

УДК 579.842.14:546.16(571.1/.5.6)

## ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К ФТОРХИНОЛОМ САЛЬМОНЕЛЛ В СИБИРИ И НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

А.Б. Елиусизова<sup>1</sup>, Ф.Н. Шубин<sup>1</sup>, Н.А. Кузнецова<sup>1</sup>, С.И. Бахолдина<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1),

<sup>2</sup> Тихоокеанский институт биоорганической химии ДВО РАН (690022 г. Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159)

**Ключевые слова:** хинолоны, фторхинолоны, сальмонеллы, чувствительность.

Изучена чувствительность к ципрофлоксацину штаммов *Salmonella* Enteritidis, выделенных от 785 больных в 1989–2008 гг. на различных административных территориях Сибири и Дальнего Востока. Показано, что в течение 1989–2000 гг. в Приморском крае среди населения циркулировали высокочувствительные к ципрофлоксацину штаммы микроба (минимальная подавляющая концентрация – 0,019–0,039 мг/л). Начиная с 2003 г. в Приморском крае и в других субъектах Российской Федерации в Сибири и на Дальнем Востоке появились штаммы микроба со сниженной в 8–16 и более раз чувствительностью к ципрофлоксацину, но резистентных к препарату штаммов сальмонелл обнаружено не было. Сформулировано положение о том, что в основе появления в Приморском крае штаммов *S. Enteritidis* со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину лежит завоз возбудителя из других регионов.

Заболеемость населения сальмонеллезом, вызванным *Salmonella enterica* subsp *enterica* серотип Enteritidis (*S. Enteritidis*), является мировой проблемой. Появление первых препаратов группы хинолонов привлекло внимание клиницистов, поскольку хинолоны оказались эффективными при лечении сальмонеллеза, особенно его генерализованных форм. Затем появились фторхинолоны, обладающие гораздо большей активностью в отношении широкого спектра грамотрицательных и некоторых грамположительных микроорганизмов. Золотым стандартом фторхинолонов второго поколения стал ципрофлоксацин, который с большим успехом используется для лечения многих инфекций, и при этом его минимальная подавляющая концентрация (МПК) для различных штаммов микроба составляет 0,016–0,12 мг/л [8]. Как и все фторхинолоны, ципрофлоксацин действует бактерицидно благодаря ингибированию ферментов класса топоизомераз – ДНК-гиразы и топоизомеразы IV, что нарушает процессы роста и деления бактериальной клетки и приводит к ее гибели [10].

Новая проблема возникла в связи с распространением резистентных к хинолонам штаммов сальмонелл. Особенность ее формирования к налидиксовой кислоте состоит в том, что у микробов одновременно в 8–16 раз снижается чувствительность к ципрофлоксацину. Таким образом, резистентность к налидиксовой кислоте стала маркером снижения чувствительности сальмонелл к ципрофлоксацину и другим фторхинолонам [8].

В течение последнего десятилетия появился ряд сообщений из стран Западной Европы и Юго-Восточ-

ной Азии о формировании штаммов сальмонелл, резистентных к налидиксовой кислоте и низкокочувствительных или даже резистентных к ципрофлоксацину [5–9]. Например, в Испании в 1998 г. 31 % штаммов *S. Enteritidis*, изолированных от людей, и 23 % штаммов, выделенных из пищевых продуктов, оказались резистентными к налидиксовой кислоте [6]. Особенно высокая доля резистентных штаммов выявлена у *S. Hadar*. Резистентными к налидиксовой кислоте был 91 % штаммов этого микроба, изолированных от больных и из пищевых продуктов [6].

В доступной литературе мы не обнаружили сведений об отношении сальмонелл к фторхинолонам в России. Целью данного исследования явилось изучение чувствительности сальмонелл к налидиксовой кислоте и ципрофлоксацину в различных регионах Сибири и Дальнего Востока, а также оценка ее динамики в период с 1989 по 2008 г.

**Материал и методы.** Исследовано 785 штаммов *S. Enteritidis*, выделенных из фекалий больных с гастроинтестинальной формой сальмонеллеза в 1989–2008 гг. при sporadической и вспышечной заболеваемости населения. При этом 311 штаммов микроба изолировано в Приморском крае, 65 штаммов – в Хабаровском крае, 215 штаммов – в Новосибирской области, 94 штамма – в Томской области, 75 штаммов – в Иркутской области и 25 штаммов – в Камчатском крае, Магаданской, Омской, и Читинской областях. Для сравнения чувствительности к ципрофлоксацину и налидиксовой кислоте взяты 81 штамм *S. Enteritidis*, изолированный в Приморском крае. Идентификацию сальмонелл и их серотипирование проводили, как описано нами ранее [3]. Чувствительность к антибиотикам определяли методом двукратных серийных разведений препаратов в плотной питательной среде Мюллера–Хинтона в соответствии с методикой, описанной в методических указаниях [2]. Для контроля качества определения чувствительности использовали лабораторные штаммы *S. Enteritidis* S-7759, S-8714, S-9091 и S-9338, для которых МПК ципрофлоксацина составляет соответственно 0,019, 0,156, 0,3152 и 1,25 мг/л. В работе использовали ципрофлоксацин (Fluka) и налидиксовую кислоту (Fluka). Показателем антибактериальной активности являлась его МПК препарата, при которой отсутствовал рост сальмонелл. Для интерпретации результатов использовали критерии, представленные в соответствующих методических указаниях [2]. Чувствительными к ципрофлоксацину считали штаммы микроба, у которых МПК была равна или менее 1 мг/л,

Шубин Феликс Николаевич – д-р мед. наук, профессор, зав. лабораторией молекулярной эпидемиологии НИИЭМ СО РАМН; тел.: 8 (4232) 44-26-04, e-mail: shubin@inbox.ru

Таблица 1

Чувствительность к ципрофлоксацину штаммов *S. Enteritidis*, выделенных от больных в 1989–2008 гг.

Заболелаемость	Годы	Кол-во штаммов, абс.	МПК ципрофлоксацина, мг/л									
			Высокочувствительные штаммы		Штаммы со сниженной чувствительностью							
			0,019–0,039		0,156		0,3125		0,625		1,25	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Спорадическая	1989–2000	85	85	100,0	–	–	–	–	–	–	–	–
	2003–2004	28	15	53,6	1	3,6	10	35,7	2	7,1	–	–
	2005–2006	52	29	55,8	9	17,3	14	26,9	–	–	–	–
	2007–2008	448	242	54,0	53	11,8	103	23,0	35	7,8	15	3,4
	<i>Всего:</i>	613	371	60,5	63	10,3	127	20,7	37	6,0	15	2,5
Вспышечная	2007–2008	172	50	29,1	75	43,6	47	27,3	–	–	–	–
<i>Всего штаммов:</i>		785	421	53,6	138	17,6	174	22,2	37	4,7	15	1,9

промежуточными – 2 мг/л и резистентными – равна или более 4 мг/л. Среди штаммов *S. Enteritidis* к категории высокочувствительных отнесены микроорганизмы с МПК ципрофлоксацина 0,019–0,039 мг/л, а к категории штаммов со сниженной чувствительностью – с МПК препарата 0,156–1,250 мг/л. Чувствительными к налидиксовой кислоте считали штаммы *S. Enteritidis*, у которых МПК была равна или менее 16 мг/л, а резистентными – равна или более 32 мг/л.

**Результаты исследования.** Штаммы микроба, изолированные от 421 больного (53,6%), были высокочувствительными к ципрофлоксацину: МПК составила 0,019–0,039 мг/л. Остальные штаммы (46,4%) показали сниженную (в 8–16 и более раз) чувствительность к ципрофлоксацину, но резистентных штаммов обнаружено не было. Кроме того, уровни снижения чувствительности к ципрофлоксацину различались. Наиболее часто (22,2%) МПК ципрофлоксацина для штаммов *S. Enteritidis* составляла 0,3125 мг/л, несколько реже – соответственно у 17,6 и 4,7% штаммов – она была 0,156 и 0,625 мг/л. Самая высокая МПК – 1,25 мг/л – зарегистрирована лишь для 1,9% штаммов сальмонелл (табл. 1).

Анализ чувствительности к ципрофлоксацину сальмонелл, выделенных при разных типах заболеваемости населения, не выявил значительных различий. В целом при спорадической заболеваемости населения доля высокочувствительных штаммов составила 60,5%. Среди штаммов со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину чаще выделялись культуры, у которых МПК к этому препарату составила 0,3125 мг/л, а наиболее редкими оказались штаммы с МПК, равной 1,25 мг/л. Сальмонеллы, изолированные при вспышечной заболеваемости, также различались по степени чувствительности к ципрофлоксацину. Среди этой категории штаммов выявлены высокочувствительные, для которых МПК препарата составляла 0,019–0,039 мг/л, и штаммы со сниженной чувствительностью – МПК 0,156–1,25 мг/л.

Существенные различия в чувствительности штаммов *S. Enteritidis* к ципрофлоксацину выявлены при изучении ее многолетней динамики. Оказалось,

что все 85 штаммов, выделенных в 1989–2000 гг., были высокочувствительными к ципрофлоксацину, и МПК препарата составляла 0,019 мг/л. Также высокочувствительными к ципрофлоксацину были штаммы, изолированные во время двух вспышек сальмонеллеза в Приморском крае в 1997 г.

Первые штаммы микроба со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину были выявлены в Приморье в марте 2003 г. у двух больных в возрасте 3 и 65 лет. В дальнейшем сниженная чувствительность к препарату обнаружена у 6 из 17 изолированных в 2003 г. штаммов микроба, а в 2004 г. – у 7 из 11 культур. В последующие годы доля штаммов со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину оставалась на одном уровне – около 45%.

Сравнительное изучение чувствительности к ципрофлоксацину штаммов *S. Enteritidis*, изолированных от больных в Сибири и на Дальнем Востоке, выполнено на примере Новосибирской и Томской областей, с одной стороны, и Приморского и Хабаровского краев, с другой. В исследование были взяты штаммы микроба, выделенные от 464 больных на указанных административных территориях в 2003–2008 гг. при спорадической заболеваемости населения.

Чувствительность к ципрофлоксацину штаммов, выделенных в Приморском и Хабаровском краях, оказалась близка по своим характеристикам (табл. 2). Частота выделения высокочувствительных штаммов сальмонелл на обеих территориях составила 59,3 и 67,7%. В целом частота выявления у больных в Приморском и Хабаровском краях высокочувствительных к ципрофлоксацину штаммов этого микроорганизма составила 61,3%. В Новосибирской и Томской областях частота выделения высокочувствительных к ципрофлоксацину штаммов была соответственно 40,2 и 47,9% (различия статистически недостоверны). В среднем частота выделения высокочувствительных к ципрофлоксацину штаммов этих микроорганизмов здесь составила 43,2%. Таким образом, частота выделения от больных высокочувствительных к ципрофлоксацину штаммов *S. Enteritidis* в Дальневосточном регионе оказалась значимо выше, чем в Западно-Сибирском.

Таблица 2

Чувствительность *S. Enteritidis* к ципрофлоксацину на некоторых административных территориях Сибири и Дальнего Востока

Территория	Кол-во штаммов, абс.	МПК ципрофлоксацина, мг/л									
		Высокочувствительные штаммы		Штаммы со сниженной чувствительностью							
		0,019–0,039		0,156		0,3125		0,625		1,25	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Приморский край	209	124	59,3	15	7,2	48	23,0	17	8,1	5	2,4
Хабаровский край	65	44	67,7	15	23,1	3	4,6	3	4,6	–	–
<i>Всего:</i>	274	168	61,3	30	11,0	51	18,6	20	7,3	5	1,8
Новосибирская область	117	47	40,2	25	21,4	30	25,6	7	6,0	8	6,8
Томская область	73	35	47,9	4	5,5	28	38,4	5	6,8	1	1,4
<i>Всего:</i>	190	82	43,2	29	15,3	58	30,5	12	6,3	9	4,7
<i>Всего штаммов:</i>	464	250	53,9	59	12,7	109	23,5	32	6,9	14	3,0

Возможность существования резистентности к налидиксовой кислоте у сальмонелл, имеющих сниженную чувствительность к ципрофлоксацину, изучена нами на примере 81 штамма. Среди исследованных культур 32 были высокочувствительными к ципрофлоксацину (МПК – 0,019 мг/л). Штаммы со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину включали 15 культур с МПК препарата 0,156 мг/л, 26 культур – с МПК 0,3125 мг/л, 5 культур – с МПК 0,625 мг/л и 3 культуры – с МПК 1,25 мг/л. В результате установлено, что все 32 высокочувствительные к ципрофлоксацину штаммы *S. Enteritidis* были также чувствительными к налидиксовой кислоте, и у 29 штаммов МПК препарата составила 5 мг/л, а у 3 – 2,5 мг/л. Все штаммы со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину являлись высокорезистентными к налидиксовой кислоте (МПК – более 320 мг/л). Величина МПК налидиксовой кислоты зависела от уровня снижения чувствительности к ципрофлоксацину. При этом штаммы микроба, у которых МПК ципрофлоксацина составила 0,156 мг/л, были резистентными к налидиксовой кислоте: ее МПК равнялась 640–1250 мг/л. Большая часть штаммов *S. Enteritidis*, для которых МПК ципрофлоксацина составляет 0,3125 мг/л, а также все штаммы с МПК 0,625 и 1,25 мг/л, имели более высокий уровень резистентности к налидиксовой кислоте, и МПК препарата – более 1250 мг/л.

**Обсуждение полученных данных.** В настоящее время *S. Enteritidis* является основной причиной пищевых сальмонеллезов во многих странах мира. Исторически штаммы этого серотипа сальмонелл остаются чувствительными к большинству антибиотиков в отличие от таких серотипов, как *S. Typhimurium*, *S. Hadar*, *S. Infantis*, у которых резистентность к широкому спектру антибиотиков является распространенным явлением [12]. Мониторинг чувствительности сальмонелл к антибиотикам показал, что начиная с середины 1990-х гг. в различных странах мира появились штаммы, резистентные к налидиксовой кислоте и одновременно со сниженной чувствительностью к фторхинолонам [8]. При этом, например, в Испании

количество резистентных к налидиксовой кислоте штаммов *S. Enteritidis* постоянно увеличивалось с 1991 г., достигнув в 2003 г. 38,5% [10]. Близкие результаты приводят и другие авторы, утверждая, что данная проблема актуальна для всех стран мира, поскольку эти препараты эффективны при лечении сальмонеллеза у человека [5, 9, 11].

В России систематические наблюдения за резистентностью сальмонелл к хинолонам и фторхинолонам не проводятся, а выполненные ограниченные исследования не выявили штаммов, устойчивых к фторхинолонам [1]. Подобные же данные получены и нами в процессе микробиологического мониторинга сальмонелл в Приморском крае [3]. Дискодиффузионным методом была изучена чувствительность к 24 антибиотикам, включая ципрофлоксацин и офлоксацин, у 134 штаммов *S. Enteritidis*. Было установлено, что большинство штаммов оказались чувствительными ко всем антибиотикам, а резистентные к фторхинолонам штаммы обнаружены не были.

Анализ чувствительности *S. Enteritidis* к ципрофлоксацину по времени выделения показал определенное сходство ее проявлений по сравнению с другими странами Западной Европы. Штаммы, выделенные в 1989–2000 гг. (табл. 1), изолированы от больных только в Приморском крае, и по возрастной структуре заболевших были представлены культурами, полученными от детей и взрослых. Все эти 85 штаммов были высокочувствительными к ципрофлоксацину, и, следовательно, можно полагать, что до 2001 г. среди населения края циркулировали в основном высокочувствительные к ципрофлоксацину штаммы *S. Enteritidis*. Культуры со сниженной в 8–16 и более раз чувствительностью к ципрофлоксацину были выделены в 2003 и последующих годах не только в Приморье, но и во всех других краях и областях Сибири и Дальнего Востока (9 территорий). При этом процентное количество штаммов со сниженной чувствительностью начиная с 2003 г. остается высоким.

Представленные результаты наводят на мысль о возможности клонального распространения среди

больных в Сибири и на Дальнем Востоке штаммов *S. Enteritidis* со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину. Основанием для такого предположения служит тот факт, что ряд исследователей связывают формирование резистентности к хинолонам и сниженной чувствительности к фторхинолонам с циркуляцией *S. Enteritidis* среди птиц на крупных птицеводческих предприятиях, где для профилактики сальмонеллеза используют препараты фторхинолонов [5, 9–11]. В Приморском крае до 2002 г. основная часть заболеваемости населения сальмонеллезом была связана с продукцией местных предприятий птицеводства [4], которые в то время не применяли фторхинолоны для профилактики инфекции у птицы, что и обеспечивало циркуляцию среди населения высокочувствительных к ципрофлоксацину штаммов микроба.

Начиная с 2002 г. заболеваемость сальмонеллезом, связанная с местной продукцией птицеводства, среди населения Приморского края начала снижаться, составив в 2003 г. лишь 43,5%, что, естественно, сопровождалось повышением роли в развитии инфекции завозной птицеводческой продукции. Следовательно, имеются основания полагать, что завоз возбудителя лежал в основе появления в крае штаммов *S. Enteritidis* со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину.

Весьма вероятно, что этот же процесс с некоторыми особенностями мог играть роль в снижении чувствительности к ципрофлоксацину штаммов *S. Enteritidis* и в других регионах Сибири и Дальнего Востока. Популяция *S. Enteritidis* у больных в Новосибирской и Томской областях отличается от таковой в Приморском и Хабаровском краях более низкими процентами выявления высокочувствительных к ципрофлоксацину штаммов (табл. 2). Эти различия могут быть связаны с особенностями содержания птицы на птицефабриках в Сибири, а объяснение им, вероятно, можно было бы найти при анализе количественных показателей применения фторхинолонов в производстве куриной продукции. Наши данные позволяют полагать, что неконтролируемое использование фторхинолонов для лечения и профилактики сальмонеллеза у птицы и других животных ведет к росту фторхинолонорезистентности *S. Enteritidis* и что необходимо разумное ограничение использования этих антимикробных препаратов.

Проведенные исследования подтвердили высокую резистентность к налидиксовой кислоте у штаммов сальмонелл со сниженной чувствительностью к ципрофлоксацину. Тем самым при использовании диско-диффузионного метода для оценки чувствительности этих микробов к фторхинолонам необходимо параллельно исследовать штаммы на чувствительность к налидиксовой кислоте. Данный методический прием позволяет уточнить степень чувствительности сальмонелл к фторхинолонам. Штаммы, резистентные к налидиксовой кислоте, но чувствительные к ципрофлоксацину, можно отнести к категории со сниженной чувствительностью к фторхинолонам без проведения исследований методом серийных разведений.

#### Литература

1. Ахметова Л.И., Розанова С.М. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов шигелл и сальмонелл, выделенных в Екатеринбург // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* 2000. № 3. С. 58–62.
2. Семина Н.А., Сидоренко С.В., Резван С.П. и др. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* 2004. № 4. С. 306–359.
3. Шубин Ф.Н., Ковальчук Н.И., Кузнецова Н.А. и др. Микробиологический мониторинг за *Salmonella Enteritidis* в Приморском крае. Фенотипическая и плазмидная характеристика возбудителя // *Эпидемиол. и инфек. бол.* 2002. № 2. С. 36–40.
4. Шубин Ф.Н., Раков А.В., Кузнецова Н.А. и др. Структура популяции *Salmonella Enteritidis* в Приморском крае по данным плазмидного анализа // *Журн. микробиол.* 2006. № 3, прил. С. 28–32.
5. Chiu C.H., Su L.H., Hung C.C. et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of serogroup D nontyphoidal *Salmonella* in a University hospital in Taiwan // *J. Clin. Microbiol.* 2004. Vol. 42. P. 415–417.
6. Cruchaga S., Echeita A., Aladuena A. et al. Antimicrobial resistance in *salmonellae* from humans, food and animals in Spain in 1998 // *J. Antimicrob. Chemother.* 2001. Vol. 47. P. 315–321.
7. Frost J.A., Kelleher A., Rowe B. Increasing ciprofloxacin resistance in salmonellas in England and Wales 1991–1994 // *J. Antimicrob. Chemother.* 1996. Vol. 37. P. 85–91.
8. Hakonen A., Kotilainen P., Jalava J. et al. Detection of decreased fluoroquinolones susceptibility in salmonellas and validation of nalidixic acid screening test // *J. Clin. Microbiol.* 1999. Vol. 37. P. 3572–3577.
9. Rawagoe K., Mine H., Asai T. et al. Changes of multi-drug resistance pattern in *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar *Typhimurium* isolates from food-producing animals in Japan // *J. Vet. Med. Sci.* 2007. Vol. 69. P. 1211–1213.
10. Marimon J.M., Gomariz M., Zigorraga C. et al. Increasing prevalence of quinolone resistance in human nontyphoid *Salmonella enterica* isolates obtained in Spain from 1981 to 2003 // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004. Vol. 48. P. 3789–3793.
11. Molbak K., Gerner-Smidt P., Wegener H. Increasing quinolone resistance in *Salmonella enterica* serotype *Enteritidis* // *Emerg. Infect. Dis.* 2002. Vol. 8. P. 514–515.
12. Threlfall E.J., Ward L. R., Skinner J. A., Graham A. Antimicrobial drug resistance in non-typhoidal *Salmonella* from humans in England and Wales in 1999: decrease in multiple resistance in *Salmonella enterica* serotypes *Typhimurium*, *Virchow* and *Hadar* // *Microb. Drug Resist.* 2000. Vol. 6. P. 319–325.

Поступила в редакцию 15.02.2010.

#### FLUOROQUINOLONE SENSITIVITY OF SALMONELLAS IN SIBERIA AND FAR EAST

A.B. Eliusizova<sup>1</sup>, F.N. Shubin<sup>1</sup>, N.A. Kuznetsova<sup>1</sup>, S.I. Bakholdina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia), Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, FEB RAS (159 100 Ann. of Vladivostok Av. Vladivostok 690022 Russia)

**Summary** – The authors have studied sensitivity of *Salmonella Enteritidis* strains derived from 785 patients in 1989 – 2008 in various Siberian and Far-Eastern territories to ciprofloxacin. As reported, during the 1989–2000s the strains known to be spread in Primorsky Krai were very sensitive to ciprofloxacin (minimum inhibitory concentration in the range of 0.019–0.039 mg/L). Since 2003 Primorsky Krai and other Russian Federation regions situated in Siberia and Far East have been colonised by strains with depressed (8–16 and more times) sensitivity to ciprofloxacin. No resistant strains were detected. The authors consider the pathogen imported from other regions be responsible for appearing *S. Enteritidis* strains with depressed sensitivity to ciprofloxacin in Primorsky Krai.

**Key words:** quinolones, fluoroquinolone, *Salmonellas*, sensitivity.

Pacific Medical Journal, 2010, No. 4, p. 51–54.