

А.А. Яковлев ¹, С.Л. Колпаков ¹, Ф.Н. Шубин ², В.Б. Туркутюков ¹**ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ, ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИМ СРЕДСТВАМ И ПЛАЗМИДНЫЙ СПЕКТР ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ СРЕДИ ЧЛЕНОВ ЭКИПАЖА СУДНА В ДЛИТЕЛЬНОЙ МОРСКОЙ ЭКСПЕДИЦИИ**¹ Тихоокеанский государственный медицинский университет (Владивосток)² Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова ДВО РАН (Владивосток)

В работе представлены результаты уникальных исследований по сравнительному изучению микробиологической характеристики штаммов E. coli, выделенных от членов экипажа судна, находившегося в длительном рейсе, на разных его этапах. Установлено, что условия замкнутого пространства способствуют формированию популяции микроорганизмов с более однородным спектром фенотипических и генотипических признаков. Показано, что реакция судовой популяции E. coli на применение антибиотиков и проведение дезинфекционных мероприятий на судне не носит характера прямого приспособления, а является более сложной.

Ключевые слова: микробиология, резистентность, антибиотики, дезинфектанты, плазмиды

SENSITIVITY TO ANTIBIOTIC AND DISINFECTANTS AND PLASMID SPECTRUM OF *ESCHERICHIA COLI* STRAINS, CIRCULATING AMONGST THE SHIP COMPANY MEMBERS DURING THE LONG-TERM EXPEDITIONA.A. Yakovlev ¹, S.L. Kolpakov ¹, F.N. Shubin ², V.B. Turkutukov ¹¹ Pacific State Medical University, Vladivostok² G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology FEB RAS, Vladivostok

The article presents the results of unique researches of comparative study of microbiologic characteristics of E. coli strains, isolated from the ship company members at different stages of the long-term expedition. It was established that cul-de-sac conditions promote formation of the population of microorganisms with more homogeneous spectrum of phenotypic and genotypic characters. It is showed that the reaction of shipboard E. coli population on the applying of antibiotics and taking disinfectant measures on the ship isn't just accommodation but more complicated process.

Key words: microbiology, resistance, antibiotics, disinfectants, plasmids

Современный период некоторые ученые, особенно зарубежные, считают периодом «заката эры антибиотиков». Так, за последние десятилетия не появилось новых их классов, тогда как устойчивость микроорганизмов к антибиотикам возрастает, и появляются бактерии, совершенно не чувствительные ни к одному из ныне существующих препаратов. В основном тенденцию к повышению резистентности микроорганизмов к антибиотикам ученые связывают с их широким и, зачастую, бесконтрольным применением разными слоями населения, а также в ветеринарии [5]. Однако появились данные о том, что это явление не современный феномен и что как минимум 30 000 лет назад уже существовали микроорганизмы, устойчивые к таким препаратам, как пенициллин, тетрациклин, ванкомицин [18]. В этой связи вопрос о причинах формирования устойчивости к антибиотикам и возможным последствиям их применения в будущем остается весьма актуальным. В конечном итоге микробиологический мониторинг устойчивости микроорганизмов к антибиотикам и дезинфектантам является важным элементом системы эпидемиологического надзора [2, 6, 14].

Как показывает анализ данных литературы, и в нашей стране, и в мире исследования, посвященные проблеме чувствительности микроорганизмов к ан-

тимикробным препаратам, проводились среди людей, проживающих в естественных условиях, тогда как экипажи судов представляют собой коллективы, длительное время изолированные от обычных условий расселения и по существу находящиеся в состоянии естественного эксперимента. Поэтому на их модели можно рассматривать различные процессы [16], в том числе циркуляцию микроорганизмов, позволяющую выявить ее особенности, обусловленные спецификой судовых коллективов, и тем самым дополнить сведения и о возможных факторах, влияющих на формирование у них устойчивости как к антибиотикам, так и к дезинфектантам.

В этой связи мы посчитали целесообразным представить фрагмент наших ранее проводимых исследований в области морской эпидемиологии, посвященный микробиологическому мониторингу за чувствительностью к антимикробным препаратам судовой популяции *Escherichia coli*, формирующейся среди членов экипажа судна в условиях длительного рейса [16], которые позволяют уже с современных позиций дать оценку полученным результатам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования были проведены в рамках научной программы «Человек – Океан» под эгидой ДВО РАН

и МЗ СССР. Работу выполняли как в береговых, так и в экспедиционных условиях. Обследование членов экипажа в ходе рейса проводили на рыбмучной базе (РМБ) «Е. Лебедев» (средняя численность коллектива – 450 человек) в процессе ее работы в Беринговоморской и Южно-Курильской экспедициях на добыче минтая и сельди-иваси в течение февраля–августа 1991 г. Исследования проводили в три этапа: первый – перед выходом судна в рейс, в период доукомплектования экипажа; второй – в 1-й месяц рейса; третий – через 7 месяцев работы в море, перед приходом судна в порт.

При проведении бактериологических исследований для индикации энтеробактерий у членов экипажа во время второго и третьего этапов материал от обследуемых (фекалии) помещали в стерильный флакон с транспортной 40%-й глицериновой средой и хранили при температуре -20°C до прибытия в базовую лабораторию. Как показывают наши наблюдения, в аналогичных условиях культуры штаммов *Salmonella enteritidis* хранятся более 5 лет, не утрачивая исходных свойств. Выделение энтеробактерий проводили в течение первых 2–3 недель после забора материала в береговых условиях по общепринятой методике [15]. Эшерихии были выделены от одних и тех же членов экипажа РМБ «Е. Лебедев». На первом, втором и третьем этапах рейса было получено, соответственно, 39, 34 и 36 культур *E. coli* (от одного члена экипажа – одна культура). Все выделенные культуры энтеробактерий имели характерные морфологические и биохимические признаки, находились в S-форме. Штаммы *E. coli* не давали реакций агглютинации с коммерческими сыворотками к энтеропатогенным кишечным палочкам. У выделенных культур изучали морфо-тинкториальные, биохимические и антигенные свойства, чувствительность к антибиотикам (а/б) и дезинфектантам. Принимая во внимание, что генетический контроль указанных свойств бактерий связан с плазмидами [11], изучали и их спектр.

Биохимические свойства оценивали по способности выделенных культур ферментировать углеводы и другие субстраты. Чувствительность к дезинфектантам определяли по отношению к хлорамину в соответствии с «Методическими рекомендациями по определению чувствительности-устойчивости бактерий к антисептикам» по испытанию бактерицидных свойств дезинфицирующих средств на тканевых тест-объектах [1].

Чувствительность к антибиотикам проверяли методом дисков с использованием бензилпенициллина, ампициллина, карбенициллина, тетрациклина, стрептомицина, полимиксина, левомицетина, неомицина, канамицина, цефалексина, гентамицина, доксициклина, рифампицина.

Скрининг плазмид проводили в лаборатории молекулярной эпидемиологии НИИЭМ ДВО РАН методом С. Kado, S.T. Lin [20]. В качестве реперных использовали штаммы *E. coli* с молекулярным весом 5,6; 6,7; 38 MDa и 1,4; 4,2; 82 MDa. Статистическая обработка материала проводилась общепринятыми методами [4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования показали, что биологические свойства штаммов *E. coli*, выделенных от членов экипажа до их выхода в рейс, характеризовались чрезвычайным разнообразием. Так, 6,5 % культур не ферментировали лактозу, 1,3 % – не давали газообразования, а 20,8 % были вариабельны ($\pm$) по такому морфологическому признаку, как подвижность, и по биохимическим свойствам (образование индола, расщепление ацетата и других белков, углеводов). Однако уже на втором и третьем этапах исследований все выделенные культуры отличались четкостью (или «+», или «–») морфо-биохимических свойств. В этой связи следует заметить, что для *E. coli* вообще свойственна выраженная вариабельность биохимических показателей [15]. Поэтому отмеченное нами явление не редкость в практике бактериологов. Однако, как показали наши наблюдения, в ходе рейса выделенные штаммы *E. coli* постепенно утрачивали эту особенность, приобретая все большую однородность по биохимическим свойствам.

Подобное явление мы наблюдали ранее, при обследовании детей во Всероссийском оздоровительном детском центре «Океан» [8]. В относительно изолированном детском коллективе весьма гетерогенная по биохимическим показателям в начале смены популяция *E. coli* становилась более однородной в ее конце (за 30 дней).

Дифференцированная оценка изменений чувствительности выделенных в ходе рейса культур *E. coli* к а/б позволила выявить три тенденции: первая – выделение культур с более выраженной устойчивостью к а/б в конце рейса, нежели в его начале; вторая – выделение культур с более высокой к ним чувствительностью в конце рейса; третья – выделение культур с одинаковой чувствительностью как в начале, так и в конце рейса (табл. 1). В частности, увеличение чувствительности отмечено к таким антибиотикам, как стрептомицин, левомицетин, пенициллин, полимиксин, канамицин и гентамицин ($p < 0,05$). Довольно своеобразной оказалась устойчивость выделенных культур к бактериостатическому действию тетрациклина. До выхода в море доля штаммов *E. coli*, реагирующих на него, составила $55 \pm 5,6$ %, в ходе первого месяца рейса снизилась до $23,4 \pm 7,2$ %, а спустя 6 месяцев практически вернулась к исходному уровню ($p < 0,05$). При этом важно подчеркнуть, что при оценке эпидемиологического анамнеза обследуемых, не было выявлено лиц, употреблявших какие-либо антибиотики как минимум за 1 месяц до обследования. Отмеченная динамика, возможно, была обусловлена широким применением тетрациклина в начале рейса в связи с ростом заболеваемости ангиной членов экипажа [16].

Особого, на наш взгляд, внимания требует факт повышения чувствительности эшерихий к бензилпенициллину и стрептомицину. В довольно многочисленных публикациях разных лет, в которых обсуждаются проблемы устойчивости микроорганизмов к антибиотикам [7, 17, 19], также приводятся сведения о том, что в отдельных регионах наблюдается некоторая тенденция к повышению

Таблица 1

Динамика чувствительности к антибиотикам судовой популяции *E. coli* на разных этапах промыслового рейса

Антибиотик	Структура выделенных штаммов на разных этапах рейса (P ± m), %											Оценка динамики чувствительности
	1-й этап рейса (n = 39)			2-й этап рейса (n = 34)			3-й этап рейса (n = 36)					
	чувствительные	устойчивые	умеренно устойчивые	чувствительные	устойчивые	умеренно устойчивые	чувствительные	устойчивые	умеренно устойчивые			
Тетрациклин	55 ± 6,4	35,8 ± 5,4	9,2 ± 3,0	23,4 ± 7,3	43,3 ± 8,4	33,3 ± 8,0	45 ± 8,2	40 ± 8,1	15 ± 5,9		=	
Стрептомицин	9,8 ± 3,8	60,8 ± 5,5	29,4 ± 4,9	30 ± 7,8	40 ± 8,0	30 ± 7,8	30 ± 7,6	35 ± 7,9	35 ± 7,9		→	
Полимиксин	98 ± 1,5	0	2 ± 1,5	96,7 ± 2,8	–	3,3 ± 2,8	100	0	0		→	
Левомецетин	80,1 ± 3,2	15,9 ± 2,7	4 ± 2,2	96,7 ± 3,3	0	3,3 ± 3,3	100	0	0		→	
Неомицин	50,9 ± 5,6	19,6 ± 4,5	29,5 ± 5,1	53,4 ± 8,5	16,6 ± 6,2	30 ± 8,0	60 ± 8,1	15 ± 5,9	25 ± 7,2		=	
Бензил пенициллин	0	100	0	0	100	0	0	85 ± 5,9	15 ± 5,9		→	
Канамицин	21,6 ± 4,6	25,5 ± 4,8	52,9 ± 5,7	70 ± 7,8	0	30 ± 7,8	45 ± 8,2	0	55 ± 8,2		→	
Ампициллин	82,4 ± 4,3	9,8 ± 3,4	7,8 ± 3,1	76,8 ± 7,2	16,6 ± 6,2	6,6 ± 3,9	20 ± 6,4	30 ± 7,6	50 ± 8,3		←	
Карбенициллин	82,4 ± 3,8	7,8 ± 3,1	9,8 ± 3,3	56,7 ± 8,6	20 ± 6,8	23,3 ± 7,0	30 ± 6,9	35 ± 7,9	35 ± 7,9		←	
Цефалексин	82,3 ± 4,3	5,9 ± 2,7	11,8 ± 3,7	93,4 ± 3,1	0	6,6 ± 3,1	85 ± 5,9	0	15 ± 5,9		=	
Гентамицин	45,2 ± 5,6	25,4 ± 4,9	29,4 ± 5,1	90 ± 3,9	0	10 ± 3,9	90 ± 2,9	10 ± 2,9	0		→	
Доксициклин	2,0 ± 1,5	50,8 ± 5,2	47,2 ± 5,0	0	73,4 ± 7,2	26,6 ± 7,2	0	30 ± 7,5	70 ± 7,5		=	
Рифампицин	3,9 ± 2,2	82,4 ± 4,1	13,7 ± 3,8	6,6 ± 4,3	73,4 ± 7,2	20 ± 6,4	–	65 ± 7,9	35 ± 7,9		←	

Примечание: → – увеличение чувствительности; ← – снижение чувствительности; – – без изменений.

чувствительности штаммов *E. coli* к вышеуказанным антибиотикам. Как считают, это обусловлено тем, что и пенициллин, и стрептомицин начали применяться в практической медицине одними из первых. Поэтому и устойчивые варианты к ним стали формироваться раньше, чем к другим антибиотикам, и к ним первым спустя значительное время отмечено появление чувствительных штаммов. Наши наблюдения в сопоставлении с данными литературы свидетельствуют о том, что в гетерогенной популяции *E. coli*, а вероятно, и других представителей энтеробактерий сохраняются клоновые линии, способные к быстрому восстановлению чувствительности к этим и другим антибиотикам при создании соответствующих условий.

Тем не менее, на фоне отмеченного явления, к таким антибиотикам, как ампициллин, карбенициллин, доля чувствительных к ним штаммов эшерихий, выделенных в конце рейса, не только не возросла, но даже значительно уменьшилась ($p < 0,05$). Доля штаммов эшерихий, чувствительных к остальным антибиотикам, существенно не изменилась.

Выявленные нами столь разнонаправленные тенденции по отношению к антибиотикам вполне закономерно вызвали вопросы о причине отмеченного явления, поскольку в судовой аптеке не

предусмотрено такого разнообразия антибиотиков, к тому же в период рейса не возникало необходимости в их широком применении. Поэтому объяснить причины повышения или снижения устойчивости эшерихий к ряду вышеуказанных антибиотиков влиянием сугубо внешних факторов не представляется возможным. По-видимому, важную роль в данном процессе играют внутренние регуляторные механизмы, досконально нам не известные. В этом убеждают и проведенные исследования по изучению устойчивости выделенных культур *E. coli* к дезинфектанту (хлорамину). Следует заметить, что на плавбазе, в соответствии с «Методическими указаниями для судовых медицинских работников по дезинфекции на морских судах во время рейсов» [10], постоянно применяют для профилактической дезинфекции 0,3–0,5%-е растворы хлорсодержащих препаратов (хлорная известь, хлорамин). Поэтому, судя по литературным данным [9], можно было предполагать, что в ходе рейса резистентность судовой популяции эшерихий к этой концентрации препаратов должна возрасти. Однако, как показали результаты наблюдений (табл. 2), до выхода судна в рейс среди выделенных культур *E. coli* встречались такие (1,96 %), которые в меньшей степени реагировали даже на длительную экспозицию 1%-го раствора

Таблица 2

Динамика чувствительности к хлорамину судовой популяции *E. coli* на разных этапах промыслового рейса

Концентрация	Результат	Удельный вес штаммов ($P \pm m$), %		
		1-й этап ($n = 39$)	2-й этап ($n = 36$)	3-й этап ($n = 39$)
1%-й раствор	++++	98,0 $\pm$ 1,8	100	100
	+++	2,0 $\pm$ 1,8	0	0
	++	0	0	0
	+	0	0	0
	–	0	0	0
0,5%-й раствор	++++	82,5 $\pm$ 8,2	93,4 $\pm$ 4,0	100
	+++	13,7 $\pm$ 5,0	6,6 $\pm$ 4,0	0
	++	3,8 $\pm$ 2,5	0	0
	+	0	0	0
	–	0	0	0
0,3%-й раствор	++++	57,4 $\pm$ 6,4	33,4 $\pm$ 8,0	42,1 $\pm$ 8,7
	+++	29,6 $\pm$ 5,9	30 $\pm$ 7,8	31,5 $\pm$ 8,4
	++	1,9 $\pm$ 1,8	30 $\pm$ 7,8	26,4 $\pm$ 8,0
	+	3,7 $\pm$ 2,5	6,6 $\pm$ 4,0	0
	–	7,4 $\pm$ 3,9	0	0
0,1%-й раствор	++++	0	0	0
	+++	5,8 $\pm$ 3,0	0	0
	++	3,9 $\pm$ 2,5	16,6 $\pm$ 6,2	10 $\pm$ 5,4
	+	11,8 $\pm$ 4,2	56,6 $\pm$ 8,5	35 $\pm$ 7,5
	–	78,5 $\pm$ 5,3	26,8 $\pm$ 7,5	55,0 $\pm$ 9,0

Примечание: «++++» – лизис всех колоний; «+++» – рост единичных колоний; «++» – 50%-й рост колоний; «+» – единичные зоны лизиса; «–» – нет лизиса.

хлорамина. 3,8 % культур давали 50%-й рост колоний, 11,1 % оказались практически не чувствительными к действию 0,3%-го раствора хлорамина. И, напротив, уже к 0,1%-му раствору оказались чувствительными 5,8 % выделенных штаммов, т. е. и по этим свойствам судовая популяция *E. coli* была наиболее гетерогенной до выхода судна в плавание.

На последующих этапах рейса популяция *E. coli* по признаку чувствительности к используемым в эксперименте растворам хлорамина существенно изменялась. В частности, штаммы, резистентные к 1%-му раствору, уже не были выделены. Значительно сократилось число культур, чувствительных к 0,1%-му раствору хлорамина. На третьем этапе рейса вся судовая популяция *E. coli* была чувствительной к 0,5%-му раствору – наиболее широко применяемому на практике, а также сократилась доля культур, устойчивых к 0,3%-му раствору ($p < 0,05$).

Таким образом, и по отношению к чувствительности к дезинфектанту судовая популяция *E. coli* в ходе длительного рейса становилась более однородной. При этом, как и по отношению к признаку устойчивости к а/б, первоначально утрачивались крайние ее варианты. Важно подчеркнуть, что достаточно широкое применение 0,5%-го раствора хлорамина на судне не привело к увеличению доли устойчивых к этой концентрации штаммов *E. coli*. Напротив, по сравнению с первым этапом, таковых на третьем этапе не было выделено вовсе. Достоверно не увеличилась и доля штаммов, резистентных к 0,3%-му раствору хлорамина.

Следовательно, реакция судовой популяции *E. coli* на действие внешних факторов (применение антибиотиков среди судового коллектива, проведение дезинфекционных мероприятий) не носила характера прямого приспособления к их влиянию, а оказалась более сложной. В частности, могла повышаться устойчивость к антибиотикам, на судне не применявшимся, и снижалась резистентность к хлорамину, несмотря на его широкое использование.

При этом, надо полагать, механизм этих изменений одинаков по отношению к чувствительности *E. coli* как к антибиотикам, так и к дезинфектантам.

Приведенные нами данные соответствовали экспериментальным исследованиям В.А. Стрельцова [13] показавшим, что изменения резистентности штаммов *E. coli* к дезинфектантам коррелируют с аналогичными изменениями чувствительности к антибиотикам. Причем выявленная корреляция могла носить характер как прямой, так и обратной связи. В последующем аналогичные данные мы встретили и в работах других исследователей [12].

Наряду с изучением фенотипических признаков судового популяции *E. coli* в ходе длительного рейса, нами проводилось и определение плазмидного профиля выделенных микроорганизмов. Результаты исследования выделенных на первом этапе рейса эшерихий продемонстрировали значительное разнообразие плазмид с разной молекулярной массой и плазмидных типов по их сочетанию у одного штамма кишечной палочки. Эта особенность последней отмечена и в других публикациях [11, 15]. Только у двух штаммов *E. coli* (2,5 %) оказался одинаковый набор плазмид. Все остальные варианты имели самый разнообразный спектр, не совпадающий ни по их набору, ни по молекулярной массе (табл. 3). Важно подчеркнуть, что до выхода в море только 19,6 % штаммов кишечной палочки были бесплазмидными. 1–2 плазмиды содержали 41,2 %, а 3 и более – 39,2 % выделенных культур.

Проведенное нами изучение плазмидного спектра эшерихий на втором этапе рейса продемонстрировало отсутствие бесплазмидных штаммов при доминировании штаммов кишечной палочки, содержащих 1–2 плазмиды (83,3 %). При этом увеличилась до 14,7 % доля штаммов, содержащих идентичный набор плазмид.

На третьем этапе рейса, напротив, основную массу составили штаммы не имеющие плазмид, и значительно сократилось количество культур, содер-

Таблица 3
Типичные варианты набора плазмид по молекулярной массе у штаммов *E. coli*, выделенных на разных этапах промыслового рейса

Этап рейса	Характеристика и структура штаммов ($M \pm m$), %		
	Бесплазмидные	1–2 плазмиды	3 и больше плазмид
1-й этап ($n = 39$)	19,4 ± 4,4 %	41,3 ± 5,4 %	39,3 ± 5,3 %
	–	4,4; 3,4 MDa 100; 85 MDa 82; 2,5 MDa 35; 2,4 MDa 80 MDa	65; 4,4; 1,5 MDa 65; 47; 2,9 MDa 62; 35; 26; 3,5 MDa 55; 5,4; 4,5; 3,6; 3,3 MDa 63; 45; 5,4; 5,1; 3,6; 3,2 MDa 65; 55; 43; 4,5; 4,0; 3,4; 2,5 MDa
2-й этап ($n = 34$)	0	83,3 ± 6,5 %	16,7 ± 6,5 %
	–	80 MDa 82; 62 MDa 62; 4,5 MDa 5,5; 2,9 MDa	80; 33; 24 MDa 62; 33; 1,0 MDa 62; 35; 26; 3,5 MDa
3-й этап ($n = 36$)	58,2 ± 8,4 %	41,8 ± 8,4 %	0
	–	80 MDa 1,0 MDa 62; 4,6 MDa	–

жащих 1–2 плазмиды. Впервые были зарегистрированы эшерихии, несущие только одну криптическую плазмиду.

Необходимо отметить, что до выхода в море чаще всего среди плазмид, характерных для судовой популяции *E. coli*, встречались плазмиды с молекулярной массой 70 и 65 MDa – в 15 штаммах (19,5 %). Среди плазмид с низким молекулярным весом преобладали плазмиды 3,2 и 3,4 MDa – в 5 штаммах (6,5 %).

На втором этапе рейса среди плазмид с высоким молекулярным весом доминировали плазмиды 62 MDa (12 штаммов (35,3 %)), а среди плазмид с низким молекулярным весом – плазмиды 1,0 MDa (7 штаммов (20,6 %)). Причем каждый новый этап обследования характеризовался появлением и новых плазмид как с высоким, так и с низким молекулярным весом. В этой связи следует заметить, что плазмидами, контролирующими фенотипические свойства бактерий, считают только их представителей с большой молекулярной массой. Как показали наши исследования, независимо от молекулярной массы наименьшее селективное преимущество в судовой популяции имели штаммы эшерихий с максимально большим набором плазмид.

Следует заметить, что R.K. Selauder et al. [21] основным путем поступления в организм человека *E. coli* считают воду и пищу. Несомненно, что на судне именно эти факторы передачи играют важную роль в ограничении гетерогенности ее популяции, поскольку на протяжении всего рейса члены экипажа употребляют питьевую воду из опреснителя и едят одинаковую пищу. Кроме того, учитывая специфику обитания членов судового коллектива, весьма значимую роль в этих условиях играет и контактный путь передачи. Видимо, этим объясняется и появление у ряда членов экипажа штаммов *E. coli* с одинаковым набором плазмид. Однако этот фактор, на наш взгляд, не объясняет причину изменения плазмидного спектра штаммов эшерихий в ходе рейса. Почему уходят штаммы с максимальным его разнообразием? Как мы полагаем, эти данные свидетельствуют о том, что наличие широкого спектра плазмид более характерно для эшерихий, циркулирующих среди населения в береговых условиях. Именно здесь бактерии подвергаются мощному селективному действию химиопрепаратов, и, судя по имеющимся публикациям [11, 15], именно плазмиды способствуют их выживаемости. К тому же проведенный анализ фено- и генотипических признаков судовой популяции *E. coli*, позволил выявить общую закономерность изменения их биологических свойств в ходе длительного рейса: от выраженной гетерогенности, отмеченной перед выходом судна в море, к максимальной однородности. Надо полагать, что это приспособительный ответ популяции микроорганизмов в пределах данного генотипа на изменения среды обитания, поскольку «... любая популяция стремится сохранить состав, обеспечивающий среднюю приспособленность к той частной среде, в которой она обитает» [3]. Различия в действии факторов, присущих береговым

условиям и действующих в судовой среде, видимо, и привели к вышеуказанным фено- и генотипическим модификационным изменениям в судовой популяции *E. coli*. То обстоятельство, что выявленная тенденция к изменению плазмидного спектра эшерихий, выделенных в ходе длительного рейса, сопровождалась появлением штаммов с соответствующими изменениями фенотипических свойств, позволяет думать, что именно с плазмидами связана выраженная по этим свойствам гетерогенность популяции *E. coli* до выхода судна в море. Это не противоречит сложившимся в литературе представлениям о роли плазмид [11].

Таким образом, наши исследования свидетельствуют о существовании определенной закономерности в селекции штаммов в специфических условиях обособленных коллективов (от выраженной гетерогенности к большей однородности). В период длительного плавания, наряду с обеднением микрофлоры, циркулирующей среди членов экипажа, происходили ее адаптивные фено-, генотипические преобразования: судовая популяция *E. coli* приобретала все большую однородность по морфотинкториальным свойствам и по устойчивости к а/б. Причем прежде всего утрачивались крайние ее варианты (т. е. как наиболее, так и наименее устойчивые к а/б и дезинфектантам). В гетерогенной популяции *E. coli*, а вероятно, и других представителей энтеробактерий, сохраняются клоновые линии, способные к восстановлению чувствительности к антибиотикам при создании соответствующих условий. Это позволяет считать судовую среду, и прежде всего относительно изолированность коллектива, фактором, способствующим вышеуказанным изменениям в судовой популяции эшерихий. Однако реакция *E. coli* на действие внешних факторов (применение антибиотиков среди судового коллектива, проведение дезинфекционных мероприятий) не носит характера прямого приспособления к их влиянию, а является более сложной. В частности, могла повышаться устойчивость к антибиотикам, на судне не применявшимся, и снижалась резистентность к хлорамину, несмотря на его широкое использование. Экстраполяция приведенных результатов исследования на проблему формирования резистентности к антимикробным препаратам в целом подтверждает современные данные о том, что механизмы этого явления обусловлены не только широким и бесконтрольным их применением.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Адарченко А.А., Красильников А.П., Собошук О.П. Методика определения чувствительности – устойчивости бактерий к антисептикам: Метод. рекомендации. – Минск, 1989. – 26 с.
Adarchenko A.A., Krasilnikov A.P., Sobeshchuk O.P. Methods of determining of the sensitivity – resistance of bacteria to antiseptics: Guidelines. – Minsk, 1989. – 26 p. (in Russian)
2. Анганова Е.В., Рычкова Е.Н., Савилов Е.Д. Особенности антибиотикостойчивости бактерий

микробиоценоза реки Вилуй // Бюлл. ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 2. – С. 72–74.

Anganova E.V., Rychkova E.N., Savilov E.D. Features of antibiotic resistance of bacteria of the Vilyui river microbiocenosis // Bjull. VSNC SO RAMN. – 2007. – N 2. – P. 72–74. (in Russian)

3. Водопьянов П.А. Устойчивость в развитии живой природы. – Минск: Наука и техника, 1974. – 160 с.

Vodopyanov P.A. Stability in the wildlife development. – Minsk: Nauka i tehnika, 1974. – 160 p. (in Russian)

4. Гланц С. Медико-биологическая статистика. – М.: Практика, 1998. – 459 с.

Glants S. Biomedical statistics. – Moscow: Praktika, 1998. – 459 p. (in Russian)

5. Дебабов Д.В. Устойчивость к антибиотикам: происхождение, механизмы, подходы к преодолению // Биотехнология. – 2012. – № 4. – С. 7–17.

Debabov D.V. Antibiotic resistance: origin, mechanisms, approaches to breaking // Biotehnologija. – 2012. – N 4. – P. 7–17. (in Russian)

6. Иванов Д.В. Характеристика устойчивости к бета-лактамам антибиотикам внутрибольничных штаммов *Proteus mirabilis* // Ж. микробиол. – 2008. – № 6. – С. 75–78.

Ivanov D.V. Characteristics of resistance to beta-lactam antibiotics of nosocomial strains of *Proteus mirabilis* // Zh. mikrobiol. – 2008. – N 6. – P. 75–78. (in Russian)

7. Капралова Л.Е. Чувствительность к антибиотикам кишечных палочек разного происхождения // Тез. докл. VI Всерос. съезда микробиол., эпидемиол. и паразитол. – М., 1991. – Т. 1. – С. 86–87.

Kapralova L.E. Resistance to the antibiotics of *E.coli* of different origin // Proceedings of VI All-Russian meeting of microbiologists, epidemiologists and parasitologists. – Moscow, 1991. – Vol. 1. – P. 86–87. (in Russian)

8. Колпаков С.Л., Толопа Т.Д., Ларькина Т.Б., Яковлев А.А. и др. Носительство условно-патогенных энтеробактерий в относительно изолированных коллективах и некоторые особенности эпидемического процесса // Инфекционная патология в Приморском крае. – Владивосток: Дальнаука, 1994. – С. 53–54.

Kolpakov S.L., Tolopa T.D., Larkina T.B., Yakovlev A.A. et al. Carriage of opportunistic enterobacteria in relatively isolated groups of people and some peculiarities of epidemic process // Infectious Pathology in Primorsky Territory. – Vladivostok: Dalnauka, 1994. – P. 53–54. (in Russian)

9. Красильников А.П., Гудкова Е.И. Исследование чувствительности энтеробактерий к дезинфектантам // Ж. микробиол. – 1993. – № 5. – С. 22–28.

Krasilnikov A.P., Gudkova E.I. Research of sensitivity of enterobacteria to the disinfectants // Zh. mikrobiol. – 1993. – N 5. – P. 22–28. (in Russian)

10. Методические указания для судовых работников по дезинфекции на морских судах во время рейсов // Сборник инструктивно-методических материалов по дезинфекционному делу на промысловом флоте. – Л: Изд-во «Транспорт», 1975. – С. 4–19.

Guidelines for employees on shipboard on the disinfection on sea vessels during sailing // Source book of instruction and methodological materials on the disinfecting on fishing fleet. – Leningrad: Transport, 1975. – P. 4–19. (in Russian)

11. Пехов А.В. Плазмиды бактерий. – М.: Медицина, 1986. – 224 с.

Pekhov A.V. Plasmids of bacteria. – Moscow: Meditsina, 1986. – 224 p. (in Russian)

12. Родин В.Б., Кобзев Е.Н., Детушева В.Н. Мартынова В.Н. и др. Перекрестная устойчивость микроорганизмов к антибиотикам, сопряженная с резистентностью к дезинфектантам // Дезинфекционное дело. – 2011. – № 4. – С. 20–25.

Rodin V.B., Kobzev E.N., Detusheva V.N., Martynova V.N. et al. Cross resistance of microorganisms to the antibiotics connected with resistance to the disinfectants // Dezinfekcionnoe delo. – 2011. – N 4. – P. 20–25. (in Russian)

13. Стрельцов В.А. Генетическая рекомбинация и антибиотикорезистентность в формировании устойчивости половых гибридов шигелл Флекснера и эшерихий к дезсредствам // Кишечные заболевания и инвазии в природно-климатических условиях Приморья. – Владивосток: Изд-во ДВНЦ АН СССР, 1977. – С. 60–62.

Streltsov V.A. Genetic recombination and antibiotic resistance in the formation of resistance of sexual hybrids of Flexner Shigella and Escherichia to the disinfectants // Enteric diseases and invasions in natural and climatic conditions of the Primorye. – Vladivostok: Publ. of FESC AS USSR, 1977. – P. 60–62. (in Russian)

14. Туркутюков В.Б., Яковлев А.А., Колпаков С.Л., Дзюба Г.Т. и др. Изучение механизмов формирования актуальной инфекционной и неинфекционной заболеваемости в Дальневосточном регионе // Тихоокеанский мед. журн. – 2006. – № 3. – С. 10–15.

Turkutuykov V.B., Yakovlev A.A., Kolpakov S.L., Dzyuba G.T. et al. Study of mechanisms of formation of actual infectious and non-infectious morbidity in Far-Eastern Region // Tihookeanskij med. zhurn. – 2006. – N 3. – P. 10–15. (in Russian)

15. Энтеробактерии: рук-во для врачей / Под ред. В.И. Покровского. – М.: Медицина, 1985. – С. 16–57.

Enterobacteria: guideline for physicians / Ed. by V.I. Pokrovskiy. – Moscow: Meditsina, 1985. – P. 16–57. (in Russian)

16. Яковлев А.А. Теоретические и прикладные аспекты морской эпидемиологии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – Омск, 1997. – 46 с.

Yakovlev A.A. Theoretical and applicable aspects of marine epidemiology: Abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – Omsk, 1997. – 46 p. (in Russian)

17. Baldini M.D., Cafesali C.B. Occurrence of antibiotic-resistant *Escherichia coli* isolated from enviromented samples // Mag. Pollut. Bull. – 1991. – Vol. 22, N 10. – P. 500–503.

18. D'Costa V.M., King C.E., Kalan L. et al. Antibiotic resistance is ancient // Nature. – 2011. – Vol. 477. – P. 457–461.

19. Kahan F.M., Sharp M. International survey of multiresistance from ISU patient // 5th Eur. Congress Clin. Microbial. and Infect. Diseases. – Oslo, 1999. – P. 13.

20. Kado C.I., Lin S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids // J. Bacteriol. – 1981. – Vol. 145. – N 3. – P. 1365–1373.

21. Selauder R.K., Caugant D.A., Whittam T.S. Genetic structure and variation in natural population of *Escherichia coli* // *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. Cell and Mol. Biol. – Washington DC, 1987. – Vol. 2. – P. 1625–1648.

Сведения об авторах

Яковлев Анатолий Александрович – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры эпидемиологии и военной эпидемиологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (690050, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2; тел.: 8 (423) 244-63-53; e-mail: yakovlev-epid@yandex.ru)

Колпаков Сергей Леонидович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры эпидемиологии и военной эпидемиологии Тихоокеанского государственного медицинского университета (e-mail: kaf.epi.vladmed@mail.ru)

Шубин Феликс Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярной эпидемиологии Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова ДВО РАН

Туркутюков Вячеслав Борисович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой эпидемиологии и военной эпидемиологии Тихоокеанского государственного медицинского университета

Information about the authors

Yakovlev Anatoly Alexandrovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Epidemiology and Military Epidemiology of Pacific State Medical University (Ostryakov av., 2, Vladivostok, 690050; tel.: +7 (423) 244-63-53; e-mail: yakovlev-epid@yandex.ru)

Kolpakov Sergey Leonidovich – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Epidemiology and Military Epidemiology of Pacific State Medical University (e-mail: kaf.epi.vladmed@mail.ru)

Shubin Felix Nikolaevich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Molecular Epidemiology of G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology FEB RAS

Turkutyukov Vyacheslav Borisovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Epidemiology and Military Epidemiology of Pacific State Medical University