

ISSN 2225-6016

# ВЕСТНИК

*Смоленской государственной  
медицинской академии*

*Том 14, №1*

2015



**КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА****ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ**

УДК 616.12-008.331.1-053.9

**НЕЗАВИСИМОЕ ПРИОБРЕТЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ХИНОЛОНАМ У КЛОНАЛЬНО-РОДСТВЕННЫХ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ШТАММОВ *SALMONELLA TYPHIMURIUM* ВСЛЕДСТВИЕ ГИПЕРМУТАБЕЛЬНОСТИ**© Козырева В.К.<sup>1</sup>, Эйдельштейн М.В.<sup>1</sup>, Козлов Р.С.<sup>1</sup>, Тапальский Д.В.<sup>2</sup>, Азизов И.С.<sup>3</sup><sup>1</sup>НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава РФ, Россия, 214019, Смоленск, ул. Кирова, 46а<sup>2</sup>Гомельский государственный медицинский университет, Республика Беларусь, 246000, Гомель, ул. Ланге, 5<sup>3</sup>Карагандинский государственный медицинский университет, Республика Казахстан, 100017, Караганда, ул. Гоголя, 40

**Резюме:** Целью исследования явилось изучение механизмов резистентности к хинолонам и биологических особенностей описанных изолятов *S. Typhimurium*. Штаммы идентифицировались, определялась устойчивость к антибактериальным препаратам, а также выявлялись связанные с ней мутации генов. У выделенных на территории России, Беларуси и Казахстана нозокомиальных штаммов *S. Typhimurium*, продуцирующих β-лактамазу расширенного спектра СТХ-М-5 и принадлежащих к одной генетической группе, нами была отмечена высокая частота устойчивости к хинолонам (43,1%). Резистентность во всех случаях была связана с наличием единичных точечных мутаций в QRDR области субъединицы А ДНК-гиразы (GyrA), однако, у разных штаммов были обнаружены различные аминокислотные замены в позициях 83 или 87 GyrA, что свидетельствует об их независимом приобретении. Высокая частота резистентности к хинолонам и разнообразие замен в QRDR объясняются повышенной частотой мутирования (гипермутабельностью), которая была выявлена у всех изолятов описанной клональной группы. Полученные данные о высокой частоте устойчивости к хинолонам и наличии гипермутабельности у изученных штаммов *S. Typhimurium* ставят под сомнение возможность эффективного использования ципрофлоксацина для терапии инфекций, вызванных данными штаммами.

**Ключевые слова:** *Salmonella Typhimurium*, нозокомиальные инфекции, антибиотико-резистентность, хинолоны, гипермутабельность

**INDEPENDENT ACQUISITION OF QUINOLONE RESISTANCE IN CLONALLY RELATED NOSOCOMIAL STRAINS OF *SALMONELLA TYPHIMURIUM* DUE TO HYPERMUTABILITY**Kozyreva V.K.<sup>1</sup>, Edelstein M.V.<sup>1</sup>, Kozlov R.S.<sup>1</sup>, Tapalski D.V.<sup>2</sup>, Azizov I.S.<sup>3</sup><sup>1</sup>Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical Academy, Russia, 214019, Smolensk, Kirov St., 46a<sup>2</sup>Gomel State Medical University, Republic Belarus, 246000, Gomel, Lange St., 5<sup>3</sup>Karaganda State Medical University, Republic Kazakhstan, 100017, Karaganda, Gogol St., 40

**Summary:** The aim of investigation - to study mechanisms of resistance to quinolones and biologic features of strains of *S. Typhimurium*. Every strain was identified, resistance to antibiotics was performed and mutant genes were detected. Here we report on a high incidence of quinolone resistance (43.1%) among nosocomial CTX-M-5 ESBL-producing *S. Typhimurium* isolates belonging to a single clonal group isolated in Russia, Belarus, and Kazakhstan. The resistance mechanism in all cases was a single point mutation in quinolone resistance-determining region (QRDR) of DNA-gyrase subunit A (GyrA), however the discovered amino acid substitutions at GyrA positions 83 or 87 were different. The high incidence of quinolone resistance and the apparent diversity of GyrA mutations are likely explained by increased mutation rate (hypermutable) observed in all isolates of the described clonal group. It was turned out there was a high frequency of resistance to quinolones and high level of mutability.

**Key words:** *Salmonella Typhimurium*, nosocomial infections, antimicrobial resistance, quinolones, hypermutability.

## Введение

В настоящее время приобретенная резистентность к антибиотикам, давно используемым в клинической практике, является широко распространенной среди штаммов сальмонелл, выделяемых у человека и животных. Для многих штаммов *Salmonella enterica* характерно наличие геномного островка SGI1 и плазмид резистентности, несущих гены устойчивости к большинству или ко всем перечисленным антибиотикам в виде интегронных кассет [1, 2]. Особую проблему представляет распространение у сальмонелл плазмидно-кодируемых детерминант резистентности к цефалоспорином III поколения:  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) и цефалоспориноаз класса C (AmpC) [3, 4].

Несмотря на широкое клиническое использование фторхинолонов, резистентность к ним у сальмонелл встречается реже, чем к другим антибиотикам [5, 6]. Это позволяет рассматривать фторхинолоны как препараты выбора для лечения инвазивных сальмонеллезов у взрослых [7]. Тем не менее, тенденция роста устойчивости характерна и для данной группы препаратов, особенно среди штаммов *Salmonella Typhimurium*, вызывающих нозокомиальные инфекции [1, 8].

Распространение устойчивости к фторхинолонам у сальмонелл может быть связано как с горизонтальным переносом плазмидно-кодируемых детерминант резистентности между разными штаммами, так и, в случае классических мутаций хромосомных генов, с клональной экспансией штаммов [9]. Существует также возможность независимого приобретения одинаковых мутаций резистентности в QRDR *gyrA* неродственными штаммами вследствие положительного селективного давления, создаваемого при широком применении хинолонов в медицине и ветеринарии [10].

В настоящей работе нами были изучены механизмы резистентности к хинолонам и биологические особенности описанных изолятов *S. Typhimurium*, способствующие приобретению данного типа устойчивости.

## Методика

Клинические штаммы *Salmonella Typhimurium*. Всего исследовано 88 цефотаксим-резистентных изолятов *Salmonella enterica* подвид *enterica* серовар *Typhimurium*, выделенных у госпитализированных пациентов в 15 населенных пунктах 10 регионов России, Беларуси и Казахстана в 1996-2009 гг. Все изоляты были неповторяющимися (по одному от каждого пациента), пятнадцать из них были выделены у детей в возрасте до 3 лет. Первичная видовая и серологическая идентификация проводилась в локальных микробиологических лабораториях в соответствии с принятыми стандартами. Повторно все штаммы были идентифицированы в НИИ антимикробной химиотерапии, ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздравсоцразвития РФ с помощью биохимических идентификационных систем API20E (bioMérieux, Франция) и наборов сывороток к O- и H-антигенам *Salmonella* (BioRad, Франция).

*Определение чувствительности к антибиотикам.* Значения минимальной подавляющей концентрации налидиксовой кислоты и ципрофлоксацина были определены с помощью метода последовательных разведений в агаре Мюллера-Хинтон. Для контроля качества определения чувствительности были использованы штаммы *E. coli* ATCC®25922 и *E. coli* ATCC®35218. Интерпретация результатов определения чувствительности к ципрофлоксацину проводилась с использованием критериев Европейского комитета по оценке антибиотикочувствительности (EUCAST) 2012 г [13]. Для оценки чувствительности к налидиксовой кислоте использовались критерии Института клинических лабораторных стандартов (CLSI) 2011 г. [12].

*Определение мутаций в QRDR области гена gyrA.* Для предварительного выявления мутаций в QRDR области гена *gyrA* был использован новый метод ПЦР в режиме реального времени с последующим анализом кривых плавления флуоресцентного зонда. Короткий фрагмент гена *gyrA*, включающий QRDR область, амплифицировали с помощью пары праймеров (табл. 1) из которых обратный праймер (Sty\_gyrA\_Rpm) содержал внутренний гаситель флуоресценции и использовался в большей концентрации (0,8 мкМ), чем прямой праймер (Sty\_gyrA\_Fpm; 0,2 мкМ), с целью обеспечения более эффективной амплификации одной из цепей ДНК, комплементарной зонду (асимметричной ПЦР). В реакции был также использован 3'-флуоресцентно-меченый зонд (Sty\_gyrA\_Pb) в концентрации 0,2 мкМ, нуклеотидная последовательность которого была полностью комплементарна участку QRDR дикого типа (WT), соответствующему аминокислотным остаткам 82-88 *GyrA* (*S. Typhimurium* GenBank Acc. No. U21957). Расчет температур плавления ( $T_m$ ) дуплексов зонда с WT и мутированными последовательностями целевого гена был произведен с помощью программного обеспечения MeltCalc (E. Schütz & N. von

Ahsen, 1999). В состав ПЦР смесей общим объемом 25 мкл входили: 2,5 ед. TaqF ДНК-полимеразы с коммерческим буфером (Интерлабсервис, Россия), 2 mM MgSO<sub>4</sub> и 3 мкл бактериальной ДНК, выделенной с помощью наборов InstaGene Matrix (Bio-Rad, США). Амплификацию проводили с помощью системы RotorGene 2000 (Corbett Research, Австралия) согласно следующему протоколу: начальная денатурация 95°C – 15 мин., затем 45 циклов: 95°C – 15 с и 55°C – 20 с, финальная инкубация 37°C – 3 мин. После завершения амплификации проводили анализ температуры плавления зонда путем регистрации его флуоресценции при увеличении температуры на 1°C каждые 10 с в диапазоне от 37°C до 75°C. О наличии мутаций в QRDR области судили по снижению T<sub>m</sub> зонда по сравнению с WT контролем.

Для всех изолятов характер выявленных мутаций в QRDR *gyrA* был установлен путем амплификации и прямого секвенирования внутреннего фрагмента гена *gyrA* с помощью праймеров STGYRA1 и STGYRA12-GT (табл. 1), как описано ранее [14]. Секвенирование проводили с использованием наборов BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit и генетического анализатора ABI Prism 310 (Applied Biosystems, США).

Таблица 1. Использованные олигонуклеотиды

№	Наименование	Последовательность (5'-3')	Назначение	Литературный источник
1	Sty_gyrA_Fpm	AAATACCATCCCCACGGC	Первичный скрининг мутаций в QRDR <i>GyrA</i>	данная работа
4	Sty_gyrA_Rpm	TGCGCCATACGAACGA(T-RTQ1)G		
3	Sty_gyrA_Pb	CGATTCGCGAGTGTATGACA-FAM		
4	STGYRA1	TGTCCGAGATGGCCTGAAGC	ПЦР и секвенирование QRDR <i>GyrA</i>	[14]
5	STGYRA12-GT	CGTTGATGACTTCCGTCAGGT		

### Тест на мутабельность

Фенотип гипермутабельности клинических изолятов *S. Typhimurium* определяли с помощью скринирующего теста с диском налидиксовой кислоты (30 мкг) согласно методике предложенной Galán и соавт. [15], для чего суспензии тестируемых микроорганизмов в физиологическом растворе плотностью 2 по McFarland наносили с помощью тампонов на поверхность агара Мюллера-Хинтон и через 24 часа инкубирования при 35°C оценивали наличие отдельных колоний мутантов внутри зоны подавления роста налидиксовой кислоты. Частоту возникновения спонтанных мутантов, резистентных к налидиксовой кислоте, у исходно чувствительных изолятов определяли с помощью стандартного метода: суточные культуры микроорганизмов в разведении от 10<sup>-1</sup> до 10<sup>-12</sup> засеивали на агар с налидиксовой кислотой (32 мг/л) и без антибиотика; частоту спонтанных мутантов рассчитывали как соотношение количества колоний, выросших на чашках с налидиксовой кислотой, к количеству колоний, выросших на чашках без антибиотика. В качестве положительного и отрицательного контрольных штаммов использовали, соответственно, мутатор *E. coli* GM2995 (*mutD5*) и *E. coli* ATCC®25922.

### Типирование изолятов с помощью мультилокусного анализа tandemных повторов (MLVA)

MLVA-типирование проводили по пяти VNTR локусам (STTR3, STTR5, STTR6, STTR9, STTR10). Кластерный анализ MLVA-профилей выполнен с использованием программного пакета BioNumerics Software v.6.1 (Applied Maths, Бельгия) с применением алгоритма минимального остовного дерева (minimum spanning tree, MST) для категориальных значений VNTR локусов.

## Результаты исследования

### Чувствительность к хинолонам

Согласно представленным ранее данным [11], все исследованные изоляты *S. Typhimurium* (n=88) проявляли нечувствительность ко всем цефалоспорином в сочетании с резистентностью как минимум к одному не-β-лактамному антибиотику. В соответствии с критериями CLSI устойчивость к налидиксовой кислоте была выявлена у 38 (43,1%) изолятов. Значения МПК ципрофлоксацина для чувствительных к налидиксовой кислоте изолятов не превышали 0,06 мг/л, тогда как для резистентных – варьировали в диапазоне от 0,06 мг/л (у одного штамма) до 0,5 мг/л.

Несмотря на то, что указанные значения МПК цiproфлоксацина были ниже пограничных значений CLSI ( $>1$  мг/л) и EUCAST ( $>0,5$  мг/л) для нечувствительных штаммов семейства *Enterobacteriaceae*, 37 (42%) изолятов были отнесены к категории нечувствительных к фторхинолонам на основании рекомендаций EUCAST, предписывающих использование более строгих критериев (МПК цiproфлоксацина  $>0,06$  мг/л) для предсказания возможной терапевтической неэффективности любых фторхинолонов в отношении инфекций, вызванных *Salmonella* spp. [13, 16].

### Молекулярная характеристика детерминант резистентности

С помощью метода ПЦР в режиме реального времени у всех устойчивых к налидиксовой кислоте изолятов были выявлены мутации в QRDR *gyrA*. У 30 изолятов (34,1%) значения  $T_m$  зонда были характерны для замен в аминокислотной позиции 87, а у 8 (9,1%) – в позиции 83 (рис. 1).

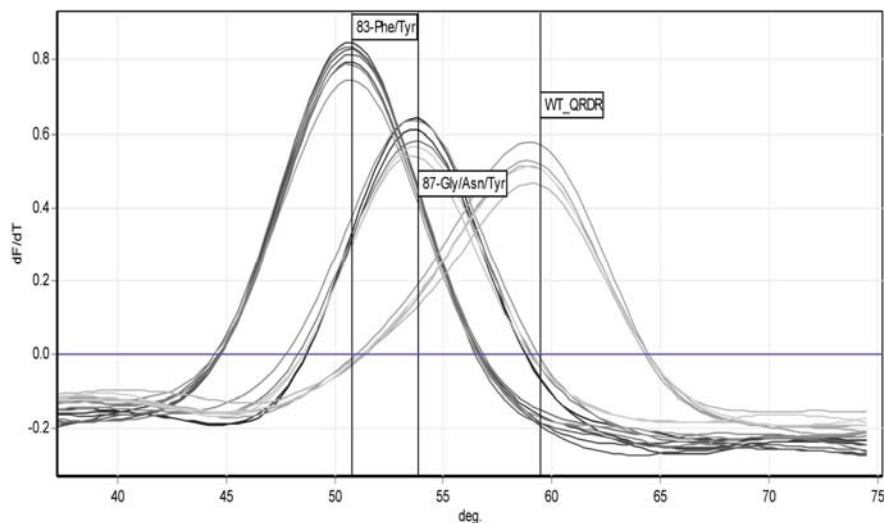


Рис. 1. Пример детекции мутаций в QRDR *gyrA* с помощью ПЦР в режиме реального времени и анализа кривых плавления зонда

Секвенирование показало, что выявленные точечные мутации соответствуют различным аминокислотным заменам: Asn-87, Gly-87, Tyr-87 и Phe-83 (рис. 2, табл. 2).

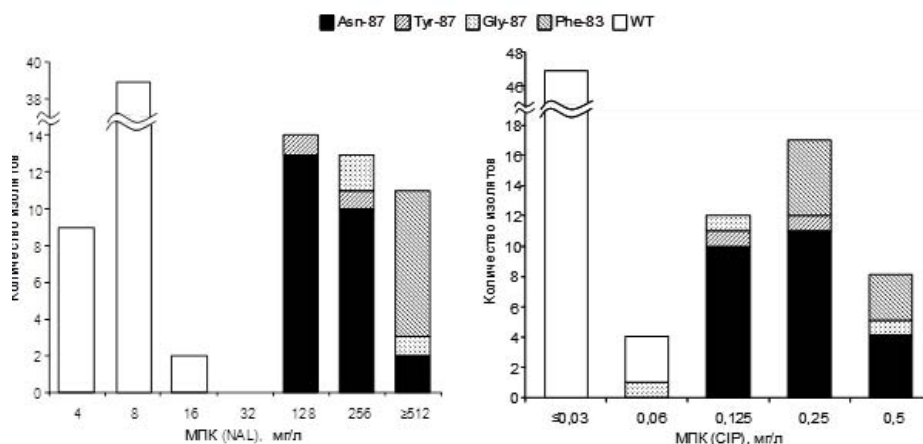


Рис. 2. Распределение исследованных изолятов *S. Typhimurium* по МПК налидиксовой кислоты (NAL) и цiproфлоксацина (CIP) в зависимости от характера мутаций в QRDR *GyrA*

Во всех случаях точечные мутации в QRDR *GyrA* были единичными. Данные представленные на рисунке и в таблице показывают соответствие между характером выявленных мутаций и значениями МПК хинолонов.

Таблица 2. Распределение исследованных изолятов *S. Typhimurium* по МПК налидиксовой кислоты (NAL) и ципрофлоксацина (CIP) в зависимости от характера мутаций в QRDR *GyrA*

Мутация	Количество изолятов (%)	Диапазон МПК, мг/л	
		NAL	CIP
Нет (WT)	50 (56,8%)	4 - 16	≤0,03 - 0,06
Asn-87	25 (28,4)	128 - ≥512	0,125 - 0,5
Gly-87	3 (3,4%)	256 - ≥512	0,06 - 0,5
Tyr-87	2 (2,3%)	128 - 256	0,125 - 0,25
Phe-83	8 (9,1%)	≥512	0,25 - 0,5

### Тест на мутабельность

При постановке скринирующего теста с диском налидиксовой кислоты у всех хинолон-чувствительных штаммов *S. Typhimurium*, также как и у контрольного штамма-мутатора *E. coli* GM2995 (*mutD5*), наблюдался рост многочисленных мутантных колоний внутри зоны подавления роста. Подобного роста у нормомутабельного контрольного штамма *E. coli* ATCC®25922 отмечено не было (рис. 3).

Частота мутаций у исследованных изолятов превышала таковую у обычных штаммов *S. Typhimurium* на 4 порядка и составила приблизительно  $1 \times 10^5$ . Следовательно, все штаммы изучаемой группы были расценены как сильные мутаторы.

Следует также отметить, что у произвольно выбранных мутантов, полученных *in vitro*, методом секвенирования было установлено наличие мутаций в QRDR *gyrA*, идентичных выявленным у хинолон-резистентных клинических изолятов.

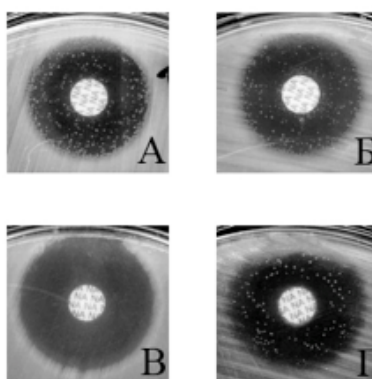


Рис. 3. Примеры выявления фенотипа гипермутабельности с помощью быстрого теста с диском налидиксовой кислоты.

А, Б – Клинические изоляты *S. Typhimurium*; В – отрицательный контроль *E. coli* ATCC®25922; Г – положительный контроль *E. coli* GM2995. Стрелкой отмечены мутантные колонии внутри зон подавления роста

### Обсуждение результатов исследования

Известно, что наличие у штаммов *Salmonella* единичных мутации в QRDR *GyrA* является причиной устойчивости низкого уровня к ципрофлоксацину и, кроме того, увеличивает риск селекции дополнительных (кооперативных) мутаций и формирования резистентности высокого уровня [17]. Согласно современным рекомендациям Института клинических лабораторных стандартов (CLSI) определение чувствительности сальмонелл к налидиксовой кислоте является обязательным для выявления резистентности низкого уровня к фторхинолонам и предсказания их возможной клинической неэффективности при терапии инвазивного сальмонеллеза. Вместе с тем, Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) рекомендует непосредственное тестирование сальмонелл к ципрофлоксацину и использование низкой пограничной концентраций для оценки чувствительности к данному препарату (МПК≤0,06 мг/л). Критерии EUCAST для налидиксовой кислоты в настоящее время отсутствуют.

У исследованных нами изолятов *S. Typhimurium* резистентность к хинолонам во всех случаях была вызвана мутациями *gyrA*, при этом, у чувствительных к налидиксовой кислоте изолятов соответствующие мутации не были обнаружены. Таким образом, фенотип чувствительности к налидиксовой кислоте строго коррелировал с генотипом *gyrA*. Большинство штаммов с характерными мутациями в QRDR *GyrA* также проявляли устойчивость низкого уровня к ципрофлоксацину, однако один изолят (SE079/Ка-5120) с заменой Gly-87, формально сохранял чувствительность к ципрофлоксацину (МПК 0,06 мг/л). Данное наблюдение свидетельствует, на наш взгляд, о том, что налидиксовая кислота является более чувствительным маркером для выявления хромосомно-опосредованной резистентности к хинолонам.

Выявленные в ходе данного исследования мутации в 83 и 87 позиции *GyrA* являются типичными для хинолон-резистентных клинических штаммов и встречаются у различных видов семейства *Enterobacteriaceae* [18]. Эффект данных мутаций, в частности, наиболее часто встречавшихся у исследованных нами изолятов замен Asn-87 (28,4%) и Phe-83 (9,1%), хорошо изучен для штаммов сальмонелл [19]. Последняя из перечисленных мутаций была предсказуемо связана с более высокими значениями МПК как налидиксовой кислоты, так и ципрофлоксацина.

Принадлежность всех исследованных нозокомиальных изолятов *S. Typhimurium*, выделенных на территории трех государств, к одной генетической группе и общность выявленных у них механизмов резистентности к цефалоспорином (продукции БЛРС СТХ-М-5) были продемонстрированы нами ранее [11]. В этой связи, факт обнаружения различных мутаций в *gyrA* среди клонально родственных изолятов, является, с нашей точки зрения, наиболее интересным и важным, хотя и неожиданным. Данные кластерного анализа штаммов, выполненного по результатам MLVA-типирования (рис. 4), свидетельствуют о том, что распространение резистентности к хинолонам в изучаемой генетической линии *S. Typhimurium* лишь отчасти носит клональный характер и в значительной мере связано с независимым приобретением мутаций в *gyrA* исходно чувствительным штаммом.

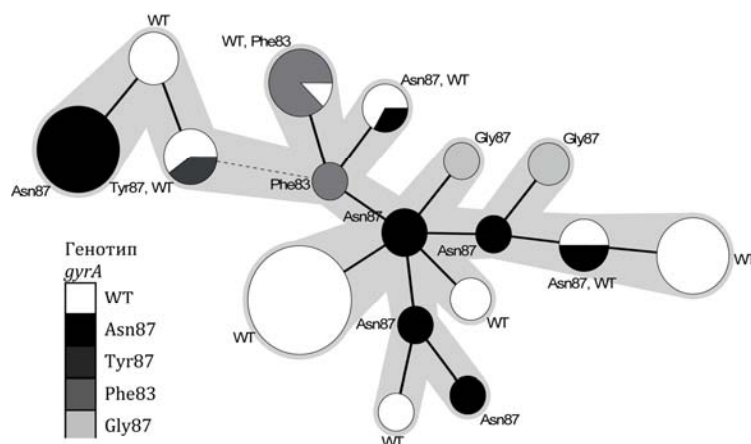


Рис. 4. Кластеризация MLVA-профилей на основании алгоритма минимального остовного дерева. Каждому MLVA-типу соответствует круг, размер которого отражает количество изолятов, имеющих соответствующий MLVA-профиль. Длина и тип соединительных отрезков отражает генетическое расстояние (число отличающихся VNTR локусов) между двумя ближайшими типами: короткая непрерывная линия соединяет два MLVA-типа, отличающихся друг от друга единственным VNTR локусом, длинная пунктирная линия соединяет двухлокусные варианты. MLVA-типы, отличающиеся не более чем на 2 локуса, объединены в одну клональную группу (выделена серым фоновым цветом). Заливка круга отражает доли изолятов с разными мутациями QRDR *gyrA*, принадлежащих данному MLVA-типу

У исследованных нами изолятов частота спонтанных мутаций устойчивости к налидиксовой кислоте составила приблизительно  $1 \times 10^{-5}$ , что позволило считать их гипермутабельными. Увеличение частоты мутаций на 4 порядка наблюдалось у всех исходно чувствительных к налидиксовой кислоте изолятов, относящихся к разным MLVA-субтипам внутри одной клональной группы. Таким образом, гипермутабельность является важной характеристикой всех

штаммов описанной генетической линии *S. Typhimurium*, способствующей их адаптации в нозокомиальной среде.

## Вывод

Полученные нами данные о высокой частоте устойчивости к хинолонам и наличию гипермутабельности у изученных штаммов *S. Typhimurium* ставят под сомнение возможность эффективного использования ципрофлоксацина для терапии инфекций, вызванных данными штаммами, даже в случае выявления *in vitro* чувствительности у отдельных изолятов. В случае штаммов, обладающих единичными мутациями в QRDR *gyrA*, применение фторхинолонов может быть сопряжено с риском аккумуляции дополнительных мутаций и формирования резистентности высокого уровня. Сочетание механизмов устойчивости к хинолонам и цефалоспорином крайне затрудняет выбор антибиотиков, эффективных в отношении описанных штаммов *S. Typhimurium*.

## Литература

1. Yu F., Chen Q., Yu X. et al. High prevalence of extended-spectrum beta lactamases among *Salmonella enterica* Typhimurium isolates from pediatric patients with diarrhea in China // PLoS One. – 2011. – V.3, N6. – E. 16801.
2. Dionisi A.M., Graziani C., Lucarelli C. et al. Molecular characterization of multidrug-resistant strains of *Salmonella enterica* serotype Typhimurium and Monophasic variant (S. 4,[5],12:i:-) isolated from human infections in Italy // Foodborne Pathog. Dis. – 2009. V.6, N6. – P.711-717.
3. Rodriguez I., Barownick W., Helmuth R. et al. Extended-spectrum {beta}-lactamases and AmpC {beta}-lactamases in ceftiofur-resistant *Salmonella enterica* isolates from food and livestock obtained in Germany during 2003-07 // J. Antimicrob. Chemother. – 2009. – N64(2). – P. 301-309.
4. Dierikx C., van Essen-Zandbergen A., Veldman K. et al. Increased detection of extended spectrum beta-lactamase producing *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* isolates from poultry // Vet. Microbiol. – 2010. – N145(3-4). – P. 273-278.
5. Bouchrif B., Paglietti B., Murgia M., et al. Prevalence and antibiotic-resistance of *Salmonella* isolated from food in Morocco // J. Infect. Dev. Ctries. – 2009. – N3(1). – P. 35-40.
6. Herikstad H., Hayes P., Mokhtar M. et al. Emerging quinolone-resistant *Salmonella* in the United States // Emerg. Infect. Dis. – 1997. – N3. – P. 371-372.
7. Arlet G., Barrett T.J., Butaye P. et al. *Salmonella* resistant to extended-spectrum cephalosporins: prevalence and epidemiology // Microbes Infect. – 2006. – V.7, N8. – P. 1945-1954.
8. Keddy K.H., Dwarika S., Crowther P., et al. Genotypic and demographic characterization of invasive isolates of *Salmonella Typhimurium* in HIV co-infected patients in South Africa. // J. Infect. Dev. Ctries. – 2009. – V.8, N3. – P. 585-592.
9. Gunell M., Webber M.A., Kotilainen P. et al. Mechanisms of resistance in nontyphoidal *Salmonella enterica* strains exhibiting a nonclassical quinolone resistance phenotype // Antimicrob. Agents. Chemother. – 2009. – N53(9). – P. 3832-3836.
10. Randall L.P., Eaves D.J., Cooles S.W. et al. Fluoroquinolone treatment of experimental *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 infections in chickens selects for both *gyrA* mutations and changes in efflux pump gene expression. // J. Antimicrob. Chemother. – 2005. – N56(2). – P. 297-306.
11. Козырева В.К., Эйдельштейн М.В., Тапальский Д.В., Азизов И.С., Романов А.В., Козлов П.С. Клональное распространение СТХ-М-5-продуцирующих нозокомиальных штаммов *Salmonella Typhimurium* в России, Беларуси и Казахстане. // КМАХ. – 2012. – N14(1). – С. 38-50.
12. CLSI Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 21st informational supplement, 2011. – N31. – P. 165.
13. EUCAST Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 2.0. – 2012. – P. 1-73.
14. Nakaya H., Yasuhara A., Yoshimura K., Oshihoi Y., Izumiya H., Watanabe H. Life-threatening infantile diarrhea from fluoroquinolone-resistant *Salmonella enterica typhimurium* with mutations in both *gyrA* and *parC* // Emerg. Infect. Dis. – 2003. – N9(2). – P.255-257.
15. Galan J.C., Tato M., Baquero M.R., Turrientes C., Baquero F., Martinez J.L. Fosfomycin and rifampin disk diffusion tests for detection of *Escherichia coli* mutator strains // J. Clin. Microbiol. – 2004. – N42(9). – P. 4310-4312.
16. Leclercq R., Canton R., Brown D.F., et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. // Clin Microbiol Infect. – 2011. – N22. – P. 4310-4312.



17. Velge P., Cloeckaert A., Barrow P. Emergence of Salmonella epidemics: the problems related to Salmonella enterica serotype Enteritidis and multiple antibiotic resistance in other major serotypes // Vet. Res. – 2005. – N36(3). – P. 267-288.
18. Weigel L.M., Steward C.D., Tenover F.C. gyrA mutations associated with fluoroquinolone resistance in eight species of Enterobacteriaceae // Antimicrob. Agents. Chemother. – 1998. – N42(10). – P. 2661-2667.
19. Turner A.K., Nair S., Wain J. The acquisition of full fluoroquinolone resistance in Salmonella Typhi by accumulation of point mutations in the topoisomerase targets. // J. Antimicrob. Chemother. – 2006. – N58(4). – P. 733-740.

### **Информация об авторах**

*Козырева Варвара Константиновна* – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: Varvara.Kozyreva@antibiotic.ru

*Эйдельштейн Михаил Владимирович* – кандидат биологических наук, руководитель НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: Mikhail.Edelstein@antibiotic.ru

*Козлов Роман Сергеевич* – доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: Roman.Kozlov@antibiotic.ru

*Топальский Дмитрий Викторович* – кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии Гомельского государственного медицинского университета. E-mail: Tapalskiy@yandex.by

*Азизов Илья Сулейманович* – доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории коллективного пользования Карагандинского государственного медицинского университета. E-mail: Azizov@kgmu.kz