

ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН



2015 * № 2

Электронный журнал
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© Н.Е. Щепитова, М.В. Сычёва, 2015

УДК 619:579.861

Н.Е. Щепитова¹, М.В. Сычёва^{1,2}

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ФЕКАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ ЭНТЕРОКОККОВ

¹ Оренбургский государственный аграрный университет, Оренбург, Россия

² Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза УрО РАН, Оренбург, Россия

Цель. Изучение антибиотикорезистентности фекальных изолятов энтерококков, выделенных от животных, на уровне фено- и генотипа.

Материалы и методы. Штаммы *Enterococcus* sp. были выделены из фекалий клинически здоровых животных. Определение чувствительности энтерококков к антибиотикам проводилось диско-диффузионным методом. Генетические детерминанты антибиотикорезистентности выявляли при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Результаты. В популяции фекальных изолятов энтерококков на фенотипическом уровне распространена резистентность к фторхинолонам и линезолиду; наибольшую чувствительность штаммы сохраняли к ванкомицину, ампициллину и аминогликозидам. Для изученных бактерий рода *Enterococcus* характерно наличие генетических детерминант резистентности к аминогликозидам и гликопептидам при отсутствии их экспрессии.

Заключение. Охарактеризован спектр антибиотикорезистентности фекальных изолятов *Enterococcus* sp., выделенных от животных.

Ключевые слова: *Enterococcus* sp., видовой состав, антибиотикорезистентность, животные, полимеразная цепная реакция.

N.E. Shchepitova¹, M.V. Sycheva^{1,2}

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF FAECAL ENTEROCOCCI ISOLATES

¹ Orenburg State Agrarian University, Orenburg, Russia

² Institute of cellular and intracellular symbiosis UrB RAS, Orenburg, Russia

Aim. The study of antibiotic resistance of faecal enterococci isolates from animals, at the level of pheno- and genotype.

Materials and methods. Strains of *Enterococcus* sp. were isolated from the feces of clinically healthy animals. Determination of enterococci sensitivity to antibiotics was performed using a disk diffusion assay. Genetic determinants of antibiotic were detected by using a polymerase chain reaction (PCR).

Results. In populations of fecal isolates of enterococci at the phenotypic level is widespread resistance to fluoroquinolones and linezolid; most sensitive strains were maintained to vancomycin, ampicillin and aminoglycosides. For the studied bacteria of the genus *Enterococcus* is characterized by the presence of genetic determinants of resistance to aminoglycosides and glycopeptides in the absence of their expression.

Conclusion. Characterized by a spectrum of antibiotic resistance of faecal isolates of *Enterococcus* sp., extracted from animals.

Key words: *Enterococcus* sp., species composition, antibiotic resistance, animals, polymerase chain reaction.

Введение

Известно, что интенсивное использование антибиотиков в медицине и ветеринарии способствует возникновению и широкому распространению механизмов антибиотикорезистентности у бактерий [1, 2], причём антимикробные препараты оказывают селективное давление не только на патогенные микроорганизмы, но и на симбиотические бактерии желудочно-кишечного тракта человека и животных, в том числе энтерококки. Доказано, что резистентные к антимикробным препаратам энтерококки могут передаваться человеку от домашних животных в результате тесного контакта [3], а также при употреблении в пищу контаминированных продуктов животного происхождения [4]. Энтерококки, в свою очередь, могут передавать гены устойчивости другим бактериям [5].

Данные о распространённости антибиотикорезистентности среди штаммов *Enterococcus* sp., выделенных от животных на территории Российской Федерации, немногочисленны [6]. Между тем исследования, направленные на изучение устойчивости к антимикробным препаратам фекальных энтерококков, необходимы для оценки их значения как резервуара генов резистентности.

В связи с вышеизложенным целью данной работы явилось изучение антибиотикорезистентности фекальных изолятов энтерококков, выделенных от животных, на уровне фено- и генотипа.

Материалы и методы

В работе были изучены 162 культуры бактерий рода *Enterococcus*, выделенные из фекалий клинически здоровых сельскохозяйственных животных. Микроорганизмы выделяли с использованием классических бактериологических методик. Посев исследуемого материала осуществляли на жёлчно-эскулиновый агар с азидом натрия (HiMedia, Индия). Штаммы энтерококков идентифицировали до вида при помощи мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) по наличию видоспецифических генов, кодирующих синтез супероксиддисмутазы [7].

Чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам (АБП) определяли диско-диффузионным методом [8]. Интерпретацию осуществляли на основании сопоставления результатов исследования (диаметра зоны ингибирования роста) с пограничными значениями этих параметров,

отделяющих чувствительные штаммы от промежуточных и промежуточные от устойчивых.

При помощи ПЦР-анализа у фекальных изолятов энтерококков определяли гены, кодирующие резистентность к аминогликозидам [9], тетрациклинам [10] и гликопептидам [11]: высокий уровень резистентности к гентамицину – *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, резистентность к аминогликозидам (кроме гентамицина) – *aph(3')-IIIa*, *ant(4')-Ia*; резистентность к тетрациклину – *tetL*, резистентность к тетрациклину и миноциклину – *tetM*; резистентность к ванкомицину и тейкопланину – *vanA*, резистентность к различным концентрациям ванкомицина – *vanB*, резистентность к низким концентрациям ванкомицина – *vanC-1*, *vanC-2/3*.

Полученные при исследовании данные обработаны статистически [12].

Результаты и обсуждение

В результате идентификации, проведенной с помощью мультиплексной ПЦР, 45 штаммов были отнесены к виду *E. faecium*, 39 штаммов - к виду *E. hirae*, 36 изолятов - к виду *E. durans*, 21 культура - к виду *E. faecalis*, 15 штаммов - к виду *E. flavescens* и 6 изолятов - к виду *E. casseliflavus*.

По данным определения чувствительности энтерококков к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом установлено, что среди культур *Enterococcus faecium* выраженной резистентностью к энрофлоксацину характеризовались 80,0±6,0% штаммов, к ципрофлоксацину – 60,0±7,3% изолятов, к норфлоксацину – 40,0±7,3% культур. В одинаковом проценте случаев штаммы сохраняли чувствительность к ципрофлоксацину и норфлоксацину (13,3±5,1%). Более половины выделенных культур *E. faecium* обладали умеренной резистентностью к линезолиду (53,3±7,4%) и цефтриаксону (66,7±7,0%). У 20,0±6,0% изолятов *E. faecium* обнаружена резистентность к линезолиду, у 26,7±6,6% – к цефтриаксону. К ампициллину, ванкомицину и тетрациклину культуры *E. faecium* были чувствительны в 73,3±6,6, 80,0±6,0 и 86,4±5,1% случаев, соответственно. Резистентность к ампициллину определена у 26,7±6,6% изолятов. Ванкомицинрезистентные штаммы *E. faecium* не были выявлены. Уровень чувствительности фекальных штаммов *E. faecium* к аминогликозидам варьировал в пределах от 93,4±3,7% (к стрептомицину) до 100,0% (к гентамицину) (рис. 1).

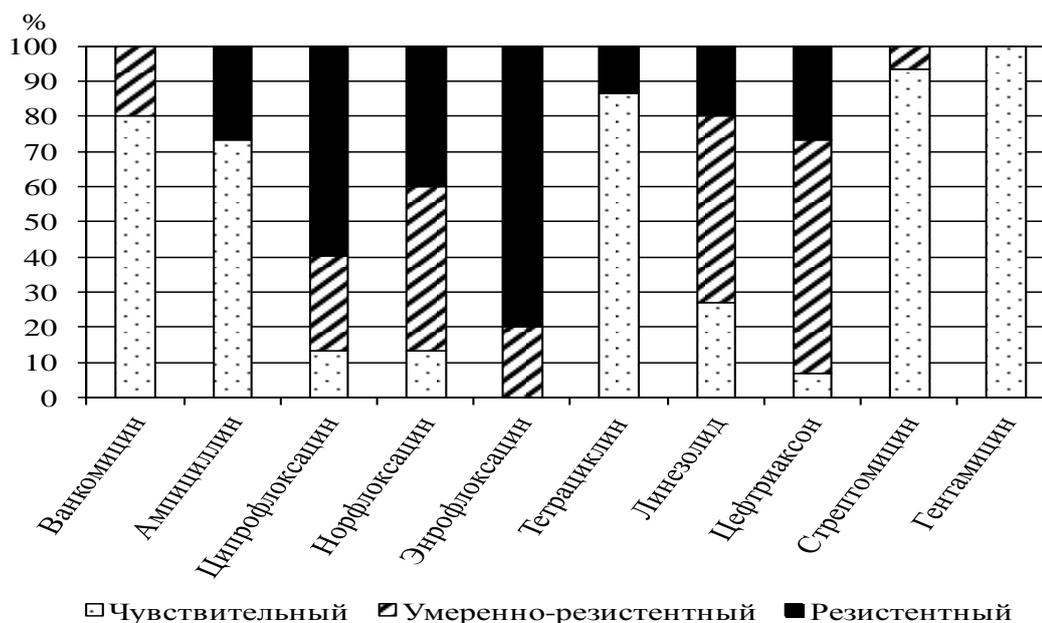


Рис. 1. Чувствительность фекальных изолятов *E. faecium* к антибактериальным препаратам.

Аминогликозиды обладали антимикробной активностью в отношении всех изученных культур *E. hirae* (рис. 2). Наибольший процент резистентных штаммов *Enterococcus hirae* выявлен к линезолиду ($92,3 \pm 4,3\%$).

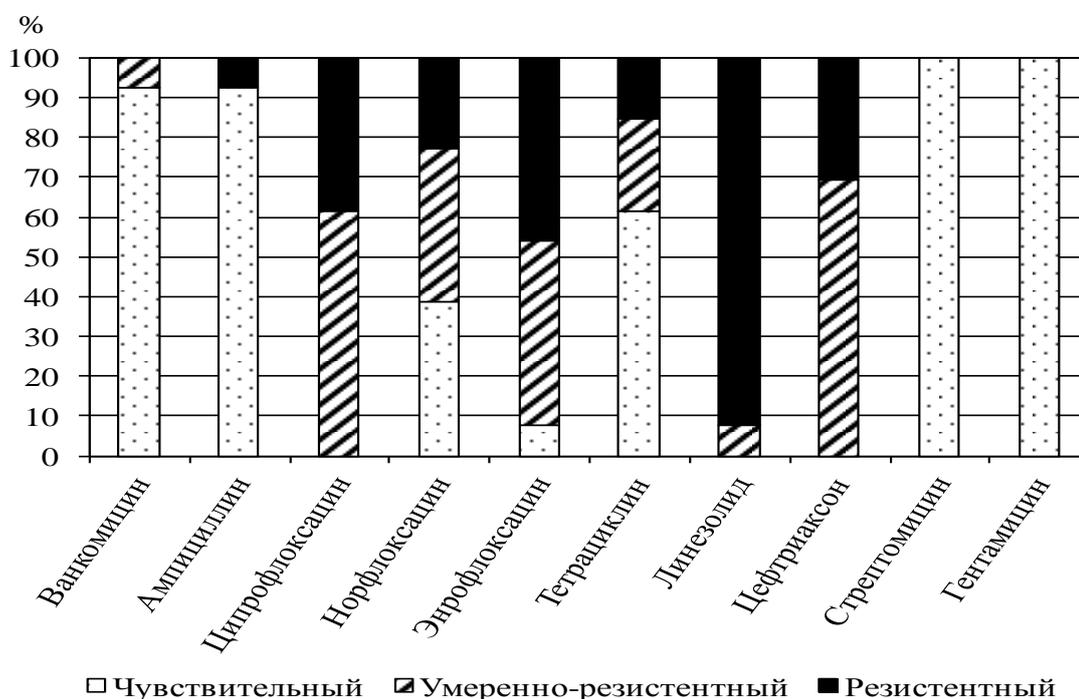


Рис. 2. Чувствительность фекальных изолятов *E. hirae* к антибактериальным препаратам.

Распространённость резистентности к норфлоксацину, ципрофлоксацину и энрофлоксацину среди культур *E. hirae* составила $23,0 \pm 6,7$, $38,5 \pm 7,8$ и

46,2±8,0%, соответственно. В отношении норфлоксацина изоляты *E. hirae* сохраняли чувствительность в 38,5±7,8% случаев, в отношении энрофлоксацина – в 7,6±4,3% случаев. Штаммы *E. hirae*, резистентные к цефтриаксону, обнаружены в 30,8±7,4% случаев, 69,2±7,4% штаммов проявляли умеренную резистентность к данному АБП. К тетрациклину были чувствительны 61,5±7,8% культур *E. hirae*, резистентны – 15,5±5,8%. Одинаковый процент чувствительных изолятов *E. hirae* отмечен к ванкомицину и ампициллину – 92,3±4,3%. В 7,7±4,3% случаев штаммы проявляли умеренную резистентность к ванкомицину и резистентность к ампициллину.

Спектр чувствительности к антибактериальным препаратам культур *Enterococcus durans* характеризовался следующими особенностями: все штаммы обладали чувствительностью к ванкомицину и ампициллину, в 83,3±6,2% случаев – к аминогликозидам (стрептомицин, гентамицин) (рис. 3).

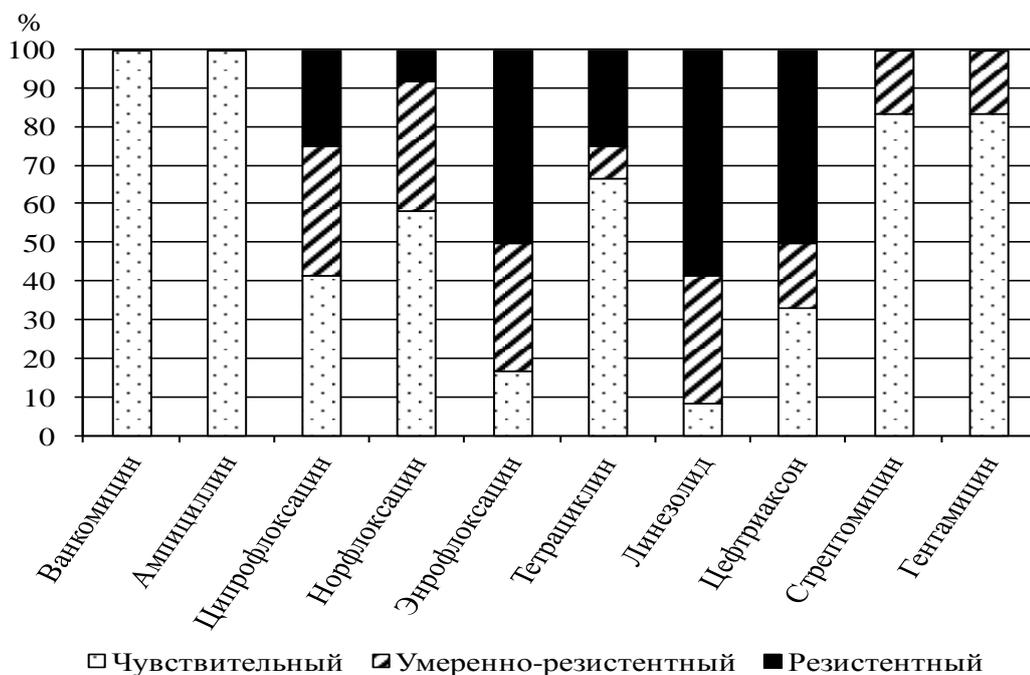


Рис. 3. Чувствительность фекальных изолятов *E. durans* к антибактериальным препаратам.

Умеренной резистентностью к аминогликозидам изоляты *E. durans* характеризовались в 16,7±6,2% случаев. У 50,0±8,3% культур *E. durans* зарегистрирована резистентность к энрофлоксацину и цефтриаксону, у 25,0±7,2% штаммов – к ципрофлоксацину и тетрациклину. Умеренную резистентность к фторхинолонам и линезолиду проявляли 33,3±7,9% культур. Процент линезолидрезистентных изолятов *E. durans* составил 58,4±8,2%. В 8,3±4,6% случаев отмечена резистентность штаммов *E. durans* к норфлоксацину. Чувстви-

тельность культур *E. durans* в отношении тетрациклина выявлена в $66,7 \pm 7,9\%$ случаев, а в отношении цефтриаксона – в $33,3 \pm 7,9\%$.

Среди штаммов *Enterococcus faecalis* все исследуемые культуры были чувствительны к ампициллину, тетрациклину, стрептомицину и гентамицину (рис. 4).

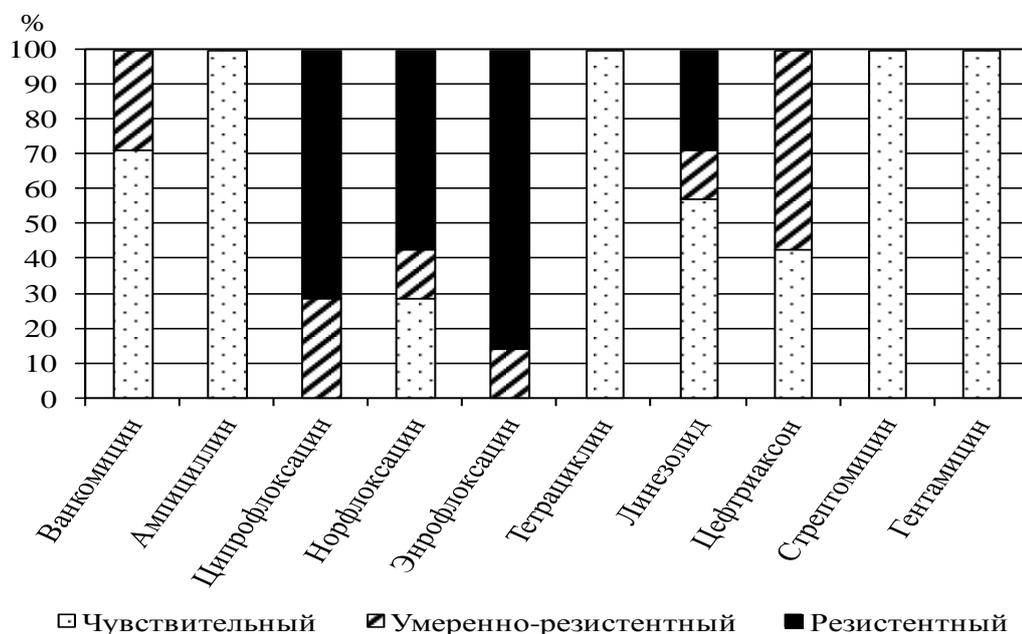


Рис. 4. Чувствительность фекальных изолятов *E. faecalis* к антибактериальным препаратам.

Доля ванкомицинчувствительных изолятов *E. faecalis* составила $71,4 \pm 9,9\%$, тогда как ванкомицинрезистентные штаммы не были обнаружены. Высокий процент резистентных штаммов *E. faecalis* отмечен к фторхинолонам: к норфлоксацину нечувствительны оказались $57,1 \pm 10,8\%$ изолятов, к ципрофлоксацину – $71,4 \pm 9,9\%$ культур, к энрофлоксацину – $85,7 \pm 7,6\%$ штаммов. Среди фторхинолонов антимикробную активность в отношении $28,6 \pm 9,9\%$ культур *E. faecalis* проявлял норфлоксацин. Чувствительность фекальных энтерококков к линезолиду и цефтриаксону отмечена в $57,1 \pm 10,8$ и $42,9 \pm 10,8\%$ случаев, умеренная резистентность – в $14,3 \pm 7,6$ и $57,1 \pm 10,8\%$ случаев, соответственно.

В результате исследования антибиотикорезистентности штаммов *Enterococcus flavescens* выявлена одинаковая доля ($80,0 \pm 10,3\%$) культур, резистентных к ципрофлоксацину, энрофлоксацину и линезолиду. Количество норфлоксацинрезистентных штаммов *E. flavescens* составило $60,0 \pm 12,6\%$. Большая часть ($80,0 \pm 10,3\%$) изолятов не проявляла резистентность к ампи-

циллину и тетрациклину. Промежуточная резистентность культур *E. flavescens* к фторхинолонам, тетрациклину и линезолиду определена в $20,0 \pm 10,3\%$ случаев. Устойчивость штаммов *E. flavescens* к ванкомицину и аминогликозидам не обнаружена, тогда как в отношении цефтриаксона все исследуемые культуры *E. flavescens* оказались умеренно-резистентны (рис. 5).

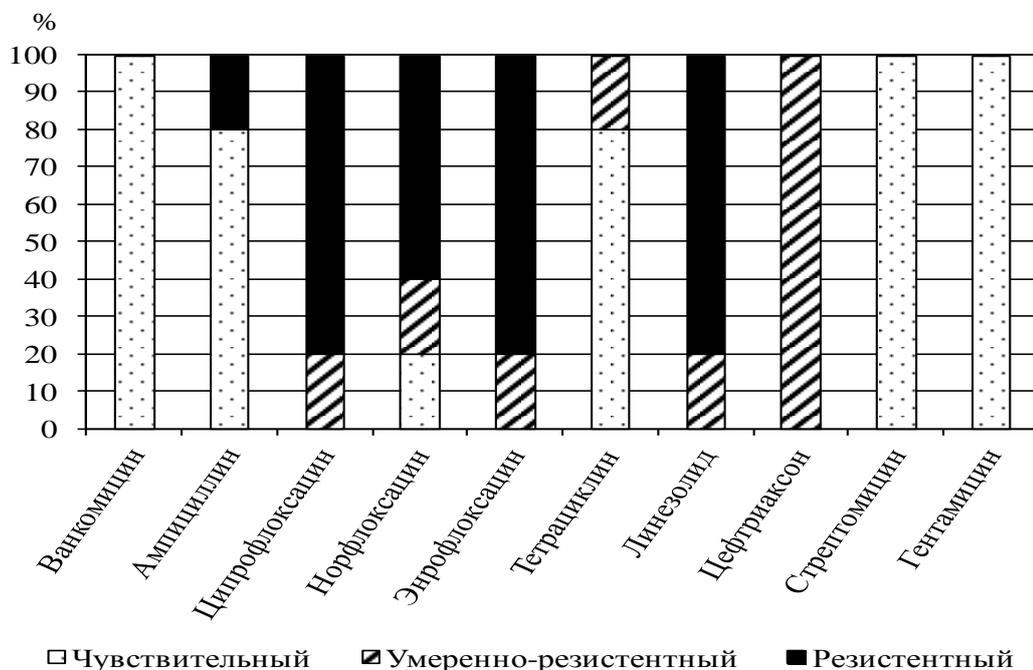


Рис. 5. Чувствительность фекальных изолятов *E. flavescens* к антибактериальным препаратам.

Распространённость резистентности к ванкомицину, ампициллину, фторхинолонам и линезолиду среди изолятов *Enterococcus casseliflavus* составила $50,0 \pm 20,4\%$ (рис. 6).

Половина исследуемых штаммов *E. casseliflavus* обладала промежуточным уровнем резистентности к ванкомицину, ципрофлоксацину, энрофлоксацину и линезолиду. Все культуры *E. casseliflavus* сохраняли чувствительность к тетрациклину и аминогликозидам и проявляли умеренную резистентность в отношении цефтриаксона.

В ходе исследований установлено, что полирезистентностью к антибактериальным препаратам – АБП (к трём и более классам АБП) обладали $20,0 \pm 6,0\%$ культур *E. faecium*, $30,7 \pm 7,4\%$ штаммов *E. hirae*, $33,3 \pm 7,9\%$ изолятов *E. durans*. Среди культур *E. flavescens* и *E. casseliflavus* процент полирезистентных штаммов составил $20,0 \pm 10,3$ и $50,0 \pm 20,4\%$, соответственно. Полирезистентных культур *E. faecalis* выявлено не было.

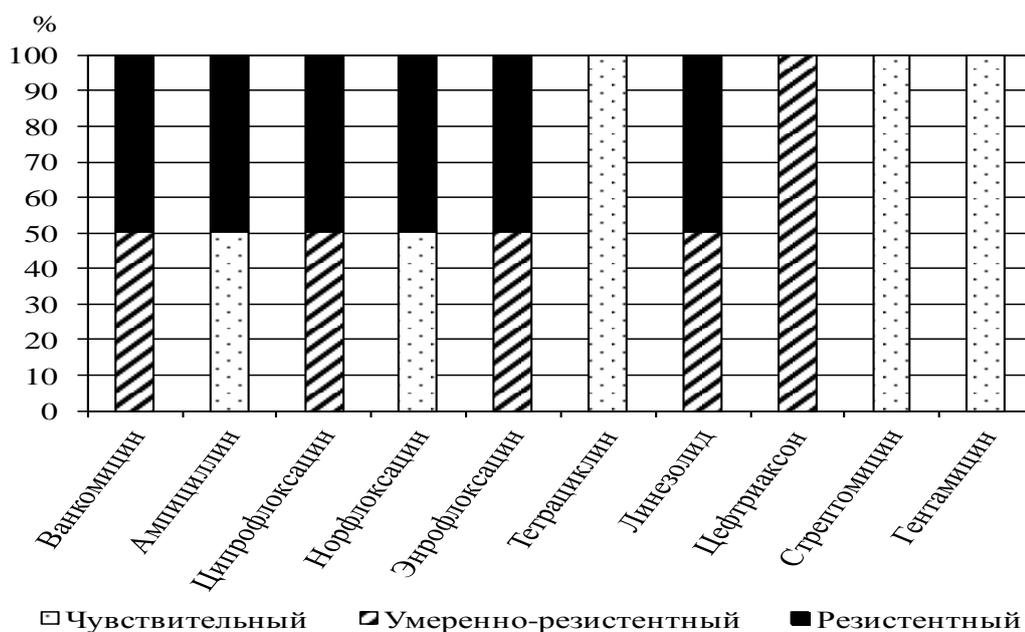


Рис. 6. Чувствительность фекальных изолятов *E. casseliflavus* к антибактериальным препаратам.

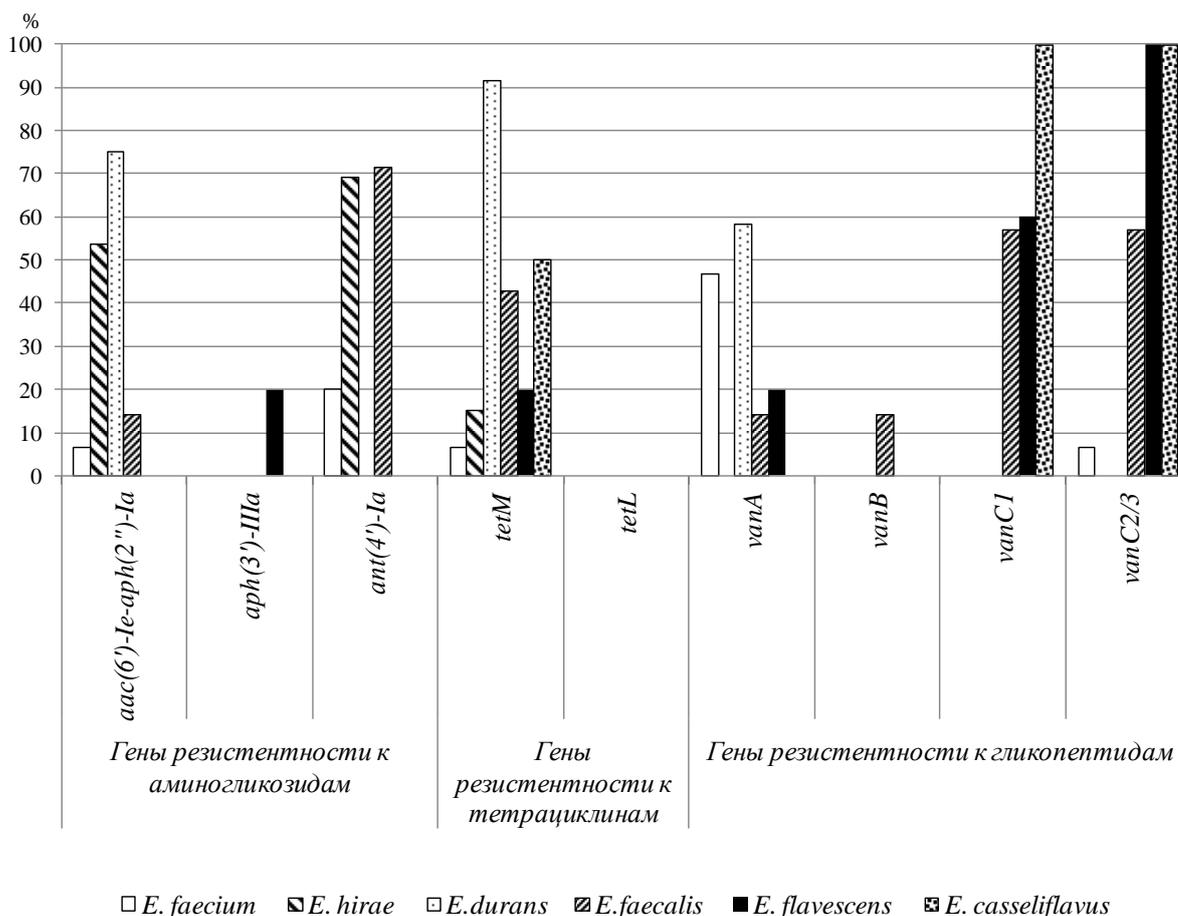
Таким образом, резистентность к ампициллину в 3,5 раза чаще распространена среди штаммов *E. faecium*, чем *E. hirae* ($p < 0,05$). Количество цефтриаксонрезистентных культур *E. durans* в три раза превышало число таковых среди штаммов *E. faecium* ($p < 0,05$). Все фторхинолоны были менее активны в отношении изолятов *E. faecium* по сравнению с культурами *E. hirae* и *E. durans* ($p < 0,01$). Резистентность к линезолиду в большей степени распространена среди культур *E. hirae*, *E. durans* и *E. flavescens*, чем среди штаммов *E. faecium* и *E. faecalis* ($p < 0,001$).

В популяции фекальных изолятов энтерококков, выделенных от животных, обнаружен низкий процент ванкомицинрезистентных штаммов ($1,9 \pm 1,1\%$). На фенотипическом уровне выявлена широкая распространённость резистентности культур энтерококков к фторхинолонам (к ципрофлоксацину – $50,0 \pm 3,9\%$, норфлоксацину – $33,3 \pm 3,7\%$, энрофлоксацину – $64,9 \pm 3,75\%$) и линезолиду ($53,8 \pm 3,9\%$). Максимальную чувствительность изоляты *Enterococcus* sp. проявляли в отношении ампициллина – $87,0 \pm 2,6\%$, стрептомицина – $94,5 \pm 1,8\%$ и гентамицина – $96,3 \pm 1,5\%$.

Поскольку на фенотипическом уровне не всегда проявляется информация, закодированная в геноме, на следующем этапе работы была изучена распространённость генов, кодирующих антибиотикорезистентность, среди фекальных культур энтерококков.

При исследовании фекальных изолятов энтерококков на наличие генов

резистентности к аминогликозидам ген *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia*, кодирующий высокий уровень резистентности к гентамицину, был выявлен у культур *E. faecium*, *E. hirae*, *E. durans* и *E. faecalis* (рис. 7).



Примечание: гены кодируют резистентность к: *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* – высоким уровням гентамицина, *aph(3')-IIIa* и *ant(4')-Ia* – аминогликозидам (кроме гентамицина), *tetM* – тетрациклину и миноциклину, *tetL* – тетрациклину, *vanA* – ванкомицину и тейкопланину, *vanB* – различным концентрациям ванкомицина, *vanC-1* и *vanC2/3* – низким концентрациям ванкомицина.

Рис. 7. Генетическая характеристика антибиотикорезистентности фекальных изолятов *Enterococcus* sp.

У штаммов *E. durans* ген *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* регистрировали достоверно чаще ($75,0 \pm 7,2\%$), по сравнению с изолятами *E. hirae* ($53,8 \pm 8,0\%$) ($p < 0,05$), *E. faecalis* ($14,3 \pm 7,6\%$) и *E. faecium* ($6,6 \pm 3,7\%$) ($p < 0,001$).

Геном *aph(3')-IIIa*, обуславливающим резистентность к аминогликозидам (кроме гентамицина), обладали только $20,0 \pm 10,3\%$ штаммов *E. flavescens*.

Генетическая детерминанта резистентности к аминогликозидам (кроме гентамицина) *ant(4')-Ia* оказалась менее распространена среди штаммов *E. faecium*, чем среди культур *E. hirae* и *E. faecalis* ($p < 0,001$). Частота обнаружения гена *ant(4')-Ia* составила для изолятов *E. faecium* $20,0 \pm 6,0\%$, для *E. hi-*

rae – 69,2±7,4%, для *E. faecalis* – 71,4±9,9%.

Ген *tetM* (резистентность к тетрациклину и миноциклину) зарегистрирован у фекальных изолятов энтерококков всех видов. Данной генетической детерминантой штаммы *E. faecalis*, *E. flavescens* и *E. casseliflavus* обладали в большем проценте случаев – 42,8±10,8, 20,0±10,3 и 50,0±20,4%, соответственно, по сравнению с культурами видов *E. faecium* (6,6±3,7%) ($p<0,001$) и *E. hirae* (15,3±5,8%) ($p<0,05$). Штаммы энтерококков, содержащие в геноме ген *tetL*, не были обнаружены.

Анализ генотипического профиля резистентности *Enterococcus* sp. к гликопептидам выявил наличие гена *vanA*, кодирующего резистентность к ванкомицину и тейкопланину, среди 58,3±8,2% культур *E. durans* и 46,7±7,43% штаммов *E. faecium*. Менее распространённым данный ген оказался среди изолятов *E. faecalis* (14,3±7,6%), чем среди культур *E. durans* и *E. faecium* ($p<0,01$). В то же время, только у штаммов *E. faecalis* был зарегистрирован ген *vanB* в 14,3±7,6% случаев.

Среди фекальных изолятов *E. faecalis*, *E. flavescens* и *E. casseliflavus* ген *vanC1*, кодирующий резистентность к низким концентрациям ванкомицина, обнаружен в 57,1±10,8, 60,0±12,6 и 100% случаев, соответственно. Генетическая детерминанта *vanC2/3* выявлена у 100% штаммов *E. flavescens* и *E. casseliflavus*. Достоверно чаще данным геном обладали культуры *E. faecalis* (57,1±10,8%), чем изоляты *E. faecium* (6,6±3,7%) ($p<0,001$).

В результате проведённого исследования установлено, что в геноме энтерококков фекальной микрофлоры животных наиболее распространёнными генетическими детерминантами антибиотикорезистентности являются: *tetM* (35,1±3,7%), *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* (33,4±3,7%), *ant(4')-Ia* (31,5±3,6%) и *vanA* (29,6±3,6%). Наибольшее количество различных генов антибиотикорезистентности зарегистрировано в геноме культур *E. faecalis*.

Корреляционный анализ фено- и генотипических характеристик резистентности бактерий рода *Enterococcus* к аминогликозидам и гликопептидам показал наличие обратной взаимосвязи ($r=-0,625$; $p<0,001$) между присутствием в геноме генетических детерминант резистентности и фенотипическим проявлением признака. У исследуемых культур энтерококков выявлена достоверная положительная связь между наличием генов резистентности к тетрациклинам и их экспрессией ($r=0,685$; $p<0,001$).

Заключение

Результаты определения антибиотикочувствительности культур *Enterococcus* sp., выделенных из фекалий клинически здоровых животных, показали, что подавляющее большинство штаммов (от 85,1±2,8 до 96,3±1,5%) сохраняли чувствительность в отношении ванкомицина, ампициллина и аминогликозидов (стрептомицин, гентамицин). Обнаружена значительная доля культур энтерококков, резистентных к фторхинолонам (ципрофлоксацину – 50,0±3,9%, норфлоксацину – 33,3±3,7%, энрофлоксацину – 64,9±3,8%) и линезолиду (53,8±3,9%).

Нами установлены видовые особенности антибиотикорезистентности энтерококков фекальной микрофлоры животных: устойчивость к фторхинолонам в большей степени характерна для культур *E. faecium* и *E. faecalis*, резистентность в отношении линезолида распространена среди изолятов *E. hirae*, *E. durans* и *E. flavescens*. Результаты наших исследований по данному вопросу находят своё подтверждение в работе N. Klibi et al. [13], которые выявили чувствительность штаммов энтерококков, выделенных из фекалий продуктивных животных, к ванкомицину и тейкопланину, ампициллину, стрептомицину и гентамицину. Распространённость резистентности к ципрофлоксацину среди культур энтерококков разных видов составила 22-25%.

Анализ генотипического профиля резистентности *Enterococcus* sp. позволил определить наиболее распространённые генетические детерминанты антибиотикорезистентности: *tetM* (35,1±3,74%), *aac(6')-Ie-aph(2'')-Ia* (33,4±3,70%), *ant(4')-Ia* (31,5±3,64%) и *vanA* (29,6±3,58%). Культуры *E. faecalis* характеризовались максимальным разнообразием генов резистентности. Полученные сведения согласуются с результатами исследований А.М. Наммерум et al. [5] и R. Del Campo et al. [15], установивших наличие генов *tetM* и *tetL* в геноме тетрациклинрезистентных штаммов энтерококков.

Не исключено, что выявленный нами спектр антибиотикорезистентности фекальных культур *Enterococcus* sp. обусловлен природной устойчивостью энтерококков к ряду АБП (цефалоспорины, β-лактамы, фторхинолоны), связанной с наличием генетических детерминант антибиотикорезистентности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Nilsson O. Vancomycin resistant enterococci in farm animals – occurrence and importance. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2012. 2: 1-8.
2. Lebreton F., Van Schaik W., McGuire A.M. et al. Emergence of epidemic multidrug-resistant *Enterococcus faecium* from animal and commensal strains. *MBio.* 2013. 4: 1-10.
3. Simjee S., White D.G., McDermott P.F. et al. Characterization of Tn1546 in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from canine urinary tract infections: evidence of gene exchange between human and animal enterococci. *J. Clin. Microbiol.* 2002. 40: 4659-4665.
4. Hammad A.M., Shimamoto T. Genetic characterization of antibiotic resistance and virulence factors in *Enterococcus* spp. from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *Food Microbiol.* 2014. 38: 62-66.
5. Hammerum A.M. Enterococci of animal origin and their significance for public health. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012. 18: 619-625.
6. Пошвина Д.В., Сычёва М.В. Антибиотикорезистентность клинических изолятов бактерий рода *Enterococcus*, выделенных от животных. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН [электрон. журнал]. 2014. 3. (URL: <http://www.elmag.uran.ru>).
7. Jackson C.R., Fedorka-Cray P.J., Barrett J.B. Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci. *Journal of Clinical Microbiology.* 2004. 42(8): 3558-3565.
8. Методические указания МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». М.: Минздрав России, 2005. 62 с.
9. Vakulenko S., Donabedian S.M., Voskresenskiy A.M. et al. Multiplex PCR for detection of aminoglycoside resistance genes in enterococci. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 2003. 47(4): 1423-1426.
10. De Leener E., Martel A., Decostere A. et al. Distribution of the erm(B) gene, tetracycline resistance genes, and Tn1545-like transposons in macrolide- and lincosamide-resistant enterococci from pigs and humans. *Microb. Drug Resist.* 2004. 10: 341-345.
11. Dutka-Malen S., Evers S., Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1995. 33(1): 24–27.
12. Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Гос. изд-во мед. лит., 1962. 180 с.
13. Klibi N., Aouini R., Borgo F. et al. Antibiotic resistance and virulence of faecal enterococci isolated from food-producing animals in Tunisia. *Ann. Microbiol [electronic journal]*. 2014.
14. Hammerum A.M., Fussing V., Aarestrup F.M. et al. Characterization of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible *Enterococcus faecium* isolates from humans, chickens and pigs by RiboPrinting and pulsed-field gel electrophoresis. *J. Antimicrob. Chemother.* 2000. 45: 677-680.
15. Del Campo R., Ruiz-Garbajosa P., Sanchez-Moreno M.P. et al. Antimicrobial resistance in recent fecal enterococci from healthy volunteers and food handlers in Spain: genes and phenotypes. *Microb. Drug. Resist.* 2003. 9: 47-60.

Поступила 26.06.2015

(Контактная информация: **Сычева Мария Викторовна** – кандидат биологических наук, доцент, заведующая кафедрой микробиологии и заразных болезней Оренбургского государственного аграрного университета; Адрес: 460014 г. Оренбург, ул. Челюскинцев, 18, тел.: 8 (3532) 689713; E-mail: sycheva_maria@mail.ru)

1. Nilsson O. Vancomycin resistant enterococci in farm animals – occurrence and importance. *Infect. Ecol. Epidemiol.* 2012. 2: 1-8.
2. Lebreton F., Van Schaik W., McGuire A.M. et al. Emergence of epidemic multidrug-resistant *Enterococcus faecium* from animal and commensal strains. *MBio.* 2013. 4: 1-10.
3. Simjee S., White D.G., McDermott P.F. et al. Characterization of Tn1546 in vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* isolated from canine urinary tract infections: evidence of gene exchange between human and animal enterococci. *J. Clin. Microbiol.* 2002. 40: 4659-4665.
4. Hammad A.M., Shimamoto T. Genetic characterization of antibiotic resistance and virulence factors in *Enterococcus* spp. from Japanese retail ready-to-eat raw fish. *Food Microbiol.* 2014. 38: 62-66.
5. Hammerum A.M. Enterococci of animal origin and their significance for public health. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012. 18: 619-625.
6. Poshvina D.V., Sychjova M.V. Antibiotikorezistentnost' klinicheskikh izolatov bak-terij roda *Enterococcus*, vydelennyh ot zhivotnyh. *Bulleten' Orenburgskogo nauch-nogo centra UrO RAN [jelektron. zhurnal].* 2014. 3. (URL: <http://www.elmag.uran.ru>).
7. Jackson C.R., Fedorka-Cray P.J., Barrett J.B. Use of a genus- and species-specific multiplex PCR for identification of enterococci. *Journal of Clinical Microbiology.* 2004. 42(8): 3558-3565.
8. Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.1890-04 «Opređenje chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam». M.: Minzdrav Rossii, 2005. 62 s.
9. Vakulenko S., Donabedian S.M., Voskresenskiy A.M. et al. Multiplex PCR for detection of aminoglycoside resistance genes in enterococci. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 2003. 47(4): 1423-1426.
10. De Leener E., Martel A., Decostere A. et al. Distribution of the erm(B) gene, tetracycline resistance genes, and Tn1545-like transposons in macrolide- and lincosamide-resistant enterococci from pigs and humans. *Microb. Drug Resist.* 2004. 10: 341-345.
11. Dutka-Malen S., Evers S., Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J. Clin. Microbiol.* 1995. 33(1): 24–27.
12. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. *Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issle-dovaniyah.* L.: Gos. izd-vo med. lit., 1962. 180 s.
13. Klibi N., Aouini R., Borgo F. et al. Antibiotic resistance and virulence of faecal enterococci isolated from food-producing animals in Tunisia. *Ann. Microbiol [electronic journal].* 2014.
14. Hammerum A.M., Fussing V., Aarestrup F.M. et al. Characterization of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible *Enterococcus faecium* isolates from humans, chickens and pigs by RiboPrinting and pulsed-field gel electrophoresis. *J. Antimicrob. Chemother.* 2000. 45: 677-680.
15. Del Campo R., Ruiz-Garbajosa P., Sanchez-Moreno M.P. et al. Antimicrobial resistance in recent fecal enterococci from healthy volunteers and food handlers in Spain: genes and phenotypes. *Microb. Drug. Resist.* 2003. 9: 47-60.