

Забровская Анна Владленовна

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ РАСПРОСТРАНЕНИЯ
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ
ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ
В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ ФЕДЕРАЛЬНОМ ОКРУГЕ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

06.02.02 – ветеринарная микробиология, вирусология,
эпизоотология, микология с микотоксикологией и иммунология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание
ученой степени доктора ветеринарных наук

Санкт-Петербург

2019

Работа выполнена в лаборатории кишечных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им.Пастера» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)

Научный консультант: Кузьмин Владимир Александрович
доктор ветеринарных наук, профессор

Официальные оппоненты: Сидорчук Александр Андреевич, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА им.К.И.Скрябина», профессор кафедры эпизоотологии и организации ветеринарного дела

Коваленко Анатолий Михайлович, доктор ветеринарных наук, ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет им. В.Я.Горина», профессор кафедры инфекционной и инвазионной патологии

Равилов Рустам Хаметович, доктор ветеринарных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», ректор, заведующий кафедрой эпизоотологии и паразитологии

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А.Столыпина»

Защита состоится «...» _____ 2019 года в часов на заседании диссертационного совета Д 220.059.03 при ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по адресу: 196084, г. Санкт-Петербург, ул. Черниговская, д.5; тел/факс (812) 388-10-55.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины».

Автореферат разослан: «__» _____ 2019 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Белова Лариса Михайловна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В последние десятилетия во всем мире отмечается значительное увеличение случаев обнаружения устойчивых к антимикробным препаратам (АМП) штаммов в популяциях микроорганизмов, циркулирующих у сельскохозяйственных животных. Широкое применение АМП в сельском хозяйстве для профилактики и лечения инфекционных болезней животных и птиц, особенно неоправданное и нерациональное, приводит к селекции резистентных форм микроорганизмов (ВОЗ, 2001; CDC, 2013). Результатом циркуляции антибиотикорезистентных штаммов является снижение эффективности лечения бактериальных инфекций у животных, рост заболеваемости, смертности и продолжительное бактерионосительство.

По данным Европейского центра контроля за болезнями (ECDC), источником и резервуаром большинства штаммов *Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.* и энтерогеморрагической *Escherichia coli* (EHEC), вызывающих заболевания людей на территории Евросоюза, являются продуктивные животные. Передача микроорганизмов человеку происходит при непосредственном контакте с животными, через пищевые продукты и объекты внешней среды. Распространение генетических детерминант резистентности также является потенциальной опасностью, добавляющей сложности данной проблеме (Кафтырева Л.А., 2011; Overdeest I et al., 2011; Randall L.P. et al., 2011; Doi Y., 2010). Увеличение количества устойчивых штаммов, выделенных от животных и из продукции животноводства, отмечено во всем мире, в том числе и в нашей стране (Забровская А.В., 2011). Особенную озабоченность вызывает возрастающая устойчивость к АМП класса хинолонов и цефалоспоринов, так как эти две группы препаратов входят в составленный ВОЗ список антибиотиков, критически важных для медицины.

Для предотвращения возникновения и распространения резистентных штаммов необходим комплексный подход, включающий в себя мониторинг резистентности микроорганизмов, циркулирующих у продуктивных животных, изучение механизмов резистентности и разработка на основании полученных данных системы мероприятий по снижению резистентности как в масштабах отдельного хозяйства, так и на региональном уровне.

Степень разработанности темы исследования. В странах Евросоюза выделение штаммов микроорганизмов, вызывающих зоонозные болезни и устойчивость их к различным АМП, контролируется Европейским управлением по безопасности пищевых продуктов (EFSA) и ECDC. Ежегодно публикуются интегрированные отчеты по резистентности микроорганизмов, выделенных от животных, из продуктов питания и от людей.

В США в рамках программы мониторинга антибиотикорезистентности NARMS проводится не только констатация факта наличия устойчивых штаммов в том или ином продукте, но и исследования, направленные на понимание механизма возникновения устойчивости у конкретной группы штаммов, в частности, полногеномное секвенирование (NARMS 2015).

В России создана система мониторинга резистентности с помощью интернет-ресурса AMRmap, позволяющая анализировать и визуализировать данные о чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от людей. База данных AMRmap включает регулярно пополняемые и обновляемые данные, накапливаемые в рамках эпидемиологических исследований антибиотикорезистентности, однако, она включает в себя только результаты чувствительности к АМП микроорганизмов, выделенных от людей.

Проблема распространения антибиотикорезистентности и необходимость постоянного надзора за устойчивостью микроорганизмов к АМП отмечается ветеринарными специалистами и нашей страны (Алимарданов А.Ш., 2007; Алексеева С.М., 2011; Данилова Н.В., 2016, и др.). Однако, в связи с отсутствием нормативных документов по определению чувствительности к АМП микроорганизмов, выделенных от животных, ветеринарные бактериологи используют по своему усмотрению разные методики постановки опыта и критерии оценки полученных результатов, что делает полученные ими данные несопоставимыми.

Цель работы: Выявить закономерности распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, выделенных от животных и из продукции животноводства на территории Северо-Западного федерального округа Российской Федерации и разработать принципы микробиологического мониторинга лекарственной устойчивости микроорганизмов; оценить эффективность антимик-

робного препарата на основе наночастиц серебра для лечения желудочно-кишечных болезней бактериальной этиологии у сельскохозяйственных животных.

Задачи:

1. Изучить серотиповой состав штаммов *Salmonella enterica* и видовой состав условно патогенных микроорганизмов, выделяемых от сельскохозяйственных животных разных видов, из продуктов животного происхождения и кормов на территории Северо-Западного ФО РФ.
2. Определить чувствительность выделенных штаммов микроорганизмов к антимикробным препаратам. Провести эпизоотологический анализ распространения устойчивых к антимикробным препаратам штаммов микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных бактериальной этиологии на территории Северо-Западного ФО РФ.
3. Осуществить картографический анализ распространения устойчивых к АМП штаммов *Salmonella* на территории Ленинградской области в 2004 – 2016 гг. с использованием географической информационной системы (ГИС)
4. Выявить у выделенных штаммов *Salmonella* и условно патогенных микроорганизмов генетические детерминанты резистентности к антимикробным препаратам различных классов.
5. Обосновать принципы микробиологического мониторинга устойчивости к антимикробным препаратам штаммов актуальных видов микроорганизмов, выделяемых от сельскохозяйственных животных и из продукции животного происхождения; предложить комплекс мероприятий по предотвращению возникновения и распространения резистентных микроорганизмов.
6. Изучить возможность применения в производстве препарата Аргумистин® на основе наночастиц серебра, как альтернативного антибиотикам, при лечении животных с инфекционными болезнями желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии.

Научная новизна. На основании анализа многолетних данных по выделению 1731 штаммов *Salmonella*, принадлежащих к 71 серовару, от сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, свиньи, домашняя птица), из продуктов животного происхождения и кормов на территории Северо-Западного ФО РФ

в 2006-2016 гг. впервые установлено доминирование сероваров *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, имеющих большое эпизоотологическое значение и широко распространенных у людей.

Выявлено различие в соотношении чувствительных и устойчивых (в том числе полирезистентных) штаммов у *Salmonella* сероваров *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Typhimurium*, а также у штаммов *Salmonella*, выделенных от птицы, свиней, крупного рогатого скота и продукции, полученной от животных этих видов.

Сравнительный анализ чувствительности к АМП штаммов *Salmonella* и условно патогенных микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Enterobacter kobei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozenae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*), выделенных от продуктивных животных (крупный рогатый скот, домашняя птица) и из разных видов продукции животноводства на различных территориях Северо-Западного ФО РФ показал, что удельный вес резистентных микроорганизмов среди исследованных штаммов УПМ достоверно выше, чем у *Salmonella*;

Впервые определены генетические детерминанты устойчивости к хинолонам (несинонимические точечные мутации в гене *gyrA*) и β -лактамным антибиотикам расширенного спектра (*bla*_{СТХ-М}, *bla*_{СТХ-М group 1}, *bla*_{СТХ-М group 9}, *bla*_{СМУ}, *bla*_{ТЕМ}) у штаммов *Salmonella* и УПМ, выделенных от продуктивных животных и из продукции животноводства на территории Ленинградской области.

Показана возможность использования геоинформационных программ для эпизоотологического анализа распространения антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов у сельскохозяйственных животных.

Теоретическая и практическая значимость. Выявлены особенности серотипового состава 1731 штамма *Salmonella enterica*, выделенных от разных видов сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, свиньи домашняя птица), из продуктов животного происхождения и кормов на территории Северо-Западного ФО РФ в период с 2006 по 2016 гг.

Проанализирована устойчивость к АМП 482 штаммов *Salmonella* и 144 штаммов условно патогенных микроорганизмов, выделенных от больных, вынужденно убитых и павших сельскохозяйственных животных, из продуктов животно-

го происхождения и кормов на территории Северо-Западного ФО Российской Федерации в 2004 - 2016 гг.

Впервые с использованием картографического анализа (программа QGIS версия 2.18., открытый доступ) выявлены особенности распространения антибиотикорезистентных штаммов *Salmonella* по территории 18 районов Ленинградской области в 2004 – 2016 гг.;

Определены генетические детерминанты устойчивости к препаратам группы хинолонов (несинонимические точечные мутации в гене *gyrA*) и цефалоспоринов (β -лактамазы расширенного спектра) у резистентных штаммов микроорганизмов.

В качестве альтернативы антибиотикотерапии при болезнях желудочно-кишечного тракта телят бактериальной этиологии обосновано и внедрено в производство применение препарата «Аргумистин[®]» (суспензия наноразмерных частиц коллоидного серебра, стабилизированных катионным поверхностно-активным соединением, относящимся к классу четвертичных аммонийных соединений – мирамистином).

На основании результатов проведенных исследований и с учетом рекомендаций ВОЗ научно обоснованы принципы микробиологического мониторинга устойчивости к антимикробным препаратам штаммов актуальных видов микроорганизмов, выделяемых от сельскохозяйственных животных и из продукции животного происхождения, предложен комплекс мероприятий по предотвращению возникновения и распространения устойчивых к антимикробным препаратам штаммов микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней животных.

Полирезистентный штамм *Salmonella* Typhimurium и относящиеся к энтерогеморрагическим штаммы *Escherichia coli* серологических групп O18, O26, O103 и O137, а также вирулентный полирезистентный штамм *Klebsiella pneumoniae*, обладающий гипермукоидным фенотипом, депонированы во «Всероссийской государственной коллекции штаммов микроорганизмов, используемых в ветеринарии и животноводстве», находящейся в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»). Штаммы рекомендованы для использования в качестве вакцинных, а также в качестве рефе-

рентных при изучении механизмов устойчивости к антимикробным препаратам. Справки о депонировании №№1883/11, 1884/11, 1885/11, 1886/1, 1887/11, 1888/11 (см. Приложение).

Полученные результаты легли в основу методических рекомендаций:

- «Особенности идентификации сальмонелл и их дифференциация от сходных по биологическим свойствам микроорганизмов» (Санкт-Петербург, 2008);
- «Применение противомикробных препаратов на основе наночастиц серебра для лечения телят с болезнями желудочно-кишечного тракта: Методические рекомендации» (Санкт-Петербург, 2016г.);
- «Особенности идентификации и определения чувствительности к антимикробным препаратам бактерий рода *Salmonella* (методическое пособие для врачей ФПК)» (Санкт-Петербург, 2016 г.),
- «Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам и мероприятия, направленные на предотвращение возникновения и распространения устойчивых штаммов» (Санкт-Петербург, 2018, утверждены на заседании Координационного Совета по проблемам животноводства, ветеринарии и АПК Европейского Севера, протокол №1 от 20 февраля 2018г.).

Результаты исследований внедрены в учебный процесс на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии и кафедре эпизоотологии им.В.П.Урбана ФГБОУ ВО СПбГАВМ; кафедре инфекционной и инвазионной патологии факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Белгородский государственный аграрный университет им. В.Я.Горина», кафедре эпизоотологии и организации ветеринарного дела факультета ветеринарной медицины ФГОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И.Скрябина», кафедре ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный университет имени П.А.Столыпина» также были использованы при проведении семинаров повышения квалификации для специалистов Гвинейской Республики в Санкт-Петербурге «Лабораторная диагностика брюшного тифа и других диарейных заболеваний» (2015 г.), «Совершенствование лабораторной диагностики возбудителей заболеваний, передающихся с продуктами питания» (2016 г.)

Методология и методы исследования. Методологические подходы для решения поставленных задач выбраны с учетом особенностей культивирования, идентификации, определения чувствительности к АМП и молекулярно-генетических маркеров грамотрицательных микроорганизмов:

- микробиологические методы исследования: идентификация, определение чувствительности к АМП, фенотипические тесты для подтверждения механизмов резистентности;

- молекулярно-генетические методы: определение генетических детерминант резистентности к АМП классов хинолонов и β -лактамов, факторов вирулентности у *Escherichia coli*;

- иммунохроматографические методы: определение продукции шигаподобного токсина у энтерогеморрагических *Escherichia coli*;

- биологические методы: определение вирулентности культур *Klebsiella pneumoniae* для лабораторных животных;

- эпизоотологические методы: анализ случаев выделения штаммов *Salmonella* от больных, вынужденно убитых и павших продуктивных животных, из продуктов животного происхождения и кормов; анализ распространения устойчивых к антимикробным препаратам штаммов, в том числе с помощью географической информационной программы QGis (версия 2.18), эпизоотологическое обследование ЗАО «Предпортовый»;

- статистическая обработка: с помощью компьютерной программы Microsoft Office Excel 2007, on-line калькулятор biometrica.ru.

Положения, выносимые на защиту:

1. Спектр сероваров штаммов *Salmonella*, выделенных от сельскохозяйственных животных, из продукции животноводства и кормов характеризуется разнообразием с преобладанием сероваров, имеющих существенное эпизоотологическое значение и широко распространенных у людей: S.Enteritidis, S.Infantis, S.Typhimurium.

2. Соотношение чувствительных и устойчивых штаммов *Salmonella* (в том числе полирезистентных), выделенных в период 2004 – 2016 гг. неодинаково для

штаммов, принадлежащих к разным сероварам, а также для штаммов, выделенных от сельскохозяйственных животных различных видов (крупный рогатый скот, свиньи, домашняя птица) и продукции, полученной от животных этих видов. Удельный вес устойчивых (в том числе полирезистентных) штаммов УПМ значительно превышает этот показатель у штаммов *Salmonella*.

3. Устойчивость к препаратам групп хинолонов и цефалоспоринов расширенного спектра резистентных штаммов *Salmonella* ассоциирована, соответственно, с точечными мутациями в гене *gyrA* и генами *bla*_{CTX-M}, *bla*_{CTX-M group 1}, *bla*_{CTX-M group 9}, *bla*_{CMY}, *bla*_{TEM}.

4. Мониторинг чувствительности к антимикробным препаратам – основа комплекса мероприятий по предотвращению возникновения и распространения резистентных штаммов микроорганизмов. Препарат Аргумистин[®] на основе наночастиц серебра эффективен в качестве альтернативы антибиотикам при терапии инфекционных болезней желудочно-кишечного тракта бактериальной этиологии у сельскохозяйственных животных.

Степень достоверности и апробация результатов. Проведен значительный объем исследований: выявлены особенности серотипового состава 1731 штамма *Salmonella enterica subsp. enterica*, проанализирована устойчивость к 18 антимикробным препаратам у 626 штаммов микроорганизмов.

Статистический анализ проведен путем построения динамических рядов с помощью программы Microsoft Excel 2007. Для каждой линии тренда на графиках указаны уравнение и величина достоверности аппроксимации (R^2). Уровень значимости вычисляли с помощью on-line калькулятора biometrosa.ru

Результаты исследования доложены и обсуждены на научно-практических конференциях профессорско-преподавательского состава ФГБОУ ВО СПбГАВМ (г. Санкт-Петербург, 2015, 2016, 2017 и 2018 гг.), вошли в материалы научно-практической конференции «Болезни птиц в промышленном птицеводстве. Современное состояние проблемы и стратегия борьбы» (г. Санкт-Петербург, 2007г.), научной конференции «Хлопинские чтения» (г. Санкт-Петербург, 2008, 2011 гг.), Четвертой международной конференции «Идеи Пастера в борьбе с инфекциями» (г. Санкт-Петербург, 2008 г.), Международных конференциях «Балтийский Форум

ветеринарной медицины» (г. Санкт-Петербург, 2008, 2009, 2012 гг.), VIII Nordic-Baltic Congress on Infectious Diseases “Well-Known Infections – The Hottest Features of Diagnostic and Treatment” (2009), Всероссийской научной конференции «Проблемы современной эпидемиологии. Перспективные средства и методы лабораторной диагностики и профилактики актуальных инфекций (2009 г.), Третьем съезде военных врачей медико-профилактического профиля Вооруженных Сил Российской Федерации «Достижения науки и практики в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия Вооруженных сил Российской Федерации (г. Санкт-Петербург, 2010 г.), Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика» (Москва, 2010, 2017 гг.), международной конференции «Развитие научных исследований и надзор за инфекционными заболеваниями» (г. Санкт-Петербург, 2010 г.), международной научно-практической конференции «Ветеринарная наука в промышленном птицеводстве», посвященной 50-летию института ГНУ ВНИВИП Россельхозакадемии (г. Санкт-Петербург, 2014 г.), III международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства ветеринарии» (г. Санкт-Петербург, 2014 г.), II Международного ветеринарного конгресса Vetistanbul GROUP Congress (г. Санкт-Петербург, 2015 г.), Региональной ежегодной научно-практической конференции эпидемиологов «Актуальные проблемы профилактики инфекционных и неинфекционных заболеваний в Санкт-Петербурге» (г. Санкт-Петербург, 2015, 2016 гг.), 70-й юбилейной международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых СПбГАВМ (г. Санкт-Петербург, 2016 г.), II Национальном конгрессе бактериологов (г. Санкт-Петербург, 2016 г.), III Национальном конгрессе бактериологов (г. Москва, 2017 г.).

Личное участие. Вся работа по сбору, накоплению и исследованию штаммов микроорганизмов осуществлена лично автором. Молекулярно-генетические исследования проведены совместно с сотрудниками лаборатории кишечных инфекций НИИЭМ имени Пастера к.м.н. Егоровой С.А. и к.м.н. Макаровой М.А. Исследования содержания условно патогенных микроорганизмов в говядине и секрете молочных желез коров проведены совместно с доцентом кафедры микробиоло-

гии, вирусологии и иммунологии СПбГАВМ к.в.н. Смирновой Л.И. Картографический анализ полученных данных проведен совместно с начальником отдела дистанционного обучения и проектирования «клиент-серверных» интернет приложений УИ федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики», к.ф.-т.н. И.А.Хахаевым, фрагмент работы по применению препарата Аргумистин® выполнен с аспирантом СПбГАВМ Скриплевой Т.А.; определение точечных мутаций штаммов *S.Enteritidis* и *S.Infantis* проведены В.К.Козыревой (НИИАХ, г.Смоленск). Результаты исследований оформлены совместными публикациями.

Публикации. Результаты исследований, положенные в основу диссертационной работы, отражены в 35 научных работах, в том числе 13 – в изданиях, включенных в ВАК Министерства образования и науки РФ в Перечень российских рецензируемых научных журналов для опубликования основных научных результатов диссертации, двух аналитических обзорах, одной монографии, четырех Методических рекомендациях.

Объем и структура диссертации. Материалы диссертационной работы изложены на 323 страницах компьютерного текста, включая введение, обзор литературы, собственные исследования (материалы и методы, результаты, обсуждение), заключение, список сокращений, список литературы, приложение. Библиографический перечень включает в себя 318 источников научной литературы, в том числе 72 отечественных и 246 зарубежных авторов. Диссертация иллюстрирована 52 рисунками, 5 фотографиями и содержит 34 таблицы.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 Материалы и методы исследований

Работа выполнена в период с 2004 по 2016 год в лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера и являются составной частью НИР по теме: «Совершенствование лабораторной диагностики бактериальных возбудителей диарейных заболеваний. Генетическое разнообразие

факторов вирулентности, механизмов резистентности к антимикробным препаратам» и кафедре эпизоотологии им. В.П.Урбана ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская государственная академия ветеринарной медицины» по научно-исследовательской работе Тема № 4 «Изучение инфекционных болезней, разработка систем противо-эпизоотических мероприятий и методических разработок» № госрегистрации 01860125587 .

Эпизоотическая ситуация в ЗАО «Совхоз «Предпортовый» Красносельского района Санкт-Петербурга была изучена по схеме, предложенной А.И.Бакуловым (1979) с анализом ветеринарных отчетных документов хозяйства и материалов собственных исследований.

Выделение и идентификация *Salmonella* из патологического материала, кормов и продуктов животного происхождения проводилось на базе ФГБУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория» (ЛМВЛ) согласно действующим нормативным документам.

Проанализированы данные ЛМВЛ по выделению в период 2006 – 2016 гг. на территории СЗФО РФ 1731 штаммов *Salmonella enterica subsp. enterica* от сельскохозяйственных животных, из продукции животноводства и из кормов.

Чувствительность к АМП была определена у 482 штаммов *Salmonella*, принадлежащих к 62 серологическим вариантам, выделенных в ЛМВЛ на территории СЗФО РФ от сельскохозяйственных животных, из пищевых продуктов животного происхождения и из кормов, а также у 144 штаммов условно патогенных микроорганизмов (УПМ), выделенных от животных и из продукции животноводства на территории СЗФО РФ (*E.coli*, *Enterobacter kobei*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozenae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*).

Выделение и идентификация культур условно-патогенных микроорганизмов из говядины. Были исследованы 90 проб охлажденной говядины, приобретенной на предприятиях розничной торговли Санкт-Петербурга в период с ноября 2011 года по январь 2013 года. Исследование проводили согласно МУК 4.2.2963-11.

Выделение, идентификация и изучение культур условно-патогенных микроорганизмов из секрета молочных желез. На молочно-товарной ферме ЗАО «Предпортовый» Ленинградской области в декабре 2013 года было проведено бактерио-

логическое исследование 56 проб секрета молочных желез лактирующих коров, больных маститами. Полученные чистые культуры идентифицировали по совокупности их культурально-биохимических свойств.

Вирулентность выделенных культур определяли постановкой биопробы на белых мышах при введении им подкожно смыва суточной агаровой культуры в концентрации $5,0 \times 10^5$ КОЕ/мл, в дозе 0,2 мл.

Выделение и идентификация культур микроорганизмов из фекалий. Пробы испражнений 24 телят с клиническими признаками острого колита были взяты в мае и июне 2015 года в ЗАО «Предпортовый» Красносельского района Санкт-Петербурга. Из фекалий готовили десятикратные разведения в стерильном физиологическом растворе. Высев десятикратных разведений фекалий Ig4 – Ig6 проводился на среду Эндо и разведения Ig5 – на мясопептонный агар с добавлением 5% крови. Выделенные колонии микроорганизмов подсчитывали и идентифицировали классическим бактериологическим методом, а также с помощью автоматического бактериологического анализатора “Vitek Compact 2” производства Biomerieux согласно инструкции производителя.

Определение серологической формулы выделенных культур *Salmonella enterica* осуществлялось в реакции агглютинации на стекле с моно- и поливалентными О- и Н-сыворотками диагностическими адсорбированными для РА ПЕТСАЛ® производства ФГУП «СПбНИИВС» согласно инструкции производителя. Серологический вариант штамма определяли в соответствии со схемой Кауфмана-Уайта.

Серогрупповая принадлежность выделенных культур *Escherichia coli* определялась в реакции агглютинации с использованием набора сывороток «О»-коли агглютинирующих производства ФКП «Армавирская биофабрика» согласно инструкции производителя.

Определение чувствительности к антимикробным препаратам. Идентифицированные культуры были протестированы на чувствительность к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом до 2015 года согласно МУК 4.12.1890-04, с 2015 года - согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Были использованы диски производства Oxoid, содержащие антибиотики следующих классов:

амфениколы, хинолоны/фторхинолоны, пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы, сульфаниламиды и ко-тримоксазол, тетрациклины, аминогликозиды, нитрофураны. Наличие β -лактамазы расширенного спектра (БЛРС) подтверждали с помощью метода двойных дисков, а также с помощью наборов Kits for detection of resistance mechanisms: AmpC Confirm Kit: AmpC *Enterobacteriaceae* и Total ESBL Confirm Kit: ESBLs производства Rosco Diagnostica (Дания), согласно инструкции производителя.

Интерпретация и анализ результатов определения чувствительности к антимикробным препаратам. Штаммы микроорганизмов подразделяли на чувствительные, умеренно-резистентные и резистентные в соответствии с зоной подавления роста вокруг диска с антимикробным препаратом согласно нормативным документам. Для последующего анализа полученных результатов штаммы, относящиеся к категории умеренно-резистентных, были объединены с категорией резистентных штаммов.

Резистентные штаммы согласно рекомендациям EUCAST подразделяли на следующие группы: устойчивые к 1 и 2 группам АМП, полирезистентные – устойчивые к трем и более группам АМП, и входящие в эту группу экстремально резистентные штаммы – чувствительные к 1 или 2 группам АМП или полностью устойчивые. Каждую группу микроорганизмов анализировали отдельно.

Молекулярно-генетические исследования. Выделение микробной ДНК осуществляли с использованием набора InstaGene^M Matrix производства Bio-Rad Laboratories (Catalog#732-6030) согласно инструкции производителя. Микробную ДНК выделяли из 24-часовых культур, выросших на мясопептонном агаре. Раствор ДНК хранили при температуре -20° С.

Определение класса β -лактамаз расширенного спектра. Класс β -лактамаз расширенного спектра устанавливали методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) со специфическими праймерами. Ампликоны визуализировали при электрофорезе ПЦР-продукта в 2% агарозном геле при 100V в течение 1 часа.

Определение наличия точечных мутаций. Локализация мутации в QRDR области гена *gyrA* у 6 штаммов *Salmonella* (3 штамма *ser*.Enteritidis и 3 штамма *ser*.Infantis, как у представителей наиболее часто встречающихся сероваров),

устойчивых к фторхинолонам, была определена путем амплификации и прямого секвенирования данного участка микробной ДНК с помощью праймеров STGYRA1 и STGYRA12-GT. Секвенирование было проведено В.К. Козыревой (НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск, Россия).

Определение факторов вирулентности у Escherichia coli. Принадлежность выделенных штаммов *Escherichia coli* к ЕНЕС определяли методом ПЦР с использованием набора реагентов для выявления и дифференциации ДНК диарогенных *Escherichia coli* в объектах окружающей среды и клиническом материале методом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией “АмплиСенс® Эшерихиозы-FL” производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора согласно инструкции производителя. У штаммов *Escherichia coli*, отнесенных к ЕНЕС, определяли наличие генов, кодирующих факторы вирулентности, методом ПЦР в режиме реального времени со специфическими праймерами.

Производство шигаподобного токсина определяли иммунохроматографическим методом с использованием теста RIDA®QUICK Verotoxin производства R-Biofarm AG согласно инструкции производителя.

Принадлежность культур *Klebsiella pneumoniae* к гипермукоидному фенотипу определяли при постановке string-теста по методике, описанной A.S.Shon (2013).

Изучение бактерицидного действия препарата Аргумистин Для определения бактерицидного действия препарата Аргумистин® в качестве тестовых были взяты три штамма: штамм S.Typhimurium, выделенный из свинины, гипермукоидный штамм *K.pneumoniae*, выделенный из секрета молочных желез коровы, больной маститом и штамм *E.coli*, изолированный из фекалий теленка, больного колитом. Все штаммы обладали множественной устойчивостью к АМП. Из микроорганизмов готовили взвесь в физиологическом растворе содержащую 10^9 КОЕ/мл. Препарат Аргумистин® (нативный) разливали в стерильные пробирки по 4,5 мл и смешивали с 0,5 мл взвеси каждого микроорганизма. После экспозиции 0,5 часа, 1 час и 3 часа проводили высевы по 0,1 мл на мясопептонный агар с последующим подсчетом колоний и в пептонную воду для учета бактериостатического действия.

В качестве контроля использовали взвесь тех же микроорганизмов с физиологическим раствором.

Из штаммов, использованных для опыта по изучению нативного препарата Аргумистин® готовили взвесь в физиологическом растворе до концентрации 1×10^5 КОЕ/мл. Препарат Аргумистин® (0,8%) разливали в стерильные пробирки по 4,5 мл и смешивали с 0,5 мл взвеси каждого микроорганизма. После экспозиции 0,5 часа, 1 час, 3 часа и 5 часов проводили высевы по 0,1 мл на мясопептонный агар с последующим подсчетом колоний. В качестве контроля использовали взвесь тех же микроорганизмов в концентрации 10^5 КОЕ/мл с физиологическим раствором.

Применение препарата «Аргумистин»® для лечения телят, больных диареей.

Исследования проводили в ЗАО «Предпортовый» Красносельского района г. Санкт-Петербурга на телятах возраста 10-15 дней. Были выбраны 15 телят с признаками болезней желудочно-кишечного тракта, из них сформированы 3 группы (по 5 голов в каждой группе). Препарат Аргумистин® 0,8% применяли перорально в дозе 100 мл раствора 3 раза в день, через 2 ч после кормления (выпаивания) телят в течение 7 дн. Применение Аргумистина® сочетали с обычной схемой лечения колитов, применяемой в данном хозяйстве: «голодный» день (замена молока на раствор электролита), применение сорбентов (смектавет, карбовет), при повышенной температуре тела – антибиотики подкожно или внутримышечно (энроксил – 0,5%-й раствор подкожно в дозе 0,5 мл на 10 кг массы тела теленка в течение 3 дн., тетрациклин – внутримышечно, 0,5 г на 10 кг массы теленка в виде 2,5%-го раствора) (Скриплева Т.А., 2016). В качестве контрольной группы были выбраны телята с признаками колита, которых лечили по стандартной схеме, применяемой в хозяйстве.

Картографический анализ. В формате программы Microsoft Office Excel 2007 была сформирована база данных, включающая результаты изучения чувствительности к АМП 207 штаммов сальмонелл, выделенных на территории Ленинградской области с 2004 по 2016 гг. от сельскохозяйственных животных, из продукции животноводства и кормов. Штаммы сальмонелл подразделяли по серологическому варианту, району источника выделения, по видам источников выделения, а также

по чувствительности к АМП: (чувствительные, устойчивые к 1 – 2 группам АМП, полирезистентные, экстремально резистентные). Используя программу QGIS (версия 2.18) и открытые данные по административно-территориальному делению Российской Федерации в формате ESRI shape из проекта OpenStreetMap (OSM), на карту Ленинградской области, разделенной на районы, нанесли данные по изоляции штаммов сальмонелл с различной устойчивостью к АМП, отдельно для каждого года анализируемого периода.

Статистический анализ был проведен с помощью программы Microsoft Office Excel 2007. Выявление и описание тенденций изменения удельного веса штаммов различных категорий проводили с помощью анализа динамических рядов. Линия тренда представляет собой прямую, описанную уравнением выравнивания по способу наименьших квадратов. Для каждого тренда приводится величина достоверности аппроксимации (R^2), максимальным значением которого является 1. Линии трендов продлены на два временных периода, что позволяет прогнозировать дальнейшее изменение анализируемого показателя. Доверительный интервал вычисляли с помощью Microsoft Office Excel 2007. Уровень значимости p вычисляли с помощью on-line калькулятора biometrosa.ru.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Эпизоотологический анализ выделения сальмонелл от животных, из продукции животноводства и из кормов на территории Северо-Западного ФО в 2006 – 2016 гг

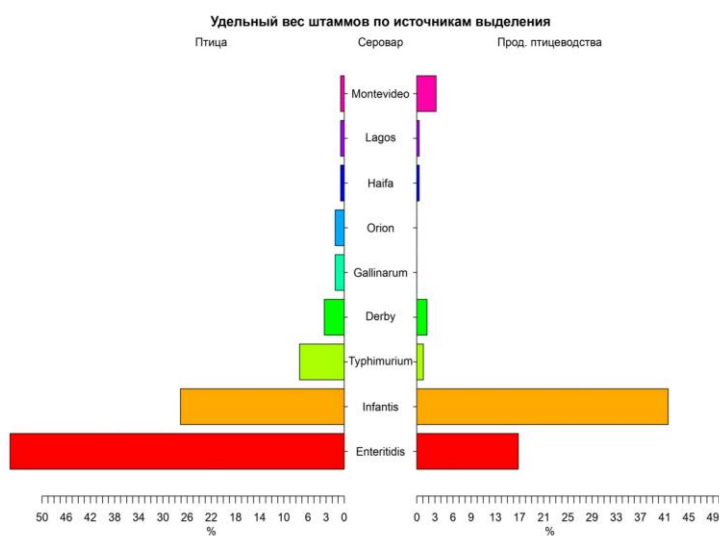
По данным ФГБУ «Ленинградская межобластная ветеринарная лаборатория», в 2006–2016 гг. на территории Северо-Западного ФО от больных, вынужденно убитых и павших продуктивных животных, из фекалий здоровых животных, из продукции животноводства и из кормов был выделен 1731 штамм *Salmonella enterica subsp. enterica*, принадлежащий к 71 серологическому варианту.

Значительная доля штаммов сальмонелл, выделенных от больных, вынужденно убитых и павших животных (44,5%), принадлежит к серологическим вариантам, занимающим ведущее положение в этиологической структуре сальмонеллезов, как животных, так и человека: S.Enteritidis, S.Typhimurium и S.Infantis.

Из материала, полученного от птицы, было выделено 185 штаммов сальмонелл, принадлежащих к семи серологическим вариантам. Наиболее часто были выделены сальмонеллы серологических вариантов *S.Enteritidis* (68,7% от общего количества штаммов, изолированных от птиц), *S.Infantis* (15,7%), *S.Typhimurium* (10,8%). Удельный вес штаммов хозяин-адаптированного для птиц серовара *S.Gallinarum* был незначителен – 2,7%. Выделение штаммов *S.Enteritidis* было отмечено во все годы анализируемого периода (2006 – 2016гг.), за исключением 2013 года. Штаммы серовара *S.Infantis* были выделены в 2008 - 2010 годах и в 2015г. В 2010 и 2014 годах этот серологический вариант имел наибольший удельный вес среди сальмонелл, изолированных от птиц. В 2015 году ведущим серологическим вариантом стал серовар *S.Typhimurium*, нетипичный для данного вида животных, удельный вес которого составил 69,6% от всех штаммов, выделенных от птицы в данном году.

Из продукции птицеводства было выделено 473 штамма сальмонелл 48 серологических вариантов. Подавляющее большинство составляли штаммы *S.Infantis* и *S.Enteritidis*: 41,6% и 16,7% соответственно. В куриных эмбрионах и инкубационном яйце были обнаружены только штаммы серовара *S.Enteritidis*.

Рисунок 1. Удельный вес серологических вариантов сальмонелл, наиболее часто выделяемых от птицы и из продукции промышленного птицеводства в 2007 – 2016 гг.



Штаммы *S.Infantis* выделяли из продукции птицеводства в течение периода с 2007 по 2016 годы, то же относится и к штаммам *S.Enteritidis*, за исключением 2013 и 2016 гг. Наличие сальмонелл других сероваров фиксировали в продукции

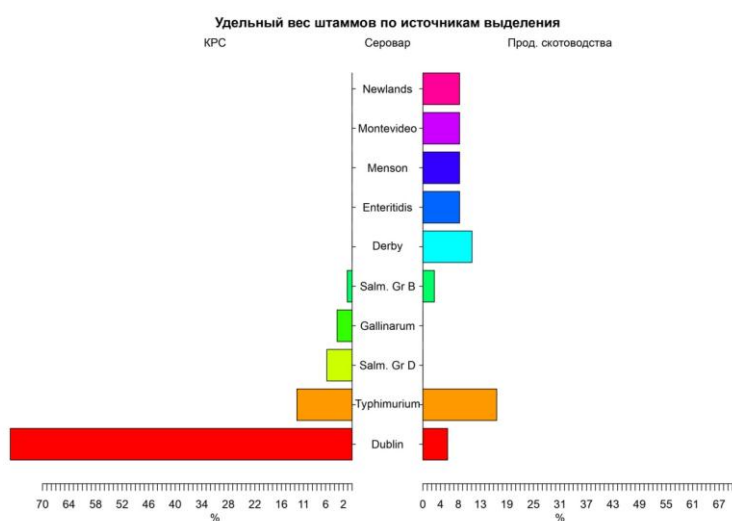
птицеводства не регулярно. Хозяин-адаптированный для птиц серовар *S.Gallinarum* из продукции птицеводства не выделяли. Как показано на рисунке 1,

ведущим сероваром, выделенным от птиц, является *S. Enteritidis*, а *S. Infantis* является вторым по доле выделения. Напротив, из продукции птицеводства больше всего выделяли штаммы *S. Infantis*, а штаммы *S. Enteritidis* имели долю примерно в два раза меньше.

За период 2006 – 2016 гг. из материала от крупного рогатого скота было изолировано 124 штамма сальмонелл. Лидирующее положение в структуре сальмонелл все годы занимал хозяин-адаптированный серологический вариант *S. Dublin* (83,1%), штаммы второго по значимости серологического варианта *S. Typhimurium*, имели удельный вес 9,7%. В 2014 г. штамм *S. Typhimurium* был выделен из молока, что позволяет рассматривать этот продукт как потенциальный фактор передачи возбудителя сальмонеллеза.

Из продукции мясного и молочного скотоводства в 2007- 2016 гг. было выделено 40 штаммов сальмонелл. Штаммы серологических вариантов *S. Typhimurium* и *S. Derby* имеют удельный вес 15% и 10% соответственно; сероваров *S. Brandenburg*, *S. Enteritidis*, *S. Menston*, *S. Montevideo*, *S. Newlands* – по 7,5%. Адаптированный для крупного рогатого скота серовар *S. Dublin* имеет удельный вес 5%.

Рисунок 2. Удельный вес серологических вариантов сальмонелл, наиболее часто выделяемых от крупного рогатого скота и из продукции скотоводства в 2007 – 2016 гг.



Как показано на рис. 2, подавляющее большинство штаммов, выделенные от животных, принадлежит серовару *S. Dublin*, в то время как 7 сероваров сальмонелл, выделенные из продукции скотоводства, имеют сопоставимый удельный вес, не превышающий 15%.

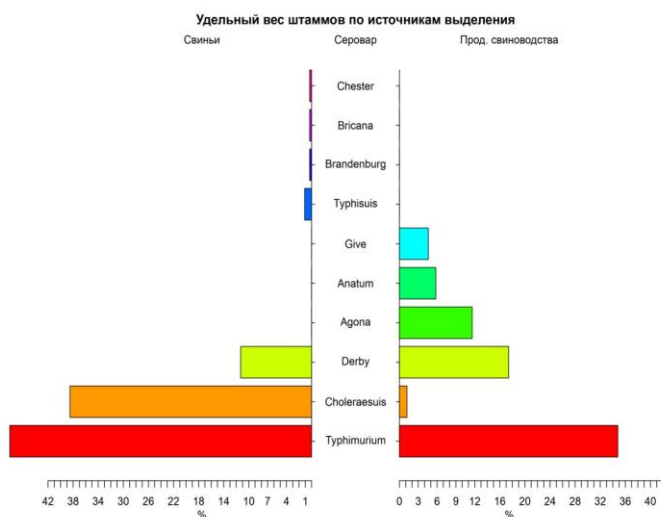
Из материала от свиней в 2006 – 2015 гг. были выделены 286 штаммов сальмонелл. Лидирующее положение занимал вариант *S. Typhimurium*, за исключением

2009 г., когда ведущим был серовар *S.Choleraesuis*, в остальные годы бывший вторым по значимости. На долю сальмонелл этих сероваров приходилось 86,4% штаммов, изолированных от свиней. Третьим по значимости был серологический вариант *S.Derby* – 11,1% штаммов, находки остальных сероваров, в том числе и второго хозяин-адаптированного для свиней серовара *S.Typhisuis*, были единичными и не превышали 2,5%.

Выделение штаммов *S.Typhimurium* из патологического материала, полученного от свиней, отмечали в течение всего периода наблюдения. Выделение хозяин-адаптированного для свиней серовара *S.Choleraesuis* зафиксировано только в 2007, 2009 и 2010 гг. *S.Typhisuis* был выделен только в 2006, 2007 и 2009 гг.

Из продукции свиноводства было изолировано 87 штаммов сальмонелл. Наибольший удельный вес имеют штаммы серологических вариантов *S.Typhimurium* (34,5%), *S.Derby* (17,2%), *S.Agona* (11,5%). Штаммы этих серологических вариантов выделяли из продукции свиноводства 5 лет (*S.Agona*, *S.Typhimurium*) и 6 лет (*S.Derby*) в течение анализируемого периода.

Рисунок 3. Удельный вес серологических вариантов сальмонелл, наиболее часто выделяемых от свиней и из продукции свиноводства в 2007 – 2016 гг.



Штаммы остальных сероваров, в том числе и адаптированного для свиней серовара *S.Choleraesuis*, обнаруживали эпизодически, удельный вес каждого из них составлял 5,7% – 1,1%.

Как представлено на рис. 3, штаммы *S.Typhimurium* имеют наибольший удельный вес как среди выделенных от свиней, так и среди изолированных из продукции свиноводства. Штаммы *S.Choleraesuis*, обладающие вторым по величине удельным весом среди культур, обнаруженных у свиней, из продукции свиноводства выделяли очень редко. Штаммы третьего по значимости серологического варианта – *S.Derby* также имели значительный удельный вес и среди изолированных из продукции свиноводства – 17,2%.

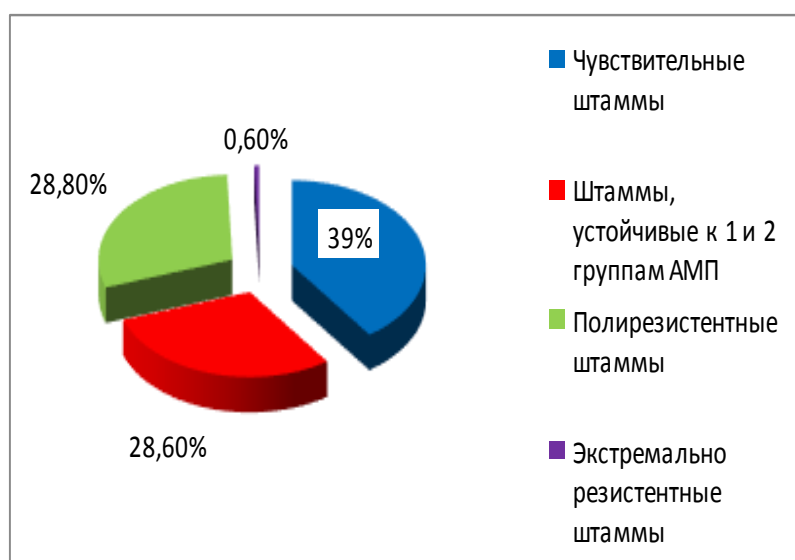
Из кормов растительного происхождения и дрожжей в 2006 – 2015 гг. было выделено 155 штаммов сальмонелл. Наибольший удельный вес в структуре сальмонелл, изолированных из кормов растительного происхождения и дрожжей, занимают серовары, не имеющие существенного эпизоотологического и эпидемиологического значения: *S.Isangi* (20,6%), *S.Agona* (10,9%) и *S.Lexington* (6,5%). Из кормов животного происхождения были изолированы 176 штаммов сальмонелл. Значительную долю в структуре имеют серовары, постоянно обнаруживаемые у сельскохозяйственных животных: *S.Infantis* (19,3%), *S.Typhimurium* (9,1%), *S.Derby* (6,3%), *S.Enteritidis* (5,1%).

Таким образом, от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства в период 2006 – 2015гг. наиболее часто изолировали штаммы сероваров *S.Enteritidis*, *S.Infantis* и *S.Typhimurium*.

2.2.2 Чувствительность к АМП штаммов сальмонелл, выделенных от животных, из продукции животноводства и кормов

Из общего числа исследованных штаммов сальмонелл (n=482) 188 были чувствительны ко всем группам АМП (39,0%).

Рисунок 4. Соотношение чувствительных и устойчивых к разному количеству групп АМП штаммов сальмонелл, %.



Удельный вес штаммов, устойчивых к одной и двум группам АМП, составил 28,6%. Доля полирезистентных штаммов сальмонелл составила 32,4%, из них 0,6% представлены экстремально-резистентными штаммами (рис.4).

В период с 2004 по 2016 гг. удельный вес чувствительных штаммов в данной выборке сальмонелл не изменялся, при этом отмечается снижение удельного веса штаммов, устойчивых к одной и двум группам АМП, и увеличение доли по-

лирезистентных штаммов, которая составляла треть от общего количества изученных штаммов (32,4%). Штаммы, устойчивые к пяти группам АМП, выделяют с 2009 г. Экстремально резистентные сальмонеллы, устойчивые к 6 и 7 группам АМП, обнаруживают с 2014 г.: в 2014 г. от павшего поросенка был выделен штамм серовара *S.Typhimurium*, в 2015 г. штамм серовара *S.London* из продукции скотоводства. Штамм *S.Typhimurium*, устойчивый к семи группам АМП, был изолирован в 2016 г. от теленка.

При сравнении чувствительности к АМП штаммов сероваров, имеющих наибольшее эпизоотологическое и эпидемиологическое значение - *S.Typhimurium*, *S.Enteritidis* и *S.Infantis*, отмечено, что наибольший удельный вес устойчивых к АМП штаммов имеет серовар *S.Infantis* – 92,8%. Подавляющее большинство штаммов этого серовара (78,3%) являются полирезистентными. Доля всех устойчивых *S.Typhimurium* штаммов составляет 87,4%, большинство штаммов – 79,7% являются полирезистентными, из них 2,6% относятся к экстремально резистентным. Значительная доля штаммов серовара *S.Enteritidis* (61,4%) относится к резистентным к одной и двум группам АМП. Чувствительные штаммы составляют 31,4%, доля полирезистентных - 7,2%.

При анализе исследования чувствительности к АМП штаммов сальмонелл, изолированных из различных источников, оказалось, что наибольшим удельным весом чувствительных штаммов обладали сальмонеллы, выделенные из кормов – 70,4%, на долю резистентных к одной и двум группам АМП сальмонелл, выделенных из этого источника, приходится 18,2%, доля полирезистентных штаммов – 11,4%.

Наименьший удельный вес (11,4%) имеют чувствительные к АМП сальмонеллы, выделенные от свиней. Доля полирезистентных штаммов является самой высокой среди всех анализируемых источников выделения сальмонелл – 63,6%. Среди сальмонелл, выделенных из продукции свиноводства, напротив, преобладают чувствительные штаммы; их удельный вес составляет 62,5%. Доля устойчивых к одной и двум группам АМП насчитывает 16,7%, доля полирезистентных штаммов несколько выше – 20,8%.

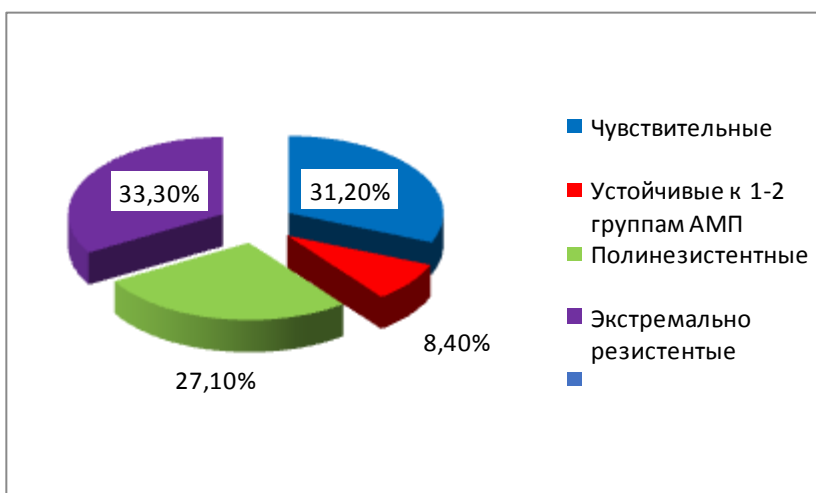
У сальмонелл, выделенных от птиц и из продукции птицеводства, доли чувствительных штаммов сопоставимы: 25,5% у сальмонелл, выделенных от птиц, и 22,4% - у выделенных из продукции птицеводства ($p=0,6055$). Штаммы, устойчивые к одной и двум группам АМП, имеют также сопоставимые доли: 36,3% у штаммов, выделенных от птиц и 39,2% у штаммов, выделенных из продукции птицеводства ($p=0,8468$). Полирезистентных штаммов среди сальмонелл, выделенных из каждого из этих источников, было примерно столько же, сколько и устойчивых к одной и двум группам АМП: 38,2% (по сравнению с 36,3%) среди сальмонелл, выделенных от птицы и 38,4% (по сравнению с 39,2%) – у выделенных из продукции птицеводства ($z=1,0005$).

Доля чувствительных к АМП штаммов сальмонелл, выделенных от крупного рогатого скота, составляет 52,2%; среди сальмонелл, изолированных из продукции молочного и мясного скотоводства, чувствительными были 46,5% штаммов. Удельный вес штаммов, устойчивых к одной и двум группам АМП примерно одинаков: 34,8% среди выделенных от крупного рогатого скота и 35,7% среди выделенных из продукции скотоводства ($p=0,8899$). Разница в доле полирезистентных штаммов более существенна: 13,0% – у сальмонелл, выделенных от крупного рогатого скота и 17,8% – у выделенных из продукции скотоводства, однако она не является статистически достоверной ($p=0,9344$).

2.2.3 Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных от животных и из продукции животноводства

При определении чувствительности к АМП УПМ, принадлежащих к разным видам и выделенных из различных источников, было установлено, что 68,8% исследованных микроорганизмов было устойчиво к 1 – 8 фармакологическим группам АМП.

Рисунок 5. Удельный вес чувствительных и устойчивых к АМП штаммов условно-патогенных микроорганизмов, %.



К одной и двум группам АМП было устойчиво 8,4% штаммов. Остальные резистентные штаммы (60,4%) были полирезистентными, из них 33,3% относились к экстремально-резистентным, причем три штамма были

чувствительны только к препаратам группы карбапенемов (2,1%). Один из этих штаммов принадлежал к виду *Pseudomonas aeruginosa* (выделен из молока коровы, больной маститом), два других штамма – *E.coli* изолированы из фекалий телят, больных колитом (рис.5).

При сравнении результатов изучения чувствительности штаммов сальмонелл и представителей УПМ было установлено, что доли чувствительных штаммов в этих двух группах микроорганизмов имеют сопоставимые значения (39% у сальмонелл и 31,2% у УПМ, $p=1,1118$), однако, удельный вес сальмонелл, устойчивых к одной и двум группам АМП составил 28,6%, у УПМ - 8,4% ($p=0,0005$). Доли полирезистентных штаммов в сравниваемых группах примерно одинаковы (28,8% у сальмонелл и 27,1% у штаммов УПМ), но экстремально резистентные штаммы сальмонелл имеют удельный вес 0,6%, в то время как доля экстремально резистентных штаммов у представителей УПМ составляет 33,3% ($p=0,0005$).

При анализе полученных данных особую обеспокоенность вызывает увеличение доли полирезистентных штаммов сальмонелл и появление в последние годы экстремально резистентных штаммов.

2.2.4 Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов *Escherichia coli*, выделенных из говядины

Из 32 изученных штаммов *Escherichia coli*, выделенных из 90 проб говядины, к 1 – 5 группам АМП было резистентно 8, что составляет 25% от общего количества. Четыре штамма *E.coli* (12,5% от общего числа) были устойчивы к 1 группе

АМП: 2 штамма – к хинолонам, по 1 – к пенициллинам и нитрофуранам. Четыре штамма, то есть 50,0% от количества устойчивых, были полирезистентными: 3 штамма были устойчивы к 3 группам АМП, что составило 9,3% от общего числа изученных культур, 1 – к 5 группам АМП (3,2%). Штаммы были устойчивы к препаратам групп пенициллинов, цефалоспоринов, тетрациклинов, хинолонов/фторхинолонов, аминогликозидов, амфениколов, нитрофуранов.

2.2.5. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов условно патогенных микроорганизмов, выделенных при мастите коров

При бактериологическом исследовании проб секрета молочных желез коров, содержащихся на молочно-товарной ферме ЗАО «Предпортовый» Ленинградской области было выделено 70 культур микроорганизмов, принадлежащих к роду *Klebsiella*, из них: 7 культур *K. pneumoniae*, 6 культур *K. ozenae* и 17 культур *K. oxytoca*. В 36,7% случаев культуры *K. pneumoniae* выделяли в ассоциации с *Proteus mirabilis*, в 14,4% - в ассоциации с *Pseudomonas aeruginosa*. Все выделенные штаммы, за исключением *K. ozenae*, были вирулентны для белых мышей, что позволило предположить, что они являются этиологическими факторами мастита в данном хозяйстве. При изучении биохимических свойств культур *K. pneumoniae* на анализаторе «Vitek Compact 2» установили, что они относятся к двум разным биологическим вариантам микроорганизмов одного вида, отличающихся по биохимическим свойствам. Морфологической особенностью культур *K. pneumoniae* варианта 2 является гиперпродукция слизи (гипермукоидный штамм).

Чувствительных к антимикробным препаратам микроорганизмов из молока выделено не было: все штаммы были устойчивы к 1 – 8 группам АМП. Наибольшее количество штаммов устойчиво к 4 и 5 группам АМП: их доли составляют 25,0% и 33,3% соответственно. Удельный вес экстремально резистентных штаммов клебсиелл составляет 25,0%.

Штаммы *K. pneumoniae* первого варианта имели четыре различных фенотипа резистентности к АМП. Два фенотипа резистентности выражались в устойчивости штаммов к четырем группам АМП. Оба данных фенотипа продуцировали БЛРС. Два других фенотипа резистентности выражались в устойчивости к различающим-

ся АМП пяти одинаковых фармакологических групп (пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, тетрациклины, сульфаниламиды с триметоприм-сульфаметоксазолом). Штаммы этих двух фенотипов также продуцировали БЛРС.

Штаммы *Klebsiella ozenae*, в отличие от *K.pneumoniae* и *K.oxytoca*, не были вирулентны для белых мышей, но они являлись полирезистентными, и также обладали способностью продуцировать БЛРС, т.е. являлись источником генетических детерминант резистентности к цефалоспорином расширенного спектра.

У штаммов *Proteus mirabilis* были выявлены два фенотипа устойчивости к АМП. Штаммы одного фенотипа были устойчивы к шести группам АМП: хинолонам (включая фторированные), пенициллинам, аминогликозидам, сульфаниламидам и триметоприм-сульфаметоксазолу, тетрациклинам и нитрофурановым препаратам. Штаммы второго фенотипа были устойчивы к хинолонам (включая фторированные), аминогликозидам, сульфаниламидам и триметоприм-сульфаметоксазолу, тетрациклинам и нитрофурановым препаратам. Все штаммы *Proteus mirabilis* также были вирулентны для белых мышей.

У штаммов *Pseudomonas aeruginosa* были установлены три фенотипа устойчивости к АМП. Штаммы первого фенотипа были устойчивы к четырем группам АМП: пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, тетрациклины, а также продуцировали β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС). Штаммы *P.aeruginosa* второго фенотипа были резистентны к шести группам АМП, т.е. относились к экстремально резистентным микроорганизмам. Они были устойчивы к амфениколам, пенициллинам, цефалоспорином, хинолонам, аминогликозидам и нитрофуранам. Штаммы третьего фенотипа были устойчивы ко всем группам АМП, за исключением карбапенемов.

Значительная часть штаммов, устойчивых к пенициллинам – 72,7% - была устойчива также и к цефалоспорином. Половина всех штаммов, выделенных из молока, продуцировала БЛРС. К препаратам группы аминогликозидов было устойчиво 83,3% штаммов, к тетрациклином - 66,7%. К сульфаниламидам и триметоприм-сульфаметоксазолу было устойчиво немногим более половины штаммов – 58,3%. Удельный вес микроорганизмов, устойчивых к препаратам групп нитрофуранов и хинолонов был равным – 33,3%. Половина штаммов, устойчивых к хи-

нолонам, была резистентна также и к препаратам следующего поколения – фторированным хинолонам. Минимальную долю составляли штаммы, устойчивые к амфениколам – 16,7%.

2.2.6 Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов *Escherichia coli*, выделенных от телят, больных острым колитом, в ЗАО «Предпортовый»

Выборка микроорганизмов, изолированных до и после лечения у 24 больных острым колитом телят 10-15-дневного возраста, содержащихся на животноводческом предприятии ЗАО «Предпортовый», составила 78 штаммов, из них 75 штаммов *E.coli* (96,2%) и 3 штамма *Enterobacter kobei* (3,8%).

Чувствительными были 17 штаммов, что составило 21,8% от общего количества. Штаммов, устойчивых к одной группе АМП, не было. К двум группам АМП было устойчиво 2 штамма (2,6%). Остальные 75,6% изученных штаммов были полирезистентными, из них 25,6% было устойчиво к 3-5 группам АМП, экстремально резистентными были 50,0%.

Среди изученных штаммов *E.coli* наибольший удельный вес имели устойчивые к группе сульфаниламидов и триметоприм-сульфаметоксазола – 76,9%. Наименьший удельный вес имели штаммы УПМ, резистентные к препаратам группы нитрофуранов – 11,6%. БЛРС продуцировали девять штаммов, что составило 11,6% от общего количества.

У 12 штаммов, выделенных от семи телят, было выявлено наличие гена *eae*, кодирующего свойство адгезии микробных клеток к клеткам кишечника и *stx1*, кодирующего продукцию шигаподобного токсина первого типа. Совокупность этих признаков позволяет отнести данные штаммы *Escherichia coli* к энтерогеморрагическим *E.coli* (ЕНЕС). Продукция шигаподобного токсина была подтверждена иммунохроматографическим методом.

У 9 культур ЕНЕС удалось определить принадлежность к серологической группе: по одному штамму принадлежали к серогруппам O26, O103 и O137, остальные шесть штаммов принадлежали к серологической группе O18.

Штаммы ЕНЕС различались по чувствительности к АМП. Два штамма из двенадцати (16,7%) были чувствительны к АМП, остальные были устойчивы к двум – четырем группам АМП.

2.2.7 Визуализация результатов исследования чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам с помощью географической информационной программы QGIS

С помощью географической информационной программы QGIS (версия 2.18) на карту Ленинградской области были нанесены данные по изоляции штаммов сальмонелл с различной устойчивостью к АМП. В легенде карты отдельными цветами были обозначены категории штаммов: чувствительные, резистентные к 1-2 группам АМП, полирезистентные, экстремально резистентные, указан серологический вариант устойчивых штаммов и источник выделения.

В 2004 - 2006 гг. было зафиксировано выделение резистентных к одной и двум группам АМП или полирезистентных штаммов только в одном из районов Ленинградской области: в 2004 г. – в Ломоносовском: S.Enteritidis, изолированные от птицы, в 2005 (рис.6) и в 2006 гг. – в Волосовском: S.Dublin, выделенные от крупного рогатого скота.

Рисунок 6. Выделение штаммов *Salmonella* на территории Ленинградской области в 2005г. и их чувствительность к антимикробным препаратам



В 2007 г. штаммы сальмонелл, устойчивые к одной и двум группам АМП, были обнаружены уже на территории двух районов – Волосовского и Гатчинского. С 2009 г. наблюдается расширение географии изоляции устойчивых к АМП

штаммов: в 2009, 2010 и 2013 гг. отмечается их выделение на территории трех районов.

В 2014 г. резистентные штаммы были изолированы уже на территории четырех районов (Волховском, Гатчинском, Кировском, Тосненском), причем в одном из них – Тосненском, отмечено выделение экстремально-резистентных штаммов *S. Typhimurium* от свиней.

Рисунок 7. Выделение штаммов *Salmonella* на территории Ленинградской области в 2015г. и их чувствительность к антимикробным препаратам



В 2015 г. выделение экстремально-резистентных штаммы зафиксировано в Гатчинском районе (рис.7). В 2016 г. устойчивые штаммы сальмонелл были обнаружены на территории пяти районов Ленинградской области.

Таким образом, пространственная визуализация распространения устойчивых штаммов микроорганизмов является одним из эффективных инструментов эпизоотологического анализа.

2.2.8 Профили резистентности и механизмы устойчивости микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных к антимикробным препаратам

У выделенных в период 2004 – 2016гг. штаммов сальмонелл было установлено 87 профилей резистентности к АМП.

Одним из наиболее часто встречающихся профилей резистентности была устойчивость к пяти препаратам: ампициллину, хлорамфениколу, тетрациклину, стрептомицину и сульфаниламиду. В 97,3% случаев данный профиль отмечался у штаммов серовара *S.Typhimurium*, выделенного от павших свиней в Тосненском и Гатчинском районах Ленинградской области и из продукции свиноводства отечественного и импортного происхождения.

Другим распространенным профилем резистентности является устойчивость к трем препаратам: тетрациклину, налидиксовой кислоте и нитрофурантоину. Таким профилем обладали только штаммы *S.Infantis*, выделенные в период с 2006 по 2013 гг. от птицы или из продукции птицеводства, произведенных как в нашей стране, так и за рубежом. Остальные профили резистентности сальмонелл объединяют менее 10 штаммов.

У штаммов ЕНЕС было выявлено пять профилей резистентности, причем принадлежность к серологической группе не совпадала с профилем антимикробной резистентности.

Для изучения механизма устойчивости сальмонелл к АМП группы хинолонов нами было выбрано по три штамма серологических вариантов *S.Enteritidis* и *S.Infantis*, устойчивых к фторхинолонам, поскольку у этих сероваров резистентность к хинолонам встречается чаще всего. При секвенировании генов *gyrA* были выявлены единичные точечные мутации, обуславливающие резистентность к хинолонам. У двух штаммов *S.Enteritidis* мутация была отмечена в 83-й позиции (замена серина на фенилаланин), у одного штамма – в 87-й позиции (замена аспарагина на глицин). У трех исследованных штаммов *S.Infantis* мутация была одинакова – замена в 87-й позиции аспарагина на тирозин.

К цефалоспорином расширенного спектра (цефтазидим, цефотаксим, цефтриаксон) фенотипически были резистентными 9 штаммов *Salmonella*, у пяти из них был определен класс БЛРС. Гены *bla_{CMY-2}* были обнаружены у двух штаммов *S.Kentucky*, выделенных в 2006 и 2009 годах из импортной продукции птицеводства, а также *S.Dublin*, изолированного в 2005 году из внутренних органов павшего теленка. Гены *bla_{CTX-M}* были выявлены у штаммов сероваров *S.Haifa*, *S.Derby*. Штамм *S.Haifa* был выделен из патологического материала от курицы, поступив-

шей из Волосовского района, штамм S.Derby - из свиного сердца импортного происхождения. Штамм S.Dublin, выделенный из внутренних органов коровы, поступивших из Тосненского района, обладал геном *bla*_{AmpC}.

У 15 из 22 штаммов УПМ, устойчивых к цефалоспорином расширенного спектра, установлена продукция БЛРС, что составило 10,4%. Класс обнаруженных β-лактамаз определен у 11 штаммов. Изолированные из секрета молочных желез коров штаммы *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae* обладали генами, кодирующими продукцию БЛРС класса СТХ-М, штаммы *Klebsiella ozenae* и *Klebsiella pneumoniae*, выделенные из того же источника – класса СТХ-М1. Среди *Escherichia coli*, изолированных от телят, не принадлежащих к ЕНЕС, один штамм обладал генами, кодирующими продукцию БЛРС класса ТЕМ1, один штамм – СТХ-М1, два штамма имели гены, кодирующие продукцию обеих этих БЛРС, один штамм – СТХ-М9 и ТЕМ1.

2.2.9 Предлагаемая система мониторинга чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов – возбудителей инфекционных болезней сельскохозяйственных животных и мероприятия, направленные на предотвращение возникновения и распространения устойчивых штаммов микроорганизмов

Согласно стратегии по сдерживанию резистентности, разработанной ВОЗ, нами сформулированы рекомендации по предотвращению возникновения и распространения, устойчивых к АМП штаммов микроорганизмов в системе противоэпизоотических мероприятий:

1. В рамках животноводческого предприятия осуществлять мониторинг чувствительности к АМП микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных:

- при поступлении здоровых животных на животноводческое предприятие;
- при возникновении инфекционных болезней бактериальной этиологии;
- определять хронологическую тенденцию в появлении и распространении штаммов представителей нормальной микрофлоры и возбудителей инфекционных болезней к АМП разных классов;

- применять для лечения и профилактики инфекционных болезней АМП только тех групп, к которым отмечается наименьшее количество резистентных штаммов;
 - снижать до минимума количество АМП, используемых в хозяйстве для профилактики инфекционных болезней за счет улучшения санитарных условий содержания животных, применения вакцин, назначения пробиотиков, иммуностимуляторов и т.д.
 - проводить научно обоснованную ротацию АМП, используемых для лечения и профилактики инфекционных болезней;
2. Мониторинг чувствительности к АМП микрофлоры, выделенной из продукции животноводства на объектах государственного ветеринарного надзора в соответствии с принципами с ХАССП.
 3. Применять альтернативные антибиотикам препараты для лечения инфекционных болезней сельскохозяйственных животных бактериальной этиологии (антитела к различным антигенам, фаголизины, бактериофаги, иммуностимуляторы, антимикробные вещества, не относящиеся к антибиотикам).
 4. Проводить мониторинг распространения антибиотикорезистентных штаммов в пределах региона (от животноводческого предприятия до розничной торговой сети). Осуществлять эпизоотологический анализ полученных данных с учетом хозяйственных связей между животноводческими, перерабатывающими и торговыми предприятиями.
 5. Проводить интегрированный эпизоотологический и эпидемиологический надзор за резистентностью штаммов микроорганизмов, выделенных от людей, сельскохозяйственных животных и из продуктов питания.

2.2.10 Применение противомикробного препарата на основе наночастиц серебра Аргумистин® как альтернативного средства антимикробной терапии животных

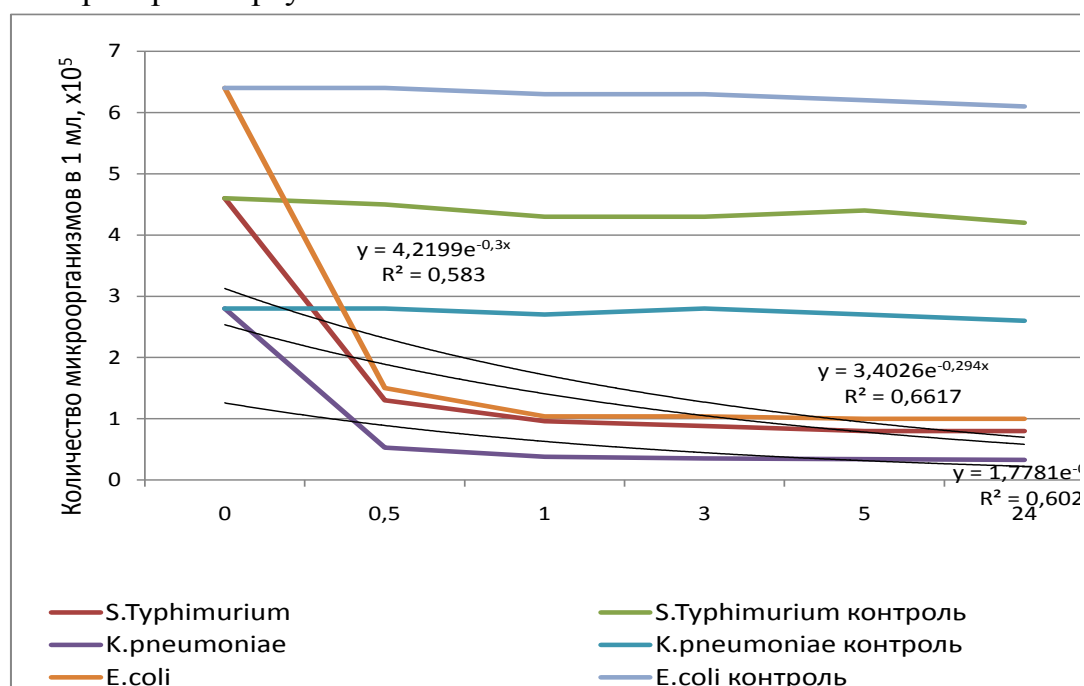
Препарат Аргумистин® был применен в качестве альтернативного АМП средства в ЗАО «Предпортовый» Красносельского района Санкт-Петербурга. Данное животноводческое предприятие благополучно по туберкулезу, бруцеллезу, ящуре, сибирской язве, лейкозу. В соответствии с Планом диагностических иссле-

дований, ветеринарно-профилактических и противоэпизоотических мероприятий, животных вакцинируют против колибактериоза, лептоспироза, инфекционного ринотрахеита, парагриппа-3, вирусной диареи крупного рогатого скота и трихофитии. Для профилактики колибактериоза применяют Комбовак-К: комбинированную инактивированную вакцину против вирусной диареи, рота-, коронавирусной инфекции и эшерихиоза телят. Вакцина содержит протективные антигены эшерихий: соматические O9, O78, капсульные полисахаридные K80, K30, адгезивные F-41, антигены K99, термолабильный и термостабильный инактивированный энтеротоксины. Телят вакцинируют в возрасте 30 суток и старше.

Нами было доказано антимикробное действие препарата Аргумистин® на три штамма микроорганизмов, обладающих множественной устойчивостью к АМП: штамма *S.Typhimurium*, выделенного из свинины, гипермукоидного штамма *K.pneumoniae*, выделенного из секрета молочных желез коровы, больной маститом и штамма *E.coli*, изолированного из фекалий теленка, больного колитом, в ЗАО «Предпортовый»

При изучении антимикробного действия препарата Аргумистин® 0,8% на те же штаммы выявлена тенденция к снижению количества колониеобразующих единиц в 1 мл суспензии (рис.8).

Рисунок 8. Динамика изменения количества колониеобразующих единиц в суспензии препарата Аргумистин®



При лечении телят в первой опытной группе (применение 0,8% раствора «Аргумистина» ®) устойчивый лечебный эффект от применения препарата наблюдали у телят на четвертый день выпаивания. Во второй опытной группе (применение 0,8% раствора Аргумистина® в сочетании со стандартной схемой лечения, принятой в хозяйстве) прекращение поноса у телят наблюдали уже на второй день лечения. В контрольной группе (применение стандартной схемы лечения) лечебный эффект наступал на шестой день лечения. Экономический эффект от применения препарата Аргумистин® составил 6,03 рубля/на 1 рубль затрат, при лечении по стандартной схеме экономический эффект в 2,53 раза меньше - 2,38 рубля/на 1 рубль затрат. На основании результатов исследований, препарат Аргумистин® рекомендован к применению в производстве.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании результатов проведенных исследований сделаны следующие выводы и разработаны рекомендации производству:

1. Среди штаммов *Salmonella*, выделенных в 2006 - 2016 гг. в Северо-Западном Федеральном округе Российской Федерации из патологического и биоматериала от продуктивных животных (крупный рогатый скот, свиньи, домашняя птица), из продукции животноводства и кормов растительного и животного происхождения, значительную долю (суммарно 63,1%) составляли штаммы сероваров *S. Enteritidis*, *S. Infantis* и *S. Typhimurium*, ни один из которых не является хозяин-адаптированным для конкретного вида продуктивных животных, но имеет существенное эпизоотологическое значение и широко распространены у людей.
2. Штаммы *S. Infantis* преобладали среди выделенных из продукции птицеводства и из фекалий птиц (33,2% и 65,9% соответственно); штаммы *S. Enteritidis* составляли подавляющее большинство среди выделенных из патологического материала от птицы и из инкубационного яйца (68,7% и 100% соответственно).
3. Штаммы *Salmonella* сероваров *S. Enteritidis*, *S. Infantis* и *S. Typhimurium*, имели специфические особенности чувствительности к АМП, выражающиеся в различном соотношении чувствительных и устойчивых (в том числе полирезизи-

стентных) штаммов: 61,4% штаммов *S. Enteritidis* были чувствительными, 78,3% штаммов *S. Infantis* были резистентными, 79,7% штаммов *S. Typhimurium* – полирезистентными. Соотношение чувствительных и устойчивых (в том числе полирезистентных) штаммов достоверно различалось у штаммов *Salmonella*, выделенных от свиней и из продукции свиноводства ($p=0,0005$); у штаммов, выделенных от птиц, крупного рогатого скота и продукции, полученных от животных данных видов, это соотношение статистически достоверных различий не имело.

4. Доли полирезистентных и экстремально резистентных штаммов условно патогенных микроорганизмов (*Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*) – 60,4% и 33,3% соответственно, существенно больше, чем у *Salmonella* – 32,3% и 0,6% соответственно ($p=0,0005$).

5. Точечные мутации в гене *gyrA*, обуславливающие устойчивость к фторхинолонам, обнаружены у резистентных штаммов *S. Enteritidis* и *S. Infantis*. Фенотипическая устойчивость штаммов *Salmonella* и УПМ к цефалоспорином расширенного спектра была ассоциирована с наличием генов *bla*_{CTX-M}, *bla*_{CTX-M group 1}, *bla*_{CTX-M group 9}, *bla*_{CMY}, *bla*_{TEM}, кодирующих продукцию β-лактамаз расширенного спектра.

6. Штаммы энтерогеморрагической *E. coli* серогрупп O18, O26, O103, O137 с различными профилями устойчивости к АМП являлись этиологическим фактором колита у телят в животноводческом предприятии.

7. Эпизоотологический анализ с использованием программы QGis (версия 2.18) позволил визуализировать динамику и неоднородность распространения штаммов *Salmonella* различных сероваров, обладающих разными профилями лекарственной устойчивости, на территории 18 районов Ленинградской области.

8. Комплекс мероприятий по предотвращению возникновения и распространения резистентных штаммов микроорганизмов должен включать мониторинг чувствительности к антимикробным препаратам с анализом тенденций изменения количества устойчивых штаммов. Оптимальным является интегрированный эпизоотологический и эпидемиологический надзор за чувствительностью микроорганизмов, вызывающих инфекционные болезни животных и людей.

9. Препарат Аргумистин® на основе наночастиц серебра, обладающий бактерицидным действием в отношении штаммов *in vitro* и терапевтическим эффектом

при лечении телят, больных колитом, рекомендован к применению в производстве в качестве альтернативы антибиотикам. Экономический эффект от применения препарата Аргумистин® составил 6,03 руб/на 1 рубль затрат.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

На основании изложенных результатов, нам представляется перспективным дальнейшее изучение закономерностей формирования и распространения устойчивых к АМП штаммов среди сельскохозяйственных животных, и на основании полученных данных формирование и внедрение в производство системы мероприятий по предотвращению распространения резистентности в животноводстве. Другим перспективным направлением является разработка методов лечения и профилактики инфекционных болезней животных без применения антибиотиков, в том числе и с использованием в качестве референтных задепонированных нами устойчивых к АМП штаммов.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Статьи в журналах, внесенных в перечень рецензируемых изданий, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ

1. Забровская, А.В. Устойчивость к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных от животных и из продуктов в Ленинградской области в 2004 – 2010 гг./ А.В.Забровская, Л.А.Кафтырева, С.А.Егорова, Л.В.Селиванова, Л.Ю.Малышева и др. // Международный вестник ветеринарии. – 2011. - №3.– С.15 – 18.
2. Кафтырева, Л.А. Вспышки острой кишечной инфекции, вызванные *Escherichia coli* O104:H4, зарегистрированные в странах Европы, и биологические особенности возбудителя/ Л.А.Кафтырева, С.А.Егорова, М.А.Макарова, А.В.Забровская, З.Н.Матвеева и др.//Вестник Санкт-Петербургского университета.- 2011. – Вып.4.- С.119-126.
3. Кафтырева, Л.А. Многообразие механизмов антибиотикорезистентности сальмонелл/Л.А.Кафтырева, С.А.Егорова, М.А.Макарова, А.В.Забровская, З.Н.Матвеева и др. //Инфекция и иммунитет. – 2011. – т.1. - №4. – С.303-310.
4. Забровская, А.В. Сельскохозяйственные животные как источник детерминант резистентности к антимикробным препаратам//А.В.Забровская, С.А.Егорова, В.К.Козырева, Л.В.Селиванова, И.А.Валькова//Инфекция и иммунитет. – 2012. – т.2. - №1-2. – С.263-264.
5. Забровская, А.В. Энтерогеморрагические эшерихии у человека и животных/А.В.Забровская, М.А.Макарова, С.А.Егорова, Л.А.Кафтырева, Л.И.Смирнова//Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2012. - №1. – С.22-25.

6. Смирнова, Л.И. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов *Escherichia coli*, выделенных из говядины/Л.И.Смирнова, А.В.Забровская, Е.И.Приходько, В.Э.Ярикова, Д.М.Гегирова//Международный вестник ветеринарии. – 2012. - №3. – С.32-35.
7. Забровская, А.В. Системы мониторинга устойчивости к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от животных и из продуктов животного происхождения/А.В.Забровская//Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2014. - №1. – С.17-19.
8. Смирнова, Л.И. Роль бактерий рода *Klebsiella* при ассоциированных инфекциях коров и телят в условиях промышленного комплекса/Л.И.Смирнова, А.В.Забровская, Е.И.Приходько, В.Э.Ярикова, Д.М.Гегирова//Международный вестник ветеринарии. – 2014. – №3. – С.7-11.
9. Смирнова, Л.И. Биологические свойства микроорганизмов вида *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, выделенных из молока коров при мастите/Л.И.Смирнова, А.В.Забровская, Е.И.Приходько, В.Э.Ярикова, Д.М.Гегирова //Международный вестник ветеринарии. – 2014. - №2. – С.12-16.
10. Скриплёва, Т.А. Применение ветеринарного препарата на основе наночастиц серебра для лечения телят с желудочно-кишечными болезнями/Т.А.Скриплёва, В.А.Кузьмин, А.М.Лунегов, А.В.Забровская, Ю.А.Крутяков//Международный вестник ветеринарии. – 2015. - №3. – С.43-48.
11. Забровская, А.В. Эпизоотологический анализ выделения сальмонелл от животных, из продукции животноводства и кормов на территории Северо-Западного ФО в 2006 – 2016гг./А.В.Забровская//Международный вестник ветеринарии. - №4. – С.16-20.
12. Забровская, А.В. Пространственная визуализация данных по выделению и чувствительности к антимикробным препаратам штаммов сальмонелл/А.В.Забровская, И.А.Хахаев, В.А.Кузьмин, Л.А.Кафтырева//Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2018. - №1. – С.43-45/
13. Забровская, А.В. Предотвращение возникновения и распространения штаммов микроорганизмов, устойчивых к антимикробным препаратам /А.В.Забровская//Иппология и ветеринария. – 2018. - №2. – С.64-70.

Статьи, опубликованные в сборниках научных трудов и материалах конференций

1. Кафтырева, Л.А. Чувствительность к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных от животных и из продуктов животного происхождения в Северо-Западном регионе РФ/Л.А.Кафтырева, А.В.Забровская, Л.В.Селиванова, А.Н.Борисенкова, Т.Н.Рождественская и др.//Болезни птиц в промышленном птицеводстве. Современное состояние проблемы и стратегия борьбы. Материалы научно-практической конференции, 5-6 июня 2007 года. – Санкт-Петербург. – 2007. - С.207-209.
2. Забровская, А.В. Чувствительность к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных от животных и из продуктов животного происхождения в Северо-Западном регионе РФ в 2004 – 2007гг./А.В.Забровская, Л.В.Селиванова, А.Н.Борисенкова//Внутрибольничная инфекция: эпидемиолого-гигиенические про-

блемы. Материалы XXXXI научной конференции «Хлопинские чтения». - Санкт-Петербург. – 2008. - С.101-103.

3. Кафтырева, Л.А. Устойчивость к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных из пищевых продуктов/Л.А.Кафтырева, А.В.Забровская, Л.В.Селиванова// Материалы Всероссийской научной конференции «Проблемы современной эпидемиологии. Перспективные средства и методы лабораторной диагностики и профилактики актуальных инфекций» 19 – 20 ноября 2009 года. - Санкт-Петербург. – 2009. - С.323-324.

4. Забровская, А.В. Выделение *S.Enteritidis*, *S.Infantis*, *S.Typhimurium* от животных и из продукции животноводства на территории Ленинградской области в 2007 – 2009 гг./А.В.Забровская, Л.В.Селиванова, Н.А.Антипова// Труды Третьего съезда военных врачей медико-профилактического профиля Вооруженных Сил Российской Федерации «Достижения науки и практики в обеспечении санитарно-эпидемиологического благополучия Вооруженных сил Российской Федерации». – Санкт-Петербург. – 2010. - С.106-107.

5. Егорова, С.А. Молекулярная диагностика механизмов резистентности к цефалоспорином расширенного спектра у сальмонелл, выделенных от людей, животных и продуктов животного происхождения в 2003 – 2009 гг./С.А.Егорова, Л.А.Кафтырева, А.В.Забровская, Е.А.Кожухова// Материалы VII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика – 2010». – Москва. – 2010. - том II. – Раздел 11. - С.331-333.

6. Забровская, А.В. Мониторинг чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных из пищевых продуктов животного происхождения в 2004 – 2010 гг./А.В.Забровская, Л.А.Кафтырева, С.А.Егорова, Л.В.Селиванова, Л.Ю.Малышева, и др.// Материалы XXXXIV научной конференции Хлопинские чтения «Эколого-гигиенические и клинические проблемы управления здоровьем населения». - Санкт-Петербург. – 2011. - С.115-117.

7. Смирнова, Л.И. Чувствительность к антимикробным препаратам штаммов *E. coli*, выделенных из говядины/Л.И.Смирнова, А.В.Забровская, Е.И.Приходько, В.Э.Ярикова, Д.М.Гегирова// Балтийский форум ветеринарной медицины –2012. Сборник научных трудов участников международной научно-практической конференции (22-23 сентября 2012 года, г.Санкт-Петербург). –СПб.: НОИР, ООО «ИКЦ ». - 2012. – С.30 – 31.

8. Смирнова, Л.И. Роль бактерий рода *Klebsiella* при ассоциированных бактериальных инфекциях крупного рогатого скота/Л.И.Смирнова, А.В.Забровская, Е.И.Приходько, В.Э.Ярикова, Д.М.Гегирова// Материалы III международного конгресса ветеринарных фармакологов и токсикологов «Эффективные и безопасные лекарственные средства в ветеринарии». – СПб., Изд-во ФГБОУ ВПО СПбГАВМ. – 2014. – С.242-244.

9. Забровская, А.В. Чувствительность к антимикробным препаратам сальмонелл, выделенных из продукции животноводства/А.В.Забровская, Л.А.Кафтырева// Ак-

туальные проблемы профилактики инфекционных и неинфекционных заболеваний в Санкт-Петербурге» Материалы Региональной ежегодной научно-практической конференции эпидемиологов – 2015. – Санкт-Петербург. – 2015. - С.31 – 33.

10. Забровская, А.В. Устойчивость к антимикробным препаратам представителей микрофлоры кишечника телят, больных диареей/А.В.Забровская, Т.А.Скриплёва, С.А.Егорова// Материалы 70-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ. - Санкт-Петербург. - 2016. – С.58-60.

11. Забровская, А.В. Применение ветеринарного препарата на основе наночастиц серебра для лечения телят с диареей/А.В.Забровская, Т.А.Скриплёва, А.М.Лунегов, Ю.А.Крутяков// Материалы 70-й юбилейной международной научной конференции молодых ученых и студентов СПбГАВМ, Санкт-Петербург. - 2016. – С.60-61.

12. Егорова, С.А. Результаты мониторинга чувствительности к антибиотикам штаммов *SALMONELLA*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2014-2015гг/ С.А.Егорова, Л.А.Кафтырева, А.В.Забровская, Е.В.Войтенкова, Н.В.Толузакова и др.// Актуальные вопросы эпидемиологии и профилактики заболеваний в Санкт-Петербурге. – Материалы Региональной ежегодной научно-практической конференции эпидемиологов-2016. – Санкт-Петербург. – 2016. - С.42-45.

13. Забровская, А.В. Генетические детерминанты резистентности к антимикробным препаратам у микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства/А.В.Забровская, С.А.Егорова// Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Молекулярная диагностика 2017». – Москва. – 2017. - т. II. – С.240-241

14. Егорова, С.А. Характеристика монофазных штаммов *Salmonella* группы В: 1,4,[5],12:i:-/ С.А.Егорова, Л.А.Кафтырева, Е.В.Войтенкова, З.Н.Матвеева, А.В.Забровская// Материалы III национального конгресса бактериологов. В рамках XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов (ВНОЭМП), г. Москва 16 – 17 ноября 2017 г. – Бактериология. – 2017. - т.2. - №3. – С.12-13

Статьи, опубликованные в других изданиях

Забровская, А.В. Чувствительность к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства/А.В.Забровская// VetPharma. – 2012. - №5. – С.20 – 24.

Методические рекомендации

1. Особенности идентификации сальмонелл и их дифференциация от сходных по биологическим свойствам микроорганизмов/Смирнова Л.И., Забровская А.В., Сухинин А.А. - Санкт-Петербург: Издательство СПбГАВМ, 2008. – 20с.

2. Применение противомикробных препаратов на основе наночастиц серебра для лечения телят с болезнями желудочно-кишечного тракта: Методические рекоменда-

дации/ Скриплева Т.А., Кузьмин В.А., Данко Ю.Ю., Фогель Л.С., Ещенко И.Д., Кудрявцева А.В., Савенков К.С., Полякова О.Р., Лунегов А.М., Забровская А.В., Крутяков Ю.А. - Санкт-Петербург: Издательство ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2016. - 24с.);

3. Особенности идентификации и определения чувствительности к антимикробным препаратам бактерий рода *Salmonella* (методическое пособие для врачей ФПК)/Забровская А.В., Смирнова Л.И. - Санкт-Петербург: Издательство ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2016. – 22с.

4. Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам и мероприятия, направленные на предотвращение возникновения и распространения устойчивых штаммов/Забровская А.В. - Санкт-Петербург: Издательство ФГБОУ ВО «СПбГАВМ», 2018. – 28с.

Аналитические обзоры

1. Кафтырева, Л.А. Сальмонеллезы на территории Северо-Западного Федерального округа Российской Федерации: аналитический обзор/Л.А.Кафтырева, З.Н.Матвеева, А.В.Забровская, С.А.Егорова, М.А.Макарова. – СПб:ФГУН НИИЭМ имени Пастера, 2008. – 41с.

2. Кафтырева, Л.А. Микробиологический мониторинг резистентности клинически значимых микроорганизмов к антимикробным препаратам: аналитический обзор/Л.А.Кафтырева, С.А.Егорова, А.В.Забровская, М.А.Макарова, З.Н.Матвеева, и др.; под ред. А.Б.Жебруна. – СПб:ФБУН НИИЭМ имени Пастера, 2012. – 108с.

Монография

Щепёткина, С.В. Современные принципы антибиотикотерапии в птицеводстве/С.В.Щепёткина, О.Б.Новикова, А.В.Забровская, В.П.Терлецкий, В.И.Тыщенко. – Санкт-Петербург: Изд-во ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ», 2015. – 148с.