

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНОВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ БАКТЕРИЙ В СЫРОМ МОЛОКЕ

М.Ю. Сыромятников, Е.Ю. Нестерова, М.И. Гладких

Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

Непастеризованное молоко включает в состав множество разнообразных микроорганизмов, которые могут содержать гены устойчивости к некоторым группам противомикробных препаратов [1]. Наличие этих генов объясняется использованием антибиотиков для лечения коров от бактериальных инфекций, последствием которых может выступать мастит [2].

Целью работы являлось проведение оценки присутствия генов устойчивости к различным группам антибиотиков в пробах молока от здоровых коров и коров с различным клиническим проявлением мастита.

В ходе проведенной амплификации в реальном времени был установлен рост кривых флуоресценции с группами праймеров и зондов *ermB* и *Mec*. Так, для шести образцов было характерно наличие гена резистентности к антибиотику метициллину. Среднее значение *Ct* составило 29,56, что говорит о низкой распространенности гена в пробах молока. Подавляющее число образцов (17) по результатам ПЦР-анализа показало присутствие в молоке генов антибиотикорезистентности к эритромицину. Среднее значение *Ct* составило 29,76.

ПЦР с электрофоретической детекцией результатов показал совпадение длин амплифицированных фрагментов, характерных для четырёх пар праймеров – *CLR*, *VIM*, *TetH* и *aphVI*. Так, длины полученных фрагментов с праймерами *CLR* соответствовали заявленной длине для всех 26 образцов молока (рис. 1А). Это свидетельствует о наличии гена устойчивости к антибиотику колистину (309 п.н.). 24 пробы содержали гены устойчивости к тетрациклину (*TetH*) (рис. 1Б).

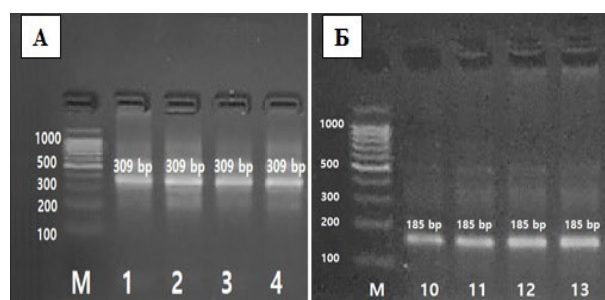


Рисунок 1 – Длина продуктов ПЦР при использовании пары праймеров *CLR* (А) и *TetH* (Б)

В таком же количестве образцов были обнаружены гены устойчивости к антибиотикам пенициллиновой и цефалоспориновой группам. Гены устойчивости к гентамицину, торбамицину и амикацину (*aphVI*) были выявлены в 17 образцах. Важно отметить, что в образцах молока от клинически здоровых коров лишь одна проба содержала в своём составе этот ген.

ПЦР-анализ образцов позволил выявить наличие в пробах молока генов резистентности *CLR*, *VIM*, *TetH*, *aphVI*, выявленных на основании проведения электрофоретической детекции, а так же *ermB* и *Mec*, обнаруженных по результатам ПЦР в реальном времени. Это может свидетельствовать о возможной резистентности бактерий молока к таким антибиотикам как тетрациклин, колистин, пенициллин, гентамицин, торбамицин, амикацин.

Литература

1. Liu J.; Zhu Y.; Jay-Russell M.; Lemay D.G.; Mills D.A. Reservoirs of antimicrobial resistance genes in retail raw milk. *Microbiome*. 2020; 8(1):99. doi:10.1186/s40168-020-00861-6
2. Rubiola S.; Chiesa F.; Dalmasso A.; Ciccio P.D.; Civera T. Detection of Antimicrobial Resistance Genes in the Milk Production Environment: Impact of Host DNA and Sequencing Depth. *Frontiers in Microbiology*. 2020; 11:1938. doi:10.3389/fmicb.2020.01983