

проблемы и перспективы : сб. науч. тр. / Гродн. гос. аграр. ун-т ; В. В. Пешко (отв. ред.) [и др.]. – Гродно, 2024. – Т. 65. – С. 87-94.

3. Distinct sets of genetic alterations in melanoma / J. A. Curtin [et al.] // N. Engle J. Med. – 2005. – Vol. 353. – P. 2135-2147.

4. Hadrup, S. R. Effector CD4 and CD8 T-cells and their role in the tumor microenvironment / S. R. Hadrup, D. Marco, P. Straten // Cancer Microenviron. – 2013. – Vol. 6, N 2. – P. 123-133. doi:10.1007/s12307-012-0127-6.

5. Lee, S. Tumor-infiltrating lymphocytes in melanoma / S. Lee, K. Margolin // Curr. Oncol. Rep. – 2012. – Vol. 14, N 5. – P. 468-474. doi:10.1007/s11912-012-0257-5.

6. Regulators of G-protein signaling and their G α substrates: promises and challenges in their use as drug discovery targets / A. J. Kimple [et al.] // Pharmacol. Rev. – 2011. – Vol. 63. – P. 728-749

УДК 579.62:579.861.2

ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ СТАФИЛОКОККОВ И ИХ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К МЕТИЦИЛЛИНУ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ КОРОВ С КЛИНИЧЕСКИМ МАСТИТОМ

Смирнова К.И., Макавчик С.А.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет
ветеринарной медицины», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

*Staphylococcus spp. являются важным патогенным фактором развития маститов у молочного скота. Для быстрого и эффективного лечения необходима точная лабораторная диагностика стафилококка, вызывающего заболевание. В данном исследовании для этих целей применялась ПЦР в режиме реального времени. **Ключевые слова:** стафилококки, мастит, ПЦР, метициллин-резистентные стафилококки.*

POLYMERASE CHAIN REACTION FOR THE DETECTION OF STAPHYLOCOCCI AND THEIR RESISTANCE TO METHICILLIN ISOLATED FROM COWS WITH CLINICAL MASTITIS

Smirnova K.I., Makavchik S.A.

Saint Petersburg State University of Veterinary Medicine, Saint Petersburg,
Russian Federation

*Staphylococcus spp. are an important pathogenic factor in the development of mastitis in dairy cattle. Accurate laboratory diagnosis of the staphylococcus causing the disease is necessary for quick and effective treatment. In this study, real-time PCR was used for this purpose. **Keywords:** Staphylococci, mastitis, PCR, Methicillin Resistant Staphylococci.*

Введение. Маститы коров приводят к большим экономическим потерям, связанных с уменьшением удоев и снижением качества молока, а также с затратами на диагностику и лечение животных [3, 4].

Большую роль в возникновении маститов у дойных коров играют представители рода *Staphylococcus*. В научной литературе огромное внимание уделяется *Staphylococcus aureus*, как возбудителю субклинических и клинических инфекционных маститов [2].

Последние исследования показывают увеличение роли коагулазоотрицательные стафилококки (*Coagulase Negative Staphylococcus (CNS)*), в развитии воспаления молочных желез. Несмотря на то, что коагулазоотрицательные стафилококки традиционно считаются патогенами с низкой клинической значимостью, в ряде стран отмечается их высокая распространённость в качестве возбудителей мастита [1, 4].

Бесконтрольное использование антибиотиков в медицине и ветеринарии привело к появлению штаммов *Staphylococcus spp.*, устойчивых к бета-лактамам антибиотикам. Эта группа получила название *Methicillin-resistant Staphylococci (MRSp)*. Из-за их резистентности к большому количеству антибиотиков, животные с инфекциями, вызванными *MRSp*, гораздо сложнее поддаются лечению [3].

Таким образом, *Staphylococcus spp.* являются важным патогенным фактором развития маститов у молочного скота. Для быстрого и эффективного лечения необходима точная лабораторная диагностика стафилококка, вызывающего заболевание, вплоть до вида, а также определение чувствительности этого патогена к антибиотикам. Это позволит снизить экономические потери хозяйства и уменьшить рост резистентности микроорганизмов к антибиотикам за счёт их рационального использования.

Целью исследования является детекция стафилококков коагулазоотрицательных и коагулазоположительных, а также выявление генов резистентности к метициллину при помощи полимеразной цепной реакции в пробах молока от крупного рогатого скота с клиническими маститами.

Материалы и методы исследований. Для исследования использовали пробы молока (n=6), которые были отобраны в хозяйстве Ленинградской области от коров Голштинской породы с клинической формой мастита.

Для выделения ДНК из образцов молока использовали комплект реагентов для экстракции ДНК из клинического материала «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (ООО «НекстБио», Россия).

Для проведения амплификации использовали набор реагентов для выявления ДНК возбудителей мастита крупного рогатого скота в образцах молока методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени «Vet-МАСО-СКРИН-15» (ООО «АльфаЛаб», Россия).

Постановку ПЦР в режиме реального времени проводили на амплификаторе CFX Opus 96 DX с одновременной детекцией патогенов: *CNS*, *Staphylococcus aureus*, *MRSp*.

Результаты исследований. При интерпретации и анализе результатов ПЦР в режиме реального времени в образцах молока были обнаружены все три исследуемых патогена в различных комбинациях.

В пяти из шести проб (в 1, 2, 4, 5, и 6) были выявлены ДНК *CNS*. В третьей и четвёртой пробах молока была выявлена ДНК *Staphylococcus aureus*. Также выяснили, что стафилококки в первой, третьей и четвёртой пробе обладают генами резистентности к метициллину.

Заключение. Таким образом, полимеразная цепная реакция является быстрым и эффективным способом диагностики маститов, вызванных *Staphylococcus spp*. Проведёнными исследованиями установлено, что геном метициллин резистентности могут обладать не только штаммы *Staphylococcus aureus*, но и коагулазоотрицательные стафилококки (проба 1). На основе проведённого исследования невозможно определить в каком из штаммов был зарегистрирован сигнал гена метициллин резистентности в пробе 4, поэтому неизвестно присутствовал ли в ней MRSA, MRCoNS или их ассоциация. Однако, установлено, что в 50% случаев выделения из исследуемых проб были обнаружены ДНК *MRSp*. Этот факт свидетельствует о росте резистентности микроорганизмов, в частности стафилококков, к антибиотикам. Именно поэтому, необходимо придерживаться принципов рациональной антибиотикотерапии при лечении коров молочного направления с инфекционными маститами.

Литература.

1. Балбущая, А. А., Дмитренко О. А., Скворцов В. Н. Современные особенности видовой идентификации коагулазоположительных бактерий рода *Staphylococcus* / А. А. Балбущая, О. А. Дмитренко, В. Н. Скворцов // Клиническая лабораторная диагностика. - 2017. - №8. - URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-osobennosti-vidovoy-identifikatsii-koagulazopozhitelnyh-bakteriy-roda-staphylococcus>.
2. Смирнова, Л. И. Клиническая ветеринарная микробиология / Л. И. Смирнова, С. А. Макавчик. – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2022. – 228 с. – EDN TXVISL.
3. Anter Saad, A. Bacteriological studies on methicillin -resistance *Staphylococcus Aureus* (MRSA) isolated from cow's mastitis milk / A. Anter Saad // Benha Veterinary Medical Journal. – 2021. – Vol. 40, No. 2. – P. 154-158. – DOI 10.21608/bvmj.2021.68168.1374. – EDN OFKZRG.
4. Detection of *Staphylococcus* Isolates and Their Antimicrobial Resistance Profiles and Virulence Genes from Subclinical Mastitis Cattle Milk Using MALDI-TOF MS, PCR and Sequencing in Free State Province, South Africa / N. G. Khasapane, M. Koos, S. J. Nkhebenyane [et al.] // Animals. – 2024. – Vol. 14, No. 1. – P. 154. – DOI 10.3390/ani14010154. – EDN EIFLHL.