

Обзорная статья/Review Article

УДК 619:579.62:57.083.1

DOI: 10.36718/1819-4036-2023-8-106-115

Валентина Ивановна Плешакова¹, Надежда Алексеевна Лещева^{2✉}, Иван Николаевич Кошкин³^{1,2,3} Омский государственный аграрный университет им. П.А. Столыпина, Омск, Россия¹ vi.pleshakova@omgau.org² lescheva@list.ru³ in.koshkin@omgau.org

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВЕТЕРИНАРИИ

В статье представлены научные подходы к решению глобальной проблемы, а именно возрастающей антибиотикорезистентности среди условно-патогенных и слабопатогенных микроорганизмов, которые представляют значительный риск как в гуманной медицине, так и в животноводстве. В этой связи представлены фенотипические, аналитические и молекулярные методологические методы определения и изучения антибиотикорезистентности микроорганизмов. Из фенотипических методов широкое применение получил метод стандартных дисков и метод серийных разведений, которые основаны на диффузии антибактериальных препаратов из носителя на плотную питательную среду и ингибировании роста исследуемой культуры микроорганизма. Среди аналитических методов выявления антибиотикорезистентности выделяют электрофоретические, иммунохимические (иммунохроматография), УФ и масс-спектрометрию. Наиболее перспективным и эффективным является масс-спектрометрия, в частности тест MALDI-TOF, наиболее оптимальный для рутинного определения чувствительности ряда культур микроорганизмов. Молекулярный подход, а именно применение ПЦР с использованием молекулярных маяков и ДНК генов, расширяет возможность мониторинга резистентности микроорганизмов, позволяет по наличию генов резистентности определить механизм формирования устойчивости к антибактериальным препаратам. Проведенный анализ методических подходов позволяет выявить следующие детерминанты резистентности: карбапенемазы у *Enterobacterales* spp, *P. aeruginosa* и *Acinetobacter*; В-лактамазы расширенного спектра у *Enterobacterales*; *mcr*-опосредованной кодируемой устойчивости к полимиксинам у грамотрицательных микроорганизмов; *tesA/tesC* – опосредованной резистентности к беталактамам у *S. aureus* и *vanA/vanB* – опосредованной устойчивости к гликопептидам у *E. faecium* и *E. faecalis*. Анализ данных доступных научных публикаций позволяет констатировать, что различные методические подходы обеспечивают разную точность указания вариантов детерминант резистентности. Необходимо отметить, что наличие нескольких баз данных генов устойчивости к антибиотикам создает трудности в их использовании для определения фенотипа чувствительности к препаратам. Вместе с тем использование данных геномики для определения резистентности к антибиотикам имеет решающее значение для развития клинической метагеномики.

Ключевые слова: микроорганизмы, фенотип, генотип, антибиотики, детерминанты резистентности, молекулярно-генетические методы, масс-спектрометрия, мониторинг.

Для цитирования: Плешакова В.И., Лещева Н.А., Кошкин И.Н. Фенотипические и молекулярно-генетические методы определения антибиотикорезистентности микроорганизмов в ветеринарии // Вестник КрасГАУ. 2023. № 8. С. 106–115. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-8-106-115.

Благодарность: Работа выполнена в рамках гранта Российского научного фонда (соглашение № 23-26-00118 от 13.01.2023).

Valentina Ivanovna Pleshakova¹, Nadezhda Alekseevna Leshcheva^{2✉}, Ivan Nikolaevich Koshkin³

^{1,2,3} Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin, Omsk, Russia

¹ vi.pleshakova@omgau.org

² lescheva@list.ru

³ in.koshkin@omgau.org

PHENOTYPIC AND MOLECULAR GENETIC METHODS TO DETERMINE ANTIBIOTIC RESISTANCE OF MICROORGANISMS IN VETERINARY MEDICINE

The paper presents scientific approaches to solving a global problem, namely the increasing antibiotic resistance among opportunistic and weakly pathogenic microorganisms, which pose a significant risk both in human medicine and in animal husbandry. In this regard, phenotypic, analytical and molecular methodological methods for determining and studying the antibiotic resistance of microorganisms are presented. Of the phenotypic methods, the method of standard disks and the method of serial dilutions, which are based on the diffusion of antibacterial drugs from the carrier onto a solid nutrient medium and inhibition of the growth of the studied culture of the microorganism, have received wide application. Among the analytical methods for detecting antibiotic resistance, electrophoretic, immunochemical (immunochromatography), UV and mass spectrometry are distinguished. The most promising and effective is mass spectrometry, in particular the MALDI-TOF test, which is the most optimal for routine determination of the sensitivity of a number of cultures of microorganisms. The molecular approach, namely the use of PCR using molecular beacons and DNA genes, expands the possibility of monitoring the resistance of microorganisms, and makes it possible to determine the mechanism of formation of resistance to antibacterial drugs by the presence of resistance genes. The analysis of methodological approaches made it possible to identify the following determinants of resistance: carbapenemase in Enterobacterales spp, P. aeruginosa and Acinetobacter; Extended-spectrum B-lactamases in Enterobacterales; mcr-mediated encoded resistance to polymyxins in gram-negative microorganisms; mecA/mecC, mediated resistance to beta-lactams in S.aureus; and vanA/vanB, mediated resistance to glycopeptides in E. faecium and E. faecalis. An analysis of the data of available scientific publications allows us to state that different methodological approaches provide different accuracy in indicating variants of resistance determinants. It should be noted that the presence of several databases of antibiotic resistance genes makes it difficult to use them to determine the phenotype of drug sensitivity. However, the use of genomic data to determine antibiotic resistance is crucial for the development of clinical metagenomics.

Keywords: microorganisms, phenotype, genotype, antibiotics, resistance determinants, molecular genetic methods, mass spectrometry, monitoring.

For citation: Pleshakova V.I., Leshcheva N.A., Koshkin I.N. Phenotypic and molecular genetic methods to determine antibiotic resistance of microorganisms in veterinary medicine // Bulliten KrasSAU. 2023;(8): . (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-8-.

Acknowledgments: This work has been carried out within the framework of a grant from the Russian Science Foundation (Agreement No. 23-26-00118, dated January 13, 2023).

Введение. В последние три десятилетия исследователи в разных странах отмечают значительное изменение эпизоотологии инфекционных болезней животных, содержащихся в условиях промышленного животноводства и птицеводства [1–4]. Появляются вновь возникающие или эмерджентные инфекции, а известные ранее условно патогенные и слабopatогенные микроорганизмы изменяют свои основные фенотипические свойства, приобретая новые при-

знаки, в том числе увеличивающие их резистентность к антибиотическим препаратам [5–12].

Возникновение и формирование антибиотикорезистентности у микроорганизмов в настоящее время рассматривается в глобальном плане как значительный фактор риска для здоровья человека и животных [12]. Так, в РФ для разработки мер противодействия антибиотикорезистентных микроорганизмов Распоряжением

Правительства РФ от 25.09.2017 г. № 2045 утверждена «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности на период до 2030 г.».

Необходимо отметить, что чувствительность/резистентность к антибиотикам большинством исследователей рассматриваются как объективные параметры генотипических и фенотипических особенностей изучаемого микроорганизма [13–16].

Исходя из вышесказанного, главной целью оценки резистентности микроорганизмов к антибиотическим препаратам является прогнозирование их адекватности и эффективности при терапии больных животных и человека [3, 7, 13, 14, 17–19]. Кроме того, определение чувствительности бактерий проводят для эпизоотологического и эпидемиологического мониторинга за распространением резистентности среди микроорганизмов, а также для изучения антимикробного действия новых препаратов.

Цель исследования – провести аналитический обзор научной литературы для выявления перспективных направлений определения резистентности микроорганизмов к антибиотическим препаратам.

Материалы и методы. Материалом для исследования послужили научные статьи, представленные в базах, научные данные elibrary.ru, научной библиотеки «КиберЛеника», реферативной базы «Scopus», базы данных PubMed, а также отечественных журналов ветеринарного профиля. Методический подход к изложению материала статьи базировался на анализе, синтезе и обобщении имеющихся научных публикаций.

Результаты и их обсуждение. Установлено, что, исходя из анализа массива научных публикаций, методические подходы для детекции антибиотикорезистентности микроорганизмов можно разделить на три относительно самостоятельные группы, а именно: фенотипические, аналитические и генотипические (молекулярные) [11, 20].

Необходимо отметить, что фенотипические подходы более экономичны и просты, но их выполнение занимает больше времени. Кроме того, некоторые из них, в частности (Ходж-тест), характеризуются большой вероятностью ошибки [11].

Наиболее часто используемыми в ветеринарной науке и практике фенотипическими методами исследования являются:

- метод стандартных дисков, или диффузии антимикробных препаратов в агар Кирби-Байер;
- метод серийных разведений.

В настоящее время самым популярным считается диско-диффузный метод в связи с его дешевизной и простотой выполнения. Иногда в микробиологической практике используют Е-тест. Диско-диффузный метод и Е-тест основаны на диффузии антибактериальных препаратов (АБП) из носителя в плотную питательную среду и ингибировании роста исследуемой культуры микроорганизма в иной зоне, где концентрация антибактериальных препаратов превосходит минимальную подавляющую концентрацию [12].

Е-тест представлен узкой полоской (0,5–6,0 см) полимера, на поверхность которой нанесен градиент концентраций АБП (от минимальных до максимальных). Появление роста культур микроорганизмов вокруг полоски Е-теста регистрируется только в той зоне, где концентрация АБП выше МПК, при этом наблюдается каплевидная зона ингибиции [4, 21, 22].

Необходимо отметить, что в большинстве случаев рутинные фенотипические методы дают возможность осуществлять эффективную и комплексную оценку резистентности/чувствительности микроорганизмов к антибиотическим препаратам [11, 15].

В то же время в частных случаях стандартные методы детекции чувствительности к антибиотикам могут быть недостаточно эффективны для выявления некоторых механизмов и детерминант устойчивости микроорганизмов по причине вариабельности их фенотипического проявления *in vitro* или являются трудоемким и длительным процессом, а также связаны с мутационной устойчивостью ряда микроорганизмов, в частности патогенных микоплазм [17, 21, 23–25].

Аналитические методы выявления антибиотикорезистентности микроорганизмов можно разделить на три группы 1) электрофоретические; 2) иммунохимические (иммунохроматография); 3) УФ и масс-спектрометрия.

Некоторые исследователи отмечают, что наиболее перспективными и эффективными

необходимо считать методы, основанные на феномене определения масс-спектрометрии, в частности тест MALDI-TOF [15, 26, 27].

Так, выявление гидролиза карбапенемов с помощью MALDI-TOF основано на индикации снижения амплитуды или исчезновения пиков, характерных для карбапенемов, в масс-спектре бактериальной суспензии, предварительно инкубированной в присутствии карбапенема с помощью масс-спектрометра (MALDI-TOF).

Некоторые авторы, в частности M. Vargha et al. (2006), считают, что тест MALDI-TOF является наиболее оптимальным методом для рутинного определения чувствительности некоторых культур микроорганизмов к антимикробным препаратам. Так, А.А.Самойлова и др. (2020) указывают, что MALDI-TOF масс-спектрометрия представляет собой уникальный высокоэффективный, верифицированный и вместе с тем низкочастотный метод для определения резистентности микробных патогенов к антибиотикам.

Анализ литературы показал, что в настоящее время многие ветеринарные лаборатории начинают активно использовать молекулярные методы диагностики, которые позволяют по наличию генов резистентности определить механизм формирования резистентности к антибактериальным препаратам, что позволяет оптимизировать тактику и стратегию антибиотикотерапии [3, 24, 28].

Необходимо отметить, что в настоящее время для осуществления эффективного контроля с целью обеспечения рационального применения антибиотиков в гуманитарной и ветеринарной медицине ВОЗ разработал критерии мониторинга следующих детерминант резистентности микроорганизмов:

-выявление приобретенных карбапенемаз у *Enterobacterales* spp, *P. aeruginosa* и *Acinetobacter*;

-мониторинг В-лактамаз расширенного спектра у *Enterobacterales*;

-выявление *mcr*-опосредованной (-плазмидокодируемой устойчивости к полимиксинам у грамотрицательных микроорганизмов);

-установление *mecA/mecC* – опосредованной резистентности к беталактамам у *S. aureus*;

-выявление *vanA/vanB* – опосредованной устойчивости к гликопептидам.

Необходимо отметить, что карбапенемазы – очень разнородная группа ферментов, продуцируемая бактериями. Выработка карбапенемаз является наиболее значимым эпизоотологическим механизмом устойчивости к карбапенемам у грам (-) бактерий [9, 12].

Проведенный анализ отечественной и зарубежной литературы показал, что основные методы выявления карбапенемаз можно разделить на 4 группы.

1. Определение чувствительности к карбапенемам и их комбинациям с различными ингибиторами («двойные», «комбинированные» диски или определение МПК в присутствии ингибиторов). Ряд авторов отмечают, что указанные методы имеют ограниченное использование, что связано с необходимостью использования различных ингибиторов.

2. Иммунохроматографические методы, которые вызывают продуцирование наиболее распространенных типов карбапенемаз у микробных культур.

3. Группа методов оценки *in vitro* гидролиза карбапенемов с участием индикаторного штамма (CJM, eCJM, mCJM) MALDI-TOF масс-спектрометрии, pH-индикаторов (Carba-NP тест и др.), флюорогенных карбапенемов.

4. Методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК) и секвенирования.

Некоторые исследователи, в частности K. Safain et al. (2016), указывают, что применение селективных и хроматогенных сред дает возможность осуществить оценочный мониторинг культур энтеробактерий с предполагаемой продукцией карбапенемаз, но в то же время не является специфическим методом выявления их продукции. Кроме того, ряд авторов отмечают, что многие неферментирующие бактерии (*Pseudomonas*, *Acinetobacter* и др.) способны культивироваться на собственных средах для выявления карбапенемазопродуцирующих энтеробактерий [11, 12, 20].

В литературе имеются публикации, указывающие, что при использовании метода амплификации нуклеиновых кислот необходимо учитывать данные распространенности различных типов карбапенемаз, которые сильно отличаются для различных видов бактерий [10, 13, 19, 29].

Необходимо отметить, что анализ публикаций отечественных и зарубежных авторов позволил сделать некоторые обобщения, касающиеся выявления В-лактамаз расширенного спектра (ESBL)-фермента, гидролизующие пенициллины, цефалоспорины, но не гидролизующего цефамицины и карбапенемы. Ряд авторов, в частности E. Zankari et al. (2012), отмечают, что продукция ESBL встречается у большинства значимых видов энтеробактерий [30]. На основании данных ряда публикаций, в частности P. Ruegg et al. (2015), методы выявления В-лактамаз расширенного спектра можно разделить на группы.

1. Методы определения чувствительности к оксиминобеталактамам и их комбинациям с клавулановой кислотой.

2. Методы оценки *in vitro* гидролиза оксиминобеталактамов с использованием индикаторного штамма MALDI-TOF масс-спектрометрия.

3. Иммунохроматографические методы, которые позволяют выявить продукцию ESBL у наиболее распространенных микробных изолятов.

Известно, что гены *msc* участвуют в кодировании фосфоэтанолоамин-трансферазы, осуществляющей модификацию липида А-главного структурного компонента липополисахарида и вызывающей устойчивость к полимиксинам. По данным некоторых авторов, в частности K. Safain et al. (2016), распространенность плазмидных *msc* среди клинических штаммов варьирует в разных странах и регионах.

Основные, наиболее часто используемые методы выявления *msc* можно разделить на 3 группы.

1. Методы амплификации нуклеиновых кислот и методы секвенирования.

2. Иммунохроматографические методы, которые позволяют выявлять экспрессию *msc-1* у микробных культур.

3. Методы определения резистентности к полимиксинам в присутствии цинк-хелатирующих ингибиторов *msc*.

По данным некоторых исследователей, другие методические подходы, используемые для ускоренной диагностики резистентности к полимиксинам, в частности рост на селективных средах, а также в присутствии липида А посред-

ством MALDI-TOF масс-спектрометрии, в подавляющем большинстве случаев не являются специфичными для *msc* [10, 11, 20].

Рядом авторов установлено, что ген *tesA* кодирует дополнительный пенициллинсвязывающий белок с низкой активностью к беталактамам [9, 19]. Показано, что, кроме *tesA*, культуры *S.aureus*, проявляющие фенотип метициллинрезистентности, изолированные от животных, могут нести ген *tesC*, кодирующий альтернативный вариант пенициллинсвязывающего белка [24, 28]. Кроме того, некоторые исследователи сообщают, что гены *tesA* входят в состав генетических структур, известных как стафилококковые хромосомные кассеты *tes* (SCC *tes*), и в большинстве случаев ассоциированы с генами резистентности к другим антибиотическим препаратам [12, 15].

В целом, анализируя имеющиеся научные публикации, можно выделить 3 основных метода выявления *tesA/tesC* – опосредованной резистентности.

1. Установление МПК оксацилина или цефокстина, а также скрининг чувствительности к цефокстину с использованием DDM.

2. Метод амплификации нуклеиновых кислот и метод секвенирования.

3. Латексная агглютинация, которая дает возможность выявить *tesC* микробных изолятов, выделенных в чистой культуре.

Установлено, что гены *vanA* и *vanB* являются главными детерминантами резистентности к гликопептидам (ванкомицину) у культур *E.faecium* и реже у *E.faecalis*. Указанные структуры входят в состав мобильных генетических групп, которые кодируют синтез измененных мишеней, а именно пептидных остатков (-D-аланил-D-лактама) с низкой превалентностью связывания ванкомицина [11, 15, 26, 27].

Индикацию *vanA/vanB* – опосредованной резистентности можно разделить на 2 метода.

1. Определение минимальной подавляющей концентрации ванкомицина.

2. Метод амплификации нуклеиновых кислот и метод секвенирования.

Необходимо отметить, что на территории РФ резистентность к ванкомицину в большинстве случаев встречается у нозокомиальных культур *E.faecium* [5, 22].

Обобщая данные доступных научных публикаций, можно констатировать, что различные методические подходы обеспечивают разную точность указания вариантов детерминант резистентности. Так, например, ПЦР, как правило, позволяет выявить ген и установить его принадлежность к определенной группе, в то же время методы секвенирования дают возможность определить точный вариант гена. Кроме того, полногеномное секвенирование бактериальных штаммов в настоящее время стало предпочтительным методом для идентификации детерминант устойчивости к антибиотикам. Необходимо отметить, что было выпущено несколько баз данных генов устойчивости к антибиотикам. В то же время на сегодняшний день нет единого мнения о том, какую базу данных следует использовать для определения фенотипа чувствительности к антибиотикам на основе данных полногеномного секвенирования [7, 18, 31].

Однако, несмотря на имеющиеся проблемы, использование данных геномики для определения чувствительности к антибиотикам имеет решающее значение для развития клинической метагеномики.

Заключение. Таким образом, необходимо отметить, что методические подходы, основанные на анализе нуклеиновых кислот для выявления устойчивости микроорганизмов, могут

иметь определенное преимущество перед фенотипическими анализами. В то же время молекулярные методы исследования для выявления резистентности имеют ряд ограничений, в частности, количество различных генов делает создание теста слишком дорогостоящим, чтобы конкурировать с фенотипическим методом исследования. Необходимо учитывать, что надлежащий контроль качества молекулярных тестов представляет собой определенную проблему для многих лабораторий, что приводит в лучшем случае к получению сомнительных результатов. В этом плане новое методологическое направление, а именно применение ПЦР с использованием молекулярных маяков и ДНК генов, расширяет возможность мониторинга резистентности. Хотя молекулярные методы обнаружения устойчивости к противомикробным препаратам явно завоевывают себе место в рутинной диагностике, фенотипические методы по-прежнему являются методом выбора для большинства определений резистентности [7, 15–17, 21, 23, 24, 26].

Кроме того, проведенный анализ научной литературы показал, что разработка и практическое использование методических подходов к определению устойчивости микроорганизмов к антибиотическим препаратам является важной задачей современной ветеринарной науки и практики.

Список источников

1. Фенотип антибиотикорезистентности и молекулярно-генетические характеристики условно-патогенных микроорганизмов – возбудителей инфекционных процессов / Н.А. Горюшинская [и др.] // Мат-лы IV Национального конгресса бактериологов. Казань. 2021. 29 с.
2. Ефименко Т.А., Терехова О.В., Ефременкова О.В. Современное состояние проблемы антибиотикорезистентности патогенных бактерий // Антибиотики и химиотерапия. 2019. № 64 (5-6). С. 64–68.
3. Забровская А.В. Чувствительность к антимикробным препаратам микроорганизмов, выделенных от сельскохозяйственных животных и из продукции животноводства // J. Vetpharma. 2012. № 5. Р. 143–148.
4. Антибиотикорезистентность клинических изолятов *Escherichia coli*, выделенных от животных / М.Н. Исакова [и др.] // Ветеринария сегодня. 2022. № 11 (7). С. 14–19.
5. Мониторинг антибиотикорезистентности как объективный диагностический и эпидемиологический критерий инфекционного процесса / С.С. Афанасьев [и др.] // Иммунология, аллергология, инфектология. 2014. № 4. С. 61–69.
6. Генетические маркеры устойчивости и антибиотикорезистентность бактерий группы *Streptococcus* spp. и *Staphylococcus* spp., изолированных из различных биотопов объектов животно-

- водства / *Н.А. Безбородова [и др.]* // Труды Кубанского гос. аграрного университета. 2022. № 54. С 195–202.
7. *Сидоренко С.В.* Клиническое значение резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам // Российские медицинские вести. 1998. № 1. С. 28–34.
 8. *Соломка В.С.* Изучение фенотипических и генотипических штаммов *N. gonorrhoeae* в Российской Федерации // Вопросы конгресса дерматологов и косметологов. Казань, 2013. С. 51–52.
 9. *Чеботарь И.В.* Генотипы и носительство генов β -лактамаз у карбопенеморезистентных штаммов *Acinetobacter baumannii*, выделенных в Москве // Антибиотики и химиотерапия. 2017. № 622 (11-12). С. 29–34.
 10. *Do Nascimento V., Day M. R., Danmith M. et al.* Comparison of phenotypic and WGS-derived antimicrobial resistance profiles of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from cases of diarrhoeal disease in England, 2015-16. *J. Antimicrob Chemother* 2017; 72: 288–3297.
 11. *Rusenova N., Vasilev N., Rusenov A. et al.* Comparison between Some Phenotypic and Genotypic Methods for Assessment of Antimicrobial Resistance of Bovine Mastitis *Staphylococcus aureus* Isolates from Bulgaria. *Vet Sci*, 2022, Jul 31: (8) 401. doi : 10.3390 / vets ci 9080401.
 12. *Ruegg P., Oliveira L., Jin W. et al.* Phenotypic antimicrobial susceptibility from Wisconsin dairy cows. *J. dairy Sci.* 2015, 98: 4521–4534. doi: 10.3168 / jds. 2014-9137.
 13. *Bottle J., Zheng L., Wente N., et al.* Comparison of phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns associated with *Staphylococcus aureus* mastitis in German and Danish dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2020 Apr; 103 (4) 3554-3564. Doi: 10. 3168/ jds. 20 19-17765. Epub 2020 Feb 20.
 14. *Yslam S., Aldstadt J., Aga D.* Global antimicrobial resistance: a complex and dire threat with few definite answers. *Tropical Med Ynt Healthb.* 2019: 24 (6) : 658–662.
 15. *Safain K., Bhuyan C., Hasib S., et al.* Genotypic and Phenotypic profiles of antibiotic – resistant bacteria isolated from hospitalized patients in Bangladesh *Tropical Medicine and Ynternational Health V.* 26 № 07 pp – 720-729, 2021. doi :10.1111 / tmi. 13584.
 16. *Vargha M., Takats Z., Koroka A. et al.* Optimization of MALDJ – TOFMS for strain level differentiation of *Arthrobacter* isolates // *J. Microbiol Methods*, 2006, Vol. 66. p 399–409.
 17. *Антонова А.Н., Ленченко Е.М.* Сравнительная оценка эффективности способов изучения антибиотикорезистентности микроорганизмов // *Ветеринария и кормление.* 2015. № 8. С. 34–37.
 18. ПЦР-детекция генетических маркеров антибиотикорезистентности микроорганизмов, выделенных из молока больных маститом коров / *О.В. Соколова [и др.]* // *Ветеринария Кубани.* 2018. № 2. С. 15–17.
 19. *Chen M., Li J., Cu W. et al.* Molecular mechanism of *Staphylococcus xylosus* resistance against tylosin and florfenicol. *Ynf. Drug Resist.* 2022 Oct 26; 15 : 6165-617. doi :10.2147 / JDR. S 379264.
 20. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. *EFSA J*, 2016: 14 (2).
 21. Возможность использования диско-диффузионного метода для оценки чувствительности микроорганизмов к антибиотикам в ветеринарии / *Б.В. Виолин [и др.]* // *Ветеринарный врач.* 2013. № 6. С. 22–26.
 22. Распространение генов комплекса Immune evasion cluster и других факторов вирулентности у *Staphylococcus aureus* / *В.В. Гостев [и др.]* // *Антибиотики и химиотерапия.* 2013. № 15 (4). С. 280–285.
 23. Современные подходы к контролю и сдерживанию антибиотикорезистентности в мире / *И.Р. Кулмагамбетов [и др.]* // *Международ. Журнал прикладных и функциональных исследований.* 2015. 9 (Ч.1). С. 54–59.
 24. *Макавчик С.А., Бочарова Д.В., Кротова А.Л.* Лабораторный контроль устойчивости энтеробактерий, изолированных от животных и птиц к β -лактамам // *Ветеринарный фармакологический вестник.* 2022. № 4 (21). С. 119–124.

25. *Музыка В.П.* Оценка антимикробной чувствительности микроорганизмов как один из критериев анализа риска развития антибиотикорезистентности // Ветеринарный врач. 2013. № 6. С. 16–18.
26. *Попов Д.А.* Сравнительная характеристика современных методов определения продукции карбапенемаз // КМАХ. 2019. № 21 (2). С. 125–133.
27. *Самойлова А.А., Лихачев И.В., Краева Л.А.* Определение чувствительности к антимикробным препаратам микроорганизмов рода *Klebsiella* методом MALDJ – TOFMS // Бактериология. 2020. № 5 (3). С. 8–13.
28. Механизмы резистентности к антимикробным препаратам у микроорганизмов, выделенных от крупного рогатого скота / *С.А. Макавчик* [и др.] // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2020. № 4. С. 41–46.
29. *Ahmad M., Khan A.* Global economic impact of antibiotic resistance : A review. J Global Antimicrobial Resistance. 2019. 19: 313–316.
30. *Zankari E., Hasman H. et al.* Identification of acquired antimicrobial resistance genes J. Antimicrob Chemother, 2012, 67: 2640–2644.
31. Оценка риска появления резистентности к антибиотикам условно-патогенной и патогенной микрофлоры, выделяемой из продуктов животного происхождения / *А.М. Мендыбаева* [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2022. № 2. С. 147–149.

References

1. Fenotip antibiotikorezistentnosti i molekulyarno-geneticheskie harakteristiki uslovno-patogennyh mikroorganizmov – vozбудitelej infekcionnyh processov / *N.A. Gorodinskaya* [i dr.] // Mat-ly IV Nacional'nogo kongressa bakteriologov. Kazan'. 2021. 29 c.
2. *Efimenko T.A., Terekhova O.V., Efremenkova O.V.* Sovremennoe sostoyanie problemy antibiotikorezistentnosti patogennyh bakterij // Antibiotiki i himioterapiya. 2019. № 64 (5-6). S. 64–68.
3. *Zabrovskaya A.V.* CHuvstvitel'nost' k antimikrobnym preparatam mikroorganizmov, vydelennyh ot sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh i iz produkcii zhivotnovodstva // J. Vetpharma. 2012. № 5. P. 143–148.
4. Antibiotikorezistentnost' klinicheskikh izolyatov *Escherichia coli*, vydelennyh ot zhivotnyh / *M.N. Isakova* [i dr.] // Veterinariya segodnya. 2022. № 11 (7). S. 14–19.
5. Monitoring antibiotikorezistentnosti kak ob"ektivnyj dia-gnosticheskiy i epidemiologicheskij kriterij infekcionnogo processa / *S.S. Afanas'ev* [i dr.] // Immunologiya, allergologiya, infektologiya. 2014. № 4. S. 61–69.
6. Geneticheskie markery ustojchivosti i antibiotikorezistentnost' bakterij gruppy *Streptococcus spp.* i *Staphylococcus spp.*, izolirovannyh iz razlichnyh biotopov ob"ektov zhivotnovodstva / *N.A. Bezborodova* [i dr.] // Trudy Kubanskogo gos. agrarnogo universiteta. 2022. № 54. S. 195–202.
7. *Sidorenko S.V.* Klinicheskoe znachenie rezistentnosti mikroorganizmov k antimikrobnym preparatam // Rossijskie medicinskie vesti. 1998. № 1. S. 28–34.
8. *Solomka V.S.* Izuchenie fenotipicheskikh i genotipicheskikh shtammov *N. gonorrhoeae* v Rossijskoj Federacii // Voprosy kongressa dermatologov i kosmetologov. Kazan', 2013. S. 51–52.
9. *Chebotar' I.V.* Genotipy i nositel'stvo genov β -laktamaz u karbopenemorezistentnyh shtammov *Acinetobacter baumannii*, vydelennyh v Moskve // Antibiotiki i himioterapiya. 2017. № 622 (11-12). S. 29–34.
10. *Do Nascimento V., Day M. R., Danmith M. et al.* Comparison of phenotypic and WGS-derived antimicrobial resistance profiles of enteroaggregative *Escherichia coli* isolated from cases of diarrhoeal disease in England, 2015-16. J. Antimicrob Chemolther 2017; 72: 288–3297.

11. *Rusenova N., Vasilev N., Rusenov A. et al.* Comparison between Some Phenotypic and Genotypic Methods for Assessment of Antimicrobial Resistance of Bovine Mastitis *Staphylococcus aureus* Isolates from Bulgaria. *Vet Sci*, 2022, Jul 31: (8) 401. doi : 10.3390 / vets ci 9080401.
12. *Ruegg P., Oliveira L., Jin W. et al.* Phenotypic antimicrobial susceptibility from Wisconsin dairy cows. *J. dairy Sci.* 2015, 98: 4521–4534. doi: 10.3168 / jds. 2014-9137.
13. *Bottle J., Zheng L., Wente N., et al.* Comparison of phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns associated with *Staphylococcus aureus* mastitis in German and Danish dairy cows. *J. Dairy Sci*, 2020 Apr; 103 (4) 3554-3564. Doi: 10. 3168/ jds. 20 19-17765. Epub 2020 Feb 20.
14. *Yslam S., Aldstadt J., Aga D.* Global antimicrobial resistance: a complex and dire threat with few definite answers. *Tropical Med Ynt Healthb.* 2019: 24 (6) : 658–662.
15. *Safain K., Bhuyan C., Hasib S., et al.* Genotypic and Phenotypic profiles of antibiotic – resistant bacteria isolated from hospitalized patients in Bangladesh *Tropical Medicine and International Health V. 26 № 07 pp – 720-729, 2021. doi :10.1111 / tmi. 13584.*
16. *Vargha M., Takats Z., Koroka A. et al.* Optimization of MALDI – TOFMS for strain level differentiation of *Arthrobacter* isolates // *J. Microbiol Methods*, 2006, Vol. 66. p 399–409.
17. *Antonova A.N., Lenchenko E.M.* Sravnitel'naya ocenka effektivnosti sposobov izucheniya antibiotikorezistentnosti mikroorganizmov // *Veterinariya i kormlenie.* 2015. № 8. S. 34–37.
18. PCR-detekciya genetičeskikh markerov antibiotikorezistentnosti mikroorganizmov, vydelennyh iz moloka bol'nyh mastitom korov / O.V. Sokolova [i dr.] // *Veterinariya Kubani.* 2018. № 2. S. 15–17.
19. *Chen M., Li J., Cu W. et al.* Molecular mechanism of *Staphylococcus xylosus* resistance against tylosin and florfenicol. *Ynf. Drug Resist.* 2022 Oct 26; 15 : 6165-617. doi :10.2147 / JDR. S 379264.
20. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. *EFSA J*, 2016: 14 (2).
21. Vozmožnost' ispol'zovaniya disko-diffuzionnogo metoda dlya ocenki čuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibiotikam v veterinarii / B.V. Violin [i dr.] // *Veterinarnyj vrach.* 2013. № 6. S. 22–26.
22. Rasprostranenie genov kompleksa Immune evasion cluster i drugih faktorov virulentnosti u *Staphylococcus aureus* / V.V. Gostev [i dr.] // *Antibiotiki i himioterapiya.* 2013. № 15 (4). S. 280–285.
23. Sovremennye podhody k kontrolyu i sderzhivaniyu antibiotikorezistentnosti v mire / *Kulmagambetov I.R.* [i dr.] // *Mezhdunarod. Zhurnal prikladnyh i funkcional'nyh issledovanij.* 2015. 9 (Ch.1). S. 54–59.
24. *Makavchik S.A., Bocharova D.V., Krotova A.L.* Laboratornyj kontrol' ustojčivosti enterobakterij, izolirovannyh ot zhivotnyh i ptic k β -laktamam / // *Veterinarnyj farmakologičeskij vestnik.* 2022. № 4 (21). S. 119–124.
25. *Muzyka V.P.* Ocenka antimikrobnj čuvstvitel'nosti mikroorganizmov kak odin iz kriteriev analiza riska razvitiya antibiotikorezistentnosti // *Veterinarnyj vrach.* 2013. № 6. S. 16–18.
26. *Popov D.A.* Sravnitel'naya harakteristika sovremennyh metodov opredeleniya produkcii karbapenemaz // *KMAH.* 2019. № 21 (2). S. 125–133.
27. *Samojlova A.A., Lihachev I.V., Kraeva L.A.* Opredelenie čuvstvitel'nosti k antimikrobnym preparatam mikroorganizmov roda *Klebsiella* metodom MALDI – TOFMS // *Bakteriologiya.* 2020. № 5 (3). S. 8–13.
28. Mekhanizmy rezistentnosti k antimikrobnym preparatam u mikroorganizmov, vydelennyh ot krupnogo rogatogo skota / S.A. Makavchik [i dr.] // *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii.* 2020. № 4. S 41–46.
29. *Ahmad M., Khan A.* Global economic impact of antibiotic resistance : A review. *J Global Antimicrobial Resistance.* 2019. 19: 313–316.

30. Zankari E., Hasman H. et al. Ydentification of acguired antimicrobial resistance genes J. Antimicrob Chemother, 2012, 67: 2640–2644.
31. Ocenka riska pojavleniya rezistentnosti k antibiotikam uslov-no-patogennoj i patogennoj mikroflory, vydelyaemoj iz produktov zhivotnogo proiskhozhdeniya / A.M. Mendybaeva [i dr.] // Vestnik KrasGAU. 2022. № 2. S. 147–149.

Статья принята к публикации 17.03.2023 / The article accepted for publication 17.03.2023.

Информация об авторах:

Валентина Ивановна Плешакова, профессор кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней, доктор ветеринарных наук, профессор

Надежда Алексеевна Лещева, заведующая кафедрой ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней, кандидат ветеринарных наук, доцент

Иван Николаевич Кошкин, ассистент кафедры ветеринарной микробиологии, инфекционных и инвазионных болезней, кандидат ветеринарных наук

Information about the authors:

Valentina Ivanovna Pleshakova, Professor at the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Doctor of Veterinary Sciences, Professor

Nadezhda Alekseevna Leshcheva, Head of the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Candidate of Veterinary Sciences, Docent

Ivan Nikolaevich Koshkin, Assistant at the Department of Veterinary Microbiology, Infectious and Parasitic Diseases, Candidate of Veterinary Sciences

