

ЛИТЕРАТУРА

1. Барский Е.Л., Саванина Я.В., Фомина И.А. и др. Оценка качества водной среды с использованием цианобактерий // Материалы XXIV Международ. конференции «Новые информационные технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии». Изд-во ООО «Новые информационные технологии», 2015. С. 224–233.
2. Саванина Я.В., Лебедева А.Ф., Барский Е.Л. и др. Диализное культивирование цианобактерий // Вестник Московского университета. Серия: Биология. 2008. № 2. 16–25.
3. Фомина И.А., Саванина Я.В., Барский Е.Л. и др. Метод ИК-спектроскопии внутреннего отражения клеток цианобактерий и их внешних структур для оценки уровня загрязнения водотоков // Проблемы региональной экологии. 2016. № 6. С.18–22.
4. Фомина И.А., Саванина Я.В., Барский Е.Л. и др. Сравнительная оценка уровня загрязнения водотоков методом спектроскопии внутреннего отражения в ИК-диапазоне клеток диализной культуры цианобактерий и методами химического контроля // Проблемы региональной экологии. 2017. № 3. С. 22–26.

REFERENCES

1. Barsky E.L., Savanina Ja.V., Fomina I.A. et al. Otsenka kachestva vodnoy sredy s ispol'zovaniem cianobakterij [Evaluation of water environment quality with the use of cyanobacteria]. Materialy XXIV Mezhdunarodn. konferencii «Novye informatsionnye tehnologii v meditsine, biologii, farmakologii i ekologii». OOO «Novye informatsionnye tehnologii Publ., 2015, pp. 224–233. (In Russ.)
2. Savanina Ja.V., Lebedeva A.F., Barsky E.L. et al. Dializnoe kul'tivirovanie cianobakterij [Dialysis cultivation of cyanobacteria].

Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya: Biologiya, 2008, no. 2, pp. 16–25. (In Russ.)

3. Fomina I.A., Savanina Ja.V., Barsky E.L. et al. Metod IK-spektroskopii vnutrennego otrazheniya kletok cianobakterij i ih vneshnikh struktur dlja otsenki urovnja zagrazneniya vodotokov [Internal reflection infrared spectroscopy method of cyanobacteria cells and their external structures to assess the level of pollution of streamflows]. Problemy regional'noj ekologii, 2016, no. 6, pp. 18–22. (In Russ.)
4. Fomina I.A., Savanina Ja.V., Barsky E.L. et al. Sravnitel'naja otsenka urovnja zagrazneniya vodotokov metodom spektroskopii vnutrennego otrazheniya v IK-diapazone kletok dializnoj kul'tury cianobakterij i metodami chimicheskogo kontrolja [Comparative assessment of the level of pollution of streamflows by spectroscopy of internal reflection in the IR range of cells of dialysis culture of cyanobacteria and methods of chemical control]. Problemy regional'noj ekologii, 2017, no. 3, pp. 22–26. (In Russ.)

Контактная информация:

Лобакова Елена Сергеевна, доктор биологических наук, профессор, зам. зав. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова
тел.: +7 (495) 939-41-69, e-mail: gene_b@mail.ru

Contact information:

Lobakova Elena, Doctor of Biological Sciences, Professor, Deputy governor of Bioengineering Department of School of Biology of Lomonosov Moscow State University
phone: +7 (495) 939-41-69, e-mail: gene_b@mail.ru

© Березняк Е.А., Тришина А.В., Симонова И.Р., Веркина Л.М., Полеева М.В., 2018

УДК 579.61:615.33:614.7:(470.61)

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ВОДОЕМАХ Г. РОСТОВА-НА-ДОНУ

Е.А. Березняк, А.В. Тришина, И.Р. Симонова, Л.М. Веркина, М.В. Полеева

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора,
ул. Максима Горького, 117/40, г. Ростов-на-Дону, 344002, Россия

В 2016 и 2017 гг. проведено изучение и анализ распространенности в водоемах г. Ростова-на-Дону резистентных к антибактериальным препаратам (АБП) условно-патогенных микроорганизмов (УПМ). Выделено 1 522 штамма, идентифицирован 101 вид микроорганизмов. В 2016 г. доля неферментирующих микроорганизмов (НФМ) составила 45,9 %, энтеробактерий – 28,6 %, аэромонад – 24,9 %. В 2017 г. доминировали представители сем. Аэромонадацевые (39,1 %) и Enterobacteriaceae (37,5 %), доля НФМ составила 23,0 %. Результаты изучения антибиотикорезистентности УПМ показали, что в 2017 г. снизилась доля чувствительных и монорезистентных бактерий, и возросло число штаммов с множественной антибиотикорезистентностью. Резистентные штаммы, выделяемые из внешней среды, необходимо рассматривать как возможные источники угрозы биологической безопасности.

Ключевые слова: условно-патогенные микроорганизмы, водоемы, антибиотикорезистентность.

E.A. Bereznyak, A.V. Trishina, I.R. Simonova, L.M. Verkina, M.V. Poleeva □ PREVALENCE AND ANTIBIOTIC RESISTANCE OF OPPORTUNISTIC PATHOGENIC MICROORGANISMS IN WATER RESERVOIRS OF ROSTOV-ON-DON CITY □ Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor, 117/40 M. Gor'kogo str., Rostov-on-Don, 344002, Russia.

In 2016 and 2017 the study and analysis of the prevalence of opportunistic pathogenic microorganisms (OPM), resistant to antibacterial drugs in the water reservoirs of Rostov-on-Don were carried out. 1522 strains were isolated and 101 species of microorganisms were identified. In 2016 the percentage of non-fermentative microorganisms (NFM) was 45,9 %, Enterobacteriaceae – 28,6 % and Aeromonadaceae – 24,9 %. In 2017 dominating were the representatives of Aeromonadaceae (39,1 %) and Enterobacteriaceae (37,5 %), the portion of NFM amounted to 23,0 %. The results of OPM antibiotic resistance study demonstrate that in 2017 the proportion of sensitive and monoresistant bacteria considerably decreased, and the number of strains with multiple antibiotic resistances increased. The resistant strains isolated from the external environment should be considered as possible sources of threats to biological security.

Key words: opportunistic-pathogenic microorganisms, water reservoirs, antibiotic resistance.

В последние годы в результате продолжающегося интенсивного применения антибиотиков появляются микроорганизмы, устойчивые к различным группам АБП. Это является серьезной проблемой, которая подрывает усилия по борьбе с инфекционными болезнями [4, 8, 9].

Всемирная организация здравоохранения в феврале 2017 г. опубликовала список устойчивых к действию антибиотиков бактерий, так называемых «приоритетных патогенов», пред-

ставляющих наибольшую угрозу для здоровья человека. К первой категории приоритетности – «критически высокий уровень приоритетности» – отнесены бактерии с множественной лекарственной устойчивостью, относящиеся к группе НФМ, – *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и различные виды семейства *Enterobacteriaceae* (включая *Klebsiella*, *E.coli*, *Serratia* и *Proteus*) [10].

В последнее время появились доказательства того, что экологические места обитания,

особенно водоемы, реки и озера, являются идеальной средой для передачи маркеров устойчивости к АБП среди микроорганизмов. Взаимодействие устойчивых к АБП бактерий с автохтонной микрофлорой способствует селекции антибиотикорезистентных штаммов и преобладанию устойчивых бактерий, приводящему к глобальному нарушению экосистемы [9].

Санитарно-гигиенический мониторинг, проводимый в разных регионах мира, в том числе и в России, показывает широкое распространение в водоемах различных микроорганизмов – аэромонад, вибрионов, псевдомонад, многих видов энтеробактерий, обладающих множественной антибиотикорезистентностью [1, 7].

Возрастающая антибиотикорезистентность микроорганизмов, обитающих в окружающей среде, требует проведения комплексных исследований и расширения сотрудничества и обмена информацией среди всех заинтересованных сторон.

Цель исследования – изучение и анализ распространённости в водоемах города Ростова-на-Дону резистентных к АБП условно-патогенных микроорганизмов для оценки масштаба биологической угрозы распространения антибиотикорезистентных штаммов.

Материалы и методы. Отбор проб проводили ежемесячно с мая по сентябрь 2016–2017 гг. в водоемах города Ростова-на-Дону.

Для выделения УПМ использовали питательные стандартные среды общего назначения и специальные (Эндо, Плоскирева, висмут-сульфит агар, хромогенный агар).

Проводили тотальную идентификацию всех колоний. Определение родовой и видовой принадлежности УПМ осуществляли по результатам совокупности биохимических тестов. Для ускоренной идентификации отдельных проб использовали программно-аппаратный комплекс *MALDI Biotyper*.

Чувствительность к АБП определяли методом серийных разведений на *Mueller-Hinton* агаре (*Hi-MEDIA*, Индия). Интерпретацию результатов для сем. *Enterobacteriaceae* и НФМ проводили в соответствии с МУК 4.2.1890–04. Для сем. *Aeromonadaceae* следовали рекомендациям *CLSI* (2009 г.).

Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы *Microsoft Office Excel*.

Результаты исследования. Всего за период наблюдения было выделено 1 522 штамма: 509 штаммов в 2016 г. и 1 013 штаммов в 2017 г., идентифицирован 101 вид микроорганизмов.

В 2016 г. выделены представители 9 различных семейств: *Moraxellaceae*, *Pseudomonaceae*, *Alcaligenaceae*, *Comamonadaceae*, *Brucellaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Aeromonadaceae*, *Vibrionaceae*, *Campylobacteraceae*. Анализ частоты выделения различных микроорганизмов показал, что доля НФМ (семейства: *Moraxellaceae*, *Pseudomonaceae*, *Alcaligenaceae*, *Comamonadaceae*, *Brucellaceae*) в нашем исследовании составила 45,9 % от всех выделенных штаммов (рис. 1). Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* выделялись в 28,6 % случаев, *Aeromonadaceae* составили 24,9 %.

В 2017 г. были выделены: *Moraxellaceae*, *Pseudomonaceae*, *Alcaligenaceae*, *Comamonadaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Xanthomonadaceae*. Доминировали представители семейства *Aeromonadaceae* (39,1 %) и *Enterobacteriaceae* (37,5 %). Доля НФМ составила 23,0 % (рис. 2).



Рис. 1. Распределение доминирующих групп микроорганизмов в 2016 г.

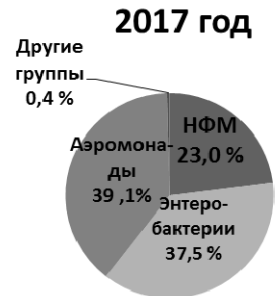


Рис. 2. Распределение доминирующих групп микроорганизмов в 2017 г.

В последнее десятилетие в этиологической структуре нозокомиальных инфекций доминирует грамотрицательная флора. Многоцентровые эпидемиологические исследования, проводимые в России, показали, что энтеробактерии являются наиболее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций, их доля в общей сложности составляет от 33,7 % до 42,0 % от всех выделенных бактериальных возбудителей [3].

Два года наблюдений показали, что видовой состав энтеробактерий отличался многообразием и включал 43 разных вида микроорганизмов, входящих в 22 рода. Доля энтеробактерий составила 34,5 % от общего числа выделенных микроорганизмов. Среди них доминировали: род *Escherichia* (47,1 %), *Enterobacter* (17,5 %), *Klebsiella* (8,7 %), *Citrobacter* (7,8 %). В значительно меньшем количестве встречались представители других родов: *Edwardsiella*, *Ewingella*, *Hafnia*, *Kluyvera*, *Leclercia*, *Serratia*, *Pantoea*, *Raoultella*, *Plesiomonas*, *Proteus*, *Providencia*, *Rahnella*, *Salmonella*, *Cronobacter*, *Dickeya*, *Erwinia*, *Morganella*.

Клинически значимыми среди НФМ являются представители субпопуляции свободноживущих в почве и природных водоемах ацинетобактерий, с которыми часто сопряжено инфицирование раневой поверхности. Доля изолятов рода *Acinetobacter* среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций, выделенных в рамках исследования «МАРАФОН» в 2011–2012 гг., составила 14,8 % [2].

В нашем исследовании доля ацинетобактерий составила 21,8 % от всех штаммов. Были обнаружены: *A. junii*, *A. baumannii*, *A. lwoffii*, *A. calcoaceticus*, *A. baylyi*, *A. haemolyticus*.

Бактерии семейства *Aeromonadaceae* играют существенную роль в этиологии острых кишечных заболеваний [5]. В исследуемых образцах воды доля представителей семейства *Aeromonadaceae* была равна 34,3 %. В структуре рода *Aeromonas* идентифицировано 7 видов: *A. caviae*, *A. veronii*, *A. media*, *A. salmonicida*, *A. jandaei*, *A. bestiarum*, *A. hydrophila*. Из них

более половины составили штаммы *A. caviae* – 54 %, штаммы *A. veronii* составили 19,6 % и *A. media* – 16,3 %.

Все микроорганизмы, выделенные в процессе мониторинга из водоемов, были проанализированы на чувствительность/устойчивость к противомикробным препаратам. «Умеренно резистентные» и «резистентные» штаммы были объединены в категорию «резистентные». В соответствии с международными критериями в группу полирезистентных вошли микроорганизмы с устойчивостью как минимум к трем различным группам АБП [6]. НФМ в настоящем исследовании составляют одну из доминирующих групп микроорганизмов. Чувствительными ко всем АБП в этой группе в 2016 г. были 35,5 % штаммов, монорезистентными – 43,2 % (табл. 1). В 2017 году наблюдалось значительное снижение доли чувствительных штаммов (до 12,9 %) и монорезистентных штаммов (до 26,3 %). При этом доля полирезистентных штаммов выросла за год более чем в четыре раза: с 9,4 до 39,5 % соответственно.

В группе энтеробактерий и аэромонад (табл. 1) монорезистентных штаммов в 2017 году также стало меньше. Доля микроорганизмов, устойчивых к трем и более АБП, среди энтеробактерий осталась на том же уровне, среди аэромонад выросла с 72,6 до 81,8 %.

На протяжении двух лет сохраняется высокий уровень устойчивости энтеробактерий и аэромонад к ампициллину, ко-тримоксазолу, налидиксовой кислоте.

Следует отметить, что по сравнению с 2016 г. почти в пять раз выросло число штаммов, резистентных к меропенему (с 1,8 до 8,2 %) и цефепиму (с 0,7 до 3,7 %). Еще более изменилась

частота встречаемости микроорганизмов, резистентных к имипенему – с 3,6 до 27,5 %.

Суммарные данные за 2016 и 2017 гг. по чувствительности/устойчивости к антибактериальным препаратам НФМ свидетельствуют о повышении частоты резистентности к большинству антимикробных препаратов (ципрофлоксацину, доксициклину, цефтриаксону, ко-тримоксазолу, цефепиму) за исследуемый период. Единственным антибиотиком, к которому доля резистентных штаммов не изменилась, являлся гентамицин. Значительно выросла доля штаммов, резистентных к левомицетину (с 9,8 до 45,5 %) и цефоперазону/сульбактаму (с 2,5 до 10,7 %). Карбапенемы в 2016 г. характеризовались высокой активностью – 0,4 %, однако в 2017 г. количество штаммов, нечувствительных к меропенему, увеличилось до 4,3 %, а к имипенему – возросло до 21,9 %.

Выводы. В процессе проведенного мониторинга изучен широкий спектр условно-патогенных микроорганизмов, циркулирующих в водоемах города. В 2016 г. доля НФМ составила 45,9 %, энтеробактерий – 28,6 %, аэромонад – 24,9 %. В 2017 г. доминировали представители сем. *Aeromonadaceae* (39,1 %) и *Enterobacteriaceae* (37,5 %), доля НФМ составила 23,0 %. Показано, что снизилась доля чувствительных и монорезистентных бактерий, и возросло число штаммов с множественной антибиотикорезистентностью.

В заключение следует подчеркнуть, что природные резервуары микроорганизмов, в которых возбудители приобретают устойчивость к антибактериальным препаратам, необходимо рассматривать как возможные источники угрозы биологической безопасности.

Таблица 1. Чувствительность к АБП доминирующих групп микроорганизмов (%)

	НФМ		Энтеробактерии		Аэромонады	
	2016 г. (n = 234)	2017 г. (n = 232)	2016 г. (n = 146)	2017 г. (n = 381)	2016 г. (n = 127)	2017 г. (n = 396)
Чувствительные	35,5 %	12,9 %	0	0,5 %	0,8 %	0,3 %
Монорезистентные	43,2 %	26,3 %	9,6 %	2,6 %	8,9 %	5,3 %
Полирезистентные	9,4 %	39,6 %	79,5 %	79,5 %	72,6 %	81,8 %

Примечание: n – число выделенных штаммов.

ЛИТЕРАТУРА

(п. 4–10 см. References)

- Журавлев П.В., Панасовцев О.П., Алешня В.В. и др. Антибиотикорезистентность бактерий, выделенных из воды открытых водоемов // Здоровье населения и среда обитания. 2015. № 5. С. 24–26.
- Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2014. Т. 16. № 4. С. 266–272.
- Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2014. Т. 16. № 4. С. 25–265.

REFERENCES

- Zhuravljov P.V., Panasovets O.P., Alehnja V.V. et al. Antibiotikorezistentnost' bakterij, vydelennyh iz vody otkrytykh vodoemov [Antibiotic resistance of bacteria isolated from open water bodies]. Zdorov'e naselenija i sreda obitaniya, 2015, no. 5, pp. 24–26. (In Russ.)
- Sukhorukova M.V., Ejdel'shtejn M.V., Skleenova E.Ju. et al. Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nykh shtammov *Acinetobacter* spp. v stacionarakh Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo epidemiologicheskogo issledovanija MARAFON v 2011–2012 gg. [Antibiotic resistance of nosocomial strains of *Acinetobacter* spp. in hospitals in Russia: results of multicenter epidemiological study MARATHON in 2011–2012]. Klinicheskaja mikrobiologija i antimitikrobnaja chimioterapija, 2014, Vol. 16, no. 4, pp. 266–272. (In Russ.)
- Sukhorukova M.V., Ejdel'shtejn M.V., Skleenova E.Ju. et al. Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nykh shtammov *Enterobacteriaceae* v stacionarakh Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo epidemiologicheskogo issledovanija MARAFON v 2011–2012 gg. [Antibiotic resistance of *Enterobacteriaceae* nosocomial strains in Russian hospitals: results of multicenter epidemiological study MARATHON in 2011–2012]. Klinicheskaja mikrobiologija i antimitikrobnaja chimioterapija, 2014, Vol. 16, no. 4, pp. 25–265. (In Russ.)

- Bassetti M. et al. Multidrug-resistant Gram-negative Bacteria-Resistant Infections: Epidemiology, Clinical Issues and Therapeutic Options / M.Bassetti, D.Pecon, M.Peghin // Italian J. of Medicine 2016. URL: <http://www.italjmed.org/index.php/ijm/article/view/itjm.2016.802/931>
- Igbinsola I.H. et al. Emerging *Aeromonas* Species Infections and Their Significance / I.H. Igbinsola, E.U. Igumbor, T.F.A. Mvuyo, A.I. Okoh // Scientific World Journal. 2012. 625023. Published online 2012 Jun 4. doi: 10.1100/2012/625023.
- Magiorakos A.P. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance / A.P. Magiorakos, A. Srinivasan, R.B. Carey, Y. Carmeli // Clin. Microbiol. Infect. 2012. № 3. P. 268–281.
- Narciso-da-Rocha C. et al. Multidrug resistance phenotypes are widespread over different bacterial taxonomic groups thriving in surface water / C. Narciso-da-Rocha, C.M. Manaia // Science of The Total Environment. 2016. V. 563–564. P. 1–9.
- Roca I. et al. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention / I.Roca, M.Akova, F.Baquero, J.Carlet, M.Cavaleri, S.Coenen, J.Cohen, D.Findlay et al. // New Microbes and New Infections. 2015. V. 6. P. 22–29.
- Vaz-Moreira I. et al. Bacterial diversity and antibiotic resistance in water habitats: searching the links with the human microbiome / I.Vaz-Moreira, O.C.Nunes, C.M.Manaia // FEMS Microbiol. Rev. 2014. V. 38. P. 761–778.
- Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. 2017. URL: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/bacteria-antibiotics-needed/ru/>

Контактная информация:

Березняк Елена Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологической безопасности и лечения ООИ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
тел.: +7 (863) 234-23-11, e-mail: labbiobez@mail.ru

Contact information:

Bereznyak Elena, Kandidat of Biological Sciences, senior scientific officer of laboratory biological safety and treatment of especially dangerous infections of Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
phone: +7 (863) 234-23-11, e-mail: labbiobez@mail.ru