

МИКРОБИОЛОГИЯ / MICROBIOLOGY

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.126.121>

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРОФЛОРЫ ДОЖДЕВЫХ ОСАДКОВ

Научная статья

Лыков И.Н.^{1,*}, Моисеев Я.И.²¹ ORCID : 0000-0002-5326-0442;^{1,2} Калужский государственный университет им. К.Э. Циолковского, Калуга, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (linprof47[at]yandex.ru)

Аннотация

Основная цель этого исследования состояла в том, чтобы проанализировать и сравнить микробные сообщества дождевых осадков, собранных в разных местах города Калуги. Отбор проб дождевых осадков на территории города осуществляли в селитебной зоне, в пригородной зоне и в сосновом бору. Доминирующими микроорганизмами в образцах дождевых осадков в городской среде были кокковые микроорганизмы, плесневые грибы и бациллы. Результаты исследования показали, что распространенность бактерий, устойчивых к антибиотикам в образцах дождевых осадков из различных районов города составляла от 1,1% до 98,4%. Среди 14 протестированных антибиотиков наибольшую устойчивость выделенные микроорганизмы проявляли в отношении ампициллина, олеандомицина, оксациллина, бензилпенициллина и фосфомицина. Наибольшую эффективность в отношении выделенных микроорганизмов показал неомицин.

Ключевые слова: городская среда, дождевые осадки, микроорганизмы, антибиотики, резистентность.

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF RAINFALL MICROFLORA

Research article

Likov I.N.^{1,*}, Moiseenkova Y.I.²¹ ORCID : 0000-0002-5326-0442;^{1,2} K.E. Tsiolkovsky Kaluga State University, Kaluga, Russian Federation

* Corresponding author (linprof47[at]yandex.ru)

Abstract

The main goal of this research was to analyse and compare the microbial communities of rainfall collected in different locations of Kaluga. Rainfall sampling in the city was carried out in the residential area, in the suburban area, and in the pine forest. The dominant microorganisms in the samples of rainfall in the urban environment were coccus microorganisms, mold fungi and bacilli. The results showed that the prevalence of antibiotic-resistant bacteria in rainfall samples from different areas of the city ranged from 1,1% to 98,4%. Among the 14 antibiotics tested, the isolated microorganisms showed the strongest resistance against ampicillin, oleandomycin, oxacillin, benzylpenicillin and fosfomycin. Neomycin was the most effective against the isolated microorganisms.

Keywords: urban environment, rainfall, microorganisms, antibiotics, resistance.

Введение

Городские ландшафты являются объемным резервуаром для микробных сообществ. Поэтому проблема распределения, контаминации и концентрирования микробов в городской среде вызывает большой интерес у исследователей. Химические, физические и биологические факторы городской среды заставляют подстраиваться под постоянно меняющиеся условия всех членов антропоэкоисотемы, включая микроорганизмы. В этих условиях сложность, динамизм и потенциальное значение городских микробиомов становится все более очевидными. Но микробные сообщества городской среды и их роль в оценке взаимоотношений среда-человек изучены недостаточно [1].

Бактерии играют центральную роль почти во всех экосистемах. Они обнаруживаются в воздухе, почве, воде, на окружающих нас предметах, пищевых продуктах, в организме человека и животных [1], [2], [3]. Переносимые дождем микробы имеют возможность стать частью надземного микробного сообщества. Но исследования, посвященные микробиологии воздуха, не дают ответы на вопросы микробной контаминации дождевых осадков, что дает повод к дальнейшему изучению их микробиома.

Состав дождевых осадков зависит от качества воздуха. Фактически дождевые осадки содержат те же соединения, что и воздух, включая нитриты, нитраты, сульфиты, сульфаты, аммиак и т. д. Поэтому дождевые осадки являются индикатором загрязнения атмосферы [4], [5]. Воздушный столб высотой один километр, шириной с каплю дождя содержит в себе 10–15 литров воздуха. Если собрать литр дождевой воды, то он будет содержать информацию о биологических и химических параметрах 250–300 тысяч литров воздуха [6], [7], [8]. Присутствие различных неорганических и органических соединений в дождевых осадках позволяет поддерживать жизнеспособность бактериального сообщества [9].

Инфекции, устойчивые к антибиотикам, являются одной из основных угроз для здоровья человека. Быстрое появление устойчивости к противомикробным препаратам в микробиоме человека и животных вызывает глобальную обеспокоенность. Это связано со значительным и чрезмерным использованием антибиотиков, что подразумевает

попадание большого количества генов устойчивости к антибиотикам в окружающую среду, в том числе в водную среду [10], [11], [12].

Исследования, выясняющие роль окружающей среды в распространении резистентной микрофлоры, все еще находятся в зачаточном состоянии. Хотя различные среды, в том числе и водная среда, могут функционировать как долгосрочный резервуар бактериальных генов устойчивости к антибиотикам [13].

Методы и принципы исследования

Отбор проб дождевых осадков проводили на протяжении осеннего сезона 2022 года. Места отбора проб дождевой воды на территории г. Калуги выбраны в селитебной зоне и пригороде, а в качестве объекта сравнения – сосновый бор. Пробы дождевых осадков отбирали в стерильные пластиковые емкости с соблюдением правил асептики. Отобранные пробы дождевых осадков маркировали с указанием места, даты, времени забора и другой информацией. Время от момента отбора проб дождевых осадков до начала исследований не превышало 6 часов.

Количественный учет микроорганизмов (колонии образующие единицы – КОЕ) проводили в соответствии с Методическими указаниями МУК 4.2.2661-10 «Методы санитарно-паразитологических исследований». Идентификацию бактерий выполняли в следующей последовательности: описание культуральных признаков выделенного микроорганизма; получение чистой суточной культуры путем посева на питательные среды; окраска по Граму и микроскопирование препарата.

Определение чувствительности бактерий к антибиотикам осуществляли диффузионным методом с использованием стандартных дисков с антибиотиками (табл. 1).

Таблица 1 - Перечень использованных антибиотиков

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.126.121.1>

Наименование	Обозначение
Оксациллин (10 мкг)	ОКС
Кларитромицин (15 мкг)	КТМ
Бензилпенициллин (10 ед.)	ПЕН
Тобрамицин (30 мкг)	ТОВ
Фуразолидон (5 мкг)	ФД
Доксициклин (30 мкг)	ДОК
Ломефлоксацин (5 мкг)	ЛОМ
Фосфомицин (200 мкг)	ФОС
Олеандомицин (15 мкг)	ОЛЕ
Неомицин (30 мкг)	НЕО
Тетрациклин (30 мкг)	ТЕТ
Ампициллин (10 мкг)	АМР
Левомецетин (30 мкг)	ЛЕВ
Линкомицин (15 мкг)	ЛИН

После инкубации были измерены зоны ингибирования роста микроорганизмов. Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием классических методов математической статистики и табличного процессора Microsoft Excel.

Основные результаты

Дождевые осадки в городской среде характеризовались микробным изобилием и разнообразием. Самыми чистыми были образцы дождевых осадков, отобранные в пригороде и сосновом бору. В самом городе дождевые осадки содержали большее количество микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 2 - Микробная контаминация дождевых осадков в различных районах г. Калуга

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.126.121.2>

№ п/п	Место отбора	КОЕ/см ³
1	Улицы города	1224 ± 137
2	Пригород	476 ± 23
3	Сосновый бор	334 ± 21

Доминирующими микроорганизмами в образцах дождевых осадков в городской среде были кокковые микроорганизмы (59,4 ± 3,9%), плесневые грибы (22,0 ± 2,4%) и бациллы (18,6 ± 2,3%) (табл. 3). В образцах дождевых

осадков из соснового бора преобладали пенициллы и актиномицеты (73,1 ± 14,3%), а также споровые микроорганизмы (27,0 ± 9,1%).

Таблица 3 - Характеристика микроорганизмов, выделенных из дождевых осадков в различных районах г. Калуга

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.126.121.3>

№ п/п	Место отбора	Виды микроорганизмов
1	Улицы города	<i>Penicillium spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Diplococcus spp.</i> , <i>Micrococcus spp.</i> , <i>Tetracoccus spp.</i>
2	Пригород	<i>Bacillus spp.</i> , <i>Penicillium spp.</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Sarcina spp.</i>
3	Сосновый бор	<i>Penicillium spp.</i> , <i>Bacillus spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i>

Исследованные закономерности устойчивости микроорганизмов к антибиотикам показали мультирезистентность большинства штаммов к антибиотикам (от 1,1% до 98,4%). Среди 14 протестированных антибиотиков наибольшую устойчивость выделенные микроорганизмы проявляли в отношении ампициллина (от 81,5% до 96,6%), олеандомицина (90,2%–91%), оксациллина (88,1%–90%), бензилпенициллина (81,1%–95,7%), фосфомицина (23,3%–88%) (рис. 1). В меньшей степени микроорганизмы обладали устойчивостью к ломефлоксацину (1,4%–19,7%), тобрамицину (1,6%–17,1%). Наиболее выраженное ингибирующее действие в отношении выделенных микроорганизмов оказывал антибиотик неомидин.

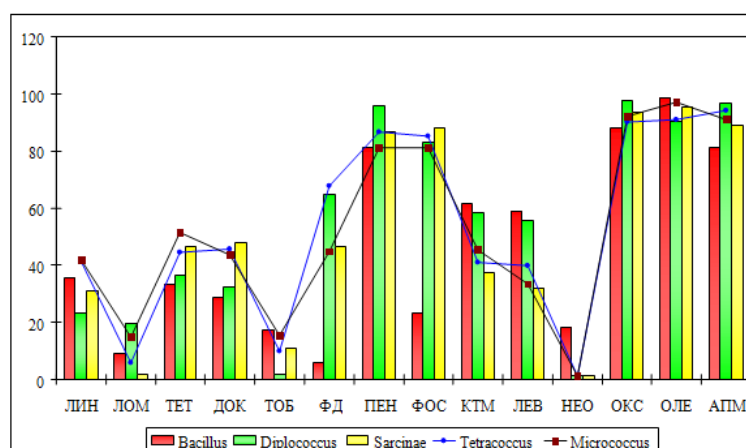


Рисунок 1 - Антибиотикограмма устойчивости выделенных микроорганизмов

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.126.121.4>

Таким образом, дождевые осадки могут быть потенциальным резервуаром микроорганизмов, являющихся важным источником генов устойчивости к антибиотикам.

Заключение

1. В дождевых осадках, собранных на улицах города, количество микроорганизмов превышает фоновые значения (сосновый бор). Это может быть связано с влиянием антропогенных и техногенных факторов городской среды, способствующих активному пылеобразованию и адсорбции микроорганизмов.

2. В образцах дождевых осадков на территории города преобладали кокковые микроорганизмы, плесневые грибы и бациллы. Присутствие кокковой микрофлоры, по нашему мнению, является важным показателем антропогенного микробного загрязнения

3. От 1,1% до 98,4% выделенных микроорганизмов обладали мультирезистентностью к использованным антибиотикам. Наибольшее количество мультирезистентных микроорганизмов обнаружено в селитебных районах города.

4. Максимальную резистентность выделенные микроорганизмы проявляли в отношении ампициллина, олеандомицина, оксациллина, бензилпенициллина и фосфомицина.

5. Наибольшей эффективностью в отношении выделенных микроорганизмов обладал неомидин.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Лыков И. Н. Экологические аспекты техногенного загрязнения снега в урбоземосистемах (на примере г. Калуга) / И. Н. Лыков, Г. А. Шестакова, А. С. Голофеева // *Экология урбанизированных территорий*. — 2014. — 1. — с. 89–93.
2. Лыков И. Н. Микроорганизмы: Биология и экология / И. Н. Лыков, Г. А. Шестакова. — Калуга: СерНа, 2014. — 451 с.
3. Paraskevi N. Polymenakou Atmosphere: A Source of Pathogenic or Beneficial Microbes / N. Paraskevi // *Atmosphere*. — 2012. — 3. — p. 87-102. — DOI: 10.3390/atmos3010087 — URL: www.mdpi.com/journal/atmosphere (accessed 09.12.2022).
4. Arrigo K.R. Sea ice ecosystems / K.R. Arrigo // *Annu. Rev. Mar. Sci.* — 2014. — 6. — p. 439–467.
5. Bucci A. Winter survival of microbial contaminants in soil: an in-situ verification / A. Bucci, V. Allocca, G. Naclerio et. al // *J. Environ. Sci.* — 2015. — Vol. 27. — p. 131–138.
6. Cameron K.A. Diversity and potential sources of microbiota associated with snow on western portions of the Greenland Ice Sheet / K.A. Cameron, B. Hagedorn, M. Dierer et. al // *Environ. Microbiol.* — 2015. — Vol. 17. — p. 594–609.
7. Maccario L. Snow and ice ecosystems: not so extreme / L. Maccario, L. Sanguino, T.M. Vogel et. al // *Res. Microbiol.* — 2015. — Vol. 166. — p. 782–795.
8. Лыков И.Н. Техногенные системы и экологический риск / И.Н. Лыков, Г.А. Шестакова. — М.: Глобус, 2005. — 262 с.
9. Carrera G. Persistent organic pollutants in snow from European high mountain areas / G. Carrera, P. Fernández, R.M. Vilanova et. al // *Atmospheric Environment*. — 2001. — Vol. 35. — p. 245-254.
10. Lykov I. N. Presence of antibiotic-resistant bacteria in the environment / I. N. Lykov, V.S. Volodkin // *AGRITECH-IV-2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 677 (2021) 052044. IOP Publishing*. — p. 1-3. — DOI: 10.1088/1755-1315/677/5/052044
11. Ulises G-R. Genética y genómica enfocadas en el estudio de la resistencia bacteriana / G-R Ulises, S-S Jesús, M-R Esperanza // *Salud pública Méx.* — 2009. — 51(3). — p. 439-446.
12. Patricio A. Evidencia de transferencia horizontal de genes de resistencia a antibióticos provenientes de bacterias ambientales / A. Patricio, C. Valencia, Verónica Barragán et. al // *Avances*. — 2010. — Vol. 2. — p. 1-3. <http://www.usfq.edu.ec/avances/articulos/B1-2-2010>
13. Brito I. L. Examining horizontal gene transfer in microbial communities // *Nat. Rev. Microbiol.* — 2021. — Vol. 19(7). — p. 442-453. — DOI: 10.1038/s41579-021-00534-7.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Lykov I. N. Ekologicheskie aspekty tekhnogennoy zagryazneniya snega v urboekosistemah (na primere g. Kaluga) [Ecological aspects of technogenic damage by snow in urban ecosystems (on the territory of Kaluga)] / I. N. Lykov, G. A. SHestakova, A. S. Golofteeva // *Ekologiya urbanizirovannyh territorij [Ecology of urban areas]*. — 2014. — 1. — p. 89–93 [in Russian].
2. Lykov I. N. Mikroorganizmy: Biologiya i ekologiya [Microorganisms: Biology and Ecology] / I. N. Lykov, G. A. SHestakova. — Kaluga: SerNa, 2014. — 451 p. [in Russian].
3. Paraskevi N. Polymenakou Atmosphere: A Source of Pathogenic or Beneficial Microbes / N. Paraskevi // *Atmosphere*. — 2012. — 3. — p. 87-102. — DOI: 10.3390/atmos3010087 — URL: www.mdpi.com/journal/atmosphere (accessed 09.12.2022).
4. Arrigo K.R. Sea ice ecosystems / K.R. Arrigo // *Annu. Rev. Mar. Sci.* — 2014. — 6. — p. 439–467.
5. Bucci A. Winter survival of microbial contaminants in soil: an in-situ verification / A. Bucci, V. Allocca, G. Naclerio et. al // *J. Environ. Sci.* — 2015. — Vol. 27. — p. 131–138.
6. Cameron K.A. Diversity and potential sources of microbiota associated with snow on western portions of the Greenland Ice Sheet / K.A. Cameron, B. Hagedorn, M. Dierer et. al // *Environ. Microbiol.* — 2015. — Vol. 17. — p. 594–609.
7. Maccario L. Snow and ice ecosystems: not so extreme / L. Maccario, L. Sanguino, T.M. Vogel et. al // *Res. Microbiol.* — 2015. — Vol. 166. — p. 782–795.
8. Lykov I.N. Tekhnogennye sistemy i ekologicheskij risk [Technogenic systems and ecological risk] / I.N. Lykov, G.A. SHestakova. — М.: Globus, 2005. — 262 p. [in Russian].
9. Carrera G. Persistent organic pollutants in snow from European high mountain areas / G. Carrera, P. Fernández, R.M. Vilanova et. al // *Atmospheric Environment*. — 2001. — Vol. 35. — p. 245-254.
10. Lykov I. N. Presence of antibiotic-resistant bacteria in the environment / I. N. Lykov, V.S. Volodkin // *AGRITECH-IV-2020. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 677 (2021) 052044. IOP Publishing*. — p. 1-3. — DOI: 10.1088/1755-1315/677/5/052044

11. Ulises G-R. Genética y genómica enfocadas en el estudio de la resistencia bacteriana [Genetics and genomics focused on the study of bacterial resistance] / G-R Ulises, S-S Jesús, M-R Esperanza // Salud publica Mex [Public health Mex]. — 2009. — 51(3). — p. 439-446. [in Spanish].
12. Patricio A. Evidencia de transferencia horizontal de genes de resistencia a antibióticos provenientes de bacterias ambientales [Evidence of horizontal transfer of antibiotic resistance genes from environmental bacteria] / A. Patricio, C. Valencia, Verónica Barragán et. al // Avances [Progress]. — 2010. — Vol. 2. — p. 1-3. [in Spanish].
13. Brito I. L. Examining horizontal gene transfer in microbial communities // Nat. Rev. Microbiol. — 2021. — Vol. 19(7). — p. 442-453. — DOI: 10.1038/s41579-021-00534-7.