

## Выявление генетических детерминант устойчивости микроорганизмов к антибиотикам на территориях, подверженных биогенному загрязнению

© 2025. В. А. Козвонин<sup>1,2</sup>, к. м. н., с. н. с., доцент, Н. В. Сырчина<sup>1</sup>, к. х. н., с. н. с., Л. В. Пилип<sup>2</sup>, к. в. н., доцент, Т. И. Кутявина<sup>1</sup>, к. б. н., с. н. с., Т. Я. Ашихмина<sup>1,4</sup>, д. т. н., г. н. с., зав. лабораторией, Е. В. Коледаева<sup>2</sup>, к. б. н., доцент, зав. кафедрой, С. А. Куклина<sup>2</sup>, к. х. н., доцент, зав. кафедрой, Т. С. Кокарева<sup>5</sup>, зав. ЦКДЛ, А. Н. Частоедова<sup>5</sup>, врач-бактериолог ЦКДЛ, М. А. Виноградова<sup>2</sup>, студент, А. А. Танатарова<sup>2</sup>, студент, А. М. Григорьева<sup>2</sup>, студент, С. П. Михеева<sup>2</sup>, студент,

<sup>1</sup>Вятский государственный университет,

610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

<sup>2</sup>Кировский государственный медицинский университет,

610027, Россия, г. Киров, ул. Владимирская, д. 112,

<sup>3</sup>Вятский государственный агротехнологический университет,

610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, д. 133,

<sup>4</sup>Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения Российской академии наук, 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, д. 28,

<sup>5</sup>КОГБУЗ «Кировская областная клиническая больница»,

610027, Россия, г. Киров, ул. Воровского, д. 42,

e-mail: va\_kozvonin@vyatsu.ru, nvms1956@mail.ru,

ecolab2@gmail.com, pilip\_larisa@mail.ru

Явление антибиотикорезистентности (АБР) микроорганизмов (МО) входит в число важнейших проблем современного здравоохранения. В настоящее время активно исследуются пути возникновения и распространения антибиотикорезистентных штаммов МО в различных условиях, включая природные среды. Полноценная оценка явления АБР невозможна без использования молекулярно-генетических методов, однако, если для этапа выделения суммарной ДНК МО из внешнесредовых проб предлагается достаточно большое количество специальных наборов реактивов, материалов и оборудования, то для амплификации последовательностей ДНК, готовых к использованию тест-систем в формате «из коробки», фактически не разработано. Вместе с тем разработаны и достаточно широко применяются коммерческие наборы, позволяющие амплифицировать ДНК антибиотикорезистентных штаммов МО в биологических пробах, взятых у человека (пациента). Целью данной работы была оценка возможности адаптации тест-систем, применяемых для выявления генов АБР у МО, полученных от человека, к выявлению генов АБР в образцах ДНК МО, выделенных из объектов окружающей среды (ОС). В ходе исследования было установлено, что лабораторные комплекты производства компании ООО НПФ «Литех» могут быть использованы для выявления генов АБР в образцах ДНК МО, полученных из почв и навозных стоков. В проанализированных с помощью тест-систем «Литех» образцах почв и навозных стоков обнаружены гены устойчивости к тетрациклам (*TetM*), макролидам (*ErmB*), цефалоспорином (*blaOXA10*), линкозамидам и стрептограмину В (*Mef*). Специфические гены АБР были выявлены на участках исследования, испытывающих биогенное загрязнение, и отсутствовали на фоновых участках. Полученные данные свидетельствуют о значительном загрязнении ОС антибиотикорезистентными МО в местах нахождения побочных продуктов животноводства и необходимости организации системы мониторинга явления АБР на данных объектах.

**Ключевые слова:** антибиотикорезистентность, микроорганизмы, окружающая среда, ДНК, полимеразная цепная реакция, гены резистентности, мониторинг, молекулярная диагностика.

## Identification of genetic determinants of antibiotic microbial resistance in areas affected by biogenic pollution

© 2025. V. A. Kozvonin<sup>1,2</sup> ORCID: 0000-0002-2447-6949, N. V. Syrchina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-8049-6760, L. V. Pilip<sup>2</sup> ORCID: 0000-0001-9695-7146, T. I. Kutyavina<sup>1</sup> ORCID: 0000-0001-7957-0636

T. Ya. Ashikhmina<sup>1,4</sup> ORCID: 0000-0003-4919-0047, E. V. Koledaeva<sup>2</sup> ORCID: 0009-0007-9044-6928<sup>2</sup>  
 S. A. Kuklina<sup>2</sup> ORCID: 0000-0002-3344-3639<sup>2</sup>, T. S. Kokareva<sup>5</sup> ORCID: 0000-0003-0509-3069<sup>2</sup>  
 A. N. Chastoedova<sup>5</sup> ORCID: 0000-0001-7779-8274<sup>2</sup>, M. A. Vinogradova<sup>2</sup> ORCID: 0009-0008-9164-7438<sup>2</sup>  
 A. A. Tanatarova<sup>2</sup> ORCID: 0009-0008-9430-5572<sup>2</sup>, A. M. Grigoreva<sup>2</sup> ORCID: 0009-0007-0869-0316<sup>2</sup>  
 S. P. Mikheeva<sup>2</sup> ORCID: 0009-0000-6384-6319<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Vyatka State University,

36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

<sup>2</sup>Kirov State Medical University,

112, Vladimirskaia St., Kirov, Russia, 610027,

<sup>3</sup>Vyatka State Agrotechnological University,

133, Oktyabrskiy Ave., Kirov, Russia, 610017,

<sup>4</sup>Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Branch  
of the Russian Academy of Sciences,

28, Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Russia, 167982,

<sup>5</sup>Kirov Regional Clinical Hospital,

42, Vorovskogo St., Kirov, Russia, 610027,

e-mail: va\_kozvonin@vyatsu.ru, nvms1956@mail.ru,

ecolab2@gmail.com, pilip\_larisa@mail.ru

Antibiotic resistance (ABR) in microorganisms (MO) is one of the most pressing issues in modern healthcare. The emergence and spread of ABR strains of MO in various environments, including natural, is currently being actively studied. A comprehensive assessment of ABR is impossible without the use of molecular genetic methods. A significant number of specialized reagent kits, materials, and equipment are available for isolating total MO DNA from environmental samples. But ready-to-use, out-of-the-box test systems for amplifying DNA sequences are virtually nonexistent. However, commercial kits have been developed and are widely used to amplify the DNA of ABR MO strains in biological samples from humans (patients). The aim of this study was to evaluate the feasibility of adapting test systems used to detect ABR genes in MO isolated from humans to detect ABR genes in MO DNA samples isolated from environmental sources. The study found that laboratory kits manufactured by Litekh JSC can be used to detect ABR genes in MO DNA samples obtained from soils and manure runoff. These laboratory kits detected resistance genes to tetracyclines (*TetM*), macrolides (*ErmB*, *Mef*), and cephalosporins (*blaOXA10*) in the soil and manure samples analyzed. Specific ABR genes were detected in study sites affected by biogenic pollution and were absent from control sites. The obtained results confirm a high degree of commonality between the ABR genes in MO isolated from the environment and clinical MO strains isolated from humans. The identification of ABR (*TetM*, *ErmB*, *Mef*, *blaOXA10*) identical genetic determinants may indicate the existence of a single pool of ABR genes that moves between different ecological niches, the data indicate significant contamination of the environment with antibiotic-resistant microorganisms in areas where livestock by-products are located and the need to organize a monitoring system for this phenomenon at these sites.

**Keywords:** antibiotic resistance, microorganisms, environment, DNA, polymerase chain reaction, resistance genes, monitoring, molecular diagnostics.

Антибиотикорезистентность (АБР) в настоящее время представляет собой одну из серьёзнейших глобальных угроз современному здравоохранению. Согласно данным Всемирной организации здравоохранения [1], зарубежных и отечественных источников, рост устойчивости микроорганизмов (МО) к антибактериальным препаратам приводит к значимому увеличению смертности (прогнозируется порядка 10 млн смертей ежегодно), удлинению сроков лечения, а также существенному экономическому ущербу, который к 2050 г. может достигнуть 100 трлн долларов в мировом масштабе [2–4].

Распространение в окружающей среде (ОС) МО с генами устойчивости к антибактериальным препаратам создаёт посто-

янный потенциальный резервуар инфекции, которая не отвечает при её лечении на назначенные лекарственные препараты (антибиотики) [5], что, в свою очередь, может оказаться фатальным фактором для пациента. Водные экосистемы, почвы сельскохозяйственных угодий и городские территории становятся местами активного обмена генетическим материалом между аутохтонными и патогенными МО, в том числе и отвечающими за их устойчивость к антибиотикам. Явление АБР у МО носит и естественный характер, что отражено в ряде работ [6], но в естественных условиях ОС эти процессы весьма продолжительны по времени. Сейчас же мы наблюдаем в буквальном смысле слова «взрывной» характер

появления новых механизмов развития АБР и темпов распространения данных МО.

Значительный вклад в загрязнение почв устойчивыми к антибиотикам МО вносит современное животноводство, широко использующее антимикробные препараты для профилактики заболеваний, лечения и повышения продуктивности животных [7]. Применяемые в животноводстве антибиотики становятся драйверами формирования АБР микробиоты, заселяющей желудочно-кишечный тракт, кожные покровы и слизистые оболочки животных [8–10]. В составе навоза, навозных стоков и помёта птиц, используемых в качестве удобрений, антибиотикорезистентные МО активно переносятся в ОС [11, 12].

Существенный вклад в формирование АБР вносят и такие факторы, как нерациональное использование антибиотиков в клинической практике, неконтролируемое самолечение, сброс недостаточно очищенных сточных вод медицинскими учреждениями и фармацевтическими предприятиями в водные объекты.

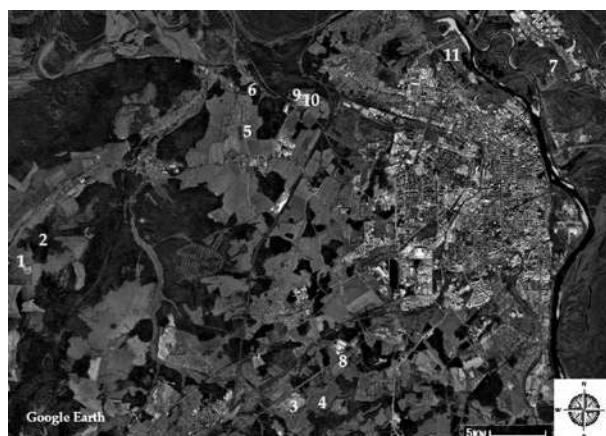
Для предупреждения и ограничения распространения АБР в нашей стране был разработан и введён в действие ряд важных документов, в частности «Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности на период до 2030 года» (Распоряжение Правительства РФ от 25.09.2017 № 2045-р). Важнейшим условием успешной реализации соответствующей стратегии является системный мониторинг распространённости МО с генами АБР во внешней среде. Для выявления антибиотикорезистентных штаммов МО могут быть использованы как микробиологические методы анализа, так и более высокотехнологичные – молекулярно-генетические методы (МГМ). Особенности пробоотбора и дальнейших манипуляций с образцом при работе с использованием МГМ подразумевают применение только одноразовых расходных материалов с целью предотвращения перекрёстной контаминации. Для выделения ДНК из проб почвы имеются соответствующие наборы, и они доступны к приобретению. Некоторые существующие ограничения в использовании МГМ могут быть связаны с отсутствием коммерческих тест-систем, предназначенных для проведения самой полимеразной цепной реакции (ПЦР) по выявлению генов АБР в образцах, взятых из внешней среды. Вместе с тем, имеется достаточно большое количество тест-систем, разработанных для амплификации данных генов в биологическом

материале, содержащем МО и отобранном у пациентов, получающих лечение антибактериальными препаратами.

Цель настоящей работы – оценить возможность адаптации тест-систем, применяемых для выявления генов АБР МО у человека, к выявлению аналогичных генов АБР в образцах ДНК МО, выделенных из внешне-средовых проб (почв, навозных стоков), и их дальнейшего использования в мониторинге загрязнения окружающей среды антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов.

### Объекты и методы исследования

Исследования проводили в течение 2024–2025 гг. Для получения репрезентативных данных применяли схему отбора проб, предусматривающую охват различных типов локаций: сельскохозяйственные территории, связанные с возможным биогенным загрязнением



**Рис. 1.** Участки пробоотбора: 1 – участок, подвергшийся биогенному загрязнению отходами свиноводства и птицеводства; 2 – лесной массив (фоновая территория участку 1); 3 – участок, подвергшийся биогенному загрязнению отходами свиноводства; 4 – луговой массив (фоновая территория участку 3); 5 – участок, подвергшийся биогенному загрязнению отходами молочного животноводства; 6 – лесной массив (фоновая территория участку 5); 7 – лесной массив; 8 – отходы свиноводства; 9 – восстановленная подстилка из навозных стоков крупного рогатого скота; 10 – навозные стоки крупного рогатого скота; 11 – почва вблизи коллектора городских коммунальных систем / **Fig. 1.** Sampling areas: 1 – an area polluted by pig and poultry waste; 2 – forest area (background area for area 1); 3 – an area polluted by pig waste; 4 – meadow area (background for area 3); 5 – an area polluted by dairy wastes; 6 – forest area (background for area 5); 7 – forest area; 8 – pig farming waste; 9 – reclaimed bedding from cattle manure runoff; 10 – cattle manure runoff; 11 – soil near the municipal utility system collector

отходами животноводства (экспериментальные участки 1, 3, 5, 8–11); лесные и луговые массивы, расположенные на территориях, не используемых в хозяйственной деятельности человека, на расстоянии не менее 300 м от участков отбора экспериментальных проб (фоновые (контрольные) участки): 2 – лесной массив (фоновая территория участка 1); 4 – луговой массив (фоновая территория участка 3); 6 – лесной массив (фоновая территория участка 5); 7 – лесной массив. Всего для исследования было выбрано 11 участков проботбора, расположение которых представлено на рисунке 1.

Отбор проб почв осуществляли в соответствии с требованиями ГОСТ 17.4.4.02-2017 в черте г. Кирова и на прилегающей к городу территории. С площадок отбирали точечные пробы методом конверта на глубину 20–25 см. Размер пробной площадки – 10×10 м. Навозные стоки (НС) и восстановленную подстилку отбирали на крупных животноводческих предприятиях Кировской области по выращиванию свиней и коров молочного направления. Пробы почв и НС (представляют собой гомогенат почвы и навоза с высоким содержанием влаги) собирали одноразовыми инструментами в стерильную тару с соблюдением условий асептики. Транспортировка проб в лабораторию осуществлялась в течение трёх часов после отбора с соблюдением температурного режима (от +4 до +8 °C).

Выделение суммарной ДНК из образцов почв и НС проводили с использованием набора реагентов «SKYamp Soil DNA Kit» (ООО «Скайген», Россия), согласно прилагаемой инструкции. Данный набор разработан специально для работы с образцами почвы, в том числе и с высокой влажностью, и позволяет эффективно удалять ингибиторы ПЦР. Все манипуляции проводили в ламинарном боксе «LAMSYSTEMS» (Россия) с соблюдением условий по предотвращению перекрёстной контаминации.

Концентрацию выделенной суммарной ДНК в образцах определяли флуориметрическим методом на приборе MAXLIFE H100 (Россия) с использованием набора реагентов для измерения концентрации двухцепочечной ДНК dsDNA-500 V2.0 MAXLIFE (ООО «МВМ-Диагностик», Россия). Измерения проводили в 5-кратных повторах для каждого образца. Рассчитывали среднее значение концентрации и стандартное отклонение.

Для амплификации генов АБР МО использовали два варианта ПЦР: классическую, с последующей электрофоретической детекцией конечного продукта, и в реальном времени (Real-Time PCR). Классическую ПЦР проводили с использованием наборов: «РЕЗИСТОМ.TetM» – для обнаружения генов устойчивости к тетрациклам, «РЕЗИСТОМ.ErmB» – для выявления генов резистентности к эритромицинам и «РЕЗИСТОМ.CTX-M» – для определения генов АБР к цефалоспорином. Все тест-системы производятся ООО НПФ «Литех» (Россия). Подготовку реакционной смеси делали в ПЦР-боксе, дальнейшее проведение амплификации осуществляли на термоциклере «БИС» M111-05 (Россия). Визуализацию результатов делали методом электрофореза в 2% агарозном геле, который готовили на основе ТВЕ-буфера с добавлением бромистого этидия. Электрофорез проводили при напряжении 80V в течение 40 мин. Визуализация и документирование результатов проведены с использованием трансиллюминатора.

Полимеразную цепную реакцию в реальном времени выполняли на амплификаторе CFX96 Touch (США) набором «РЕЗИСТОМ ESKAPE-V» (ООО НПФ «Литех», Россия), который предназначен для мультиплексного выявления широкого спектра генов резистентности МО (*blaCTX-M* и *blaOXA10* – к цефалоспорином; *MecA* – к бета-лактамам; *blaKPC*, *blaOXA48-like*, *blaOXA23-like*, *blaOXA40-like*, *blaVim*, *blaNDM*, *blaGES* – к карбапенемам; *blaDHA* – к защищённым пенициллинам и цефалоспорином; *Mef* и *ErmB* – к макролидам, линкозамидам, стрептограмину В; *VanA/VanB* – к гликопептидам) группы ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp., а также иных МО. Аппаратная детекция комплекса генов АБР проведена на каналах флуоресценции FAM, HEX, ROX. Методика постановки ПЦР соответствовала изложенной в инструкции от разработчиков набора «Комплекс РЕЗИСТОМ ESKAPE-V».

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2019. Рассчитывали средние значения, стандартные отклонения, ошибки среднего. Для оценки достоверности различий применяли t-критерий Стьюдента.



## Результаты и обсуждение

Во всех пробах, отобранных на исследуемых участках, была успешно выделена суммарная ДНК. Концентрация ДНК варьировала в достаточно широких пределах от 5 до  $40 \pm 5$  нг/мкл (табл.).

Наибольшая концентрация ДНК зафиксирована в образце, отобранном на участке № 11 (почва вблизи коллектора), что свидетельствует о высокой микробной обсеменённости данного объекта анализа. Наименьшие концентрации ДНК ( $<5,0$  нг/мкл) обнаружены в образцах, отобранных на фоновых лесных территориях (№№ 2 и 6) (табл.).

Результаты электрофоретического анализа методом классической ПЦР показали наличие специфических генов АБР в некоторых из исследованных образцов. Положительный результат на наличие гена *TetM* (гены устойчивости к тетрациклину) получен для образцов, отобранных на участках №№ 8–11 (рис. 2а). Образцы были отобраны из НС животноводческих хозяйств и коллектора городских коммунальных систем. В образцах, отобранных из лесных массивов и лугов, ген *TetM* не обнаружен. В образцах, отобранных на участках №№ 8 и 10 (рис. 2б), были обнаружены гены устойчивости к эритромицину (*ErmB*). Во всех исследованных методом классической ПЦР образцах гены АБР к цефалоспорином *blaCTX-M* не обнаружены (рис. 2в).

Более чувствительный метод ПЦР в реальном времени позволил выявить расширенный спектр генов АБР. Так в образце, отобранном на участке № 1, были выявлены гены устойчивости к линкозамидам, стрептограмину В, макролидам и цефалоспорином.

Результаты исследований представлены на рисунке 3 (протоколы по каналам флуоресценции HEX (гены АБР *Mef* к линкозамидам, стрептограмину В, а также к *blaOXA10* – цефалоспорином) и ROX (гены АБР *ErmB* – к макролидам)).

В образце, отобранном на участке № 3, обнаружены гены устойчивости к цефалоспорином, линкозамидам, стрептограмину В. Результаты исследований представлены на рисунке 4 (протоколы по каналам флуоресценции HEX (гены АБР *Mef* к линкозамидам, стрептограмину В, а также к *blaOXA10* – цефалоспорином)).

Кроме этого, методом ПЦР в реальном времени обнаружены гены АБР, выявленные ранее методом классической ПЦР в образцах, отобранных на участках №№ 8–11.

Наиболее часто встречающимися генами АБР в исследованных образцах почв и НС оказались *Mef* и *ErmB*, обеспечивающие устойчивость к макролидам, линкозамидам и стрептограмину группы В (MLSB-фенотип). Эти гены обнаружены методом ПЦР в реальном времени в 6 образцах из 11, что свидетельствует о более высокой чувствительности метода ПЦР в реальном времени по сравнению с вариантом классической ПЦР. Также это подтверждается и тем, что в образце № 1 выявлен наиболее широкий спектр генов АБР: *blaOXA10*, *Mef* и *ErmB*, но при этом «классическим» вариантом ПЦР они не были идентифицированы.

Таким образом, проведённое исследование позволило сравнить эффективность двух методов детекции: классической ПЦР с электрофорезом и ПЦР в реальном времени. Real-Time PCR продемонстрировала существенно более высокую чувствительность и специфичность,

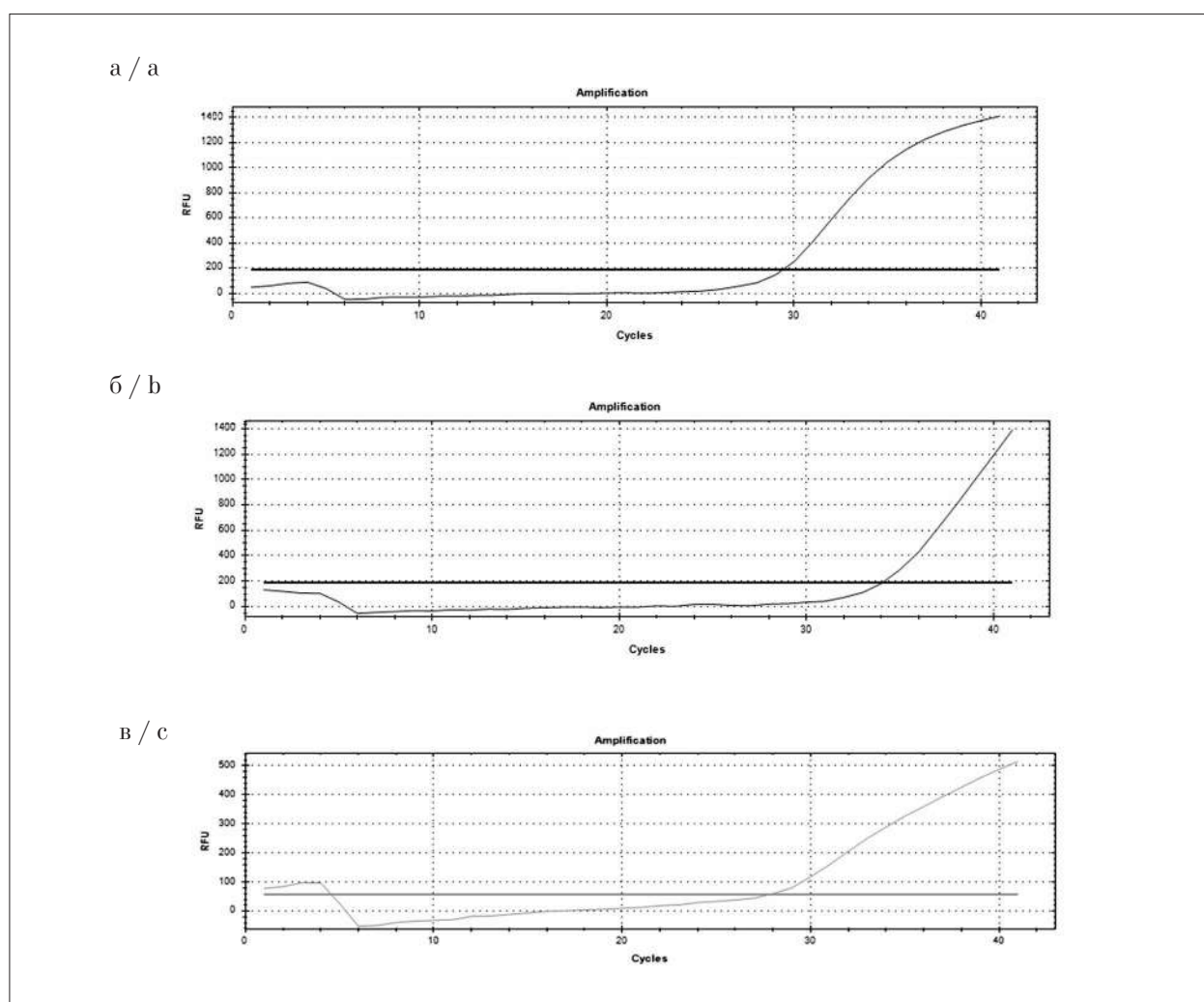
Таблица / Table

Концентрации суммарной ДНК в исследуемых пробах, определённые флуориметрическим методом  
Concentrations of total DNA in the studied samples, determined by the fluorimetric method

№ исследуемого участка Number of the studied area	Количество ДНК, нг/мкл DNA amount, ng/ $\mu$ L
1	$21,4 \pm 3,0$
2	$<5,0$
3	$6,7 \pm 0,8$
4	$9,5 \pm 1,5$
5	$6,3 \pm 1,8$
6	$<5,0$
7	$6,7 \pm 0,8$
8	$13,3 \pm 1,9$
9	$11,4 \pm 2,3$
10	$6,3 \pm 1,0$
11	$40 \pm 5$



**Рис. 2.** Результаты электрофореза на выявление генов антибиотикорезистентности в исследуемых образцах почв и навозных стоков: а) *TetM*, б) *ErmB*, в) *blaCTX-M*  
**Fig. 2.** Results of electrophoresis: the detected antibiotic resistance genes in the studied soil and manure samples: а) *TetM*, б) *ErmB*, в) *blaCTX-M*



**Рис. 3.** Кривая накопления продуктов реакции по каналу флуоресценции HEX – *Mef* (а) и *blaOXA10* (б), и по каналу флуоресценции ROX – *ErmB* (в) для образца, отобранного на участке № 1.  
 Примечание к рисункам 3 и 4: RFU – относительная единица флуоресценции, которая показывает интенсивность свечения и позволяет оценить количество амплифицированной ДНК в образце. Cycles – циклы, их количество

**Fig. 3.** The accumulation curve of reaction products along the HEX fluorescence channel – *Mef* (а) and *blaOXA10* (б), and along the ROX fluorescence channel – *ErmB* (в) for the sample from the site No. 1.  
 Note on Figures 3 and 4: RFU – relative fluorescence unit; it measures the intensity of fluorescence and allows one to estimate the amount of amplified DNA in a sample. Cycles – the number of cycles

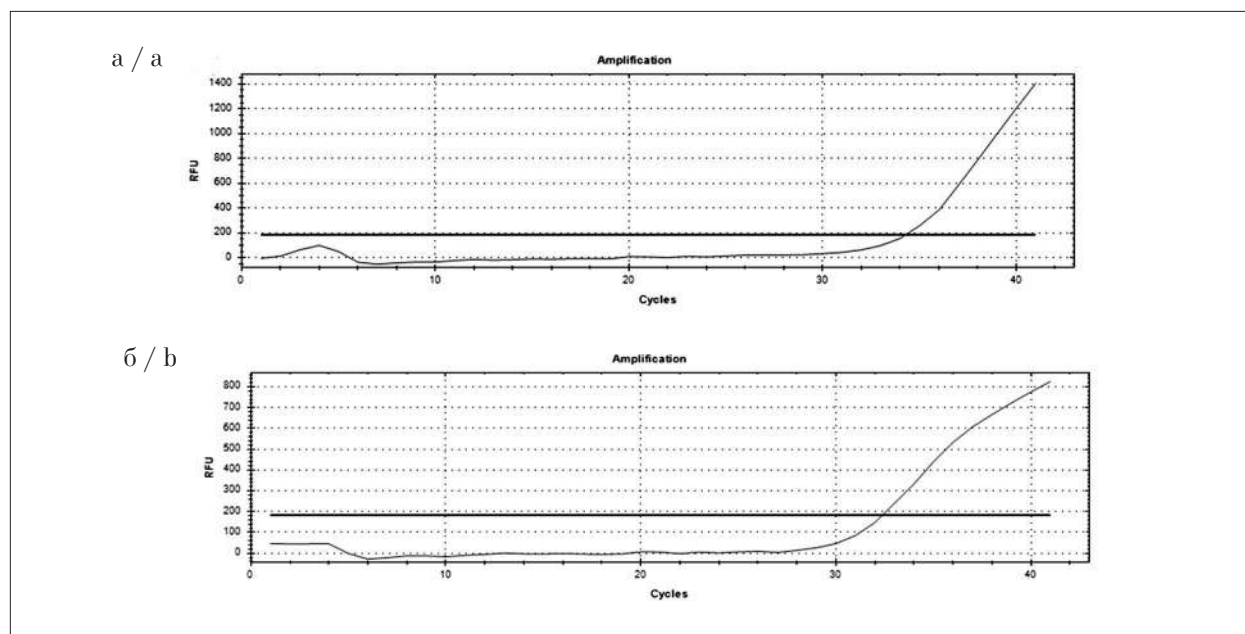


Рис. 4. Кривая накопления продуктов реакции по каналу флуоресценции HEX – *blaOXA10* (а) и *Mef* (б) для образца, отобранного на участке № 3

Fig. 4. The accumulation curve of reaction products in the HEX fluorescence channel is *blaOXA10* (a) and *Mef* (b) for the sample from the site No. 3

что особенно важно при работе с образцами ОС, где концентрация целевых ДНК может быть низкой. Кроме того, этот метод позволяет в перспективе проводить количественную оценку и мультиплексный анализ нескольких мишеней в одной реакции, при приблизительно идентичной стоимости, трудоёмкости и временных затратах. Также при Real-Time PCR следует отметить снижение рисков контаминации, так как отсутствует этап проведения фореа и, соответственно, потенциально возможного попадания в лабораторные помещения ампликонов.

Полученные результаты подтверждают высокую степень общности генов АБР у МО, полученных из ОС, и у клинических штаммов МО, выделяемых от человека. Выявление идентичных генетических детерминант устойчивости к антибиотикам (*TetM*, *ErmB*, *Mef*, *blaOXA10*) может свидетельствовать о существовании единого пула генов АБР, перемещающегося между различными экологическими нишами.

Успешное применение диагностических наборов, изначально разработанных для клинической диагностики («РЕЗИСТОМ.TetM», «РЕЗИСТОМ.ErmB», «РЕЗИСТОМ.CTX-M», «РЕЗИСТОМ.ESCAPE-V»), для анализа объектов ОС свидетельствует об универсальности генетических мишеней и возможности адаптации медицинских диагностических систем для задач экологического мониторинга.

Проведённые исследования обосновывают целесообразность создания единой системы мониторинга явления распространённости МО с генами АБР, интегрирующей данные медицинских, ветеринарных и экологических исследований. Использование стандартизированных общих тест-систем позволит получать сопоставимые данные о распространённости МО с генами АБР, своевременно выявлять эпидемиологически значимые угрозы и осуществлять их профилактику.

Полученные данные так же свидетельствуют о значительном загрязнении обследованных территорий генами АБР. Выявленная распространённость МО с генами резистентности к антибиотикам имеет определённую связь с конкретными локациями с высокой биогенной нагрузкой – фактически все гены АБР выделены из образцов побочных продуктов животноводства (НС) или почвы на сельскохозяйственных локациях, куда они вывозятся. Это согласуется с литературными данными о широком использовании антибиотиков в животноводстве в качестве стимуляторов роста и для профилактики заболеваний [12–14]. Особенно показательны наличие генов *TetM*, *ErmB* и *Mef* именно в образцах из НС, что указывает на селекцию резистентных штаммов МО в условиях постоянного воздействия антибиотиков на микробиоту желудочно-кишечного тракта животных.

Обнаружение генов АБР в образце, отобранном из канализационного коллектора

(участок № 11), свидетельствует о поступлении резистентных к антибиотикам МО в ОС из коммунальных сетей. Это подтверждает данные о нерациональном использовании антибиотиков в клинической практике и необходимости усиления контроля за их применением населением [15, 16]. Данный факт также может указывать на миграцию резистентных МО по водным путям и возможность загрязнения удалённых территорий. Распространение генов АБР во внешней среде создаёт постоянный резервуар для потенциального заражения людей и животных антибиотикорезистентными штаммами МО.

### Заключение

Подтверждена высокая эффективность молекулярно-генетических методов (классической ПЦР и ПЦР в реальном времени) для мониторинга АБР МО во внешней среде.

Установлено, что антибиотикорезистентные штаммы МО в ОС исследуемого региона имеют значительное распространение. Выявлены гены устойчивости МО к тетрациклинам (*TetM*), макролидам (*ErmB*), линкозамидам и стрептограмину группы В (*Mef*), цефалоспорином (*blaOXA10*).

Наблюдается определённая взаимосвязь между обнаружением генов АБР у МО и наличием биогенной нагрузки на исследуемых территориях. Наибольшая концентрация генов резистентности к антибиотикам выявлена в образцах из животноводческих хозяйств и городского коллектора, что указывает на основные источники загрязнения ОС антибиотикорезистентными МО.

Метод Real-Time PCR продемонстрировал преимущества по чувствительности и специфичности в сравнении с классической ПЦР. При этом применение для амплификации коммерческих наборов, используемых в клинической лабораторной практике, оказалось успешным, что, возможно, связано с общностью генов АБР микроорганизмов у человека и животных.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости организации системы мониторинга АБР во внешней среде и разработки комплекса мер по ограничению распространения резистентных к антибиотикам микроорганизмов.

*Работа выполнена по программе «Университетский научный грант» ФГБОУ ВО Кировский ГМУ Минздрава России (утверж-*

*дена решением Учёного совета, протокол № 11 от 27.12.2024 г.), а также в рамках государственного задания ИБ ФИЦ Коми НЦ УрО РАН (номер государственной регистрации в ЕГИСУ № 125021402208-5).*

### Литература

1. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Geneva: World Health Organization, 2015. 28 p. [Электронный ресурс] <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/1a487887-e162-46a0-8aef-802907c66070/content> (Дата обращения: 01.10.2025).
2. Козлов Р.С. Стратегия управления антибиотикорезистентностью: задачи и пути решения на современном этапе // Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств. 2025. Т. 15. № 1. С. 8–12. doi: 10.30895/1991-2919-2025-15-1-8-12
3. Ahmed S.K., Hussein S., Qurbani K., Ibrahim R.H., Fareeq A., Mahmood K.A., Mohamed M.G. Antimicrobial resistance: Impacts, challenges, and future prospects // Journal of Medicine, Surgery, and Public Health. 2024. V. 2. Article No. 100081. doi: 10.1016/j.glmmedi.2024.100081
4. Михалёва Т.В., Захарова О.И., Ильясов П.В. Антибиотикорезистентность: современные подходы и пути преодоления (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т. 55. № 2. С. 124–132. doi: 10.1134/S0555109919020119
5. Журавлёв П.В., Панасовец О.П., Алешня В.В., Казачок И.П., Черногорова Т.Н., Деревякина Е.И. Антибиотикорезистентность бактерий, выделенных из воды открытых водоёмов // ЗНиСО. 2015. № 5 (266). С. 24–26.
6. D'Costa V.M., King C.E., Kalan L., Morar M., Sung W.W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G.B., Poinar H.N., Wright G.D. Antibiotic resistance is ancient // Nature. 2011. V. 477. No. 7365. P. 457–461. doi: 10.1038/nature10388
7. Донник И. Антибиотикорезистентность: актуальность возрастает // Животноводство России. 2022. № 4. С. 27–28. doi: 10.25701/ZZR.2022.04.04.010
8. Панин А.Н., Комаров А.А., Куликовский А.В., Макаров Д.А. Проблема резистентности к антибиотикам возбудителей болезней, общих для человека и животных // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2017. № 5. С. 18–24.
9. Мурленков Н.В. Проблемы и факторы развития антибиотикорезистентности в сельском хозяйстве // Биология в сельском хозяйстве. 2019. № 4. С. 11–14.
10. Дубровин А.В., Ильина Л.А., Пономарева Е.С., Калиткина К.А., Йылдырым Е.А., Филиппова В.А., Дубровина А.С., Башир Х. Проблема устойчивости микроорганизмов в птицеводстве: обзор // Птицеводство. 2023. № 2. С. 31–36. doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-2-31-36
11. Chee-Sanford J.C., Mackie R.I., Koike S., Krapac I.G., Lin Y.F., Yannarell A.C., Maxwell S., Aminov R.I. Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resis-



tance genes following land application of manure waste // J. Environ. Qual. 2009. V. 38. No. 3. P. 1086–1108. doi: 10.2134/jeq2008.0128

12. Сырчина Н.В., Пилип Л.В., Колеватых Е.П., Ашихмина Т.Я. Биологическое загрязнение почв побочными продуктами животноводства // Теоретическая и прикладная экология. 2024. № 2. С. 201–210. doi: 10.25750/1995-4301-2024-2-201-210

13. Сырчина Н.В., Пилип Л.В., Ашихмина Т.Я. Микробиологическая безопасность технологии ускоренной переработки навоза // Поволжский экологический журнал. 2025. № 1. С. 80–90. doi: 10.35885/1684-7318-2025-1-80-90

14. Пилип Л.В., Сырчина Н.В., Козвонин В.А., Колеватых Е.П., Ашихмина Т.Я., Сазанов А.В. Биологическое загрязнение пахотных земель отходами свиноводства // Теоретическая и прикладная экология. 2022. № 3. С. 199–205. doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-199-205

15. Tinker N.J., Foster R.A., Webb B.J., Haydoura S., Buckel W.R., Stenehjem E.A. Interventions to optimize antimicrobial stewardship // Antimicrob. Steward Healthc. Epidemiol. 2021. V. 1. No. 1. P. e46. doi: 10.1017/ash.2021.210

16. Prestinaci F., Pezzotti P., Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon // Pathog. Glob. Health. 2015. V. 109. No. 7. P. 309–318. doi: 10.1179/2047773215Y.0000000030

## References

1. Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. Geneva: World Health Organization, 2015. 28 p. [Internet resource] <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/1a487887-e162-46a0-8aef-802907c66070/content> (Accessed: 01.10.2025).

2. Kozlov R.S. Antimicrobial resistance management strategy: current challenges and solutions // Regulatory Research and Medicine Evaluation. 2025. V. 15. No. 1. P. 8–12 (in Russian). doi: 10.30895/1991-2919-2025-15-1-8-12

3. Ahmed S.K., Hussein S., Qurbani K., Ibrahim R.H., Fareeq A., Mahmood K.A., Mohamed M.G. Antimicrobial resistance: Impacts, challenges, and future prospects // Journal of Medicine, Surgery, and Public Health. 2024. V. 2. Article No. 100081. doi: 10.1016/j.glmedi.2024.100081

4. Mikhajlova T.V., Zakharova O.I., Iliasov P.V. Antimicrobial resistance: current approaches and ways to cope (a review) // Applied Biochemistry and Microbiology. 2019. V. 55. No. 2. P. 124–132 (in Russian). doi: 10.1134/S0555109919020119

5. Zhuravlyov P.V., Panasovets O.P., Aleshnya V.V., Kazachok I.P., Chernogorova T.N., Derevyakina Ye.I. Antibiotic resistance of bacteria isolated from water of the

open reservoirs // ZNISO. 2015. No. 5 (266). P. 24–26 (in Russian).

6. D'Costa V.M., King C.E., Kalan L., Morar M., Sung W.W., Schwarz C., Froese D., Zazula G., Calmels F., Debruyne R., Golding G.B., Poinar H.N., Wright G.D. Antibiotic resistance is ancient // Nature. 2011. V. 477. No. 7365. P. 457–461. doi: 10.1038/nature10388

7. Donnik I. Antibiotic resistance: becoming more relevant // Animal Husbandry of Russia. 2022. No. 4. P. 27–28 (in Russian). doi: 10.25701/ZZR.2022.04.04.010

8. Panin A.N., Komarov A.A., Kulikovskiy A.V., Markarov D.A. Problem of antimicrobial resistance of zoonotic bacteria // Veterinary, Zootechnics and Biotechnology. 2017. No. 5. P. 18–24 (in Russian).

9. Murlenkov N.V. Problems and factors of development of antibiotic resistance in agriculture // Biology in Agriculture. 2019. No. 4. P. 11–14 (in Russian).

10. Dubrovin A.V., Ilyina L.A., Ponomareva E.S., Kalitkina K.A., Yildyrym E.A., Filippova V.A., Dubrovina A.S., Bashir Kh. The problem of microbial drug resistance in poultry industry: an overview // Ptitsevodstvo. 2023. No. 2. P. 31–36 (in Russian). doi: 10.33845/0033-3239-2023-72-2-31-36

11. Chee-Sanford J.C., Mackie R.I., Koike S., Krapac I.G., Lin Y.F., Yannarell A.C., Maxwell S., Aminov R.I. Fate and transport of antibiotic residues and antibiotic resistance genes following land application of manure waste // J. Environ. Qual. 2009. V. 38. No. 3. P. 1086–1108. doi: 10.2134/jeq2008.0128

12. Syrchina N.V., Pilip L.V., Kolevatykh E.P., Ashikhmina T.Ya. Biological contamination of soils by livestock by-products // Theoretical and Applied Ecology. 2024. No. 2. P. 201–210 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2024-2-201-210

13. Syrchina N.V., Pilip L.V., Ashikhmina T.Ya. Microbiological safety of the accelerated manure processing technology // Povolzhskiy Journal of Ecology. 2025. No. 1. P. 80–90 (in Russian). doi: 10.35885/1684-7318-2025-1-80-90

14. Pilip L.V., Syrchina N.V., Kozvonin V.A., Kolevatykh E.P., Ashikhmina T.Ya., Sazanov A.V. Biological contamination of arable land with pig waste // Theoretical and Applied Ecology. 2022. No. 3. P. 199–205 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2022-3-199-205

15. Tinker N.J., Foster R.A., Webb B.J., Haydoura S., Buckel W.R., Stenehjem E.A. Interventions to optimize antimicrobial stewardship // Antimicrob. Steward Healthc. Epidemiol. 2021. V. 1. No. 1. P. e46. doi: 10.1017/ash.2021.210

16. Prestinaci F., Pezzotti P., Pantosti A. Antimicrobial resistance: a global multifaceted phenomenon // Pathog. Glob. Health. 2015. V. 109. No. 7. P. 309–318. doi: 10.1179/2047773215Y.0000000030