

© Катаева Л.В., Степанова Т.Ф., Посоюзных О.В., Ташланова В.В., Карпухина Н.Ф., Колотова О.Н., Бычкова Л.А., 2018

УДК 616-093/-098

К ВОПРОСУ РАСПРОСТРАНЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА *AEROMONAS* В ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ И КЛИНИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

Л.В. Катаева, Т.Ф. Степанова, О.В. Посоюзных, В.В. Ташланова,
Н.Ф. Карпухина, О.Н. Колотова, Л.А. Бычкова

ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии»
Роспотребнадзора, ул. Республики, 147, г. Тюмень, 625026, Россия

Анализ случаев обнаружения бактерий рода *Aeromonas* в клиническом материале из различных локусов пациентов лечебных организаций, их видовое разнообразие, выделение в монокультуре и ассоциациях, резистентность к антибиотикам и весенне-осенние подъемы свидетельствуют об этиологической значимости этих микроорганизмов в инфекционном процессе. Для совершенствования биологической безопасности водных биотопов актуальным является изучение их микробиоценоза, в частности циркуляции бактерий рода *Aeromonas*, с целью получения информации о патогенных свойствах, антибиотикорезистентности, сезонных колебаниях. Для предотвращения распространения инфекций *Aeromonas* необходимо проведение санитарно-бактериологических исследований водных объектов, объектов окружающей среды, а также пищевых продуктов.

Ключевые слова: виды бактерий, род *Aeromonas*, клинический материал, водные объекты.

L.V. Kataeva, T.F. Stepanova, O.V. Posoyuznykh, V.V. Tashlanova, N.F. Karpukhina, O.N. Kolotova, L.A. Bychkova □ ON THE ISSUE OF THE SPREAD OF *AEROMONAS* BACTERIA IN THE ENVIRONMENT AND CLINICAL MATERIAL □ Tyumen Scientific Research Institute of Regional Infectious Pathology of Rospotrebnadzor, 147, Respubliki str., Tyumen, 625026, Russia.

The analysis of cases of detection of bacteria of the genus *Aeromonas* in clinical material from various loci of patients of medical organizations was carried out. Their species diversity, isolation in monoculture and associations, resistance to antibiotics and spring-autumn rises indicate the etiological significance of these microorganisms in the infectious process. To improve the biological safety of aquatic biotopes, it is important to study their microbiocenosis, in particular, the circulation of bacteria of the genus *Aeromonas*, in order to obtain information on pathogenic properties, antibiotic resistance, and seasonal fluctuations. To prevent the spread of *Aeromonas* infections, it is necessary to carry out sanitary and bacteriological studies of water bodies, environmental objects and food products.

Key words: bacterial species, genus *Aeromonas*, clinical material, water objects.

Бактерии рода *Aeromonas* – вездесущие микроорганизмы земной и водной среды. Их биологической особенностью является способность к свободному обитанию в пресной и соленой воде. Некоторые виды *Aeromonas* являются патогенами рыб: *Aeromonas salmonicida*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas media*. В литературе все чаще бактерии этого рода упоминаются в связи с их ролью в инфекционной патологии человека. Основными видами *Aeromonas*, ответственными за инфекции человека и животных, являются: *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas caviae*, *Aeromonas veronii biogroup sobria*. Считается, что *Aeromonas* являются одной из основных причин гастроэнтерита, диареи, инфекций мягких тканей, мышечных инфекций, сепсиса и кожных заболеваний [2, 10, 11, 13, 14, 16, 17].

Доказана роль *Aeromonas hydrophila* в возникновении пищевой инфекции, несмотря на то, что более детальная идентификация их стала разрабатываться лишь в последнее время. При заражении бактериями *Aeromonas hydrophila* у людей с ослабленным иммунитетом может развиваться септицемия, в этом случае инфекция приобретает угрожающий жизни характер, поражая мозг, кости, почки, глаза, мягкие ткани [1].

Бактерии рода *Aeromonas* представляют серьезную проблему для многих стран Европы

и Азии, в которых аэромонадная инфекция составляет от 1 до 13 % острых кишечных заболеваний у взрослых и до 50 % у детей [2]. При исследовании смывов с предметов производственной среды отделения реанимации и интенсивной терапии новорождённых Национального госпиталя педиатрии г. Ханой СРВ в 20,97 % проб были изолированы *A. caviae*, *A. hydrophila* [8]. По данным китайских исследователей, наиболее распространенными видами, изолированными из фекалий при диарее и воды, были *A. veronii* (42,5 %) и *A. caviae* (37,5 %) [12].

При исследовании микробного пейзажа воды и донного грунта пресных водоемов юга Тюменской области выделялись следующие виды аэромонад: *A. veronii*, *A. hydrophila* и *A. ichthiosmia* – из воды, из донного грунта – *A. veronii* и *A. ichthiosmia* [3]. Из 97 проб водных объектов г. Ульяновска и Ульяновской области было выделено 17 штаммов *A. salmonicida*, что составило 17,5 % положительных проб. При изучении распространения *A. hydrophila* исследовали 189 проб воды открытых водоемов Ульяновской области (128 проб озерной воды и 60 проб речной воды). Из озерной воды данный микроорганизм выделяли в 9,1 % исследуемых проб, из речной воды – в 2,7 % проб [1, 2, 5].

В развитии инфекции, связанной с бактериями *Aeromonas*, может играть роль не только водный фактор, но также и алиментарный.

Особую опасность для человека представляют контаминированные аэромонадами морепродукты (рыба, ракообразные, моллюски), продукты растительного происхождения (овощи, фрукты, ягоды), а также свинина, говядина, баранина и мясо птицы, молочные продукты и непосредственно вода [1, 9, 11].

Цель исследования – анализ случаев обнаружения бактерий рода *Aeromonas* в клиническом материале из различных локусов пациентов лечебных организаций некоторых регионов Западной Сибири для решения вопросов биобезопасности водных объектов.

Материалы и методы. При проведении клинического бактериологического исследования 102 больных с проявлениями бактериальной инфекции из проб различного биоматериала выделено 103 штамма бактерий рода *Aeromonas*. Средний возраст пациентов составил 27 лет, в том числе аэромонады были обнаружены у 16 детей до 5 лет. Среди обследованных больных 7 человек проживали в ЯНАО (Ямало-Ненецкий автономный округ), 52 пациента – жители ХМАО-Югры (Ханты-Мансийский автономный округ), 43 – жители юга Тюменской, Курганской и Свердловской областей.

Посев клинического материала и выделение штаммов осуществлялись общепринятыми методами в соответствии с приказом Минздрава СССР от 22.04.1985 № 535 [6]. Идентификация выделенных штаммов бактерий проведена с помощью бактериологического анализатора по биохимическим тестам, видовая идентификация аэромонад осуществлялась по прямому белковому профилированию с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с программным обеспечением Maldi BioTyper 3.0. Уровень достоверности выше 2,0 свидетельствовал о точной видовой идентификации. Для каждого исследованного штамма бактерий приводилась ссылка на NCBI (*National Center for Biotechnology Information*).

Статистическую обработку материала по видовому составу и биологическим свойствам осуществляли в компьютерной оболочке Windows с помощью процессора электронных таблиц Microsoft Office Excel 2003 с вычисле-

нием показателей: средней арифметической (M), средней ошибки средней величины (m), коэффициента корреляции (r). Полученные данные были подвергнуты статистической обработке параметрическим методом с применением t -критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Анализ случаев выделения бактерий рода *Aeromonas* из клинического материала больных показал, что чаще всего они изолировались из мочи – 53,9 % (55) штаммов, в 17,65 % (18) проб обнаруживались в мазках со слизистой зева, в 12,7 % (13) – при проведении исследований фекалий на дисбактериоз. Кроме того, единичные штаммы аэромонад были выделены со слизистой носа, из бронхов, мокроты, цервикального канала, влагалища, грудного молока, кисты семенного канатика, уха, раневого отделяемого и при патолого-анатомическом исследовании трахеи.

Из 18 видов рода *Aeromonas*, указанных в NCBI (*A. bestiarum*, *A. caviae*, *A. encheleia*, *A. enteropelogenes*, *A. eucrenophila*, *A. hydrophila*, *A. ichthiosmia*, *A. jandae*, *A. media*, *A. molluscorum*, *A. popoffii*, *A. punctata*, *A. salmonicida* (2), *A. schubertii*, *A. simiae*, *A. sobria*, *A. veronii* – база Maldi-Tof MS), нами выделено и идентифицировано 9 штаммов (рис. 1). Не удалось идентифицировать до вида 4 штамма. Видовая характеристика бактерий рода *Aeromonas*, изолированных из различных проб биоматериала, характеризовалась разнообразием. Наиболее часто идентифицировались виды *A. caviae* и *A. hydrophila*.

Анализ сезонности выделения аэромонад из клинического материала по месяцам показал два «пика» подъема – апрель и сентябрь. Причем сезонные подъемы характерны как для южных районов Тюменской области, так и ХМАО-Югры (рис. 2). Показатель корреляционной зависимости помесечной динамики обнаружения аэромонад у больных в этих регионах составил 0,81.

Данные литературы подтверждают существование сезонных различий по частоте обнаружения этих микроорганизмов в воде открытых водоемов, подъем отмечается в период с мая по сентябрь [1].

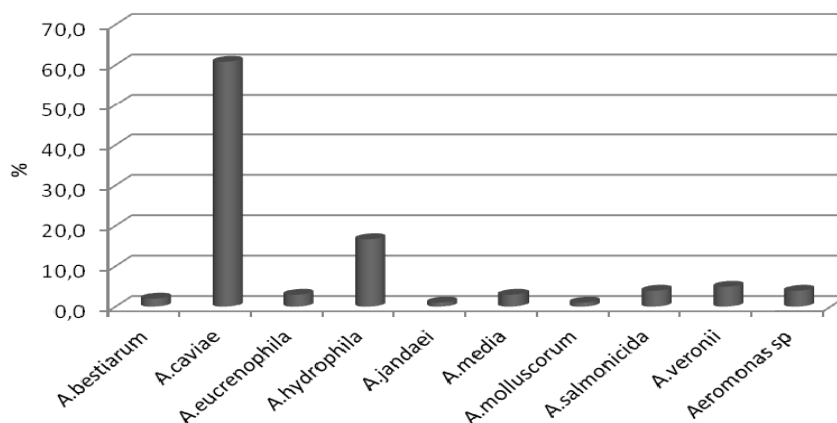


Рис. 1. Структура видового состава бактерий рода *Aeromonas*, выделенных из клинического материала
Figure 1. The structure of the species composition of bacteria of the genus *Aeromonas* isolated from clinical material

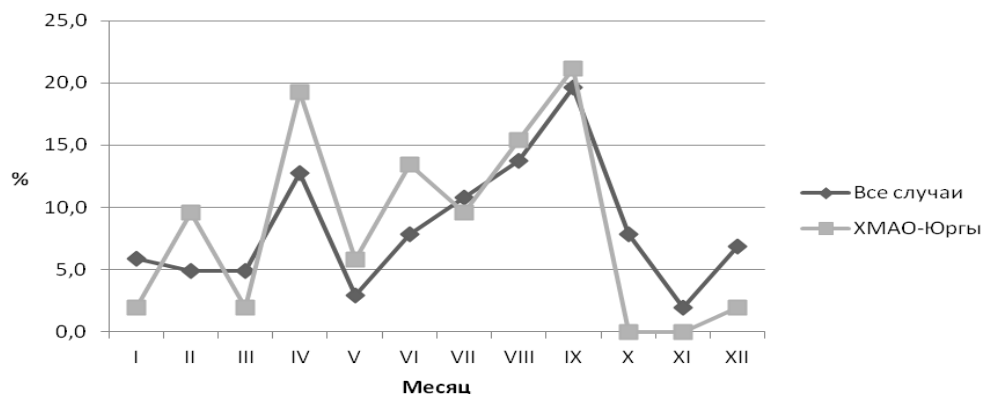


Рис. 2. Помесячное распределение случаев обнаружения *Aeromonas* в клиническом материале
Figure 2. The monthly distribution of cases of detection of *Aeromonas* in clinical material

Проведенные исследования показали, что в 48,04 % проб биоматериала бактерии рода *Aeromonas* изолировались в монокультуре, в остальных пробах аэромонады выделялись в ассоциациях: 34,3 % проб – 2 культуры микроорганизмов, 12,74 % – 3 культуры и 4,9 % – 4 вида бактерий. В одной пробе биоматериала было обнаружено 5 видов микроорганизмов (из наружного слухового прохода). В ассоциациях с аэромонадами высевались бактерии родов *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* и другие условно-патогенные микроорганизмы. Кроме того, важно отметить, что выделенные из биоматериала бактерии рода *Aeromonas* в 90 % случаев обладали гемолитической активностью независимо от вида, локуса выделения, ассоциации или монокультуры.

Исследование чувствительности к антибактериальным препаратам аэромонад проводилось методом серийных разведений [7]. По минимальной ингибирующей концентрации (МИК) выявлена резистентность к тикарциллину/клавуланату (группа пенициллинов + ингибитор β -лактамаз) и колистину (группа полимиксинов).

Бактерии рода *Aeromonas* относятся к семейству *Aeromonadaceae*. Это факультативно анаэробные грамотрицательные палочки, чаще подвижные, оксидазоположительные, каталазоположительные, разжижают желатин. По сбраживанию углеводов, образованию сероводорода и гидролиза мочевины отмечается вариация признаков. В естественных условиях они способны размножаться при температуре от 4 °C до 45 °C, а также при pH среды от 4,5 до 9,8.

Патогенные свойства аэромонад проявляются благодаря наличию у них цитолитического токсина, энтеротоксина, β -гемолизина. Показано, что водные штаммы аэромонад обладают гемолитической активностью и характеризуются отсутствием лизоцима и плазмокоагулазы [4]. Анализ гемолитической и протеолитической активности бактерий рода *Aeromonas* свидетельствует о том, что наиболее вирулентными могут считаться штаммы, выделенные из сточных вод и открытых водоемов, а так же молока [1].

Результаты изучения чувствительности к антибактериальным препаратам (АБП) среди потенциально патогенных штаммов аэромонад демонстрируют их повышенную резистентность, что свидетельствует о существующей угрозе развития аэромонадной инфекции. Отмечено, что среди изолятов, устойчивых к тетра-

циклину и ципрофлоксацину, преобладали два вида – *Aeromonas hydrophila* и *A. veronii* [15]. Кроме того, среди штаммов, выделенных из воды, устойчивость к девяти антибиотикам была значительно выше, чем у штаммов, изолированных из фекалий при диарее ($P \leq 0,003$). Так, количество водных штаммов аэромонад, обладающих множественной резистентностью к антибиотикам (MAR), составило 30,2 % (19/63), в то время как из фекалий – 8,6 % (16/187). В данном исследовании указывается на множество факторов, связанных с патогенезом *Aeromonas*, и показано, что экологические штаммы *Aeromonas* обладали более широким спектром MAR по сравнению с клиническими источниками [12].

В соответствии с нормативно-методическим документом [7], в критериях интерпретации определения чувствительности по значению диаметра подавления роста (мм) и МПК (мг/л) бактерии *Aeromonas* отсутствуют. Есть упоминание, что при определении чувствительности других неферментирующих бактерий (НФБ) необходимо использовать метод серийных разведений, но отнести аэромонады к НФБ нельзя, потому что они расщепляют углеводы. Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (EUCAST 2017, версия 7.0) также не содержат информации по методам определения чувствительности к АБП и критериям оценки. Поэтому лечащие врачи, сталкиваясь с таким микроорганизмом, вынуждены проводить антибактериальную терапию эмпирически.

Анализ случаев обнаружения бактерий рода *Aeromonas* в клиническом материале из различных локусов пациентов лечебных организаций, их видовое разнообразие, выделение в монокультуре и ассоциациях, резистентность к антибиотикам и весенне-осенние подъемы свидетельствуют об этиологической значимости этих микроорганизмов в инфекционном процессе.

Повышенные концентрации аэромонад в водных экосистемах в теплые месяцы года [2] создают возможность для воздействия на организм рыбы, животных и человека. В таком случае повышается риск колонизации этими микробами, а также развития бактериальной инфекции. Поскольку животные являются резервуаром для внедрения и обмена видов *Aeromonas* в окружающем микробном мире, потенциал

для инфекции *Aeromonas* зоонозного происхождения постоянно нарастает [11].

Хотя некоторые виды аэромонад являются патогенами человека, их присутствие, плотность и относительное изобилие редко учитываются при оценке качества воды [15–17]. Статистических данных о циркуляции *A. hydrophila* и других аэромонад в объектах ветеринарно-санитарного надзора в нашей стране не существует. Целенаправленного поиска аэромонад в пищевом сырье и продуктах не проводится, так как наличие этих микроорганизмов не регламентируется действующими нормативными документами. Кроме этого, практические бактериологи имеют недостаточный комплект методических разработок по выделению и идентификации бактерий рода *Aeromonas* [9].

Выводы. Учитывая выраженную вариацию биохимических признаков бактерий рода *Aeromonas*, существует необходимость разработки диагностических препаратов для их идентификации. Кроме того, остается нерешенным вопрос в отношении критериев оценки чувствительности к антибиотикам, так как диско-диффузионный метод для аэромонад в настоящее время не разработан. Таким образом, для совершенствования биологической безопасности водных биотопов актуальным является изучение их микробиоценоза, в частности циркуляции бактерий рода *Aeromonas*, с целью получения информации о патогенных свойствах, антибиотикорезистентности, а также сезонных колебаниях. Для предотвращения распространения инфекций *Aeromonas* необходимо проведение санитарно-бактериологических исследований водных объектов, объектов окружающей среды, а также пищевых продуктов. В перспективе необходимо решение вопроса о внесении их в критерии оценки качества, в первую очередь, водных объектов.

ЛИТЕРАТУРА (п. 10–17 см. References)

1. Канаева Т.И., Афонин Э.А. Выделение и идентификация *Aeromonas hydrophila* из пищевых продуктов // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. 2009. № 4. С. 86–87.
2. Канаева Т.И. Разработка методов выделения и идентификации бактерий *Aeromonas hydrophila*: автореф. дисс. ... к.б.н. Саратов, 2009.
3. Катаева Л.В., Карпукхина Н.Ф., Степанова Т.Ф. и др. Микробиоценоз моллюсков рода *Codiella* как основа формирования симбиотических отношений в системе «паразит – хозяин» при описторхозе // Медицинская паразитология. 2014. № 3. С. 13–17.
4. Катаева Л.В., Перунова Н.Б., Карпукхина Н.Ф. и др. Биологическая характеристика бактерий рода *Aeromonas*, выделенных из моллюсков-битинид и водоема // Вестник Оренбургского государственного университета. 2015. № 4. С. 236–239.
5. Куклина Н.Г., Васильев Д.А., Нафеев А.А. и др. Разработка бактериологической схемы выделения и идентификации бактерий *Aeromonas salmonicida* // Международный научно-исследовательский журнал. 2017. № 4. С. 27–30.
6. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 № 535: [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://base.garant.ru/4171962/#friends> (дата обращения: 04.05.2018).
7. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: МУК 4.2.1890–04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.
8. Степанова Т.Ф., Катаева Л.В., Ребещенко А.П. и др. Структура микрофлоры производственной среды отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных Национального госпиталя педиатрии г. Ханой, СРВ // Здоровье населения и среда обитания. 2017. № 11. С. 53–56.
9. Хомякова Т.И. Морфология воспаления и реакции органов иммунной системы при инфицировании мышей раз-

ных линий *Aeromonas hydrophila*: автореф. дисс. ... к.м.н. М., 2006.

REFERENCES

1. Kanaeva T.I., Afonin E.A. Vydelenie i identifikatsiya *Aeromonas hydrophila* iz pishchevykh produktov [Isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* from food products]. *Voprosy normativno-pravovogo regulirovaniya v veterinarii*, 2009, no. 4, pp. 86–87. (In Russ.)
2. Kanaeva T.I. Razrabotka metodov vydeleniya i identifikatsii bakterij *Aeromonas hydrophila*: avtoref. diss. kand. biol. nauk [Development of methods for isolation and identification of *Aeromonas hydrophila* bacteria: summary of the thesis ... od PhD in Biology]. Saratov, 2009. (In Russ.)
3. Kataeva L.V., Karpukhina N.F., Stepanova T.F. et al. Mikrobiocenozy mollyuskov roda *Codiella* kak osnova formirovaniya simbioticheskikh otноshenij v sisteme «parazit-hozyain» pri opistorhoze [Microbiocenosis of mollusks of the genus *Codiella* as the basis for the formation of symbiotic relationships in the «parasite-host» system in opisthorchiasis]. *Meditinskaya parazitologiya*, 2014, no. 3, pp. 13–17. (In Russ.)
4. Kataeva L.V., Perunova N.B., Karpukhina N.F. et al. Biologicheskaya kharakteristika bakterij roda *Aeromonas*, vydelennykh iz mollyuskov – bitinid i vodoeма [Biological characteristics of the bacteria of the genus *Aeromonas*, isolated from mollusks – bitinids and water body]. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2015, no. 4, pp. 236–239. (In Russ.)
5. Kuklina N.G., Vasil'ev D.A., Nafeev A.A. Razrabotka bakteriologicheskoy skhemy vydeleniya i identifikatsii bakterij *Aeromonas salmonicida* [Development of a bacteriological scheme for the isolation and identification of *Aeromonas salmonicida* bacteria]. *Mezhdunarodnyy nauchno-issledovatel'skiy zhurnal*, 2017, no. 4, pp. 27–30. (In Russ.)
6. Ob unifikatsii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniya, primenyaemykh v kliniko-diagnosticheskikh laboratoriyakh lechebno-profilakticheskikh uchrezhdenij: Prikaz Minzdrava SSSR ot 22.04.1985 № 535 [On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions: Order of the Ministry of Health of the USSR of 22.04.1985 no. 535]. Available at: <http://base.garant.ru/4171962/#friends> (accessed 04.05.2018). (In Russ.)
7. Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam: Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.1890–04 [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: MUK 4.2.1890–04]. Moscow, Federal'nyy centr gossanepidnadzora Minzdrava Rossii: Publ., 2004, 91 p. (In Russ.)
8. Stepanova T.F., Kataeva L.V., Rebeschchenko A.P. et al. Struktura mikroflory proizvodstvennoy sredy otdeleniya reanimatsii i intensivnoy terapii novorozhdennykh Natsional'nogo gospiat'ya peditrii g. Hanoi, SRV [Structure of microflora of production environment of the reanimation and intensive therapy of newborns of the National Hospital of Pediatrics in Hanoi, Vietnam]. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya*, 2017, no. 11(296), pp. 53–56. (In Russ.)
9. Khomyakova T.I. Morfologiya vospaleniya i reaktsii organov immunnogo sistema pri infitsirovani myshej raznykh linij *Aeromonas hydrophila*: avtoref. diss. kand. med. nauk [Morphology of inflammation and response of the organs of the immune system in the infection of mice of different lines of *Aeromonas hydrophila*: summary of the thesis ... od PhD in Medicine]. Moscow, 2006. (In Russ.)
10. Baron S., Granier S.A., Larvor E. [et al.] *Aeromonas* Diversity and Antimicrobial Susceptibility in Freshwater: An Attempt to Set Generic Epidemiological Cut-Off Values. *Front Microbiol*, 2017, no. 8, pp. 503.
11. Janda J.M., Abbott S.L. The Genus *Aeromonas*: Taxonomy, Pathogenicity, and Infection. *Clin. Microbiol. Reviews*, 2010, no. 23(1), pp. 35–73.
12. Li F., Wang W., Zhu Z. [et al.] Distribution, virulence-associated genes and antimicrobial resistance of *Aeromonas* isolates from diarrheal patients and water, China. *J. Infect*, 2015, no. 70(6), pp. 600–608.
13. Haffareass Y. The genus *Aeromonas*. *Vestnik sovetov molodykh uchennykh i spetsialistov Chelyabinskoy oblasti*, 2017, vol. 3, no. 2(17), pp. 80–83.
14. Hatje E., Neuman C., Katouli M. Interaction of *Aeromonas* strains with lactic acid bacteria via Caco-2 cells. *Appl. Environ. Microbiol*, 2014, no. 80(2), pp. 681–686.
15. Skwor T., Shinko J., Augustyniak A. [et al.] *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* predominate among potentially pathogenic ciprofloxacin- and tetracycline-resistant aeromonas isolates from Lake Erie, 2014, no. 80(3), pp. 841–848.
16. Usui M., Tagaki C., Fukuda A. [et al.] Use of *Aeromonas* spp. as General indicators of antimicrobial susceptibility among bacteria in aquatic environments in Thailand. *Front. Microbiol.*, 2016, no. 7, pp. 710.
17. Varela A.R., Nunes O.C., Manaia C.M. Quinolone resistant *Aeromonas* spp. as carriers and potential tracers of acquired antibiotic resistance in hospital and municipal wastewater. *Sci. Total Environ*, 2016, no. 542, pp. 665–671.

Контактная информация:

Катаева Любовь Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора
e-mail: KataevaLV@tniikip.rosпотребнадзор.ru

Contact information:

Kataeva Lyubov, Candidate of Medical Sciences, Leading researcher of Tyumen Scientific Research Institute of Regional Infectious Pathology of Rosпотребнадзор
e-mail: KataevaLV@tniikip.rosпотребнадзор.ru