0,5)	52 (28,9%)	42 (25,9%)	94 (27,5%)
	R (>1)	<b>101 (56,1%)<sup>3</sup></b>	<b>63 (38,9%)</b>	<b>164 (47,9%)</b>
TE	S (≤2)	19 (10,6%)	91 (56,2%)	110 (32,2%)
	I (4)	49 (27,2%)	30 (18,5%)	79 (23,1%)
	R (>8)	<b>112 (62,2%)<sup>4</sup></b>	41 (25,3%)	<b>153 (44,4%)</b>
CD	S (≤0,25)	157 (87,2%)	147 (90,7%)	304 (88,9%)
	R (>1)	23 (12,8%)	15 (9,3%)	38 (11,1%)
OFX	S (≤2)	43 (23,89%)	77 (47,53%)	120 (35,09%)
	I (4)	46 (25,55%)	41 (25,3%)	87 (25,44%)
	R (>8)	<b>91 (50,56%)<sup>5</sup></b>	<b>44 (27,17%)</b>	<b>135 (39,47%)</b>
SXT	S (≤1)	92 (51,1%)	102 (63%)	194 (56,7%)
	I (2)	40 (22,2%)	49 (30,2%)	89 (26%)
	R (≥2)	48 (26,7%) <sup>6</sup>	11 (6,8%)	59 (17,3%)
LNZ	S (≤2)	180 (100%)	162 (100%)	342 (100%)
MJU		<b>74 (41,1%)<sup>7</sup></b>	<b>35 (21,6%)</b>	<b>109 (31,9%)</b>

Примечание. Жирным цветом выделены значимые уровни резистентности. АБ – антибактериальный препарат; МПК – минимальная подавляющая концентрация; S – чувствительный; I – со сниженной чувствительностью; R – резистентный; MJU – множественная лекарственная устойчивость. <sup>1</sup>p=0,020; <sup>2</sup>p=0,015; <sup>3</sup>p=0,036; <sup>4</sup>p=0,011; <sup>5</sup>p=0,018; <sup>6</sup>p=0,032; <sup>7</sup>p=0,048 в сравнении с *S. salivarius/sanguinis/anginosus*.

Таблица 3

Генотипы устойчивости оральных стрептококков к макролидам и тетрациклину.

Генотипы устойчивости оральных стрептококков	Вид оральных стрептококков		Всего: (n=127)
	<i>S. oralis/mitis/mutans</i>	<i>S. salivarius/ sanguinis/ anginosus</i>	
К макролидам:			
ermB+mefE+	32 (25,2%)	4 (3,2%)	36 (28,4%)
ermB+mefE-	2 (1,6%)	0	2 (1,6%)
ermB-mefE+	68 (53,5%)	6 (4,72%)	74 (58,2%)
ermB-mefE-	12 (9,4%)	3 (2,4%)	15 (11,8%)
К тетрациклину:			
tetM+tetQ-	98 (77,17%)	14 (11,02%)	112 (88,19%)
tetM-tetQ+	7 (5,51%)	1 (0,79%)	8 (6,3%)
tetM-tetQ-	2 (1,57%)	5 (3,94%)	7 (5,51%)

адгезивных молекул, позволяющих им заселять различные биотопы ротовой полости [1]. В нашем исследовании было идентифицировано шесть видов оральных стрептококков: *S. oralis*, *S. salivarius*, *S. mitis*, *S. sanguinis*, *S. anginosus* и *S. mutans*, большая часть которых (63,5%) выделена из слюны. Выделение *Streptococcus mutans*, обладающего способностью метаболизировать углеводы путем ферментации, в результате чего образуются кислоты в качестве побочных продуктов, напрямую

связано с риском развития кариеса. С другой стороны, выделенный *Streptococcus salivarius* производит большое количество щелочного вещества, которое играет важную роль в кислотно-щелочной физиологии полости рта, поддерживая микробиоту в состоянии динамического равновесия. Таким образом, выделенные оральные стрептококки вносят определенный вклад в формирование и стабилизацию микробиоты полости рта, участвуя, в том числе, в формировании колонизационной резистентности слизистых оболочек.

Принимая во внимание данные исследований последних десятилетий, свидетельствующих о неуклонном росте числа устойчивых к антибиотикам штаммов стрептококков [15], нами была исследована чувствительность оральных стрептококковых изолятов к ряду антибактериальных препаратов. Так, в структуре антибиотикоустойчивых доминировали стрептококки групп *oralis*, *mitis* и *mutans*, 47,8% изолятов которых были устойчивы к пенициллину, 56,1% к эритромицину, 50,6% к офлоксацину, и 62,2% к тетрациклину, что коррелирует с данными исследований других авторов [16,17], в то время как стрептококки групп *salivarius*, *sanguinis* и *anginosus* обладали большей восприимчивостью к антимикробным препаратам. Все исследованные стрептококки были чувствительны к линезолиду и меропенему, вероятно, в связи с тем, что данные антибиотики обладают более высоким потенциалом формирования резистентности и не так широко применяются в клинической практике. Наибольшую опасность, на наш взгляд, вызывает вы-

деление множественно-лекарственно-устойчивых изолятов оральных стрептококков: 41,1% в подгруппе *S. oralis/mitis/mutans*. В настоящее время выявление МЛУ-изолятов наблюдается исследователями при изучении различных видов стрептококков: оральных стрептококков [9] стрептококков группы А [18-21], стрептококков групп С и G [22].

Данная устойчивость, вероятно, выявляется в связи с тем, что полость рта является ведущим резервуаром переносимых генов устойчивости к антибиотикам [23-26], включая гены, кодирующие устойчивость к макролидам [27], бета-лактамам и тетрациклинам [28]. Высокие уровни невосприимчивости оральных стрептококков к макролидам (47,9% устойчивых изолятов) и тетрациклину (44,4% устойчивых изолятов), выявленные в нашем исследовании, могут быть объяснены адаптацией бактерий к селективному действию антибактериальных препаратов за счет определенных механизмов резистентности. Основными механизмами устойчивости к макролидным антибиотикам являются модификация мишени и активный эффлюкс. В первом случае экспрессия рибосомальной метилазы, кодируемой геном *ermB* (метилаза устойчивости к эритромицину), приводит к изменению сайтов-мишеней субъединицы 23S рРНК. Мутации этого типа, называемые «тип MLSB» (тип макролид-линкозамид-стрептограмин В), ответственны за высокий уровень устойчивости к макролидам. Носительство гена *ermB* в нашем исследовании было выявлено у 38 изолятов (30%). Тогда как второй механизм устойчивости – активный АТФ-зависимый эффлюкс антибиотика из бактериальной клетки кодируется геном *mefE*, выявленном у 89 изолятов (70%). Преобладающим генотипом устойчивости к эритромицину у оральных стрептококков был *ermB-mefE+*, выявленный у 74 изолятов (58,2%).

Одним из наиболее распространенных генов устойчивости к тетрациклину в оральных изолятах и метагеномах является *tetM* [29]. Этот ген кодирует белок, противостоящий ингибированию синтеза рибосомального белка антибиотиком. Широкое распространение *tetM* часто связывают с его ассоциацией с мобильными генетическими элементами из семейства конъюгативных транспозонов Tn916-Tn1545 / интегративных конъюгативных элементов [30–32]. Большая часть исследованных нами тетрациклин-устойчивых изолятов (88,19%) обладала генотипом *tetM+tetQ-*. Однако у нескольких стрептококков был выявлен ген устойчивости к тетрациклину *tetQ*, а несколько изолятов были *tetM* и *tetQ* негативными, свидетельствуя о возможном наличии других детерминант резистентности.

Таким образом, оральные стрептококки, находясь в одном из самых густонаселенных биотопов человеческого организма, могут являться посредниками для переноса детерминант резистентности более патогенным и клинически-значимым микроорганизмам, в связи с чем необходим тщательный мониторинг за уровнем их восприимчивости к антимикробным препаратам.

**Финансирование.** Работа поддержана проектом «Норвежско-российские связи в области антимикробного управления в стоматологической практике в Приполярной области» (руководитель проекта – доцент института клинической стоматологии Арктического университета Норвегии (г. Тромсе) Мухаммед Ал Харони).

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

ЛИТЕРАТУРА ( пп. 1-8,10-17, 19-21, 23-32  
см. REFERENCES )

9. Маянский Н.А., Кварчия А.З., Бржозовская Е.А., Пономаренко О.А., Крыжановская О.А., Куличенко Т.В. Видовое разнообразие и чувствительность к антибиотикам оральных стрептококков, выделенных у детей. *Российский педиатрический журнал*. 2019; 22(3): 153-61.
18. Брико Н.И., Дмитриева Н.Ф., Клейменов Д.А., Липатов К.В., Глушкова Е.В., Котин В.В. Чувствительность к антибиотикам стрептококков группы А различных *emm* генотипов, выделенных от больных инвазивными и неинвазивными инфекциями мягких тканей. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17(1): 67-72.
22. Ильясов Ю.Ю., Лыгина Е.С., Дмитриев А.В. Спектр антибиотикорезистентности клинических изолятов стрептококков групп С и G, патогенных для человека. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2013; 15(3):235-8.

REFERENCES

1. Abranches J., Zeng L., Kajfasz J.K., Palmer S.R., Chakraborty B., Wen Z.T. et al. Biology of Oral Streptococci. *Microbiol. Spectr.* 2018; 6(5):10.
2. Wade W.G. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol. Res.* 2013; 69:137-43.
3. Giannobile W.V., Wong D.T. Salivary diagnostics: oral health and beyond! *J. Dent. Res.* 2011; 90:1153-4.
4. Yoshizawa J.M., Schafer C.A., Schafer J.J., Farrell J.J., Paster B.J., Wong D.T. Salivary biomarkers: toward future clinical and diagnostic utilities. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013; 26:781-91.
5. Willenborg J., Goethe R. Metabolic traits of pathogenic streptococci. *FEBS Lett.* 2016; 590:3905-19.
6. Cornejo O.E., Lefebvre T., Bitar P.D., Lang P., Richards V.P., Eilertson K. et al. Evolutionary and population genomics of the cavity causing bacteria *Streptococcus mutans*. *Mol. Biol. Evol.* 2013; 30:881-93.
7. Warburton P.J., Ciric L., Lerner A., Seville L.A., Roberts A.P., Mullany P. TetAB46, a predicted heterodimeric ABC transporter conferring tetracycline resistance in *Streptococcus australis* isolated from the oral cavity. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013 Jan;68(1):17-22.
8. Naiman R.A., Barrow J.G. Penicillin-resistant bacteria in the mouths and throats of children receiving continous prophylaxis against reumatic fever. *Ann. Intern. Med.* 1963; 58:768-72.
9. Mayanskiy N.A., Kvarchiya A.Z., Brzhozovskaya E.A., Ponomarenko O.A., Kryzhanovskaya O.A., Kulichenko T.V. Species diversity and antibiotic sensitivity of oral streptococci isolated in children. *Rossiyskiy pediatricheskiy zhurnal*. 2019; 22(3): 153-61. (in Russian)
10. Lunde T.M., Roberts A.P., Al-Haroni M. Determination of copy number and circularization ratio of Tn916-Tn1545 family of conjugative transposons in oral streptococci by droplet digital PCR. *J. Oral. Microbiol.* 2018; 11(1):1552060.
11. Murray P.R., Baron E. J., Jorgensen J.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press: Washington, DC. 2003. Updated March, 2014.
12. CLSI. Quality Control for Commercial Microbial Identification Systems. Approved Guideline. CLSI document M50-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008.
13. Romney M. H., April N. A., Janet A. H. Understanding and Addressing CLSI Breakpoint Revisions: a Primer for Clinical Laboratories. *Journal of Clinical Microbiology*. 2019, 57 (6) e00203-19; DOI: 10.1128/JCM.00203-19.
14. CLSI M100 ED29:2019 – Performance standards for Antimicrobial susceptibility Testing, 29th ed.
15. Richter S.S., Howard W.J., Weinstein M.P. Multicenter evaluation of the BD Phoenix automated microbiology system for antimicrobial susceptibility testing of *Streptococcus* species. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(9):2863-71.
16. Chun S., Huh H.J., Lee N.Y. Species-specific difference in antimicrobial susceptibility among viridans group streptococci. *Ann. Lab. Med.* 2015; 35(2): 205-11.

17. Nielsen M.J., Claxton S., Pizer B., Lane S., Cooke P., Paulus S. Viridans Group Streptococcal Infections in children after che-motherapy or Stem cell Transplantation: a 10-year review from a Tertiary Pediatric hospital. *Medicine (baltimore)*. 2016; 95(9): e2952.
18. Briko N.I., Dmitrieva N.F., Kleymentov D.A., Lipatov K.V., Glushkova E.V., Kotin V.V. Sensitivity to antibiotics of group A streptococci of various emm genotypes isolated from patients with invasive and non-invasive infections of soft tissues. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2015; 17(1): 67-72. (in Russian)
19. Peter C.A. Resistance among *Streptococcus pneumoniae*: Implications for Drug Selection. *Clinical Infectious Diseases*. 2002; 34(12):1613–20.
20. Tantivitayakul P., Lapirattanakul J., Vichayanrat T., Muadchiengka T. Antibiotic Resistance Patterns and Related Mobile Genetic Elements of Pneumococci and  $\beta$ -Hemolytic Streptococci in Thai Healthy Children. *Indian Journal of Microbiology*. 2016; 56(4):417-25.
21. Bhardwaj N., Mathur P., Behera B., Mathur K., Kapil A., Misra M.C. Antimicrobial resistance in beta-haemolytic streptococci in India: A four-year study. *Indian J. Med. Res.* 2018; 147(1):81-7.
22. Il'yasov Yu.Yu., Lygina E.S., Dmitriev A.V. The spectrum of antibiotic resistance of clinical isolates of group C and G streptococci pathogenic for humans. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2013; 15(3):235-8. (in Russian)
23. Kim S.M., Kim H.C., Lee S.W.S. Characterization of antibiotic resistance determinants in oral biofilms. *J. Microbiol.* 2011;49(4):595–602.
24. Roberts A.P, Mullany P. Oral biofilms: a reservoir of transferable, bacterial, antimicrobial resistance. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2010;8(12):1441–50.
25. Roberts A.P., Mullany P. Tn916-like genetic elements: a diverse group of modular mobile elements conferring antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2011;35(5):856–71.
26. Seville L.A., Patterson A.J., Scott K.P. Distribution of tetracycline and erythromycin resistance genes among human oral and fecal metagenomic DNA. *Microb. Drug Resist.* 2009;15(3):159–66.
27. Chang S.C., Chang H.J., Lai M.S. Antibiotic usage in primary care units in Taiwan. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 1999; 11(1):23–30.
28. Ioannidis I., Sakellari D., Spala A. Prevalence of tetM, tetQ, nim and blaTEM genes in the oral cavities of Greek subjects: a pilot study. *J. Clin. Microbiol.* 2009;36(7):569–74.
29. Lancaster H., Bedi R., Wilson M. The maintenance in the oral cavity of children of tetracycline-resistant bacteria and the genes encoding such resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 2005;56(3):524–31.
30. Frazzon A.P. Gama B.A., Hermes V. Prevalence of antimicrobial resistance and molecular characterization of tetracycline resistance mediated by tet (M) and tet (L) genes in *Enterococcus* spp. isolated from food in Southern Brazil. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2010; 26(2):365–70.
31. Roberts M.C. Update on acquired tetracycline resistance genes. *FEMS Microbiol. Lett.* 2005;245(2):195–203.
32. Tong J., Lu X., Zhang J. Occurrence of antibiotic resistance genes and mobile genetic elements in enterococci and genomic DNA during anaerobic digestion of pharmaceutical waste sludge with different pretreatments. *Bioresour Technol.* 2017; 235:316–24.

Поступила 13.03.20

Принята к печати 15.03.20