

УДК 619:615.379.9:579:577.21

doi: 10.26907/2542-064X.2020.1.112-122

## ВЛИЯНИЕ ЭРИТРОМИЦИНА НА МИКРОБНОЕ СООБЩЕСТВО КИШЕЧНИКА КРЫС

*Е.В. Скворцов, Рин.С. Мухаммадиев, Рин.С. Мухаммадиев,  
Л.Р. Валиуллин*

*Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности – Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт,  
г. Казань, 420075, Россия*

### Аннотация

В работе рассмотрено влияние эритромицина на состав микрофлоры кишечника лабораторных крыс и динамику изменения резистентности кишечной микрофлоры к нему. Микрофлора кишечника исследовалась методом полимеразно-цепной реакции в реальном времени. Проанализировано содержание основных бактерий кишечной микрофлоры в образцах кала крыс при пероральном приеме эритромицина и дана их количественная оценка. Изучено содержание в микрофлоре кишечника нескольких вариаций генов устойчивости к эритромицину *erm*. Полученные результаты показали значительное увеличение количества *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus* и количества генов устойчивости к эритромицину *erm* в кишечной микрофлоре.

**Ключевые слова:** микробное сообщество кишечника, эритромицин, генетический анализ, гены устойчивости к эритромицину

Широкое применение антибиотиков в мировой практике животноводства создает риск развития устойчивости к ним у сельскохозяйственных животных. По этой причине антибиотикотерапия в ветеринарии как необходимый способ контроля и лечения бактериальных инфекций должна проводиться с максимальной степенью ответственности. Руководящие принципы ответственного и разумного использования антибиотиков в животноводстве разработаны Всемирной организацией по охране здоровья животных [1] и утверждены Европейским союзом [2]. Их цель состоит в том, чтобы поддерживать эффективность антибиотиков, а также не допускать распространения устойчивых бактерий и их попадания в пищу человека. Немаловажно и то, что, плохо всасываясь в кишечнике, большая часть антибиотиков выводится из организма через фекалии и мочу, что приводит к загрязнению окружающей среды, в частности почвы [3–5]. Ветеринары, практикующие врачи и животноводы должны обладать достаточными знаниями о путях воздействия инфекционных заболеваний, влиянии ветеринарных антибиотиков, а также об их экологическом цикле.

Результаты многих исследований говорят о резистентной реакции бактериальных патогенов на антибиотики. Опубликованные в литературе данные свиде-

тельствуют о том, что при обработке стад животных сульфаниламидами, аминогликозидами или тетрациклинами наблюдается широкая резистентность бактерий. В то время как соответствующие резистентности к другим антибиотикам, таким как ампициллин, распространяются постепенно [6]. Имеются сообщения об устойчивости энтерококковых штаммов, полученных от животных, к макролидной группе линкозамид – стрептограмину [7]. *Staphylococcus aureus* становится резистентным к пенициллину очень скоро после введения. На устойчивость к тетрациклину сильно влияют многие интерферирующие факторы. [8].

Кроме размножения антибиотикорезистентных штаммов, интенсивное применение антибиотиков может приводить к дисбалансу кишечной микрофлоры, увеличению числа патогенных бактерий и кишечным расстройствам. Наиболее серьезное кишечное заболевание, вызванное антибиотиками – псевдомембранозный колит, типичная антибиотико-ассоциированная инфекция, возбудителем которой является *Clostridium difficile* [9–11].

Общее состояние желудочно-кишечного тракта определяется составом его микробной популяции. Незаменимые представители полезной кишечной микрофлоры – бифидобактерии и молочнокислые бактерии. Вырабатывая молочную и уксусную кислоту, они выступают в роли антагонистов по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам [13]. Между тем антибиотики, уменьшая количество чувствительных микроорганизмов, создают условия для развития устойчивых к ним патогенных микроорганизмов.

Цель настоящей работы – исследование влияния эритромицина на состав микрофлоры кишечника лабораторных крыс и динамику изменения резистентности кишечной микрофлоры к нему.

Для этого необходимы быстрые и точные методы количественного определения основных бактерий в кишечнике при применении данного антибиотика.

Резистентность микрофлоры к эритромицину обеспечивается следующими механизмами: 1) выведением эритромицина из клетки; 2) снижением сродства рибосом метилированием белка, связывающегося с эритромицином; 3) гидролизом эритромицина эстеразами [12]. Все эти механизмы работают со всеми антибиотиками группы макролидов, в которую входит эритромицин.

Механизм метилирования белка рибосом обеспечивается работой белков, кодируемых генами *erm*.

В кишечнике постоянно происходит деление и отмирание бактерий и их вынос с каловыми массами в живом и мертвом виде. Каждый род бактерии имеет свой, присущий только ему набор генов. Суммарное содержание генов живых и мертвых бактерий в кале пропорционально их содержанию в кишечнике.

Количественный генетический анализ кала на содержание и динамику специфических генов бактерий позволяет достоверно говорить о результатах применения и эффективности антибиотика. Такой анализ проводится с помощью метода полимеразно-цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ). Данный метод позволяет после амплификации установить количество определенного специфического для исследуемого рода и вида бактерий участка гена и, следовательно, определить количество основных бактерий в кишечнике.

Кроме того, количественный генетический анализ регистрирует количество гена белка метилирования рибосом *erm* в кале, что, в свою очередь, позволяет

изучить динамику изменения резистентности кишечной микрофлоры к эритромицину.

## 1. Материалы и методы

**1.1. Объект исследования.** Объектом исследования были белые беспородные крысы (самцы) в возрасте 8 недель и со средней массой тела  $161 \pm 12$  г. Исследование выполнено в соответствии с этическими нормами, одобренными Локальным этическим комитетом Всероссийского научно-исследовательского ветеринарного института (приказ № 251-п от 22 ноября 2017 г.). Содержание, питание, уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями приказа № 266 Минздрава Российской Федерации от 19 июня 2003 г. «Об утверждении правил клинической практики в Российской Федерации, отраслевым стандартом ОСТ 42-511-99 «Правила проведения качественных клинических испытаний в Российской Федерации», стандартом Российской Федерации ГОСТ Р 52379-2005 «Надлежащая клиническая практика».

Опытная группа включала 10 особей, которые получали ячмень кормовой и эритромицина стеарат с помощью зонда в виде жидкой суспензии два раза в сутки. Контрольная группа, которая состояла также из 10 особей, получала ячмень кормовой в том же объеме, что и опытная группа, но без эритромицина. Количественные показатели приведены в табл. 1. Эксперимент продолжался 14 дней.

Табл. 1

Рационы кормления и дозы эритромицина

Возраст, недели	Контрольная группа	Опытная группа	
	Ячмень, г/сут	Ячмень, г/сут	Эритромицин, мг/сут (80 мг эритромицина / кг веса крысы)
9	20	20	12.9
10	20	20	12.9

**2.2. Получение каловых проб.** Для получения пробы кал исследуемой группы крыс усредняли перемешиванием в фарфоровой ступке, после чего определяли его влажность методом высушивания при  $105^\circ\text{C}$  до постоянной массы.

**2.3. ПЦР с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени.** Суммарную ДНК выделяли набором «ДНК-сорб-В» (Интерлабсервис, Россия). В пробирки вносили по 300 мкл лизирующего раствора и по 100 мг усредненной пробы кала. Содержимое пробирок перемешивали на вортексе и выдерживали при  $65^\circ\text{C}$  в течение 5 мин, периодически перемешивая. Затем центрифугировали в течение 10 с при 5 тыс. об./мин. В каждую пробирку вносили по 25 мкл сорбента. Пробирки с внесенным сорбентом перемешали на вортексе, инкубировали в течение 5 мин при периодическом перемешивании. Сорбент осаждали в пробирках при 5 тыс. об./мин в течение 5 мин. Супернатант удаляли. ДНК, прикрепленные на сорбенте, промывали два раза при помощи промывочных растворов. Осадок сорбента сушили при  $65^\circ\text{C}$  в течение 10 мин. Затем в пробирки добавили по 50 мкл ТЕ-буфера для элюции ДНК.

Табл. 2

Праимеры и зонды генов устойчивости к эритромицину

Ген	Последовательность праймеров	Источник
<i>erm (A)</i>	F – tctaaaaagcatgtaaaagaa R – cttcgatagtttattaatattagt Зонд – ttaccttgaaagtcaggctaa	[14]
<i>erm (B)</i>	F – acaggtaaagggcatttaacgacg R – tggaacatctgtggtatggcg Зонд – aagcacacaattatataaaaaagt	[15]
<i>erm (C)</i>	F – tcaaaacataatatagataaa R – gctaattgtttaaatcgtaaat Зонд – ctgatgagatttattaatcgtgga	[14]
<i>erm (F)</i>	F – cgggtcagcactttact R – ggacctacatagacaag Зонд – gatgcccgaatgtcaagttgc	[14]
<i>erm (T)</i>	F – ttgagattggtcagggaaggtc R – gcaaccttttagcaaatccatattcc Зонд – aaaacaacttattgaatatga	[15]
<i>erm (X)</i>	F – atgttgatttcaggtaccgc R – agtcacctggaagagatcg Зонд – tgattcctaacttccggttac	[16]

Количество ДНК основных бактерий микрофлоры кишечника в анализируемых пробах определяли с помощью набора реагентов «Колонофлор» (Альфалаб, Россия). Он предназначен для количественной оценки состояния микробиоценоза толстого кишечника методом полимеразной цепной реакции с флуоресцентной детекцией результатов амплификации в режиме реального времени. Праимеры и зонды набора соответствуют селективным участкам генов. Количество ДНК основных бактерий микрофлоры кишечника в пробах выражали в десятичных логарифмах ген-эквивалентов на грамм кала (lg ГЭ/г кала).

С использованием данных интернет-ресурса Genbank, программы Vector NTI и интернет-ресурса Blast были подобраны специфичные флуоресцентные зонды к генам *erm* для ПЦР-РВ (табл. 2). Указанный выше метод позволяет количественно определять гены устойчивости к эритромицину *erm* в образцах кала. Количественную оценку ДНК проводили по калибровочным кривым, построенным по результатам ПЦР-детекции серии стандартных образцов. Стандартные образцы содержали известное количество ДНК генов *erm* в виде синтезированных соответствующих участков ДНК.

Для исследований методом ПЦР-РВ использовали амплификатор с флуоресцентной детекцией в режиме реального времени T-100 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США).

**2.4. Статистическая обработка данных.** Анализируемые показатели измеряли в трех повторностях. Для статистической обработки результатов использовалась программа Microsoft Excel. Приведены средние арифметические данные проанализированных повторов образцов и их стандартные ошибки. Достоверность различий между сравниваемыми средними величинами устанавливали, используя *t*-тест Стьюдента; различия считали значимыми при  $p < 0.05$ .

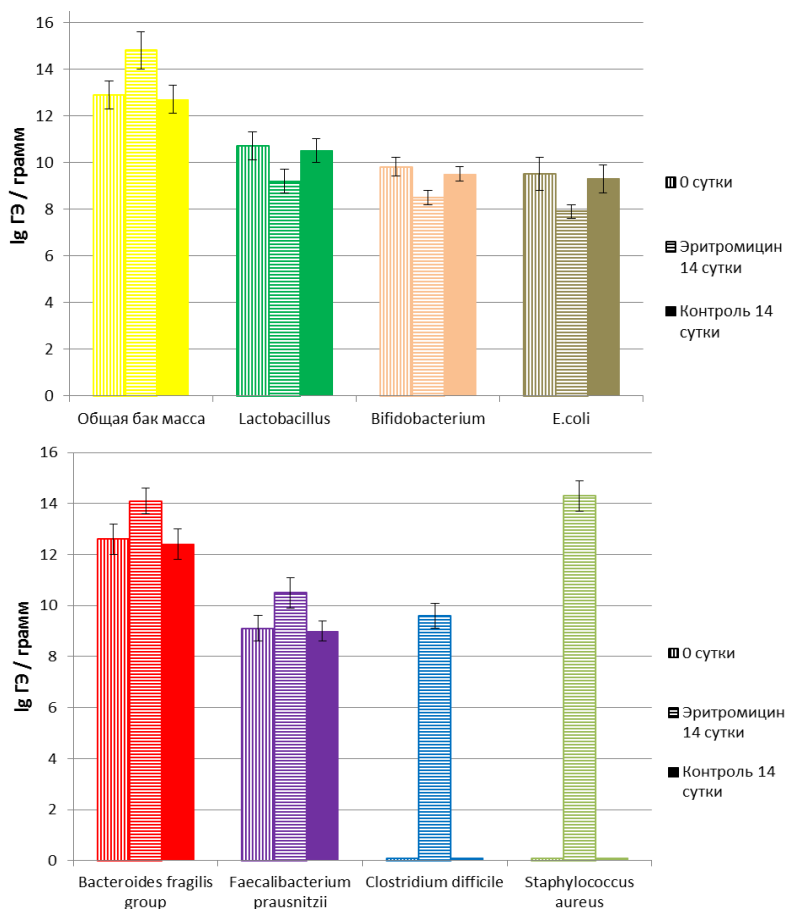


Рис. 1. Диаграммы изменения количества основных групп кишечных бактерий при приеме эритромицина. Верхняя диаграмма: общая бактериальная масса, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli*. Нижняя диаграмма: *Bacteroides fragilis* group, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*. Исследовано методом (ПЦР-РВ) с флуоресцентной детекцией

### 3. Результаты исследования

Для исследования сохранности бактерий в процессе перорального приема эритромицина был проведен эксперимент с опытной группой крыс. Количество ячменя в рационе крыс и доза эритромицина приведены в табл. 1. Каждые 2 суток исследования анализировали содержание ДНК бактерий в кале методом ПЦР-РВ.

Исследования показали, что содержание ДНК основных бактерий в кале контрольной группы, не получавшей эритромицин, за время эксперимента существенно не изменилось (рис. 1).

Содержание ДНК бактерий в кале опытной группы непосредственно перед получением эритромицина было примерно таким же, как у контрольной группы крыс (рис. 1). ДНК бактерий в кале опытной группы на 2-е сутки получения эритромицина мало отличались от показателей контрольной группы и показателей опытной группы в начале эксперимента, то есть действие эритромицина не проявилось. Заметное проявление антибактериальных свойств эритромицина

было отмечено на 4-е сутки. Произошло снижение общей бактериальной массы кишечника с  $12.9 \pm 0.9 \text{ lg ГЭ/г}$  в начале эксперимента до  $10.3 \pm 0.7 \text{ lg ГЭ/г}$  на 4-е сутки. Значительно снизилось содержание всех основных кишечных бактерий. На 6-е сутки эксперимента общая бактериальная масса достигла значения  $10.2 \pm 0.7 \text{ lg ГЭ/г}$ . Продолжилось снижение содержания основных кишечных бактерий. На фоне общего сокращения основной бактериальной микрофлоры кишечника на 6-е сутки появились в детектируемом количестве представители патогенных видов бактерий: *Clostridium difficile* в количестве  $4.1 \pm 0.7 \text{ lg ГЭ/г}$  и *Staphylococcus aureus* –  $5.2 \pm 0.5 \text{ lg ГЭ/г}$ . На 8-е сутки произошел рост общей бактериальной массы кишечной микрофлоры до  $10.8 \pm 0.8 \text{ lg ГЭ/г}$ . Динамика количества основных кишечных бактерий на 8-е сутки получения эритромицина была разнонаправленной. Количество *Lactobacillus* spp. на 6–8-е сутки не менялось и составляло  $7.5 \pm 0.6 \text{ lg ГЭ/г}$ . Количество *Bifidobacterium* spp. также оставалось неизменным  $8.1 \pm 0.6 \text{ lg ГЭ/г}$ . *Escherichia coli* продолжила снижение до  $6.4 \pm 0.4 \text{ lg ГЭ/г}$ . Более чем на порядок увеличилось содержание в кишечнике *Bacteroides fragilis group* и достигло  $10.1 \pm 0.8 \text{ lg ГЭ/г}$  на 8-е сутки. Количество патогенных видов бактерий на 6–8-е сутки стремительно увеличилось: *Clostridium difficile* с  $4.1 \pm 0.7$  до  $6.3 \pm 0.8 \text{ lg ГЭ/г}$  и *Staphylococcus aureus* с  $5.2 \pm 0.5$  до  $9.3 \pm 0.8 \text{ lg ГЭ/г}$ . На 10-е сутки на фоне быстрого роста общей бактериальной микрофлоры кишечника до  $13.1 \pm 0.8 \text{ lg ГЭ/г}$  происходил рост количества всех исследуемых бактерий. Продолжалось быстрое увеличение: *Clostridium difficile* до  $8.5 \pm 0.7 \text{ lg ГЭ/г}$  и *Staphylococcus aureus* до  $12.6 \pm 1.0 \text{ lg ГЭ/г}$ . Интенсивный рост бактериальной микрофлоры продолжался до 12 сут. На 12–14-е сутки содержание кишечной микрофлоры стабилизировалось и практически не менялось. В результате на 14-е сутки было достигнуто высокое содержание общей бактериальной массы  $14.7 \pm 0.7 \text{ lg ГЭ/г}$ , очень большое количество *Staphylococcus aureus*  $14.3 \pm 0.8 \text{ lg ГЭ/г}$ , *Bacteroides fragilis group*  $14.1 \pm 0.8 \text{ lg ГЭ/г}$  и большое количество *Clostridium difficile*  $9.6 \pm 0.6 \text{ lg ГЭ/г}$ . Количество *B. fragilis group* было выше нормы, но это не так опасно для организма хозяина, как увеличенное количество патогенных *S. aureus* и особенно *C. difficile* (рис. 1).

Считается, что избыточный микробный рост происходит в результате подавления облигатной кишечной микробиоты [14]. Между тем количество типичных представителей кишечной микрофлоры *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli* у опытной группы крыс на 14-е сутки хотя и было меньше, чем у контрольной группы, но в пределах нормы (рис. 1).

Таким образом, эритромицин вызвал дисбиоз кишечной микрофлоры крыс. Содержание ДНК основных бактерий в кале контрольной группы, не получавшей эритромицин, за время эксперимента существенно не менялось, что говорит о том, что изменения вызваны применением антибиотика – эритромицина.

Исследование количества генов устойчивости к эритромицину *erm* в микробной популяции кишечника до принятия антибиотика показало наличие пяти из шести исследованных вариаций. В ходе приема антибиотика количество генов устойчивости к нему увеличивалось. По окончании приема эритромицина на 14-й день эксперимента наблюдалось увеличение в кале крыс количества всех исследованных вариаций генов устойчивости к эритромицину *erm*. Увеличение произошло весьма значительное – на несколько порядков (см. табл. 3).

Табл. 3

Динамика изменения количества генов устойчивости к эритромицину

Ген lg ГЭ/г	Опыт								Кон- троль
	0-е сутки	2-е сутки	4-е сутки	6-е сутки	8-е сутки	10-е сутки	12-е сутки	14-е сутки	
<i>erm (A)</i>	7.6 ± 0.8	8.2 ± 0.9	8.4 ± 0.6	8.8 ± 0.4	9.1 ± 0.7	11.9 ± 1.1	13.8 ± 0.8	14.0 ± 0.9	7.5 ± 0.7
<i>erm (B)</i>	9.8 ± 0.8	9.8 ± 1.1	10.0 ± 0.7	10.0 ± 0.6	10.2 ± 0.8	11.1 ± 0.7	12.9 ± 1.2	13.5 ± 0.7	9.9 ± 0.8
<i>erm (C)</i>	н/о <sup>1</sup>	н/о	н/о	3.6 ± 0.2	7.9 ± 0.7	10.9 ± 0.8	13.6 ± 0.9	13.9 ± 0.7	н/о
<i>erm (F)</i>	9.6 ± 0.6	9.5 ± 0.8	9.6 ± 0.9	9.7 ± 0.7	9.8 ± 0.8	10.8 ± 1.0	12.1 ± 0.8	13.0 ± 0.5	9.5 ± 0.9
<i>erm (T)</i>	8.9 ± 0.8	9.0 ± 1.0	9.0 ± 0.8	9.1 ± 0.7	9.2 ± 0.8	10.2 ± 0.9	11.8 ± 1.1	12.4 ± 0.6	8.8 ± 0.7
<i>erm (X)</i>	7.7 ± 0.7	7.6 ± 0.7	7.7 ± 0.8	7.8 ± 0.5	7.9 ± 0.6	8.1 ± 0.7	8.3 ± 0.7	8.3 ± 0.6	7.5 ± 0.9

<sup>1</sup> н/о – не обнаружено.

В результате воздействия эритромицина на микрофлору кишечника общее количество бактерий увеличилось, несмотря на то что эритромицин является антибиотиком. И основной прирост произошел по причине увеличения количества *B. fragilis group* и патогенных *S. aureus*. Сильно увеличилось и количество патогенных *C. difficile*, что особенно опасно для организма хозяина. Количество облигатных бактерий под воздействием эритромицина сократилось, но незначительно, что говорит о наличии устойчивости к нему.

### Заключение

Полученные нами данные позволяют оценить воздействие эритромицина на кишечную микрофлору крыс как негативное. Эритромицин в исследованных дозах вызывает кишечный дисбиоз со значительным увеличением численности патогенных *C. difficile* и *S. aureus*. Кроме того, нами отмечено повышенное количество генов устойчивости к эритромицину *erm* в кишечнике крыс. Об устойчивости кишечной микрофлоры к эритромицину свидетельствуют и данные других исследований [12]. Наличие генов резистентности к эритромицину в кишечнике также согласуется с ранее опубликованными сведениями [14–16].

В настоящей работе впервые исследована динамика изменения количества основных бактерий кишечной микрофлоры и генов резистентности *erm* при воздействии эритромицина. Результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод о том, что эритромицин не эффективен для терапии кишечных инфекций, поскольку кишечная микрофлора устойчива к его действию, причем наиболее устойчивы именно патогенные бактерии. Это говорит о необходимости тщательного анализа возможных последствий при применении антибиотиков в практике животноводства и ветеринарии.

### Литература

1. OIE Global Conference on the Responsible and Prudent Use of Antimicrobial Agents for Animals “International solidarity to fight against antimicrobial resistance” Paris, France, 13–15 March 2013: Recommendations – URL: [https://www.oie.int/eng/a\\_amr2013/Recommendations\\_AMR\\_2013.pdf](https://www.oie.int/eng/a_amr2013/Recommendations_AMR_2013.pdf), свободный.
2. EU Commission Notice No. 2015/C 299/04. Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine // Off. J. Eur. Union. – 2015. – V. 299. – P. 7–29.

3. Spaepen K.R., Van Leemput L.J., Wislocki P.G., Verschueren C. A uniform procedure to estimate the predicted environmental concentration of the residues of veterinary medicines in soil // Environ. Toxicol. Chem. – 1997. – V. 16, No 9. – P. 1977–1982. – doi: 10.1002/etc.5620160930.
4. Kim K.R., Owens G., Kwon S.I., So K.H., Lee D.B., Ok Y.S. Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment // Water, Air, Soil Pollut. – 2011. – V. 214. – P. 163–174. – doi: 10.1007/s11270-010-0412-2.
5. Ok Y.S., Kim S.C., Kim K.R., Lee S.S., Moon D.H., Lim K.J., Sung J.K., Hur S.O., Yang J.E. Monitoring of selected veterinary antibiotics in environmental compartments near a composting facility in Gangwon Province, Korea // Environ. Monit. Assess. – 2011. – V. 174, No 1–4. – P. 693–701. – doi: 10.1007/s10661-010-1625-y.
6. Linton A.H., Hedges A.J., Bennett P.M. Monitoring for the development of antimicrobial resistance during the use of olaquinox as feed additive on commercial pig farms // J. Appl. Bacteriol. – 1988. – V. 64, No 4. – P. 311–327. – doi: 10.1111/j.1365-2672.1988.tb01876.x.
7. Hammerum A.M., Jensen L.B., Aarestrup F.M. Detection of the satA gene and transferability of virginiamycin resistance in *Enterococcus faecium* from food-animals // FEMS Microbiol. Lett. – 1998. – V. 168, No 1. – P. 145–151. – doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb13267.x.
8. Salyers A.A., Amabile-Cuevas C.F. Why are antibiotic genes so resistant to elimination? // Antimicrob. Agents Chemother. – 1997. – V. 41, No 11 – P. 2321–2325. – doi: 10.1128/AAC.41.11.2321.
9. Ley R.E. Harnessing microbiota to kill a pathogen: the sweet tooth of *Clostridium difficile* // Nat. Med. – 2014. – V. 20, No 3. – P. 248–249. – doi: 10.1038/nm.3494.
10. Lessa F.C., Mu Y., Bamberg W.M., Beldavs Z.G., Dumyati G.K., Dunn J.R., Farley M.M., Holzbauer S.M., Meek J.I., Phipps E.C., Wilson L.E., Winston L.G., Cohen J.A., Limbago B.M., Fridkin S.K., Gerding D.N., McDonald L.C. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States // N. Engl. J. Med. – 2015. – V. 372, No 9. – P. 825–833. – doi: 10.1056/NEJMoa1408913.
11. Kelly C.P., Pothoulakis C., LaMont J.T. *Clostridium difficile* colitis // N. Engl. J. Med. – 1994. – V. 330, No 4. – P. 257–262. – doi: 10.1056/NEJM199401273300406.
12. Barthélémy P., Autissier D., Gerbaud G., Courvalin P. Enzymatic hydrolysis of erythromycin by a strain of *Escherichia coli*. A new mechanism of resistance // J. Antibiot. (Tokyo). – 1984. – V. 37, No 12. – P. 1692–1696. – doi: 10.7164/antibiotics.37.1692.
13. Функ И.А., Иркутова А.Н. Биотехнологический потенциал бифидобактерий // Acta Biol. Sib. – 2016. – V. 2, No 4. – P. 67–79. – doi: 10.14258/abs.v2i4.1634.
14. Sapkota A.R., Ojo K.K., Roberts M.C., Schwab K.J. Antibiotic resistance genes in multi-drug-resistant *Enterococcus* spp. and *Streptococcus* spp. recovered from the indoor air of a large-scale swine-feeding operation // Lett. Appl. Microbiol. – 2006. – V. 43, No 5. – P. 534–540. – doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.01996.x.
15. Ботина С.Г., Полуэктова Е.У., Глазова А.А., Захаревич Н.В., Коробан Н.В., Зинченко В.В., Бабыкин М.М., Жиленкова О.Г., Амерханова А.М., Даниленко В.Н. Характеристика устойчивости к антибиотикам потенциальных пробиотических бактерий рода *Lactobacillus* из гастроинтестинальной микробиомы человека // Микробиология. – 2011. – Т. 80, № 2. – С. 175–183.
16. van Hoek A., Margolles A., Domig K.J., Korhonen J.M., Zycka-Krzyszewska J., Bardowski J.K., Danielsen M., Huys G., Morelli L., Aarts H.J.M. Molecular assessment of erythromycin and tetracycline resistance genes in lactic acid bacteria and bifidobacteria and their relation to the phenotypic resistance // Int. J. Probiotics Prebiotics. – 2008. – V. 3. – P. 271–280.



17. *Gilbert D.N.* Aspects of the safety profile of oral antimicrobial agents // *Infect. Dis. Clin. Pract.* – 1995. – V. 4, Suppl. 2. – P. S103–S112.

Поступила в редакцию  
18.12.2019

---

**Скворцов Евгений Владимирович**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник  
Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности –  
Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
ул. Научный городок, д. 2, г. Казань, 420075, Россия  
E-mail: *eskvortsov@rambler.ru*

**Мухаммадиев Ришат Салаватович**, кандидат биологических наук, научный сотрудник  
Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности –  
Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
ул. Научный городок, д. 2, г. Казань, 420075, Россия  
E-mail: *tanirtashir@mail.ru*

**Мухаммадиев Ринат Салаватович**, кандидат биологических наук, научный сотрудник  
Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности –  
Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
ул. Научный городок, д. 2, г. Казань, 420075, Россия

**Валиуллин Ленар Рашитович**, кандидат биологических наук, заведующий сектором  
Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности –  
Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт  
ул. Научный городок, д. 2, г. Казань, 420075, Россия  
E-mail: *valiullin27@mail.ru*

---

ISSN 2542-064X (Print)  
ISSN 2500-218X (Online)

**UCHENYE ZAPISKI KAZANSKOGO UNIVERSITETA. SERIYA ESTESTVENNYE NAUKI**  
(Proceedings of Kazan University. Natural Sciences Series)

2020, vol. 162, no. 1, pp. 112–122

---

doi: 10.26907/2542-064X.2020.1.112-122

### **Erythromycin Effect on the Intestinal Microbial Community of Rats**

*E.V. Skvortsov<sup>\*</sup>, Rish.S. Muhammadiev<sup>\*\*</sup>, Rin.S. Muhammadiev, L.R. Valiullin<sup>\*\*\*</sup>*

*Federal Center of Toxicological, Radiation, and Biological Safety –  
All-Russian Research Veterinary Institute, Kazan, 420075 Russia*

E-mail: *\*eskvortsov@rambler.ru, \*\*tanirtashir@mail.ru, \*\*\*valiullin27@mail.ru*

Received December 18, 2019

#### **Abstract**

The effect of erythromycin on the intestinal microbial community of laboratory rats was studied. The research is important for the practical purposes of animal farming and veterinary medicine, because a significant increase in the abundance of pathogenic microorganisms caused by antibiotic treatment turns the intestine into a reservoir of infections resistant to antibiotics, which need to be combated efficiently. To solve this problem, both rapid and accurate methods must be elaborated for quantitative determination of the main bacteria in the intestine during the use of antibiotics, such as erythromycin. We used genetic analysis (real-time polymerase chain reaction) to study the intestinal microflora of male rats aged 8 weeks. All rats were divided into two groups: the control group ( $n = 10$ ); the experimental group

( $n = 10$ ) that received orally administered erythromycin. The abundance of the main intestinal bacteria was determined from fecal samples. The content of several variations of *erm* (erythromycin resistance) genes in the intestinal microflora was also investigated. The obtained results demonstrate that erythromycin causes a significant increase in the abundance of *Clostridium difficile* and *Staphylococcus aureus*, as well as in the number of *erm* genes. These data can be considered a further advance in our understanding of prospects and consequences of antibiotic therapy in animal farming and veterinary medicine.

**Keywords:** intestinal microbial community, erythromycin, genetic analysis, erythromycin resistance genes

### Figure Captions

Fig. 1. Diagrams of changes in the abundance of major groups of intestinal bacteria induced by the oral administration of erythromycin. Upper diagram: total bacterial mass, *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Escherichia coli*. Bottom diagram: *Bacteroides fragilis* group, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*. Real-time polymerase chain reaction with fluorescence detection.

### References

1. OIE Global Conference on the Responsible and Prudent Use of Antimicrobial Agents for Animals "International solidarity to fight against antimicrobial resistance" Paris, France, 13–15 March 2013: Recommendations. Available at: [https://www.oie.int/eng/a\\_amr2013/Recommendations\\_AMR\\_2013.pdf](https://www.oie.int/eng/a_amr2013/Recommendations_AMR_2013.pdf).
2. EU Commission Notice No. 2015/C 299/04. Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine. *Off. J. Eur. Union*, 2015, vol. 299, pp. 7–29.
3. Spaepen K.R., Van Leemput L.J., Wislocki P.G., Verschueren C. A uniform procedure to estimate the predicted environmental concentration of the residues of veterinary medicines in soil. *Environ. Toxicol. Chem.*, 1997, vol. 16, no. 9, pp. 1977–1982. doi: 10.1002/etc.5620160930.
4. Kim K.R., Owens G., Kwon S.I., So K.H., Lee D.B., Ok Y.S. Occurrence and environmental fate of veterinary antibiotics in the terrestrial environment. *Water, Air, Soil Pollut.*, 2011, vol. 214, pp. 163–174. doi: 10.1007/s11270-010-0412-2.
5. Ok Y.S., Kim S.C., Kim K.R., Lee S.S., Moon D.H., Lim K.J., Sung J.K., Hur S.O., Yang J.E. Monitoring of selected veterinary antibiotics in environmental compartments near a composting facility in Gangwon Province, Korea. *Environ. Monit. Assess.*, 2011, vol. 174, nos. 1–4, pp. 693–701. doi: 10.1007/s10661-010-1625-y.
6. Linton A.H., Hedges A.J., Bennett P.M. Monitoring for the development of antimicrobial resistance during the use of olaquinox as feed additive on commercial pig farms. *J. Appl. Bacteriol.*, 1988, vol. 64, no. 4, pp. 311–327. doi: 10.1111/j.1365-2672.1988.tb01876.x.
7. Hammerum A.M., Jensen L.B., Aarestrup F.M. Detection of the *satA* gene and transferability of virginiamycin resistance in *Enterococcus faecium* from food-animals. *FEMS Microbiol. Lett.*, 1998, vol. 168, no. 1, pp. 145–151. doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb13267.x.
8. Salyers A.A., Amabile-Cuevas C.F. Why are antibiotic genes so resistant to elimination? *Antimicrob. Agents Chemother.*, 1997, vol. 41, no. 11, pp. 2321–2325. doi: 10.1128/AAC.41.11.2321.
9. Ley R.E. Harnessing microbiota to kill a pathogen: the sweet tooth of *Clostridium difficile*. *Nat. Med.*, 2014, vol. 20, no. 3, pp. 248–249. doi: 10.1038/nm.3494.
10. Lessa F.C., Mu Y., Bamberg W.M., Beldavs Z.G., Dumyati G.K., Dunn J.R., Farley M.M., Holzbauer S.M., Meek J.I., Phipps E.C., Wilson L.E., Winston L.G., Cohen J.A., Limbago B.M., Fridkin S.K., Gerding D.N., McDonald L.C. Burden of *Clostridium difficile* infection in the United States. *N. Engl. J. Med.*, 2015, vol. 372, no. 9, pp. 825–833. doi: 10.1056/NEJMoa1408913.
11. Kelly C.P., Pothoulakis C., LaMont J.T. *Clostridium difficile* colitis. *N. Engl. J. Med.*, 1994, vol. 330, no. 4, pp. 257–262. doi: 10.1056/NEJM199401273300406.
12. Barthélémy P., Autissier D., Gerbaud G., Courvalin P. Enzymatic hydrolysis of erythromycin by a strain of *Escherichia coli*. A new mechanism of resistance. *J. Antibiot. (Tokyo)*, 1984, vol. 37, no. 12, pp. 1692–1696. doi: 10.7164/antibiotics.37.1692.

13. Funk I.A., Irkitova A.N. Biotechnological potential of bifidobacteria. *Acta Biol. Sib.*, 2016, vol. 2, no. 4, pp. 67–79. doi: 10.14258/abs.v2i4.1634.
14. Sapkota A.R., Ojo K.K., Roberts M.C., Schwab K.J. Antibiotic resistance genes in multidrug-resistant *Enterococcus* spp. and *Streptococcus* spp. recovered from the indoor air of a large-scale swine-feeding operation. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2006, vol. 43, no. 5, pp. 534–540. doi: 10.1111/j.1472-765X.2006.01996.x.
15. Botina S.G., Poluektova E.U., Glazova A.A., Zakharevich N.V., Koroban N.V., Zinchenko V.V., Babykin M.M., Zhilenkova O.G., Amerkhanova A.M., Danilenko V.N. Antibiotic resistance of potential probiotic bacteria of the genus *Lactobacillus* from human gastrointestinal microbiome. *Microbiology*, 2011, vol. 80, no. 2, pp. 164–171. doi: 10.1134/S0026261711020032.
16. van Hoek A.H., Margolles A., Domig K.J., Korhonen J.M., Zycka-Krzesinska J., Bardowski J.K., Danielsen M., Huys G., Morelli L., Aarts H.J.M. Molecular assessment of erythromycin and tetracycline resistance genes in lactic acid bacteria and bifidobacteria and their relation to the phenotypic resistance. *Int. J. Probiotics Prebiotics*, 2008, vol. 3, pp. 271–280.
17. Gilbert D.N. Aspects of the safety profile of oral antimicrobial agents. *Infect. Dis. Clin. Pract.*, 1995, vol. 4, suppl. 2, pp. S10–S112.

**Для цитирования:** Скворцов Е.В., Мухаммадиев Рии.С., Мухаммадиев Рин.С., Валиуллин Л.Р. Влияние эритромицина на микробное сообщество кишечника крыс // Учен. зап. Казан. ун-та. Сер. Естеств. науки. – 2020. – Т. 162, кн. 1. – С. 112–122. – doi: 10.26907/2542-064X.2020.1.112-122.

**For citation:** Skvortsov E.V., Muhammadiev Rish.S., Muhammadiev Rin.S., Valiullin L.R. Erythromycin effect on the intestinal microbial community of rats. *Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki*, 2020, vol. 162, no. 1, pp. 112–122. doi: 10.26907/2542-064X.2020.1.112-122. (In Russian)