

УДК 504.75.05:577.18; 282.256.341; 504.054:579.8

Е.В. Верхозина^{1, 5}, В.А. Верхозина^{2, 5}, Е.Д. Савилов^{3, 4}, В.В. Верхотуров⁵

АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ МИКРОБНОГО СООБЩЕСТВА ЭКОСИСТЕМЫ ОЗЕРА БАЙКАЛ В РАЙОНЕ ПОС. ЛИСТВЯНКА, Г. СЛЮДЯНКИ И Г. БАЙКАЛЬСКА

¹ ФГБУН Институт земной коры СО РАН (Иркутск)

² ФГБУН Институт геохимии имени А.П. Виноградова СО РАН (Иркутск)

³ ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН (Иркутск)

⁴ ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (Иркутск)

⁵ Национальный исследовательский Иркутский государственный технический университет (Иркутск)

В работе представлены результаты изучения антибиотикоустойчивости бактерий, выделенных из экосистемы озера Байкал. Выявлено, что в литоральной зоне оз. Байкал (район пос. Листвянка, г. Байкальска, г. Слюдянки), испытывающей антропогенное влияние, появляются штаммы микроорганизмов, устойчивые к широкому спектру антибиотиков. Штаммы, устойчивые к действию всех антибиотиков, составляют 1 % от всех выделенных бактериальных штаммов, чувствительные ко всем антибиотикам – 6 %, штаммы, выделенные из кернов донных осадков, – 80 %. Это явление можно рассматривать как индикатор антропогенного влияния.

Ключевые слова: антибиотикоустойчивость, микроорганизмы, озеро Байкал, антибиотикочувствительность, антропогенное воздействие

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF MICROBIAL COMMUNITY OF THE LAKE BAIKAL ECOSYSTEM IN THE AREA OF LISTVYANKA, SLYUDYANKA AND BAIKALSK

E.V. Verkhovina^{1, 5}, V.A. Verkhovina^{2, 5}, E.D. Savilov^{3, 4}, V.V. Verkhoturav⁵

¹ Institute of the Earth's Crust SB RAS, Irkutsk

² Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS, Irkutsk

³ Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, Irkutsk

⁴ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

⁵ National Research Irkutsk State Technical University, Irkutsk

The article presents the results of study of antibiotic resistance of bacteria isolated from the lake Baikal ecosystem. It was revealed that in the littoral zone of the lake Baikal (area of Listvyanka, Baikalsk, Slyudyanka) under the anthropogenic impact there are strains of microorganisms resistant to a wide range of antibiotics. Strains resistant to all antibiotics are 1 % of the isolated bacterial strains; strains sensitive to all antibiotics are 6 %; strains isolated from the drill samples of bottom sediments are 80 %. This phenomenon can be considered as an indicator of anthropogenic influence.

Key words: antibiotic resistance, microorganisms, lake Baikal, antibiotic sensitivity, anthropogenic influence

ВВЕДЕНИЕ

Проблема контроля качества воды всегда привлекала усиленное внимание государственных органов и специалистов, ответственных за охрану здоровья населения и защиту окружающей среды. Особенно это касается озера Байкал – участка мирового природного наследия. Озеро Байкал является основным источником пресной питьевой воды в регионе и в прилегающих областях, поскольку формирование качества воды реки Ангары определяется качеством воды Байкала. Антропогенное влияние на озеро усиливается с каждым годом, особенно в его южной части. Это обусловлено не только относительно высокой плотностью проживающего здесь населения, но и развитием в этом районе интенсивного отечественного и международного туризма, строительством частных гостиниц, бань, саун, дачных поселков. Очень сильную антропогенную нагрузку испытывает литоральная

зона озера пос. Листвянка, расположенного в истоке реки Ангары. Поселок расположен на самом близком расстоянии от г. Иркутска до озера Байкал (70 км), поэтому доступен для иркутян и гостей города и привлекателен для массового туризма – как летнего, так и зимнего. В г. Байкальске также развита инфраструктура туризма, в районе города находится лыжная трасса и множество гостиниц, торговых точек и автостоянок. Районный центр г. Слюдянка расположен на западной оконечности оз. Байкал, в 110 км от Иркутска. Это крупный железнодорожный узел на Транссибирской магистрали. Из города начинается Кругобайкальская железная дорога и множество туристических маршрутов. Близ города производится добыча мрамора и цементного сырья. Поэтому выявление влияния антропогенного фактора на формирование качества воды южной котловины озера Байкал, несомненно, актуально и общественно значимо.

Бактерии являются наиболее важным компонентом в экосистеме водоемов: именно они принимают активное участие в формировании качества воды и улучшении санитарно-гигиенического состояния. Применение различных химиотерапевтических препаратов, включая антибиотики, повлекло изменение биологических свойств возбудителей заболеваний и способствовало распространению множественной лекарственной устойчивости бактерий. Многие авторы считают, что необработанная вода может играть роль в инфицировании человека [8, 9]. Установлено, что резистентные к антибиотикам штаммы сальмонелл при вегетировании их в воде обнаруживают значительно более длительные сроки выживания, по сравнению с чувствительными [7]. Результаты исследований устойчивости микробных популяций водных экосистем к воздействию антибиотиков представляют интерес для заключения о степени антропогенного загрязнения водного объекта, особенно водоемов Восточной Сибири [1, 4, 6]. Следовательно, этот вопрос требует дополнительных исследований с учетом особенностей водоемов и бактериального населения анализируемых вод.

Цель работы: исследование антибиотикоустойчивых штаммов бактерий, выделенных из воды микробного сообщества экосистемы литоральной зоны оз. Байкал и микробиоценоза кернов донных осадков.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами исследованы штаммы бактерий, выделенные в два этапа: за период 2000–2003 гг. (120 штаммов) и за период 2005–2012 гг. (120 штаммов). Исследовались пробы воды, отобранные в литоральной (прибрежной) зоне оз. Байкал (пос. Листвянка, г. Байкальск, г. Слюдянка). Кроме того, исследовались бактериальные штаммы, выделенные из кернов донных осадков озера. За все время исследований протестировано 240 штаммов бактерий, составивших 21,5 % от всех выделенных изолятов микробиоценозов.

Определение антибиотикоустойчивости микроорганизмов проводили в соответствии с общепринятыми методиками [5], интерпретацию результатов – по стандартам NCCLS. Исследована резистентность к 12 антимикробным препаратам (АМП), принадлежащим к 10 фармакологическим группам: пенициллины, амфениколы, ансамицины, карбапенемы, монобактамы, цефалоспорины, миногликозиды, фторхинолоны, тетрациклины, сульфаниламиды. Микроорганизмы, имеющие значения зон подавления роста в рамках «moderately susceptible», относили к чувствительным, «intermediate» – к устойчивым штаммам.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные нами исследования показали, что антибиотикоустойчивые штаммы бактерий были выявлены на всех станциях в районе пос. Листвянка, г. Байкальска, г. Слюдянки. В летний период из озера Байкал были выявлены грамотрицательные бактерии, устойчивые ко многим антибиотикам: тетрациклину, ампицилину, левомицитину, гентамицину, бисептолу, но чувствительные к клафрану и стрептомицину. Штаммы, выделенные на водозаборе в пос. Листвянка

грамположительные, тем не менее, в зимний период они устойчивы ко многим антибиотикам.

В истоке реки Ангары выявлены штаммы, наиболее устойчивые к бисептолу, клафрану, диоксидину. На станции 3 (Банная) выявлены штаммы с антибиотикоустойчивостью к тетрациклину, ампицилину, левомицитину, стрептомицину, бисептолу, клафрану, диоксидину и канамицину. Следует отметить, что антибиотикоустойчивость штаммов возрастала в зимний период на водозаборе «Ангара» и в районе Крестовки в воде оз. Байкал. Обращает на себя также внимание факт устойчивости ко всем антибиотикам на станции 5 (пристань пос. Листвянка).

Доля штаммов, выделенных из экосистемы литоральной зоны озера за период 2000–2003 гг., устойчивых к 6 и более антибиотикам, составила 26 %. Несмотря на это, 6 % из них чувствительны к действию всех антибиотиков (рис. 1). В истоке р. Ангары доля бактериальных штаммов, устойчивых к 6 и более антибиотикам, составила 18 %, на водозаборе – 45 % от количества исследованных штаммов. Микроорганизмы, выделенные из истока р. Ангары и на водозаборе, обнаруживают большую устойчивость, чем микроорганизмы, выделенные из оз. Байкал. В свою очередь они более чувствительны, чем микроорганизмы, выделенные с водозабора, которые являются наиболее устойчивыми [3]. Выявлено, что штаммы бактерий, полученные из вод центральной сети водопровода, характеризовались повышенной устойчивостью и были чувствительными лишь к воздействию 2–3 антибиотиков.

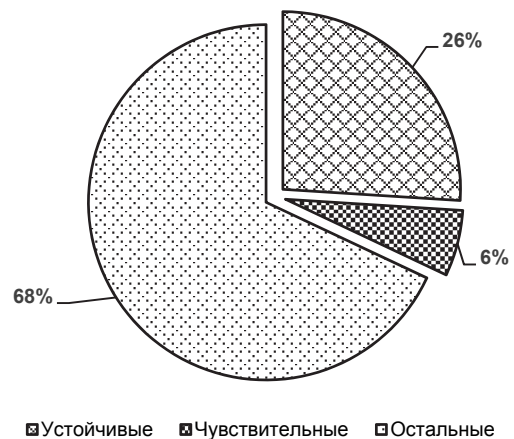


Рис. 1. Антибиотикоустойчивость микроорганизмов, выделенных из экосистемы Байкала за период 2000–2003 гг. (%)

Продолженные нами исследования (2005–2012 гг.) подтвердили, что антибиотикоустойчивые штаммы были выявлены на всех станциях в районе пос. Листвянка, г. Слюдянки, г. Байкальска. В летний период из озера Байкал были выделены бактерии, устойчивые ко многим антибиотикам: тетрациклину, ампицилину, цефазолину, триметоприму, невидграму – в Байкальске, Листвянке. Наиболее устойчивы бактерии к тетрациклину, цефазолину, триметоприму. Доля штаммов, устойчивых к 6 и более антибиотикам, в пос. Листвянка составила 19 %, в г. Байкальске и Слюдянке – 17 % от

количества исследованных. Бактерий, чувствительных ко всем антибиотикам, не было выявлено (рис. 2).

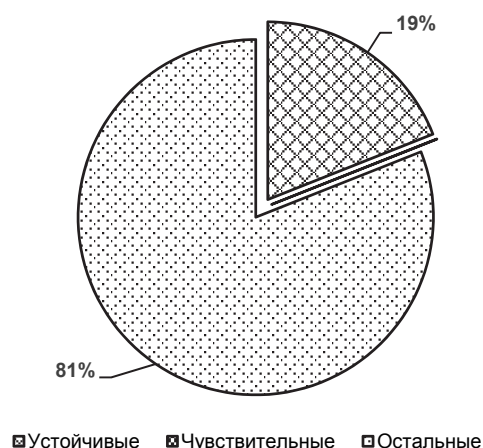


Рис. 2. Антибиотикоустойчивость микроорганизмов, выделенных из экосистемы Байкала за период 2005–2012 гг. (%).

Общий анализ чувствительности бактерий к действию каждого антибиотика в отдельности показал, что наиболее эффективное воздействие обнаруживали гентамицин и цефазолин. Количество штаммов, чувствительных к ним, составила 67 % и 59 % соответственно. 1 % от всех выделенных штаммов был устойчив к действию всех антибиотиков; чувствительны ко всем антибиотикам 6 % штаммов, выделенных в водной среде и 80 % штаммов, выделенных из кернов донных осадков.

Для сравнения: из 120 исследованных бактериальных штаммов, выделенных при обследовании литоральной зоны пос. Листвянка в 2005–2012 гг., штаммов, чувствительных к действию всех антибиотиков, выявлено не было. В 2003 г. их количество составило 6 %. Следует отметить, что множественная устойчивость бактерий литоральной зоны пос. Листвянка упала с 26 % до 19 % за исследованные годы. С 2001 по 2012 гг. выявлено, что наиболее устойчивы все исследованные микроорганизмы озера Байкал к тетрациклину и ампициллину – эти антибиотики неэффективны. Наиболее эффективными за все годы исследований являются пefлоксацин, цефатоксим, гентамицин. Следует отметить появление устойчивых к антибиотикам штаммов в зимний период, по сравнению с летне-весенним сезоном. В зимний период бактерии более устойчивы к действию антибиотика, т. к. зимой мы больше употребляем антибиотики, и человеческие бактерии, попадая в воду оз. Байкал при проведении массовых ледовых мероприятий, обладают повышенной устойчивостью к антибиотикам. Результаты исследования показали высокую чувствительность выделенных штаммов к гентамицину, рифамицину, цефазолину, а также к хлоранфениколу, тетрациклину, ампициллину, гентамицину, цефазолину, пefлоксацину, диоксидину; в истоке реки Ангара – к пefлаксоцину, гентамицину, цефазолину. Микроорганизмы, выделенные из кернов донных осадков озера Байкал, характеризуются высокой чувствительностью практически ко всем антибиотикам, использованными в опыте.

В истоке р. Ангара, являющейся крупнейшим источником водоснабжения Иркутской области, в районе порта Байкал количество граммотрицательных условно-патогенных бактерий, как и в целом по р. Ангаре, было небольшим (около 20 %) [2]. В истоке Ангара (порт Байкал) количество устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий составило 15,4 %, а в черте Иркутска и Ангарска данный показатель оказался достоверно выше ($p < 0,01$) и составил 36,0 % и 48,9 % соответственно. Штаммы бактерий, выделенные в истоке Ангара, характеризовались фенотипами с детерминантами устойчивости к 1–2 антибиотикам, а в черте Иркутска и Ангарска – к 5–6 антимикробным препаратам. Проведенный анализ показал, что в районах, для которых оз. Байкал является основным резервуаром водоснабжения, уровень заболеваемости инфекциями с водным путем передачи инфекта достоверно ниже ($p < 0,05$), чем на территориях, использующих воду для питьевых целей из Ангара. В истоке Ангара (порт Байкал) количество устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий составило 15,4 %.

Штаммы бактерий, выделенные в истоке Ангара, характеризовались фенотипами с детерминантами устойчивости к 1–2 антибиотикам, выделенные в черте Иркутска и Ангарска – к 5–6 антимикробным препаратам. Проведенный анализ показал, что в районах, для которых оз. Байкал является основным резервуаром водоснабжения, уровень заболеваемости инфекциями с водным путем передачи инфекта достоверно ниже ($p < 0,05$), чем на территориях, использующих воду для питьевых целей из Ангара [6].

Появление в воде Байкала и истоке реки Ангара штаммов бактерий, устойчивых к антибиотикам, – небезопасное явление. Появление в воде такой микрофлоры говорит не только об индикации качества воды, но и о возможной патогенности микрофлоры. Такие бактериальные штаммы не только выживают в воде озера, но и несут генетическую информацию о факторах патогенности байкальской микрофлоры. Применение различных химиотерапевтических препаратов, включая антибиотики, повлекло изменение биологических свойств возбудителей заболеваний и способствовало распространению множественной лекарственной устойчивости бактерий.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что в литоральной зоне оз. Байкал, испытывающей антропогенное влияние, появляются штаммы микроорганизмов, устойчивые к широкому спектру антибиотиков. Общий анализ чувствительности бактерий к действию каждого антибиотика в отдельности показал, что наиболее эффективное воздействие обнаруживали гентамицин и цефазолин. Количество штаммов, чувствительных к ним, составило 67 % и 59 % соответственно. Доля штаммов, устойчивых к действию всех антибиотиков, составляет 1 % от всех выделенных бактериальных штаммов, чувствительных ко всем антибиотикам – 6 %. Следует отметить, что в зимний период появление устойчивых к антибиотикам штаммов выше, по сравнению с летним. Появление в воде антибиотикоустойчивых бактериальных штаммов говорит не только о человеческом загрязнении, но и о возможной патогенности этой микрофлоры. В целом

результаты исследований показали, что частота встречаемости антибиотикоустойчивых штаммов бактерий водных экосистем зависит от степени антропогенного загрязнения их среды обитания.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Анганова Е.В., Рычкова Е.Н., Савилов Е.Д. Особенности антибиотикоустойчивости бактерий микробиоценоза реки Вилюй // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 2 (54). – С. 72–74.

Anganova E.V., Rychkova E.N., Savilov E.D. Peculiarities of antibiotic resistance of bacterium of Vilyui river microbiocenosis // Bull. ESSC SB RAMS. – 2007. – N 2 (54). – P. 72–74. (in Russian)

2. Анганова Е.В., Самойлова И.Ю. Антибиотикоустойчивость бактерий микробиоценоза реки Лены в районе г. Якутск, Хангаласского и Намского районов (республика Саха (Якутия)) // Сибирский медицинский журнал. – 2009. – № 7. – С. 211–212.

Anganova E.V., Samoylova I.Yu. Antibiotic resistance of bacterium of microbiocenosis of Lena river in the area of Yakutsk, Khangalassky and Namsky districts (Sakha (Yakutia)) // Siberian Medical Journal. – 2009. – N 7. – P. 211–212. (in Russian)

3. Верхозина Е.В., Верхозина В.А., Савилов Е.Д., Анганова Е.В. Выявление антибиотикоустойчивых микроорганизмов в экстремальных местообитаниях экосистемы озера Байкал // Экология и геохимическая деятельность микроорганизмов экстремальных местообитаний: Матер. междунар. конф. – Улан-Удэ – Улан-Батор, 2011. – С. 46–48.

Verkhovzina E.V., Verkhovzina V.A., Savilov E.D., Anganova E.V. Revealing antibiotic resistant microorganisms in extreme habit areas of Baikal ecosystem // Ecology and Geochemical Activity of Microorganisms of Extreme Habit Areas: Proceedings of International Conference. – Ulan-Ude – Ulaanbaatar, 2011. – P. 46–48. (in Russian)

4. Мамонтова Л.М., Савилов Е.Д., Протоdjаков А.П., Маркова Ю.А. Инфекционная «агрессивность» окружающей среды: Концепция микробио-

логического мониторинга. – Новосибирск: Наука, 2000. – 240 с.

Mamontova L.M., Savilov E.D., Protodjakonov A.P., Markova Yu.A. Infection “aggressiveness” of environment: Concept of microbiological monitoring. – Novosibirsk: Science, 2000. – 240 p. (in Russian)

5. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. – М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 91 с.

Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial preparations: Practical policies. – Moscow: Federal Center of State Sanitary & Epidemiological Surveillance Agency of Ministry of Health of Russia, 2004. – 91 p. (in Russian)

6. Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Анганова Е.В., Астафьев В.А. Условно-патогенные микроорганизмы в водных экосистемах Восточной Сибири и их роль в оценке качества вод // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2008. – № 1 (129). – С. 47–51.

Savilov E.D., Mamontova L.M., Anganova E.V., Astafjev V.A. Opportunistic microorganisms in water ecosystems of the Eastern Siberia and their role in the estimation of the quality of waters // Bull. ESSC SB RAMS. – 2008. – N 1 (129). – P. 47–51. (in Russian)

7. Яковлева О.Н., Талаева Ю.Г. Изучение распространения и выживаемости антибиотико-резистентных сальмонелл в воде // Гигиена и санитария. – 1983. – № 7. – С. 75–77.

Yakovleva O.N., Talayeva Yu.G. Study of distribution and survivance of antibiotic resistant salmonellas in water // Hygiene and Sanitary. – 1983. – N 7. – P. 75–77. (in Russian)

8. Bakrouf-Fedhila A., Jeddi M., Gauthier M.J. Analyse comparee de la resistance aux antib-iotiques des enterobacteries isolees de l'eau et du crabe Pachygrapsus marmoratus le long du littoral de monastir, tunisie // 7 Journess etud. pollut. mar. Mediterranee (Lucerne, 11–13 oct., 1984). – Lucerne, 1985. – P. 639–645.

9. Stathopoulos G., Vagiona-Arvanitidou T., Katsouylannopoulos V. Identification and drug resistance of bacteria isolated from ground water // 5th Eur. Congr. Clin. Microbiol. Infect. Diseases. – Oslo, 1991. – P. 124.

Сведения об авторах

Верхозина Елена Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник ФГБУН Института земной коры СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова 128; e-mail: verhel@crust.irk.ru)

Верхозина Валентина Александровна – доктор технических наук, профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУН Института геохимии им. А.П. Виноградова СО РАН, профессор кафедры «Управление промышленными предприятиями» Национального исследовательского Иркутского государственного технического университета (664033, г. Иркутск, ул. Фаворского, 1а)

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» СО РАМН, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: savilov47@gmail.com)

Верхотуров Василий Владимирович – доктор биологических наук, профессор кафедры технологии продуктов питания и химии Национального исследовательского Иркутского государственного технического университета (e-mail: vervv@mail.ru)

Information about the authors

Verkhovzina Elena Vladimirovna – candidate of biological science, research officer of Institute of the Earth's Crust SB RAS (Lermontov str., 128, Irkutsk, 664033; e-mail: verhel@crust.irk.ru)

Verkhovzina Valentina Aleksandrovna – doctor of engineering science, professor, leading research officer of Vinogradov Institute of Geochemistry SB RAS, professor of the department “Management of industrial enterprises” of National Research Irkutsk State Technical University (Favorsky str., 1a, Irkutsk, 664033)

Savilov Evgeniy Dmirtievich – M. D., chief research officer of Scientific Centre of Family Health and Human Reproduction Problems SB RAMS, head of the department of epidemiology and microbiology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education (Timiryazev str., 16, Irkutsk, 664003; e-mail: savilov47@gmail.com)

Verkhotur Vasily Vladimirovich – doctor of biological science, professor of the department of food technology and chemistry of National Research Irkutsk State Technical University (e-mail: vervv@mail.ru)