

ГЕНЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ОТКРЫТЫХ ПОЛОСТЕЙ

© 2024 г. С. В. Шабунин^{a,*}, Г. А. Востроилова^{a,**}, Д. И. Шабанов^{a,***},
И. Ю. Буракова^{b,****}, Ю. Д. Смирнова^{b,*****}, М. В. Грязнова^{b,*****},
М. Ю. Сыромятников^{a, b,*****}

^aВсероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Воронеж, Россия

^bВоронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

*E-mail: vnivipat@mail.ru

**E-mail: gvostroilova@mail.ru

***E-mail: am7d@mail.ru

****E-mail: vitkalovai@inbox.ru

*****E-mail: dyd16@mail.ru

*****E-mail: mariya-vg@mail.ru

*****E-mail: syromyatnikov@bio.vsu.ru

Поступила в редакцию 03.11.2023 г.

После доработки 10.11.2023 г.

Принята к публикации 21.11.2023 г.

Авторы рассматривают фенотипическую и генотипическую резистентность бактерий, вызывающих болезни открытых полостей сельскохозяйственных животных (мастит и колибактериоз), к антибиотикам. В ходе исследований показана распространённость генов антибиотикорезистентности у бактерий в кишечнике поросят (все бактерии *E. coli* оказались фенотипически мультирезистентны), а также у возбудителей мастита коров (более 88% устойчивы к бензилпенициллину, ампициллину, линкомицину и полимиксину). Изучение фенотипической резистентности к антибиотикам и геномов возбудителей болезней сельскохозяйственных животных не выявило устойчивых корреляционных связей между ними. С целью обеспечения безопасности поголовья необходимы дальнейшие исследования циркуляции генов резистентности в животноводческих хозяйствах.

Ключевые слова: болезни открытых полостей, антибиотикорезистентность, гены антибиотикорезистентности, возбудители, диско-диффузионный метод, ПЦР.

DOI: 10.31857/S0869587324010055, **EDN:** HAYQAL

Антибиотикорезистентность бактерий на протяжении многих десятилетий представляет серьёзную

ШАБУНИН Сергей Викторович – академик РАН, научный руководитель ВНИВИПФиТ. ВОСТРОИЛОВА Галина Анатольевна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией доклинических исследований и моделирования биологических систем ВНИВИПФиТ. ШАБАНОВ Дмитрий Игоревич – научный сотрудник лаборатории доклинических исследований и моделирования биологических систем ВНИВИПФиТ. БУРАКОВА Инна Юрьевна – младший научный сотрудник ВГУИТ. СМИРНОВА Юлия Дмитриевна – младший научный сотрудник ВГУИТ. ГРЯЗНОВА Мария Владимировна – младший научный сотрудник ВГУИТ. СЫРОМЯТНИКОВ Михаил Юрьевич – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ВГУИТ.

угрозу для здравоохранения и животноводства [1]. Антибиотики используются не только для профилактики и лечения заболеваний, но и в качестве стимуляторов роста животных [2]. Такое нерациональное отношение к противомикробным препаратам обуславливает формирование резистентности у бактерий [3]. Приобретение антибиотикорезистентности возбудителями болезней сельскохозяйственных животных стало одним из основных факторов, тормозящих развитие промышленного животноводства [1].

Значительный ущерб современному животноводству наносят так называемые болезни открытых полостей, среди которых наиболее

частые — желудочно-кишечные болезни в свиноводстве и мастит у коров в молочном скотоводстве [4]. Колибактериоз — одно из самых распространённых желудочно-кишечных заболеваний поросят, основным симптом которого — диарея [5]. Его возбудитель — бактерия *Escherichia coli*, которая способна накапливать гены антибиотикорезистентности и выступать в качестве резервуара для них, осуществляя их передачу другим представителям микробиома с помощью мобильных генетических элементов [6, 7].

Согласно статистическим данным Министерства сельского хозяйства РФ, около 1.5 млн коров ежегодно болеют эндометритами и маститами, при этом их средний возраст составляет чуть более 2.5 лактаций (3–3.5 года). Учитывая, что пик продуктивности коровы — это 5-я лактация, то можно сделать вывод о слишком раннем выбытии животных из производственного процесса. Одна из причин — широкое распространение антибиотикорезистентных штаммов в молочном скотоводстве. Возбудители мастита у коров несут угрозу как для животных, так и для людей [8]. Это связано с возможной передачей патогенов через общую среду обитания окружающему поголовью, а через молоко и молочную продукцию — человеку [9]. Наиболее часто мастит вызывают бактерии родов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Mycoplasma* и др. [10]. Для подавления их активности используются различные противомикробные препараты узкого и широкого спектра действия. Однако нередко возникают побочные эффекты, например, активное применение на протяжении длительного времени бета-лактамовых антибиотиков провоцировало формирование устойчивости к возбудителям мастита у коров [11]. Всё чаще отсутствие контроля употребления антибиотиков при лечении бактериальных инфекций приводит к развитию антибиотикорезистентности [12–14], что стало большой проблемой для ведения рентабельного животноводства [15]. Для снижения негативного влияния противомикробной терапии на животных, человека и окружающую среду необходимо разработать новые альтернативные стратегии применения антибиотиков [16].

В связи с этим целью нашего исследования стало выявление и оценка фенотипической резистентности к антибиотикам у возбудителей наиболее значимых болезней открытых полостей сельскохозяйственных животных — бактерии *E. coli* (колибактериоз поросят) и бактерий родов *Staphylococcus*, *Corynebacterium* и *Streptococcus* (мастит коров) — с одновременной проверкой наличия у возбудителей генов резистентности.

Материалы и методы. Объекты исследования — образцы фекалий кишечника поросят возрастом 2–5 суток с признаками диареи, а также образцы молока, собранные в хозяйствах Воронежской области.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом (ДДМ), который предусматривает использование дисков с антибиотиками: инокулюм (порция гомогенных бактерий) плотностью 0.5 по стандарту МакФарланда, содержащий примерно $1.5 \cdot 10$ КОЕ/мл. Инокулюм использовали в течение 15 мин после приготовления: 1 мл нанесли пипеткой на поверхность чашки Петри с питательной средой (агар). Приоткрытые чашки подсушивали при комнатной температуре в течение 10–15 мин. Аппликацию дисков проводили не позднее чем через 15 мин после инокуляции, на поверхности питательной среды размещали диски с 20 разновидностями антибиотиков, принадлежащих к 11 группам. После аппликации дисков чашки Петри помещали в термостат сверху дном и инкубировали при температуре 35°C в течение 24 ч для роста колоний. Затем регистрировались зоны задержки роста (ЗЗР). Диаметр зон измеряли с точностью до 1 мм штангенциркулем (в соответствии МУК 4.2.1890–04).

При идентификации генов антибиотикорезистентности применяли два подхода: первый основан на высокопроизводительном полногеномном секвенировании; второй — на проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) с праймерами, специфичными к генам антибиотикорезистентности. Экстракцию ДНК из образцов проводили с помощью коммерческого набора HiPure DNA Micro Kit (Magen, Китай).

Библиотеки секвенирования готовили по следующему протоколу: ДНК фрагментировали с использованием набора MGIEasy Fast FS Library Prep Module (MGI, Китай) с последующей очисткой магнитными частицами MGIEasy DNA Clean Beads (MGI, Китай). Лигирование адаптеров проводили с комплектом адаптеров А для праймеров MGIEasy UDB (MGI, Китай) и ПЦР-амплификацией. Качество библиотеки ДНК оценивали с помощью флуорометра Qubit и набора Qubit dsDNA HS Assay Kit (Invitrogen, США). Дальнейшую циркуляризацию одной нити ДНК осуществляли с использованием модуля MGIEasy Dual Barcode Circularization Module (MGI, Китай). Окончательные библиотеки были объединены и секвенированы с применением платформы MGI DNBSEQ-G50 с моделью проточной ячейки FCL для секвенирования DNBSEQ-G50RS (MGI, Китай). Для создания DNB (наночастицы ДНК) использовался набор для высокопроизводительного секвенирования DNBSEQ-G50RS. Профилирование резистоста (совокупность генов антибиотикорезистентности и их предшественников у микроорганизмов) проводилось с помощью программного обеспечения GROOT с предварительно рассчитанным индексом ARG-ANNOT, качественная ПЦР — 5X ScreenMix-HS реакционной смеси (“Евроген”, Россия), количественная ПЦР — коммерческой смеси



Рис. 1. Фенотипическая резистентность бактерий, вызывающих мастит коров

5X qPCRmix-HS LowROX (“Евроген”, Россия). Все праймеры¹ ранее были описаны в открытых научных источниках.

Результаты и обсуждение. Первый этап заключался в фенотипическом исследовании устойчивости бактерий *E. coli*, изолированных из кишечника больных поросят (семь изолятов от семи животных), а также оценке распространённости генов антибиотикорезистентности в кишечном микробиоме, бактерии которого были идентифицированы с помощью высокопроизводительного секвенирования (табл. 1).

Анализ на основе диско-диффузионного метода позволил установить, что полученные значения ЗЗР изолированных штаммов не превышали пороговых показателей для *E. coli* для всех антибиотиков, кроме цефотаксима. Так, зона задержки роста для изолята *E. coli* № 1 превышала допустимую норму в 1.4 раза. Однако остальные шесть изолятов продемонстрировали резистентность к цефотаксиму. Таким образом устанавливалась степень резистентности штаммов кишечной палочки для всех 20 антибиотиков: 100% образцов обладают абсолютной устойчивостью к таким антибиотикам, как ампициллин, тилозин, цефалексин и цефоперазон. Несмотря на то, что во всех образцах регистрировалась ЗЗР под действием фурадонина, показатели варьировали в пределах нормы. Это свидетельствует о множественной резистентности у каждого из исследуемых штаммов *E. coli*. Известно, что последствия инфекций,

вызываемых патогенами с множественной лекарственной устойчивостью, наиболее опасны и разрушительны для организма [17, 18].

Биоинформатический анализ результатов высокопроизводительного секвенирования микробиома кишечника больных поросят позволил выявить гены антибиотикорезистентности, 38% которых представляли собой гены устойчивости к бета-лактамам антибиотикам (*AmpC1*, *AMPH*, *blaTEM*, *AmpC2*, *blaOXA* и *blaROB*). Они идентифицированы в 42% образцов. Чаще всего регистрировались гены резистентности к тетрациклину (*TetW*, *TetR* и *TetA*) – в 71% образцов. Гены устойчивости к хлорамфениколу (*CmlA5* и *CmlA1*) обнаружены лишь в образце микробиома № 7. Гены резистентности к хинолонам (*Qnr*) и стрептомицинам (*Str*) – в 43% образцов. Чёткой корреляции наличия какого-либо гена антибиотикорезистентности у бактерий кишечника и фенотипической резистентности соответствующего изолята *E. coli* не выявлено. Ряд антибиотиков (полимиксин, фуразолидон, фурадонин, рифампицин, гентамицин, тилозин) не имеет генов, которые могли бы отвечать за резистентность к ним.

На втором этапе оценивалась фенотипическая резистентность возбудителей мастита, полученных из молока больных коров (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Corynebacterium sp.*). В большинстве случаев диагностировались субклинические, катаральные и гнойно-катаральные маститы.

На рисунке 1 представлены результаты анализа фенотипической резистентности возбудителей мастита к 20 наиболее часто назначаемым антибиотикам. Показано, что цефокситин и цефтриофур

¹ Праймер – короткий фрагмент нуклеиновой кислоты (олигонуклеотид), комплементарный ДНК- или РНК-мишени. Служит затравкой для синтеза комплементарной цепи с помощью ДНК-полимеразы.

Таблица 1. Фенотипическая резистентность бактерий *E. coli*, изолированных из кишечника поросят с диареей, а также наличие генов антибиотикорезистентности в содержимом кишечника

Антибиотик/ образец	Изолят <i>E. coli</i> № 1		Изолят <i>E. coli</i> № 2		Изолят <i>E. coli</i> № 3		Изолят <i>E. coli</i> № 4		Изолят <i>E. coli</i> № 5		Изолят <i>E. coli</i> № 6		Изолят <i>E. coli</i> № 7	
	Рез.	Ген*	Рез.	Ген*	Рез.	Ген*	Рез.	Ген*	Рез.	Ген*	Рез.	Ген*	Рез.	Ген*
Ампициллин	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	<i>blaOXA</i>	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	x	+	<i>AmpC1, AMPH, blaTEM, AmpC2</i>
Амоксициллин	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	<i>blaOXA</i>	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	x	+	<i>AmpC1, AMPH, blaTEM, AmpC2</i>
Тилозин	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x
Тетрациклин	+	x	+	<i>TetW</i>	+	<i>TetW</i>	+	<i>TetW, TetA</i>	+	<i>TetW</i>	+	x	+	<i>TetW, TetA, TetR</i>
Левомецетин	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	<i>CmlA5, CmlA1</i>
Рифампицин	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x
Гентамицин	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x
Стрептомицин	+	<i>StrB</i>	+	x	+	x	+	<i>StrA</i>	+	x	+	x	+	<i>StrB, StrA</i>
Полимиксин	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x
Фуразолидон	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x
Фурадонин	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x	+	x
Норфлоксацин	+	x	+	x	+	<i>QnrD</i>	+	<i>QnrD</i>	+	x	+	<i>QnrB5, QnrB19</i>	+	<i>QnrB5, QnrB19</i>
Энрофлоксацин	+	x	+	x	+	<i>QnrD</i>	+	<i>QnrD</i>	+	x	+	<i>QnrB5, QnrB19</i>	+	<i>QnrB5, QnrB19</i>
Доксисицилин	+	x	+	<i>TetW</i>	+	<i>TetW</i>	+	<i>TetW, TetA</i>	+	<i>TetW</i>	+	x	+	<i>TetW, TetA, TetR</i>
Цефалексин	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	<i>blaTEM, blaOXA</i>	+	<i>blaROB, blaTEM</i>	+	x	+	x	+	<i>AmpC1, AMPH, blaTEM, AmpC2</i>
Цефотаксим	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	<i>blaTEM, blaOXA</i>	+	<i>blaROB, blaTEM</i>	+	x	+	x	+	<i>AmpC1, AMPH, blaTEM, AmpC2</i>
Цефоперазон	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	<i>blaTEM, blaOXA</i>	+	<i>blaROB, blaTEM</i>	+	x	+	x	+	<i>AmpC1, AMPH, blaTEM, AmpC2</i>
Цефокситин	-	<i>blaROB</i>	+	x	+	<i>blaTEM, blaOXA</i>	+	<i>blaROB, blaTEM</i>	+	x	+	x	+	<i>AmpC1, AMPH, blaTEM, AmpC2</i>
Цефтиофуру	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	<i>blaTEM, blaOXA</i>	+	<i>blaROB, blaTEM</i>	+	x	+	x	+	<i>AmpC1, AMPH, blaTEM, AmpC2</i>
Цефазолин	+	<i>blaROB</i>	+	x	+	<i>blaTEM, blaOXA</i>	+	<i>blaROB, blaTEM</i>	+	x	+	x	+	<i>AmpC1, AMPH, blaTEM, AmpC2</i>

* — гены, идентифицированные в кишечном содержимом, из которого была изолирована бактерия; Рез. — наличие или отсутствие резистентности; x — соответствующий ген резистентности к антибиотикоту не выявлен; “+” — наличие фенотипической резистентности; “-” — отсутствие фенотипической резистентности.

Таблица 2. Частота встречаемости генов антибиотикорезистентности у возбудителей мастита

Антибиотик	Гены резистентности	Частота встречаемости в изолированных бактериях, %
Тетрациклины	Гены <i>Tet</i> (<i>TetZ</i> , <i>TetK</i> , <i>TetM</i> и др.)	28.23
Аминогликозиды	<i>Aph(3')la</i>	30.80
Колистины	<i>CLR</i>	11.55
Карбепенемы, цефалоспорины, монобактамы	<i>blaTEM</i>	100
Пенициллины	<i>blaZ</i>	61.60
Эритромицины, стрептограммины	<i>msrA</i>	15.40
Хлорамфениколы	<i>floR</i>	7.70
Макролиды, эритромицины, стрептограммины, линкозамиды	<i>ermC</i>	34.65
Амикацины, гентамицины, канамицины	<i>aacA-D</i>	3.85
Макролиды, стрептограмин	<i>mefA</i>	19.25
Карбепенемы, цефалоспорины, монобактамы	<i>blaKPC</i> , <i>blaVIM</i> , <i>blaNDM</i>	16.68
Линкозамиды	<i>lnuA</i>	100

подавляли рост всех изолятов выборки. Более 88% образцов устойчивы к бензилпенициллину, ампициллину, линкомицину и полимиксину. При этом в случае полимиксина наблюдалась 100%-ная резистентность, то есть показатель ЗЗР для изолированных штаммов был равен 0. Устойчивость к цефотаксиму, эритромицину, неомицину и амоксициллину проявили 55–75% образцов, к антибиотикам иных групп – менее 48%.

Молекулярно-генетический анализ бактериальных изолятов позволил выделить 19 разновидностей генов антибиотикорезистентности. Их процентное содержание в изолированных штаммах бактерий представлено в таблице 2. Каждый исследованный возбудитель мастита содержал гены *blaTEM* и *lnuA*. Примечательно, что для антибиотиков тетрациклиновой группы идентифицировано 6 генов – *TetZ*, *TetK*, *TetM*, *TetS*, *TetW* и *TetB*. Однако, несмотря на такое количественное разнообразие, лишь 28.2% образцов содержали данные гены. Гены *blaKPC*, *blaVIM*, *blaNDM*, *mefA*, *aacA-D*, *floR*, *msrA* и *CLR* встречались не более чем в 20% образцов. Гены резистентности *aph(3')la* и *ermC* – в 30.8 и 34.7% соответственно. В 62% проб детектирован ген *blaZ*.

В подавляющем большинстве случаев не отмечалось четкой корреляции между фенотипической

резистентностью к антибиотику и геном резистентности. В то же время установлено, что развитие устойчивости к полимиксину всегда коррелировало с наличием гена *blaTEM*, а к тетрациклиновым антибиотикам – с геном *TetW*.

Таким образом, проведенные исследования генома возбудителей мастита показали, что если в отношении пенициллинов, линкозамидов и большинства рассмотренных аминогликозидов наличие у бактерий генов резистентности прямо коррелировало с их фенотипической устойчивостью к этим лекарственным средствам, то в случае тетрациклинов (при наличии у микробов достаточно большого процента генов резистентности к ним) отмечена высокая степень фенотипической чувствительности возбудителей мастита. Причём в целом в подопытных хозяйствах идентифицированы гены антибиотикорезистентности к большинству классов антибиотиков, что свидетельствует о значительном потенциале развития антибиотикоустойчивых штаммов.

На крупных молочных комплексах мастит проявляется в виде небольших рецидивирующих эпизоотий. Похожие процессы наблюдаются и в свиноводческих хозяйствах. Ситуация осложняется ограничениями и запретами на применение современных антимикробных препаратов в животноводстве. Однако эту проблему нельзя решить без учёта

особенностей технологических процессов в разных отраслях животноводства. Так, молочное скотоводство и свиноводство остро нуждаются в новых ротационных лекарствах на основе цефалоспоринов, особенно для лечения мастита, так как эти действующие вещества после попадания в организм в 1.5–2 раза быстрее выводятся из молока лактирующих коров по сравнению с другими классами антибиотиков. На наш взгляд, вместо полного запрета и обеспечения животноводства антибиотиками по остаточному принципу, к решению данной проблемы следует подойти более рационально. В лечении бактериальных инфекций у телят и поросят первых дней жизни, а также пушных зверей, мясо которых не используется в пищу и не представляет угрозы с точки зрения передачи антибиотикорезистентности людям, может применяться весь спектр имеющихся антимикробных средств.

* * *

В ходе проведённых исследований нами установлена высокая распространённость генов антибиотикорезистентности бактерий как в кишечнике поросят, так и у возбудителей мастита коров. При этом у бактерий обеих рассмотренных патологий чаще встречались гены устойчивости к бета-лактамам антибиотикам, а также тетрациклинам. Показано, что все бактерии *E. coli* кишечника являлись фенотипически мультирезистентными. Примечательно, что наличие резистентности к тому или иному антибиотику в большинстве случаев не коррелировало с наличием соответствующего гена. Это свидетельствует о том, что до сих пор не идентифицированы все генетические факторы, обуславливающие устойчивость к антибиотикам. Необходимо продолжать работы по выявлению генов резистентности бактерий у сельскохозяйственных животных для получения полных данных об их циркуляции на животноводческих предприятиях. Это поможет оптимизировать схемы применения антибиотиков и избежать появления мультирезистентных штаммов бактерий.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России в рамках национального проекта “Наука” (проект FZGW 2020–0001, уникальный номер реестра государственных заданий 075001X39782002).

ЛИТЕРАТУРА

1. Stacy A.S., Adam C.M. Gene amplification uncovers large previously unrecognized cryptic antibiotic resistance potential in *E. coli* // ASM J. Microbiol. Spectr. 2021. № 3. e0028921.
2. Mouiche M.M.M., Moffo F., Akoachere J.T.K. et al. Antimicrobial resistance from a one health perspective

- in Cameroon: a systematic review and meta-analysis // BMC Public Health. 2019. № 1. 1135.
3. Urban-Chmiel R., Marek A., Stępień-Pyśniak D. et al. Antibiotic resistance in bacteria // Antibiotics (Basel). 2022. № 8. 1079.
4. Волкова С.В. Причины возникновения и распространения факторных инфекций и незаразных болезней // Современные наукоёмкие технологии. 2007. № 12. С. 67–70.
5. Castro J., Barros M.M., Araújo D. et al. Swine enteric colibacillosis: Current treatment avenues and future directions // Front. Vet. Sci. 2022. V. 9. 981207.
6. Arbab S., Ullah H., Wang W. et al. Isolation and identification of infection-causing bacteria in dairy animals and determination of their antibiogram // J. Food Qual. 2021. V. 2021. P. 1–9.
7. Johnson J.R., Russo T.A. Molecular epidemiology of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* // EcoSal Plus. 2018. V. 8. ESP-0004–2017.
8. El-Sayed A., Kamel M. Bovine mastitis prevention and control in the post-antibiotic era // Trop. Anim. Health. Prod. 2021. № 2. 236.
9. Zadoks R.N., Middleton J.R., McDougall S. et al. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans // J. Mammary. Gland. Biol. Neoplasia. 2011. V. 16. P. 357–372.
10. Sharifi A., Sobhani K., Mahmoudi P. A systematic review and meta-analysis revealed a high-level antibiotic resistance of bovine mastitis *Staphylococcus aureus* in Iran // Res. Vet. Sci. 2023. V. 161. P. 23–30.
11. Olsen E.J., Christensen H., Aarestrup F.M. Diversity and evolution of *blaZ* from *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci // J. Ant. Chemo. 2006. № 3. P. 450–460.
12. Zhang P., Shen Z., Zhang C. et al. Surveillance of antimicrobial resistance among *Escherichia coli* from chicken and swine, China, 2008–2015 // Vet. Microbiol. 2017. V. 203. P. 49–55.
13. Alegría Á., Arias-Temprano M., Fernández-Natal I. et al. Molecular diversity of ESBL-Producing *Escherichia coli* from foods of animal origin and human patients // Int. J. Environ. Res. Public Health. 2020. № 4. 1312.
14. Bourély C., Cazeau G., Jarrige N. et al. Co-resistance to amoxicillin and tetracycline as an indicator of multidrug resistance in *Escherichia coli* isolates from animals // Front. Microbiol. 2019. V. 10. 2288.
15. Bengtsson B., Greko C. Antibiotic resistance-consequences for animal health, welfare, and food production // Ups. J. Med. Sci. 2014. № 2. P. 96–102.
16. Мурленков Н.В. Проблемы и факторы развития антибиотикорезистентности в сельском хозяйстве // Биология в сельском хозяйстве. 2019. № 4. С. 11–14.

17. Pang Z., Raudonis R., Glick B.R. et al. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies // *Biotechnol. Adv.* 2019. № 1. P. 177–192.
18. Yuan W., Zhang Y., Riaz L. et al. Multiple antibiotic resistance and DNA methylation in Enterobacteriaceae isolates from different environments // *J. Hazard. Mater.* 2021. V. 402. 123822.

ANTIBIOTIC RESISTANCE GENES IN PATHOGENS OF OPEN CAVITIES

**S. V. Shabunin^{1,#}, G. A. Vostroilova^{1,##}, D. I. Shabanov^{1,###}, I. Yu. Burakova^{2,####},
Yu. D. Smirnova^{2,#####}, M. V. Gryaznova^{2,#####}, M. Yu. Syromyatnikov^{1,2,#####}**

¹All-Russian Veterinary Research Institute of Pathology, Pharmacology and Therapy, Voronezh, Russia.

²Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia.

[#]E-mail: vnivipat@mail.ru

^{##}E-mail: gvostroilova@mail.ru

^{###}E-mail: am7d@mail.ru

^{####}E-mail: vitkalovai@inbox.ru

^{#####}E-mail: dyd16@mail.ru

^{#####}E-mail: mariya-vg@mail.ru

^{#####}E-mail: syromyatnikov@bio.vsu.ru

The work is devoted to the study of the phenotypic and genotypic resistance to antibiotics of bacteria that cause diseases of open cavities of farm animals – mastitis and colibacteriosis. A high prevalence of antibiotic resistance genes of bacteria has been established, both in the gut of piglets and in the causative agents of cow mastitis. It is noteworthy that 38% of the identified genes in the gut microbiota were beta-lactam antibiotic resistance genes. It has been shown that all bacteria *E. coli* of piglets' gut turned out to be phenotypically multiresistant. More than 88% of the causative agents of mastitis in cows were characterized by resistance to benzylpenicillin, ampicillin, lincomycin and polymyxin. At the same time, 19 varieties of antibiotic resistance genes have been identified in the causative agents of mastitis. The study of phenotypic resistance to antibiotics and the genome of pathogens of farm animals did not reveal stable correlations between them. It is necessary to conduct further active research in the field of circulation of resistance genes in livestock farms for the safety of livestock.

Keywords: diseases of open cavities, antibiotic resistance, antibiotic resistance genes, pathogens, disk diffusion test, PCR.