

ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ МИКРОФЛОРЫ ВНУТРЕННИХ ВОДОТОКОВ

Л.В. Ларцева, профессор кафедры экологии и БЖД;
А.А. Истелюева, аспирант кафедры природопользования и землеустройства
Астраханский государственный университет,
тел.: (8512) 52-49-95; e-mail: kamalf@bk.ru

Рецензент: Серебряков О.И.

В статье представлены результаты изучения антибиотикоустойчивости бактерий, выделенных из внутренних водотоков г. Астрахани. Установлено, что микрофлора, выделенная из водоемов в пределах урбанизированных территорий, обладала множественной антибиотикорезистентностью. Выявлена сезонная динамика устойчивости всех штаммов бактерий к испытуемым антибиотикам.

The results of bacterium antibiotic resistance of Astrakhan inland water bodies are presented in the article. It is established that microflora from water bodies within the limits of urban areas has a plural antibiotic resistance. Seasonal dynamics of bacterium stable cultures to researched antibiotics is revealed.

Ключевые слова: гидроэкосистема, городские водотоки, микрофлора, антибиотики, устойчивость, сезонная динамика.

Key words: hydroecosystem, inland water, microflora, antibiotics, stability, seasonal dynamics.

Водоемы в пределах урбанизированных территорий, являющиеся зонами рекреации для населения, в настоящее время испытывают мощное негативное воздействие собственно самой урбанизации. Внутригородские водотоки крупных промышленных центров уже к концу XX в. стали рассматриваться в качестве коллекторов, принимающих сточные воды и жидкие отходы [8]. К таким водотокам г. Астрахани относятся рукава Прямая и Кривая Болда, р. Царев, р. Кутум, Золотой Затон, которые пересекают город в разных направлениях и характеризуются малой водностью и проточностью в связи с регуляцией заполняемости. Следует указать, что в районе точки «Стадион» расположен большой коттеджный поселок, по руслу Прямая Болда находятся мясокомбинат, рыбокомбинат, судоремонтный завод «Первомайский», ГЭС. По руслу Кривая Болда, выше с. Началово, работают очистные сооружения. Последние функционируют и выше района «Стрелка», где начинает свое русло р. Кутум. В русла этих водотоков выходят трубы канализационного сброса, водотоки значительно загрязнены мусорными отходами и различными токсикантами, в том числе тяжелыми металлами, в них происходят процессы круговорота органического вещества, обусловленного жизнедеятельностью биологических сообществ водоемов [1].

Длительное антропогенное воздействие на водоемы приводит к изменению адаптационных механизмов микрофлоры, повышению ее вирулентности и антибиотикорезистентности. Так, экспериментально было установлено, что условно-патогенная микрофлора увеличивает свою биомассу и усиливает факторы вирулентности при взаимодействии с некоторыми тяжелыми металлами и продуктами углеводородов [2, 3]. Кроме того, в настоящее время в

животноводстве и птицеводстве антибиотики применяют повсеместно не только для лечения и профилактики заболеваний, но и для стимуляции роста и откорма. Ветеринары считают, что без антибиотиков невозможно было бы создать современную технологию содержания животных, повысить их продуктивность и снизить заболеваемость. Однако систематическое загрязнение животноводческой продукции антибиотиками химического и белкового происхождения приводит к возникновению в окружающей среде резистентных форм микроорганизмов, их персистенции и появлению возбудителей, устойчивых к химиопрепараторам [2]. Таким образом, вследствие широкого использования антибиотики стали мощным фактором, определяющим микроэкологические изменения в популяциях бактерий, проявляющиеся в формировании резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [7]. Поэтому проблема резистентности микробов к различным лекарствам стала важной проблемой здоровья в обществе людей. Процесс распространения резистентности бактерий является масштабным и нарастающим, что связано с географическими условиями и быстрой эволюцией во времени [2, 3, 10].

В связи с этим изучение антибиотикоустойчивости микробных сообществ городских водоемов является одним из ключевых вопросов в геоэкологических проблемах региона.

Материалы и методы

Отбор проб осуществляли посезонно в вышеуказанных водоемах согласно ГОСТ 51592–2000. Всего протестировано 390 грамнегативных штаммов бактерий сем. Enterobacteriaceae, составляющих 24,6 % от всех выделенных изолятов микробиоценоза исследуемых нами водотоков. Определение антибиотикорезистентности микроорганизмов проводили в соответствии с общепринятыми методиками [6], интерпретацию результатов проводили согласно международным стандартам NCCLS. Исследована резистентность к 8 antimикробным препаратам (АМП), принадлежащим к различным фармакологическим группам: ампициллин, бензилпенициллин, левомецитин, тетрациклин, тобрамицин, фурадонин, цефазолин и эритромицин. Полирезистентными считали штаммы бактерий, устойчивые к 4 и более антибиотикам. Микроорганизмы, имеющие зоны подавления роста на мясо-пептонном агаре (МПА) при контакте с АМП относили к чувствительным, а не имеющие таких зон – к устойчивым штаммам. Особое внимание уделяли диаметру зоны угнетения роста микроорганизма.

Статистическую обработку материалов проводили с использованием стандартов параметрического и непараметрического критериев, а также пакета компьютерного программирования Statistica for Windows. Значимые различия при $P < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Результаты проведенных исследований показали, что в микробиоценозе водотоков г. Астрахани в последние 3 года доминировали представители сем. Enterobacteriaceae (24,6 % от всей выделенной микрофлоры). В структуре этого семейства преобладали бактерии pp. *Proteus* и *Citrobacter* (15,8 и 44,3 % соответственно), что было статистически достоверно ($P > 0,05$). Индикаторные *E. coli* и *Salmonella* sp. представлены единичными изолятами, что свидетельствует о продолжающемся антропогенном прессинге. Такая же тенден-

ция в бактериоценозе всей гидроэкосистемы дельты р. Волги была отмечена и ранее [3–5].

В анализируемом материале все выделенные нами виды энтеробактерий обладали множественной антибиотикорезистентностью. Независимо от сезонов года и мест отбора проб они проявляли максимальную чувствительность к тобрамицину и тетрациклину; затем – по убывающей – к левомектину, ампициллину, эритромицину, цефазолину и фурадонину. Минимальная чувствительность у всех бактерий была зарегистрирована к бензилпенициллину (рис. 1).

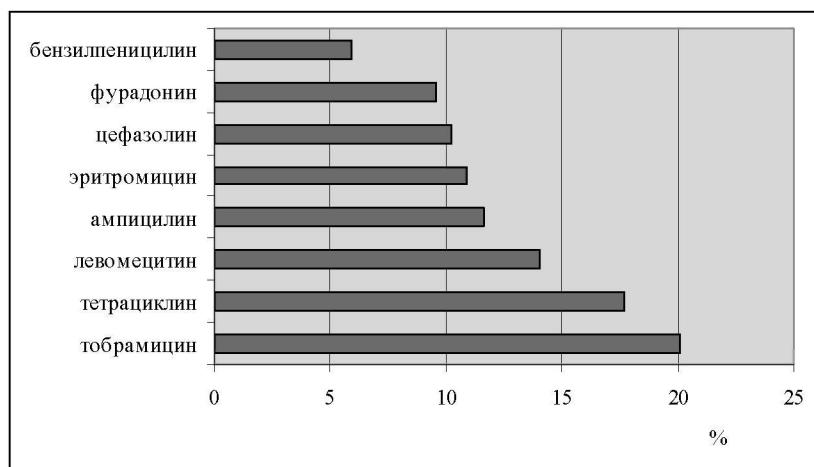


Рис. 1. Антибиотикорезистентность выделенной микрофлоры

Оценка антибиотикорезистентности штаммов бактерий, выделенных из р. Кривая Болда (район с. Началово), показала, что наибольшую устойчивость они проявляли к бензилпенициллину, а максимальная чувствительность была отмечена к тобрамицину и тетрациклину.

Микрофлора, изолированная из р. Кутум (район Стрелки), обладала наименьшей устойчивостью к левомектину, тетрациклину и эритромицину. Минимальной чувствительностью обладали монокультуры к бензилпенициллину и цефазолину.

Микроорганизмы в пробах р. Прямая Болда (район Стадиона) отличались устойчивостью к бензилпенициллину, а наибольшую чувствительность выделенные штаммы проявляли к тобрамицину и цефазолину (рис. 2). Следует указать, что за последнее десятилетие чувствительность к левомектину уменьшилась в среднем в 4,5 раза, фурадонину – в 3,9 раз, тетрациклину – в 1,6 раз [3, 4].

Антибиотикорезистентность исследуемых нами энтеробактерий отличалась выраженной сезонной сукцессией только в р. Кутум, характеризующейся низкой проточностью, мелководностью и заиленностью. Весной все штаммы были менее устойчивы к тобрамицину (28,1 %), а наибольшую устойчивость они проявляли к ампициллину, пенициллину и цефазолину – 0 %. В летние и осенние периоды устойчивость к испытуемым препаратам была различной и варьировала от 6,5 до 16,8 % и от 1,9 до 17,5 % соответственно.

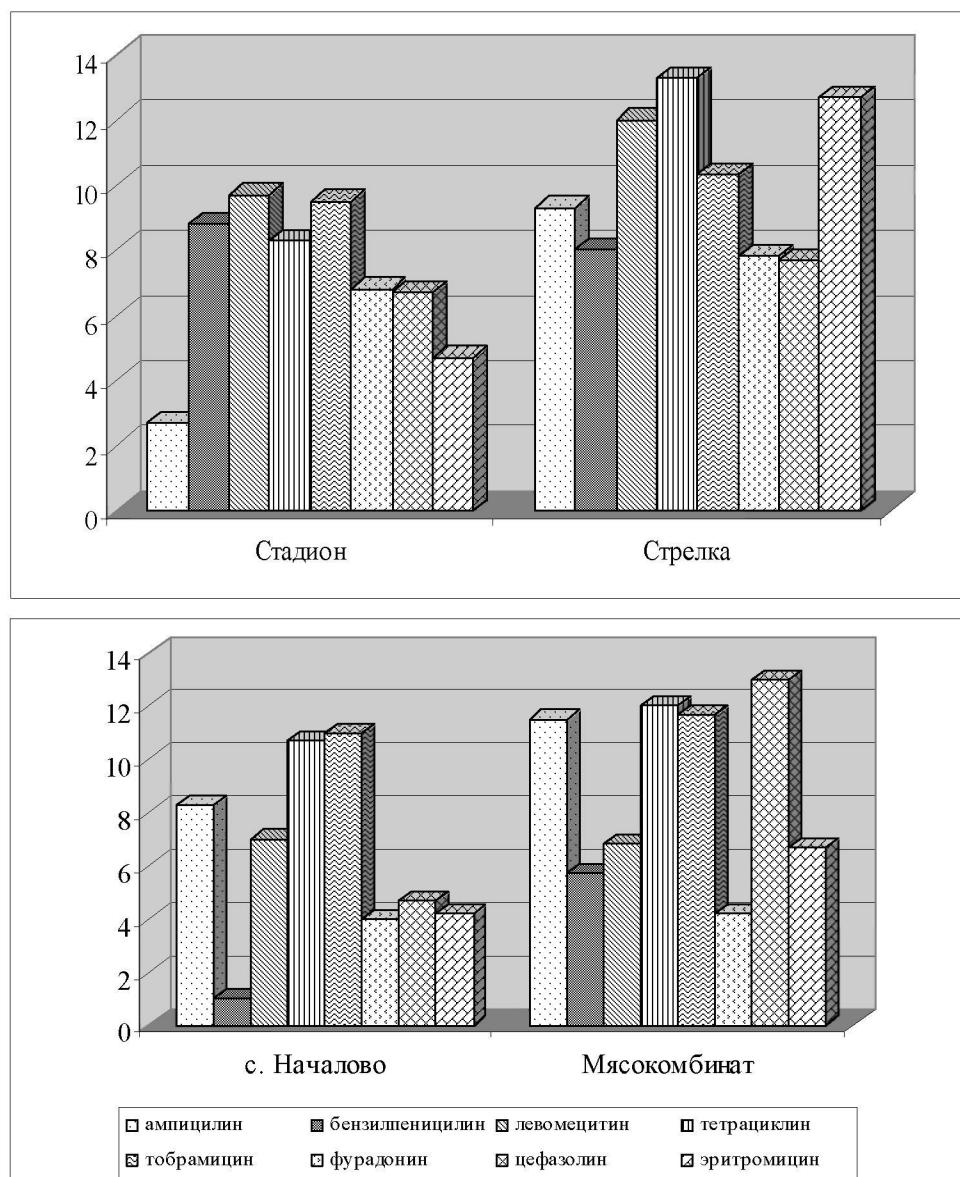


Рис. 2. Уровень антибиотикорезистентности микроорганизмов в исследуемых водотоках

Анализ полученного материала по зонам угнетения роста бактерий при контакте с антибиотиками на МПА в сезонном аспекте показал, что минимальная чувствительность ко всем испытуемым препаратам была отмечена в начале июня во время паводка во всех исследуемых районах (табл.).

Таблица

Сезонная характеристика антибиотикорезистентности выделенных микроорганизмов

Испытуемые антибиотики	Исследуемые районы															
	р. Кривая Болда (с. Началово)				р. Прямая Болда (р-н Стадиона)				р. Кутум (р-н Стрелки)				р. Прямая Болда (р-н Мясокомбината)			
	04	06	08	10	04	06	08	10	04	06	08	10	04	06	08	10
Зона упирания роста на МПА, мм																
Ампициллин	2	0	17	7	6	0	5	0	0	0	15	13	13	0	10	18
Бензилпенициллин	6	0	0	0	17	0	2	16	0	0	10	14	0	0	1	16
Левомектицин	10	2	7	8	11	2	5	12	8	8	15	13	6	9	1	12
Тетрациклин	16	4	6	16	11	4	1	14	11	3	16	17	19	12	1	20
Тобрамицин	15	7	10	12	9	7	10	10	8	10	12	10	12	9	12	13
Фурадонин	7	3	2	5	9	3	4	9	7	0	18	2	10	4	7	3
Цефазолин	8	0	10	0	16	0	2	10	0	0	7	16	14	6	15	14
Эритромицин	1	0	8	4	0	0	2	10	5	7	14	18	10	7	3	13

Примечание: 0 – чувствительность микроорганизма к антибиотику отсутствует

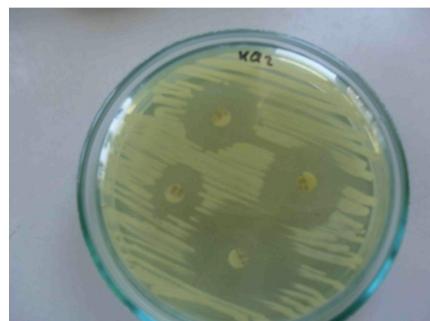
Весной, в апреле, в этих же районах уровень антибиотикорезистентности у энтеробактерий был соответственно выше в 4,1; 4,9; 1,4; 1,8 раз, что было статистически достоверно ($P < 0,05$). По-видимому, это было связано с повышением в паводковых водах штаммов бактерий, устойчивых к АМП, попавшим в гидроэкосистему вследствие мощного многофакторного антропогенного воздействия в этот сезон года. Это могли быть смывы с различных сельскохозяйственных предприятий, в том числе животноводческих, а также продукты жизнедеятельности урбоэкосистем.

В осенний период, в октябре, чувствительность к испытуемым антибиотикам одновременно вновь повысилась по сравнению с летними показателями: в р-не с. Началово – в 4,4; Стадиона – в 5,0; Мясокомбината – в 2,3 и Стрелки – 2,6 раза, что было статистически достоверно ($P < 0,05$).

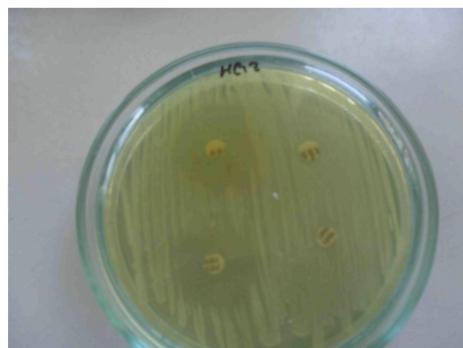
Обращает на себя внимание абсолютная нечувствительность в паводковый период (начало июня) всех исследуемых штаммов к ампициллину и бензилпенициллину, а в районах Стадиона, Стрелки и с. Началово – к цефазолину и эритромицину. При этом и весной, еще до паводка, в районе Стрелки подобная реакция на АМП была отмечена для ампициллина, бензилпенициллина и цефазолина (табл.), что свидетельствует о попадании в эти водотоки устойчивых штаммов из очистных сооружений, расположенных выше по руслу р. Волги. В пользу этого могут свидетельствовать данные о почти одинаковой устойчивости исследуемых бактерий к АМП в летний (август) и осенний (октябрь) периоды в районах, расположенных немного ниже очистных сооружений, – это точки Стрелки и Началово. Следовательно, на уровень антибиотикорезистентности в исследуемых нами водотоках влияют в основном паводковые воды и близость очистных сооружений.

Следует указать, что при проведении вышеописанных анализов нами были установлены снижение степени чувствительности и полная ее потеря большинства штаммов по отношению к лекарственным препаратам после

24 часов инкубирования посевов при температуре 37 °С, о чем свидетельствовало уменьшение диаметра зоны угнетения роста культур, что, по-видимому, связано с высокой и быстрой адаптивностью испытуемых нами штаммов микроорганизмов (рис. 3).



а) четко выраженные зоны угнетения роста



б) снижение зон угнетения роста через 24 часа инкубирования

Рис. 3. Изменение диаметра зоны угнетения культур

Таким образом, проведенные исследования показали, что энтеробактерии, преимущественно штаммы pp. *Proteus* и *Citrobacter*, входящие в микробный ценоз внутренних водотоков г. Астрахани, имеют более высокий уровень антибиотикорезистентности в районах Стрелки, Стадиона и с. Началово в паводковый период. При этом анализируемые микроорганизмы характеризовались наибольшей чувствительностью к тобрамицину, фурадонину, левомектицину и тетрациклину, а в районе Мясокомбината – и к эритромицину. Это свидетельствует об увеличении их поступления в районы исследования и негативном влиянии на бактериоценоз не только городских водоемов, но и, по-видимому, дельтовых участков, куда впадают эти водотоки. Полученные результаты показали необходимость проведения систематического санитарно-микробиологического мониторинга за изменением антибиотикорезистентности микроорганизмов, циркулирующих в водоемах урбоэкосистем.

Библиографический список

- 1. Жижимова Г. В.** Гидробиологический мониторинг экологического состояния внутренних водоемов г. Астрахани / Г. В. Жижимова, Е. Г. Локтионова // Водные ресурсы Волги: настоящее и будущее, проблемы управления : сб. ст. Всерос. науч-практич. конф. (Астрахань, 3–5 октября 2007). – Астрахань, 2007. – С. 274–290.

2. Кальницкая О. И. Ветеринарно-санитарная оценка продуктов животного происхождения, содержащих антибиотики / О. И. Кальницкая, Б. В. Уша, Э. А. Мишиев // Ветеринария. – 2010. – № 2. – С. 61–63.
3. Лисицкая И. А. Бактериальные сообщества некоторых компонентов экосистемы дельты Волги и Северного Каспия : автореф. дис. ... канд. биол. наук / И. А. Лисицкая. – Астрахань, 2008. – 23 с.
4. Обухова О. В. Бактериоценоз воды и судака (STIZOSTEDION LUCIOPERCA в дельте Волги) : автореф. дис. ... канд. биол. наук / О. В. Обухова. – М., 2004. – 23 с.
5. Обухова О. В. Санитарно-микробиологическая оценка гидроэкосистемы дельты Волги / О. В. Обухова, Л. В. Ларцева, И. А. Лисицкая // Гигиена и санитария. – 2009. – № 1. – С. 23–25.
6. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : методич. указания. – М. : Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.
7. Плитов И. С. Определение чувствительности энтеробактерий к антибиотикам и дезинфицирующим средствам / И. С. Плитов // Ветеринария. – 2010. – № 12. – С. 42–45.
8. Суздалева А. А. Инженерно-экологическое обустройство и пути повышения рекреационного потенциала малых городских водных объектов : дис. ... канд. техн. наук / А. А. Суздалева. – М., 2005. – 188 с.
9. Lemke M. J. Bacterial populations in an anthropogenically disturbed stream: comparison of different seasons / M. J. Lemke, L. G. Leff // Vicrob. Ecol. – 1999. – Vol. 38. – P. 234–243.
10. Rossolini G. M. Antimicrobial resistance in Europe and its potential impact on empirical therapy / G. M. Rossolini, E. Mantengoli // Clin. Microbiol. and Infec. – 2008. – Vol. 14. – P. 33–41.

ИСТОРИЧЕСКИЕ И ГЕОЭКОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОИСКОВ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БАЛЬНЕОРЕСУРСОВ

Е.С. Кутлусурин, аспирант

*Астраханский государственный университет,
тел.: 8-903-349-02-01; e-mail: geologi2007@yandex.ru*

**А.Н. Бармин, профессор, заведующий кафедрой
природопользования и землеустройства**

*Астраханский государственный университет,
тел.: 8(8512) 44-02-24; e-mail: geologi2007@yandex.ru*

Рецензент: Алыков Н.М.

Астраханская область имеет богатую историю применения различных видов природных минеральных лечебных ресурсов. Разведанные бальнеоресурсы позволяют расширить сферу их использования. Мероприятия по созданию дополнительных лечебно-оздоровительных учреждений должны осуществляться в рамках рационального подхода к использованию природных лечебных ресурсов.

The Astrakhan region has a rich history of various kinds of natural mineral medicinal resources. Balneological resources prospected allow to extend the field of their use. Activities to establish additional medical rehabilitation institutions must take place within the framework of a rational approach to the use of natural medicinal resources.

Ключевые слова: минеральные лечебные воды, пелоиды, соляные озера, грязелечение, поиски бальнеоресурсов, геоэкология.

Key words: mineral medicinal waters, peloids, salt lakes, mud cure, prospect for balneological resources, geoecology.