

DOI: 10.24143/2073-5529-2018-4-53-57
УДК [579.26:574.5]: [579.68:577.18]

О. В. Обухова, Л. В. Ларцева

ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ УСЛОВНО-ПАТОГЕННОЙ МИКРОФЛОРЫ, ПЕРСИСТИРУЮЩЕЙ В ГИДРОЭКОСИСТЕМАХ

Предложен обзор исследований, посвященных проблеме антибиотикорезистентности условно-патогенной микрофлоры, циркулирующей в различных гидроэкосистемах. Отмечается, что процесс распространения антибиотикорезистентности бактерий во всем мире является масштабным и нарастающим. Установлено, что особенности ее проявления во многом определяются природно-климатическими, антропогенными факторами, а также уровнем урбанизации. Рассмотрены механизмы взаимодействия микроорганизмов с отдельными антибиотиками. Приведенные данные свидетельствуют о том, что широкое использование антибиотиков в медицине, ветеринарии и аквакультуре обусловили антибиотикорезистентность у микрофлоры, выделенной из гидроэкосистем и гидробионтов (рыб). Представлены результаты исследований российских и зарубежных ученых об антибиотикорезистентности бактерий, выделенных из воды и рыбы. Так, микроорганизмы, выделенные из городских водотоков г. Астрахани, дельты р. Волги и органов судака, обладали множественной антибиотикорезистентностью в зависимости от сезона года и исследуемого района. Во всех случаях установлены минимальная устойчивость микрофлоры к тобрамицину и левомицетину; максимальная – к бензилпенициллину и ампициллину. Полученные данные могут служить показателями санитарно-эпидемиологического и экологического неблагополучия гидроэкосистем.

Ключевые слова: антибиотики, резистентность, условно-патогенная микрофлора, антропогенез, аквакультура, бактерии, водоем, гидроэкосистемы.

Введение

Антибиотикорезистентность условно-патогенной микрофлоры является важнейшей фенотипической особенностью, которая определяется поверхностной структурой клеток на молекулярном уровне (S-слои бактерий, которые функционируют как антимикробные пептиды). Они могут изменять свои свойства в ответ на изменения окружающей среды в процессе антропогенеза. Авторами [1, 2] показано, что в условиях экологического неблагополучия достоверно увеличивается доля штаммов бактерий с множественной устойчивостью к антибиотикам. После антибиотикотерапии небольшая часть микроорганизмов, устойчивых к тому или иному препарату, остается в организме, продолжая персистировать, нарушая нормофлору и обуславливая дисбактериоз. Поэтому устойчивость микроорганизмов к этим препаратам возникает быстрее, чем появляются новые антибиотики.

На фоне глобализации антибиотикорезистентности микрофлоры в среде обитания, в том числе в воде, происходит ускорение эволюции патогенов и рост инфекций, обусловленных пищевым и водным факторами. Широкое распространение даже остаточного количества антибиотиков только усиливает воздействие на микробные системы всех живых организмов и среды их обитания, формируя опосредованный риск для здоровья человека. При этом рекомендовано тщательно экспериментальным путем изучать новые антибиотики перед внедрением их в практику [1]. Установлено, что систематическое загрязнение любой животноводческой продукции этими препаратами ухудшает ее качество, затрудняет проведение ветеринарно-санитарной экспертизы, обуславливает возникновение резистентных форм бактерий и проявление в будущем аллергических заболеваний у людей [1].

Аналогичная ситуация сложилась и в аквакультуре. Проведенный анализ антибиотикограмм микроорганизмов, выделенных из воды прудов и выращиваемой рыбы, показал их слабую чувствительность к левомицетину и тетрациклину, часто используемым в аквакультуре Московской области [3]. При этом чувствительность к левомицетину резко снижалась к концу рыбоводного сезона. Сделан вывод, что антибиотики в аквакультуре могут использоваться только в терапевтических целях и только после изучения антибиотикограмм изолированного возбудителя [3]. R-фактор множественной лекарственной устойчивости может путем конъюгации передаваться другим микроорганизмам, создавая проблему и с эпизоотической, и с эпидемиологической стороны.

Ситуация по антибиотикорезистентности водной микрофлоры

По результатам изучения протозойно-бактериальных болезней пресноводных рыб установлено, что в норме микробиоценоз поверхности тела рыб на 80,0 % представлен условно-патогенной грамотрицательной флорой: аэромонадами, моракселлами, ацинетобактерами – и на 20,0 % – грампозитивной кокковой флорой [4]. Однако при патологических процессах микробный пейзаж рыб дополняется энтеробактериями и флавобактериями. В условиях эвтрофикации преимущество, как правило, получают бактерии, приспособленные к утилизации высокомолекулярной органики, а ими в водных биотопах являются преимущественно условно-патогенные микроорганизмы. Именно они первыми проникают во внутреннюю среду организма, нарушая гомеостаз, и обуславливают инфекционный процесс. При этом изменения кишечного микробиоценоза вызывают септический бактериоценоз по эндогенному пути. Проведено экспериментальное испытание ципрофлоксацина, цефтазидима, цефтриаксона, левомицетина, гентамицина и тетрациклина на их способность подавлять вышеназванные группы бактерий [4]. В результате проведенного исследования выявлена наибольшая активность ципрофлоксацина. Цефтриаксон был эффективен только против энтеробактерий, а гентамицин – против большинства вышеназванных штаммов возбудителей, несколько уступая ципрофлоксацину. Левомицетин и тетрациклин, часто используемые в аквакультуре, проявили низкую антибактериальную активность. Вместо антибиотиков были предложены и продемонстрирован значительный эффект антипротозойно-бактериальных препаратов «Антибак», «Атибак ПРО» и «Ихтиовит-Антибак» [4].

Бактериальные штаммы, выделенные из печени и мозга больных рыб (выращиваемого в Китае канального сома) с геморрагическим синдромом, на основании морфологических, биохимических и физиологических признаков идентифицированы как *Aeromonas hydrophila*. Они оказались чувствительны к пяти антибиотикам, включая цефоперазон, слабо чувствительны к трем препаратам, в том числе к стрептомицину, и резистентны к семи антибиотикам, включая ампициллин [5]. Анализ проб поверхностной воды позволил обнаружить присутствие офлоксацина, сульфаметоксазола, сульфадиазина, эритромицина и рокситромицина, среди которых преобладали сульфонамиды, а в донных отложениях – фторхинолоны. При этом отмечен высокий уровень накопления ципрофлоксацина и эритромицина у разводимых в прудах карпов, составляющий 3 262 и 4 492 мкг/кг соответственно [6].

Результаты исследований, проведенных в Европе, позволили говорить о значительной антибиотикорезистентности морской микрофлоры, выделенной из проб воды ряда рыбных ферм, расположенных у северного и южного итальянского побережья Адриатического моря. Авторами [7] отмечена частая встречаемость штаммов условно-патогенных микроорганизмов, резистентных только к тетрациклину (17,0 %), к триметоприм-сульфадиазину (7,0 %), а к флюомеквину – в 0,3 % штаммов. Сравнение изолятов бактерий с побережья и из районов рыбных ферм показало большое количество мультирезистентных штаммов (4,0 против 10,0 %) в районах интенсивной аквакультуры. Выявлены также значительные различия по встречаемости резистентных к антибиотикам бактериальных изолятов, выделенных из проб воды изучаемых 4-х ферм, что, вероятно, связано с различным подходом к управлению аквакультурой и более или менее частым использованием антибиотиков. Авторами [7] подчеркнуто, что резистентные к антибиотикам (особенно мультирезистентные) штаммы бактерий, циркулирующие в водоемах, напрямую участвуют в трофических цепях, представляя угрозу здоровью населения.

Штаммы кишечной палочки *E. coli* в значительных количествах были выделены в Италии из прибрежных морских седиментов (осевшие взвешенные частицы органического происхождения в виде фекальных комочков – пеллет, – присутствующие в эвтрофированных гидроэкосистемах). Все выделенные изоляты этих бактерий имели гены вирулентности и в 35,0 % случаев – устойчивость к антибиотикам. При этом у 14,0 % штаммов отмечена полирезистентность; она была наиболее выраженной по отношению к тетрациклину (28,0 %), ампициллину (16,5 %), триметоприму-сульфаметоксину (13,0 %) и стрептомицину (7,0 %). Сделан вывод, что прибрежные морские седименты могут быть пригодной и благоприятной средой для выживания устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий [8].

Результаты комплексных исследований по антибиотикорезистентности водных и клинических штаммов условно-патогенной микрофлоры в крупнейших водоемах Сибири показали следующее [1]. Доминирующие в микробиоценозе р. Вилюй представители сем. Enterobacteriaceae и Vibrionaceae проявили высокую активность к тобрамицину, гентамицину и амикацину, 13,9 % изолятов были устойчивы к ципрофлоксацину, 9,0 % – к цефоперазону, 16,3 % – к цефтазидиму, 4,6 % – к цефтизоксиму. Более 50,0 % тестируемых штаммов были резистентны

к препаратам пенициллинового ряда, но чувствительны к тетрациклину и ампициллину. Похожие данные получены при изучении микробиоценоза р. Ангары (Иркутская область) и р. Лены – от ее верховья до впадения в море Лаптевых (Республика Саха, Якутия) [1]. Вся выделенная микрофлора имела множественную антибиотикорезистентность, которая была наиболее ярко выражена в антропогенном районе Якутии, где р. Лена является основной транспортной артерией этого региона, и составляла 66,7 % устойчивых штаммов. Ее показатели по мере удаления от района, подверженного антропогенезу, существенно снижались и составляли 67,7; 63,3 и 50,2 %. При этом максимальная частота встречаемости резистентных штаммов зарегистрирована в истоке Лены и районе г. Иркутска (58,4 и 64,6 % проб соответственно). Наибольшее количество резистентных культур было выявлено среди энтеробактерий: клебсиелл, кишечных палочек, энтеробактеров, серраций и иерсиний; среди аэромонад – только у *A. hydrophila*. При этом аэромонады имели устойчивость к антибиотикам в 1,3–3,6 раза ниже, чем энтеробактерии. Установлено, что условно-патогенные энтеробактерии и аутохтонные представители, изолированные из воды, характеризовались принадлежностью по индексам антибиотикорезистентности к четырем кластерам: чувствительные, моно-, умеренно- и полирезистентные. Показатели этих кластеров существенно варьировали в зависимости от географии или участка водоема и от уровня антропогенной нагрузки. Следовательно, гетерогенность микробных популяций условно-патогенных энтеробактерий отражает высокий адаптационный потенциал резистентности к химиопрепаратам, что может быть использовано в качестве инструмента оценки при биотестировании и как индикатор экологической нагрузки на водоемы [1].

Анализ антибиотикорезистентности 390 штаммов энтеробактерий, выделенных из внутренних водотоков г. Астрахани (Прямая и Кривая Болда, р. Царев, р. Кутум, Золотой Затон), пересекающих город в разных направлениях и характеризующихся малой водностью и проточностью, показал их высокую устойчивость к антибиотикам. В структуре этого семейства доминировали цитробактеры, протеи и энтеробактеры. Независимо от места отбора проб они проявляли максимальную чувствительность к тобрамицину и тетрациклину, затем по убывающей – к левомицетину, ампициллину, эритромицину, цефазолину и бензилпенициллину. В сезонном аспекте была установлена минимальная чувствительность ко всем тестируемым препаратам в начале июня, во время половодья в дельте р. Волги. Вероятно, это связано с попаданием в паводковые воды штаммов бактерий, устойчивых к антибиотикам. Только в осенний сезон, в октябре, чувствительность к этим химиопрепаратам вновь повысилась, достигая максимальных величин. Сделан вывод, что уровень антибиотикорезистентности энтеробактерий в городских водотоках г. Астрахани весьма значителен и определяется объемом паводковых вод, обусловленных сезонами года и близостью многочисленных промышленных пищевых предприятий к исследуемым водотокам [9]. В пользу этого свидетельствуют данные многолетнего мониторинга микробиоценоза гидроэкосистемы дельтовых районов р. Волги (вода, осетровые, сазан, судак, сом и др.), в котором доминировали штаммы тех же видов pp. *Citrobacter*, *Proteus* и *Enterobacter* (24,8; 32,7 и 20,0 % соответственно). Анализ материала показал, что 41,1 % протестированных штаммов были полирезистентны, проявляя минимальную устойчивость к тобрамицину и левомицетину, максимальную – к бензилпенициллину и ампициллину [10].

Загрязнение различными антибиотиками природных вод городских водотоков и дельтовых вод, куда они впадают, обусловило высокую устойчивость к этим препаратам у гидромикрофлоры и некоторых гидробионтов (осетра, бычков) по всей акватории Северного Каспия. Автором [11] не выявлено существенных различий по устойчивости к антибиотикам между речной и морской экосистемами как по районам исследований, так и по сезонам года. Во всех проанализированных биотопах вся изолированная микрофлора проявляла максимальную устойчивость к бензилпенициллину (85,0–85,5 %) и ампициллину (67,0–69,1 %); наименьшую – к левомицетину (14,8–15,2 %) и стрептомицину (17,8–19,0 %).

Заключение

Таким образом, анализ доступной литературы выявил чрезвычайно высокую антибиотикорезистентность условно-патогенной микрофлоры, циркулирующей в гидроэкосистемах и ее обитателях, под влиянием многолетнего антропогенного прессинга. Подчеркивается планетарный масштаб этой устойчивости к огромному числу лекарственных препаратов, обусловленный их нерациональным использованием в медицине, ветеринарии и аквакультуре. Следовательно, приведенные данные могут быть использованы в качестве маркеров экологического и эпидемиологического благополучия естественных и искусственных гидроэкосистем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Анганова Е. В.* Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Иркутск, 2012. 44 с.
2. *Poirel L., Potron A., De La Cuesta C., Cleary T. et al.* Wild coastline birds as reservoirs of broad-spectrum – b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Miami Beach, Florida // *Antimicrob. Agents and Chemother.* 2012. V. 56. N. 5. P. 2756–2758.
3. *Юхименко Л. Н., Гаврилкин К. В., Бычкова Л. И.* Химиотерапия бактериальных болезней рыб, достоинства и недостатки // *Проблемы патологии, иммунологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов: материалы Всерос. науч.-практ. конф. М., 2003. С. 142–143.*
4. *Гаврилин К. В.* Протозойно-бактериальные болезни пресноводных рыб и меры борьбы с ними: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2011. 41 с.
5. *Tong Gui-xiang, Li Xiao-zheng, Wei Xin-xian, Wu Xiang-qing, Lu Xiao-hua.* Identification and antibiotic sensitivity of pathogen of intussusception disease found in channel catfish *Ictalurus* // *J. Dalian Fish. Univ.* 2009. V. 24. N. 6. P. 475–481.
6. *Gao Lihong, Shi Yali, Li Wenhui, Liu Jiemin, Cai Yaqi.* Присутствие, распределение и биоаккумуляция антибиотиков в реке Хайхэ в Китае // *J. Environ. Monit.* 2012. N. 4 (14). P. 1248–1255.
7. *Labella A., Gennari M., Ghidini V., Trento I., Manfrin A.* High incidence of antibiotic multi-resistant bacteria in coastal areas dedicated to fish farming // *Mar. Pollut. Bull.* 2013. V. 70. N. 1–2. P. 197–203.
8. *Vignaroli C., Luna G. M., Rinaldi C., Di Cesare A., Danovaro R., Biavasco F.* New sequence types and multidrug resistance among pathogenic *Escherichia coli* isolates from coastal marine sediments // *Appl. and Environ. Microbiol.* 2012. V. 78. N. 11. P. 3916–3922.
9. *Ларцева Л. В., Истелюева А. А.* Геоэкологические особенности антибиотикорезистентности микрофлоры внутренних водотоков г. Астрахани // *Геология, география и глобальная энергия.* 2011. № 3 (42). С. 180–186.
10. *Обухова О. В., Ларцева Л. В.* Особенности антибиотикорезистентности энтеробактерий в дельте р. Волги // *Гигиена и санитария.* 2014. № 3. С. 21–23.
11. *Лисицкая И. А.* Бактериальные сообщества некоторых компонентов экосистемы дельты Волги и Северного Каспия: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Астрахань, 2008. 23 с.

Статья поступила в редакцию 09.10.2018

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Обухова Ольга Валентиновна – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный технический университет; канд. биол. наук, доцент; доцент кафедры гидробиологии и общей экологии; obuhowa-ov@yandex.ru.

Ларцева Любовь Владимировна – Россия, 414056, Астрахань; Астраханский государственный университет; д-р биол. наук, профессор; профессор кафедры экологии, природопользования, землеустройства и безопасности жизнедеятельности; lartsevaolga@mail.ru.



O. V. Obukhova, L. V. Lartseva

**ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE
OF CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROORGANISMS
PERSISTENT IN HYDROECOSYSTEMS**

Abstract. The article provides an overview of investigating antibiotic resistance of conditionally pathogenic microflora circulating in different hydroecosystems. It has been stated that the process of spreading antibiotic resistance in bacteria around the world is progressing in a large scale. It has been found that the peculiarities of its manifestation are largely determined by natural, climatic and anthropogenic factors, as well as by the level of urbanization. Mechanisms of microorganism interaction with separate antibiotics are studied. The data obtained show that antibiotics widely used in medicine, veterinary science and aquaculture have caused antibiotic resistance in microflora isolated from hydroecosystems and hydrobionts (fish). The study results of the Russian and foreign scientists on antibiotic resistance of bacteria isolated from water and fish have been brought. Thus,

microorganisms isolated from urban watercourses of Astrakhan, the Volga river Delta and pike perch body organs showed multiple antibiotic resistance depending on the season and the studied area. In all cases there have been recorded the minimum resistance of microflora to tobramycin and chloramphenicol and the maximum – to benzylpenicillin and ampicillin. The obtained data can serve as indicators of sanitary and epidemiological and environmental problems of hydroecosystems.

Key words: antibiotic resistance, conditionally pathogenic microflora, anthropogenesis, aquaculture, bacteria, water reservoir, hydroecosystems.

REFERENCES

1. Anganova E. V. *Uslovno-patogennyye enterobakterii: dominiruyushchie populiatsii, biologicheskie svoystva, mediko-ekologicheskaya znachimost'. Avtoreferat dis. ... d-ra biol. nauk* [Conditionally pathogenic enterobacteria: dominating populations, biological properties, medical and ecological importance: Diss. Abstr. ... Doct.Biol.Sci.]. Irkutsk, 2012. 44 p.
2. Poirel L., Potron A., De La Cuesta C., Cleary T. et al. Wild coastline birds as reservoirs of broad-spectrum – b-lactamase-producing Enterobacteriaceae in Miami Beach, Florida. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 2012, vol. 56, no. 5, pp. 2756-2758.
3. Iukhimenko L. N., Gavrilkin K. V., Bychkova L. I. Khimioterapiya bakterial'nykh boleznei ryb, dostoinstva i nedostatki [Chemotherapy of bacterial diseases of fish, strong and weak points]. *Problemy patologii, immunologii i okhrany zdorov'ia ryb i drugikh gidrobiontov: materialy Vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi konferentsii*. Moscow, 2003. Pp. 142-143.
4. Gavrilin K. V. *Protozoino-bakterial'nye bolezni presnovodnykh ryb i mery bor'by s nimi. Avtoreferat dis. ... d-ra biol. nauk* [Protozoan bacterial diseases of fresh water fish and preventive measures. Diss. Abstr. ... Doct.Biol.Sci.]. Moscow, 2011. 41 p.
5. Tong Gui-xiang, Li Xiao-zheng, Wei Xin-xian, Wu Xiang-qing, Lu Xiao-hua. Identification and antibiotic sensitivity of pathogen of intussusception disease found in channel catfish *Ictalurus*. *J. Dalian Fish. Univ.*, 2009, vol. 24, no. 6, pp. 475-481.
6. Gao Lihong, Shi Yali, Li Wenhui, Liu Jiemin, Cai Yaqi. Prisutstvie, raspredelenie i bionakoplenie antibiotikov v reke Khaikhe v Kitae [Occurrence, distribution and bioaccumulation of antibiotics in the Haihe River in China]. *J. Environ. Monit.*, 2012, no. 4 (14), pp. 1248-1255.
7. Labella A., Gennari M., Ghidini V., Trento I., Manfrin A. High incidence of antibiotic multi-resistant bacteria in coastal areas dedicated to fish farming. *Mar. Pollut. Bull.*, 2013, vol. 70, no. 1-2, pp. 197-203.
8. Vignaroli C., Luna G. M., Rinaldi C., Di Cesare A., Danovaro R., Biavasco F. New sequence types and multidrug resistance among pathogenic *Escherichia coli* isolates from coastal marine sediments. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 2012, vol. 78, no. 11, pp. 3916-3922.
9. Lartseva L. V., Isteliueva A. A. Geoekologicheskie osobennosti antibiotikorezistentnosti mikroflory vnutrennikh vodotokov g. Astrakhani [Geoecological features of microflora antibiotic resistance in the channels of Astrakhan]. *Geologiya, geografiya i global'naya energiya*, 2011, no. 3 (42), pp. 180-186.
10. Obukhova O. V., Lartseva L. V. Osobennosti antibiotikorezistentnosti enterobakterii v del'te r. Volgi [Characteristics of antibiotic resistance of enterobacteria in the Volga delta]. *Gigiena i sanitariya*, 2014, no. 3, pp. 21-23.
11. Lisitskaia I. A. *Bakterial'nye soobshchestva nekotorykh komponentov ekosistemy del'ty Volgi i Severnogo Kaspiya. Avtoreferat dis. ... kand. biol. nauk* [Bacterial communities of certain components of ecosystem in the Volga Delta and the North part of the Caspian Sea. Diss. Abstr. ... Cand.Biol.Sci.]. Astrakhan', 2008. 23 p.

The article submitted to the editors 09.10.2018

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Obukhova Olga Valentinovna – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State Technical University; Candidate of Biology, Assistant Professor; Assistant Professor of the Department of Hydrobiology and General Ecology; obuhova-ov@yandex.ru.

Lartseva Lyubov Vladimirovna – Russia, 414056, Astrakhan; Astrakhan State University; Doctor of Biology, Professor; Professor of the Department of Ecology, Environmental Management, Land Management and Life Security; lartsevaolga@mail.ru.

