АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ ГЕТЕРОТРОФНЫХ БАКТЕРИЙ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ РАЗЛИЧНЫХ БИОТОПОВ ЛИТОРАЛЬНОЙ ЗОНЫ ОЗЕРА БАЙКАЛ

Е.А. Зименс, Е.В. Суханова, О.И. Белых

Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация

Информация о статье

Дата поступления

3 сентября 2019 г.

Дата принятия к печати

10 декабря 2019 г.

Дата онлайн-размещения

20 декабря 2019 г.

Ключевые слова

Водная толща; обрастания
каменистых субстратов
(перифитон); губки;
микробные сообщества;
антибиотикорезистентность

Финансирование

Работа выполнена в рамках
государственного задания
по теме № 0345-2016-0003
(АААА-А18-116122110061-6)
«Микробные и вирусные
сообщества в биопленках
пресноводных экосистем:
таксономическое
разнообразие, особенности
функционирования и
биотехнологический потенциал»
и при финансовой поддержке
РФФИ в рамках научного
проекта № 18-34-00443

Аннотация

Впервые получены сведения об антибиотикоустойчивости гетеротрофных бактерий, изолированных из обрастаний каменистых субстратов и губок («здоровых» и «больных») оз. Байкал. На устойчивость к 11 антимикробным препаратам проанализировано 377 штаммов, из которых 113 выделено из водной толщи, 227 — из обрастаний каменистых субстратов, 17 — из «здоровых» и 20 — из «больных» губок оз. Байкал. Выявлено 9 чувствительных и 36 устойчивых ко всем антибиотикам штаммов. Определен высокий процент штаммов, устойчивых к ряду антибиотиков широкого спектра действия, как для планктонных (34–82 %), так и для перифитонных (23–94 %) бактерий, при этом выявлены их различия в чувствительности к азитромицину, ванкомицину, тетрациклину и меропенему. Для штаммов, выделенных из перифитона, наиболее эффективное антимикробное действие отмечено для азитромицина, тетрациклина и меропенема, для выделенных из воды — меропенема. В микробном сообществе «здоровых» губок преобладали штаммы, чувствительные к антибиотикам (18–71 %), в то время как в микробном сообществе «больных» губок доля чувствительных штаммов была выше и составила 30–75 %. Доля резистентных штаммов с грамотрицательной организацией клеточной стенки была выше в отношении большинства антибиотиков по сравнению с грамположительными бактериями.

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF HETEROTROPHIC BACTERIA ISOLATED FROM VARIOUS HABITATS OF THE LITORAL AREA OF LAKE BAIKAL

Ekaterina A. Zimens, Elena V. Sukhanova, Olga I. Belykh

Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, the Russian Federation

Article info

Received

September 3, 2019

Accepted

December 10, 2019

Abstract

This is the first time the data on the antibiotic resistance of heterotrophic bacteria were obtained. These bacteria were isolated from fouling of stone substrates and also from «healthy» and «diseased» sponges of Lake Baikal. We have analysed 377 strains for the resistance to 11 antimicrobial agents. 133 of them were isolated from the water column, 227 from stone fouling, 17 from «healthy» sponges, and 20 from «dis-

Available online
December 20, 2019

Keywords

Water column; fouling
of stone substrates (periphyton);
sponges; microbial communities;
antibiotic resistance

Acknowledgements

This research was carried
out as State Assignment
no. 0345-2016-0003
(AAAA-A18-116122110061-6)
«Microbial and Viral Communities
in the Biofilms of Freshwater
Ecosystems: Taxonomic Diversity,
Functional Characteristics, and
Biotechnological Potential» and
was supported by the Russian
Foundation of Basic Research,
Project no. 18-34-00443

В последнее время распространение устойчивости бактерий к антибиотическим препаратам является масштабным и нарастающим, что связано с природно-климатическими и антропогенными факторами, а также с быстрой эволюцией микроорганизмов [1–7].

Известно, что открытые водоемы вследствие поступления в них сточных вод представляют собой резервуар для накопления антибиотикорезистентных бактерий [1; 4]. Условно-патогенные бактерии, как правило, обладающие множественной резистентностью, при попадании в окружающую среду могут служить источником генов антибиотикорезистентности для автохтонных бактерий — естественных обитателей водных экосистем [8–10]. Многие исследователи связывают высокий уровень антибиотикостойкости бактерий с горизонтальным переносом генов резистентности между автохтонной и аллохтонной микрофлорой, поступающей в водоемы с хозяйственно-бытовыми и промышленными сточными водами [8–14]. В связи с этим изучение микробных сообществ водных объектов и определение устойчивости к антибиотическим веществам бактерий являются актуальными, поскольку позволяют не только исследовать фундаментальные аспекты, но и оценить антропогенную нагрузку на водоем.

В настоящее время при мониторинге водоемов систематически выявляют остаточные концентрации таких антибиотиков, как фторхинолоны, макролиды и тетрациклины, что обуславливается их постоянным поступлением в окружающую среду, а также высокой устойчивостью к разрушению. В ре-

езультате данные вещества дольше остаются в природе, распространяясь более широко и накапливаясь в высоких концентрациях [7; 11]. В последние десятилетия микробиологические исследования различных водных экосистем показали частую встречаемость микроорганизмов с множественной антибиотикорезистентностью [1; 2; 10; 15–23]. Следует отметить, что устойчивость к антибиотикам изучается в основном для условно-патогенной микрофлоры открытых водоемов, в то время как исследования для автохтонных бактерий малочисленны [2; 15; 24; 25]. В 1990-х и в начале 2000-х гг. проводили исследования антибиотикорезистентности преимущественно условно-патогенных бактерий, изолированных из воды и осадков оз. Байкал [15; 16; 20–22].

Цель работы — оценить антибиотикорезистентность штаммов, изолированных из обрастаний каменистых субстратов, водной толщи и губок литоральной зоны оз. Байкал.

Объект и методика исследования

В качестве объектов исследования в работе использовали коллекции гетеротрофных бактерий 2012 и 2017 гг., изолированных из различных биотопов оз. Байкал.

Коллекция гетеротрофных бактерий 2012 г. получена из обрастаний каменистых субстратов, отобранных в прибрежной зоне вблизи пос. Листвянка, таксономическое разнообразие которой идентифицировано по фрагменту гена 16S рРНК [26]. В работе исследовали 96 штаммов гетеротрофных бактерий, из них 47 грамположительных, отнесенных к филум *Firmicutes* (*Bacillus* и *Paenibacillus*) и *Ac-*

tinobacteria (*Glaciihabitans*, *Pseudoclavibacter*, *Pseudoclavibacter*, *Microbacterium* и *Rhodococcus*), и 49 грамотрицательных, принадлежащих филам *Proteobacteria* (*Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Massilia*, *Serratia*, *Yersinia* и *Stenotrophomonas*) и *Bacteroidetes* (*Flavobacterium*).

Коллекция 2017 г. получена в ходе экспедиционных работ, проведенных с 4 по 9 августа 2017 г. в прибрежной зоне оз. Байкал на следующих станциях: напротив пос. Большие Коты (51°53'930", 105°03'838"), напротив пос. Большое Голоустное (52°01'208", 105°23'984"), в проливе Ольхонские Ворота (53°00'915", 106°55'722") и вблизи бухты Ая (52°49'831", 106°42'223"). Пробы воды отбирали с различных горизонтов от 0 до 25 м с помощью батометра. Водолазы-исследователи поднимали три каменных субстрата с обрастаниями и губки («здоровые» и «больные») в стерильных контейнерах с глубины 12–20 м. Изоляцию штаммов проводили по методике, описанной ранее [26].

Для тестирования взято 377 штаммов, из которых 113 изолировано из водной толщи, 227 — из обрастаний каменных субстратов, 17 — из «здоровых» и 20 — из «больных» губок оз. Байкал.

Определение антибиотикорезистентности микроорганизмов проводилось методом диффузии в агар с помощью бумажных дисков, пропитанных антибиотиками ДИ-ПЛС-50-01 НИЦФ (Санкт-Петербург, Россия): азитромицин (15 мкг), бензилпенициллин (10 ЕД), ванкомицин (30 мкг), амоксициллин + клавулоновая кислота (20 мкг/10 мкг), гентамицин (120 мкг), ампициллин (10 мкг), левомицетин (30 мкг), сульфаниламид (300 мкг), амоксициллин (20 мкг), тетрациклин (30 мкг), меропенем (10 мкг).

Исследуемые микроорганизмы выращивали на плотной питательной среде, далее готовили однородную суспензию клеток в стерильной воде таким образом, чтобы в 1 мл суспензии содержалось около 2 млрд клеток. Концентрацию клеток определяли по стандарту мутности (Ормет, Россия). Посев осуществляли поверхностным методом: на застывшую среду вносили 300 мкл готовой суспензии и растирали стерильным шпателем. Бумажные диски с антибиотиками помещали на поверхность на равном расстоянии друг от друга. Посевы инкубировали при комнатной температуре в течение 24 ч¹. После инкубации измеряли зоны просвет-

ления по методике, описанной ранее [27]: высокочувствительные — зоны лизиса 30 мм и более; чувствительные — от 12 до 30 мм; малочувствительные — 12 мм и менее; резистентные — 5 мм и менее.

Выделение плазмидной ДНК из 18 бактериальных культур проводили по протоколам фирмы-производителя с помощью набора AxyPrep Plasmid Miniprep Kit (Axygen scientific, США). Полученную ДНК вносили в лунки по 20 мкл и визуализировали в 1,8 %-ном агарозном геле с бромистым этидием.

Результаты и их обсуждение

Впервые для микробного сообщества обрастаний каменных субстратов оз. Байкал определена антибиотикостойчивость гетеротрофных бактерий (табл. 1).

В коллекции 2012 г. выявлено максимальное число штаммов, резистентных к широкому спектру антибиотиков. Так, максимальный процент определен для гентамицина (94 %), сульфаниламида (91 %) и бензилпенициллина (81 %). Возможно, высокая устойчивость штаммов бактерий связана с повышенной антропогенной нагрузкой на биотоп, из которого они изолированы, поскольку Листвянка является одним из наиболее посещаемых туристических мест на оз. Байкал.

Тестирование гетеротрофных бактерий из коллекции 2017 г. показало, что максимальное количество штаммов устойчиво к амоксициллину — 72 %, бензилпенициллину — 71 % и ампициллину — 69 %.

Таким образом, для изолятов из коллекции 2017 г. определен более низкий процент антибиотикорезистентных штаммов, что можно связать с разным уровнем антропогенной нагрузки на исследуемых станциях.

Для микроорганизмов, выделенных из обрастаний каменных субстратов, наиболее эффективное антимикробное действие отмечено для азитромицина, тетрациклина и меропенема.

Бактерии, полученные из водной толщи, показали также высокую устойчивость (70–82 %) к следующим антибиотикам: сульфаниламид, бензилпенициллин, ампициллин и амоксициллин, при этом наиболее эффективно рост бактерий подавлял меропенем.

В результате проведенных исследований определен высокий процент штаммов, устойчивых к ряду антибиотиков широкого спектра действия, как для планктонных (34–82 %), так и перифитонных (23–94 %) бактерий, при этом выявлены различия между ними в чувствительности по отношению к азитромицину, ванкомицину, тетрациклину и меропенему.

¹ Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам : метод. указания. М. : Федер. центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.

Таблица 1

Антибиотикорезистентность штаммов гетеротрофных бактерий, выделенных из различных биотопов оз. Байкал, %

Штаммы	Ази	Амо	Амп	Амо + КК	Мер	Тет	Ван	Бен	Лев	Ген	Сульф
<i>Биопленки, 2012 г.</i>											
Высокочувствительные	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Чувствительные	2	0	0	6	7	3	0	0	3	0	1
Малочувствительные	49	27	24	28	70	20	52	19	45	6	8
Резистентные	49	73	76	66	23	77	48	81	52	94	91
<i>Биопленки, 2017 г.</i>											
Высокочувствительные	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0
Чувствительные	4	4	5	5	17	12	8	7	8	8	9
Малочувствительные	55	24	25	27	57	45	32	21	32	42	29
Резистентные	41	72	69	68	26	43	60	71	60	50	62
<i>Водная толща, 2017 г.</i>											
Высокочувствительные	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Чувствительные	3	7	3	5	19	15	2	5	6	2	6
Малочувствительные	40	21	27	35	47	26	30	13	31	41	14
Резистентные	57	72	70	60	34	59	68	82	63	57	80
<i>Губки «здоровые», 2017 г.</i>											
Высокочувствительные	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0
Чувствительные	6	6	12	6	41	18	6	12	6	18	6
Малочувствительные	24	41	47	53	41	59	47	47	59	35	23
Резистентные	70	53	41	41	18	23	41	41	35	47	71
<i>Губки «больные», 2017 г.</i>											
Высокочувствительные	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0
Чувствительные	10	5	10	5	25	25	10	20	20	20	20
Малочувствительные	30	25	15	45	45	40	25	15	15	35	35
Резистентные	60	70	75	50	30	35	65	60	65	45	45

Примечание. Ази — азитромицин; амо — амоксициллин; амп — ампициллин; амо + КК — амоксициллин + клавулоновая кислота; мер — меропенем; тет — тетрациклин; ван — ванкомицин; бен — бензилпенициллин; лев — левомицетин; ген — гентамицин; сульф — сульфаниламид.

Впервые для микробного сообщества байкальских губок («здоровых» и «больных» особей) определена антибиотикорезистентность гетеротрофных бактерий. Высокая доля штаммов, изолированных из «здоровых» губок, была устойчива к сульфаниламидам (71 %) и азитромицину (70 %).

В данной группе определен высокий процент бактерий, чувствительных к большинству антибиотиков. Возможно, это связано с тем, что штаммы, выделенные из «здоровых»

губок, являются их собственной микрофлорой, которая обладает повышенным антагонистическим потенциалом по отношению к аллохтонным бактериям, поступающим при фильтрации воды [28]. Штаммы, выделенные из «больных» губок, показали также высокую устойчивость (60–75 %) к следующим антибиотикам: ампициллин, амоксициллин, ванкомицин, левомицетин, азитромицин, бензилпенициллин, и были чувствительны к меропенему и тетрациклину.

Результаты тестирования коллекции 2012 г. выявили наиболее высокое количество чувствительных штаммов у грамположительных бактерий в отношении большинства антибиотиков, исключение составил только гентамицин (табл. 2).

Доля грамположительных штаммов бактерий, резистентных к амоксициллину, тетрациклину и ванкомицину, составила 51, 16 и 13 %, в то время как для грамотрицательных — 89, 51 и 77 % соответственно (см. табл. 2). Следует отметить, что восемь штаммов грамотрицательных бактерий были резистентны ко всем используемым антибиотикам.

Например, штаммы родов *Bacillus* и *Paenibacillus* (38 шт.) показали резистентность к 8 антибактериальным препаратам из 11, чувствительность отмечена в отношении меропенема, тетрациклина и левомицетина. Для грамотрицательных бактерий родов *Pseudomonas* и *Aeromonas* (43 шт.) эффективное антимикробное действие отмечено только для меропенема, к остальным антибиотикам выявлена высокая резистентность.

Скрининг плазмидной ДНК в исследуемых штаммах выявил, что все грамотрицательные бактерии *Serratia* sp. 1A и 10A, *Pseudomonas* sp. 4A и 6A содержат плазмиды (табл. 3).

Таблица 2

Антибиотикорезистентность штаммов гетеротрофных бактерий, выделенных из обрастаний каменистых субстратов оз. Байкал (коллекция 2012 г.), %

Штаммы	Ази	Амо	Амп	Амо + КК	Мер	Тет	Ван	Бен	Лев	Ген	Сульф
<i>Грамположительные бактерии</i>											
Резистентные	69	51	60	53	14	16	13	69	31	94	89
Малочувствительные	31	49	40	47	80	82	87	31	66	6	11
Чувствительные	0	0	0	0	6	2	0	0	3	0	0
Высокочувствительные	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Грамотрицательные бактерии</i>											
Резистентные	73	89	89	89	35	51	77	94	27	93	92
Малочувствительные	26	11	11	11	62	47	23	6	71	7	7
Чувствительные	1	0	0	0	3	2	0	0	2	0	1
Высокочувствительные	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Примечание. Ази — азитромицин; амо — амоксициллин; амп — ампициллин; амо + КК — амоксициллин + клавулоновая кислота; мер — меропенем; тет — тетрациклин; ван — ванкомицин; бен — бензилпенициллин; лев — левомицетин; ген — гентамицин; сульф — сульфаниламид.

Таблица 3

Наличие плазмидной ДНК в штаммах гетеротрофных бактерий

Название штамма	Плазмидная ДНК
<i>Serratia</i> sp. 1A	+
<i>Serratia</i> sp. 10A	+
<i>Pseudomonas</i> sp. 4A	+
<i>Pseudomonas</i> sp. 6A	+
<i>Kocuria</i> sp. 3A	–
<i>Bacillus</i> sp. 1B	–
<i>Bacillus</i> sp. 2A	–
<i>Bacillus</i> sp. 2B	–
<i>Bacillus</i> sp. 2C	–
<i>Bacillus</i> sp. 3B	+
<i>Bacillus</i> sp. 5B	–
<i>Bacillus</i> sp. 6B	–
<i>Bacillus</i> sp. 8A	–
<i>Bacillus</i> sp. 9A	–
<i>Bacillus</i> sp. 12B	–
<i>Paenibacillus</i> sp. 5A	–
<i>Paenibacillus</i> sp. 7A	+
<i>Paenibacillus</i> sp. 12A	–

Из 13 грамположительных спорообразующих бактерий только в геномах двух штаммов (*Bacillus* sp. 3В и *Paenibacillus* sp. 7А) детектирована плазмидная ДНК (см. табл. 3).

Присутствие плазмид у данных микроорганизмов предполагает потенциальную устойчивость к разным неблагоприятным внешним факторам и придает клетке-хозяину новые свойства: способность к синтезу антибиотических веществ, устойчивость к антибиотикам, резистентность к УФ-С и другим факторам [29–31].

Одной из причин высокой устойчивости проанализированных грамотрицательных штаммов к антибиотическим веществам может служить наличие генов антибиотикорезистентности во внехромосомных факторах устойчивости — плазидах. Данные мобильные элементы являются своеобразной платформой, на которой посредством различных рекомбинационных систем бактериальной клетки происходит сборка и сортировка генов антибиотикорезистентности [там же]. Кроме того, высокую устойчивость грамотрицательных бактерий можно связать с их способностью детоксифицировать антибиотики в периплазматическом пространстве, которое отсутствует у грамположительных микроорганизмов, механизмы детоксикационной активности которых менее эффективны [там же].

Следует отметить, что устойчивость к антибиотикам изучается в основном для условно-патогенной микрофлоры водных экосистем [1; 5; 16; 18–20], исследования для автохтонных бактерий малочисленны [2; 15; 25]. Условно-патогенные бактерии с множественной резистентностью, попадающие в водоемы с хозяйственно-бытовыми и промышленными сточными водами, могут служить источником генов антибиотикорезистентности для автохтонных бактерий. Многие исследователи связывают повышение уровня антибиотикоустойчивости бактерий водных экосистем с горизонтальным переносом генов резистентности между автохтонными и аллохтонными бактериями [8–14].

Ранее на оз. Байкал была выявлена высокая антибиотикоустойчивость гетеротрофных микроорганизмов. Показано, что 17–19 % штаммов, выделенных из воды антропогенных районов литоральной зоны (пос. Слюдянка, Листвянка и г. Байкальск), отличались устойчивостью к широкому спектру антибиотиков по сравнению с микроорганизмами, выделенными из кернов осадков оз. Байкал [15].

Другими авторами показана высокая антибиотикорезистентность бактерий, изо-

лированных из воды двух соленых меромиктических озер Южной Сибири (оз. Шира и Шунет), подверженных высокому антропогенному влиянию. Множественная антибиотикоустойчивость определена для 42–63 % проанализированных штаммов. Доля бактерий, устойчивых хотя бы к одному антибиотическому препарату, составила 90–100 % [2]. Так, в воде Цимлянского водохранилища и Нижнего Дона выявлена широкая циркуляция штаммов *E. coli*, сальмонелл, клебсиелл и синегнойных палочек, обладающих в основном высоким уровнем антибиотикорезистентности. Наибольшую устойчивость исследуемые бактерии проявили к рифампицину, тетрациклину, левомицетину, эритромицину, азитромицину и ампициллину [19].

Кроме того, в другой работе показана устойчивость к антимикробным препаратам микрофлоры воды р. Лена (автохтонного сообщества). Так, значительное количество микроорганизмов оказалось резистентным к таким антибиотикам, как ампициллин, цефазолин, стрептомицин, цефалексин, фуразолидон и цефуроксим [25].

В период с 1997 по 2001 г. проведены исследования антибиотикорезистентности условно-патогенных бактерий, выделенных из воды различных районов Южного, Среднего и Северного Байкала [16]. Результаты показали, что выделенные культуры обладали наибольшей устойчивостью к рифампицину — 89 %, полимиксину — 80 % и тетрациклину — 61 %. Высокой чувствительностью характеризовались микроорганизмы по отношению к канамицину — 96 %. Установлено, что летом увеличивалось количество бактерий, характеризующихся множественной лекарственной устойчивостью по сравнению с зимним сезоном. Кроме того, наибольшая степень устойчивости проявлялась у микроорганизмов, изолированных из Южного Байкала. Отмечено, что разные виды потенциально-патогенных бактерий проявляли разную степень резистентности к изученным антибиотикам.

В другой работе проанализирована коллекция культур бактерий рода *Enterococcus*, изолированных из воды оз. Байкал [20]. Проведенные эксперименты по определению антибиотикорезистентности характеризуют данные микроорганизмы как антибиотикочувствительные. Высокой чувствительностью характеризовались микроорганизмы по отношению к гентамицину, ванкомицину и тетрациклину. Выделенные культуры обладали наибольшей резистентностью к рифампицину, стрептомицину и бензилпеницилину.

Сравнительно недавно проведено исследование биологического загрязнения крупнейших рек Восточной Сибири — Ангары, Селенги и Лены. Определены антибиотикоустойчивые штаммы условно-патогенных бактерий во всех исследуемых водоемах. Например, в р. Лене отмечена низкая доля резистентных штаммов бактерий (17–48 %), в р. Ангаре — 15–49 %. Наибольшая частота встречаемости штаммов с множественной резистентностью (более половины всех штаммов) выявлена у микроорганизмов, изолированных из воды Братского водохранилища и р. Селенги [1; 24; 25].

Таким образом, впервые получены сведения об антибиотикоустойчивости гетеротрофных бактерий, изолированных из микробных сообществ обрастаний каменистых субстратов и губок («здоровых» и «больных») оз. Байкал. На устойчивость к 11 антимикробным препаратам проанализировано 377 штаммов, из которых 113 изолировано из водной толщи, 227 — из обрастаний ка-

менистых субстратов, 17 — из «здоровых» и 20 — из «больных» губок оз. Байкал. Выявлено 9 чувствительных и 36 устойчивых ко всем антибиотикам штаммов. Определен высокий процент штаммов, устойчивых к ряду антибиотиков широкого спектра действия, как для планктонных (34–82 %), так и для перифитонных (23–94 %) бактерий, при этом выявлены их различия в чувствительности по отношению к азитромицину, ванкомицину, тетрациклину и меропенему. Для штаммов, выделенных из перифитона, наиболее эффективное антимикробное действие отмечено для азитромицина, тетрациклина и меропенема, из воды — меропенема. В микробном сообществе «здоровых» губок преобладали штаммы, чувствительные к антибиотикам (18–71 %), в отличие от штаммов, изолированных из «больных» губок (30–75 %). Доля резистентных штаммов, принадлежащих к бактериям с грамотрицательной организацией клеточной стенки, была выше в отношении большинства антибиотиков.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Условно-патогенные микроорганизмы в водных экосистемах Восточной Сибири и их роль в оценке качества вод / Е.Д. Савилов, Л.М. Мамонтова, Е.В. Анганова, В.А. Астафьев // Сибирский научный медицинский журнал. — 2008. — № 1 (129). — С. 47–51.
2. Lobova T.I. Multiple Antibiotic Resistance of Heterotrophic Bacteria Isolated from Siberian Lakes Subjected to Differing Degrees of Anthropogenic Impact / T.I. Lobova, E.J. Feil, L.Yu. Popova // Microbial drug resistance. — 2011. — Vol. 17, № 17. — P. 583–591.
3. Zhang X.-X. Antibiotic Resistance Genes in Water Environment / X.-X. Zhang, T. Zhang, H.P. Fang // Applied Microbiology and Biotechnology. — 2009. — Vol. 82, iss. 3. — P. 97–114.
4. Call of the Wild: Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments / H.K. Allen, J. Donato, H.H. Wang [et al.] // Nature Reviews Microbiology. — 2010. — Vol. 8, № 4. — P. 251–259.
5. Анганова Е.В. Генетические детерминанты патогенности условно-патогенных энтеробактерий, выделенных у детей с острыми кишечными инфекциями / Е.В. Анганова, А.В. Духанина, Е.Д. Савилов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. — 2012. — № 2. — С. 34–39.
6. Antibiotic Resistance of Benthic Bacteria in Fish-Farm and Control Sediments of the Western Mediterranean / E. Chelossi, L. Vezzulli, A. Milano [et al.] // Aquaculture. — 2003. — Vol. 219, iss. 1-4. — P. 83–97.
7. Wild Coastline Birds as Reservoirs of Broad-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Miami Beach, Florida / L. Poirel, A. Potron, C. De La Cuesta [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. — 2012. — Vol. 56, № 5. — P. 2756–2758.
8. Distribution and Diversity of Conjugative Plasmids Among Some Multiple Antibiotic Resistant *E. coli* Strains Isolated from River Waters / R. Cernat, V. Lazăr, C. Balotescu [et al.] // Bacteriology Virology Parasitology Epidemiology. — 2002. — Vol. 47, iss. 3-4. — P. 147–153.
9. Shakibaie M.R. Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance Gene Among Gram Negative Bacteria in Sewage and Lake Water and Influence of Some Physico-Chemical Parameters of water on Conjugation Process / M.R. Shakibaie, K.A. Jalilzadeh, S.M. Yamakanamardi // Journal of Environmental Biology. — 2009. — Vol. 30, № 1. — P. 45–49.
10. Berglund B. Environmental Dissemination of Antibiotic Resistance Genes and Correlation to Anthropogenic Contamination with Antibiotics / B. Berglund // Infection Ecology & Epidemiology. — 2009. — Vol. 5. — P. 285–294.
11. Gifford D.R. Environmental Variation Alters the Fitness Effects of Rifampicin Resistance Mutations in *Pseudomonas aeruginosa* / D.R. Gifford, E. Moss, R.C. MacLean // Evolution. — 2016. — Vol. 70, iss. 3. — P. 725–730.
12. Juhas M. Horizontal Gene Transfer in Human Pathogens / M. Juhas // Critical Reviews in Microbiology. — 2015. — Vol. 41, № 1. — P. 101–108.
13. Thavasi R. Plasmid Mediated Antibiotic Resistance in Marine Bacteria / R. Thavasi // Journal of Environmental Biology. — 2007. — Vol. 28, № 3. — P. 617–621.
14. The Chromosomal Organization of Horizontal Gene Transfer in Bacteria / P.H. Oliveira, M. Touchon, J. Cury, E. Rocha // Nature Communications. — 2017. — Vol. 8, № 1. — P. 841.
15. Анализ микробного сообщества в литоральной зоне южной части экосистемы озера Байкал / Е.В. Верхозина, В.А. Верхозина, В.В. Верхотуров [и др.]. — DOI: 10.23968/2305-3488.2017.21.3.99-113 // Вода и экология: проблемы и решения. — 2017. — № 3 (71). — С. 100–114.

16. Панасюк Е.Ю. Особенности биоразнообразия условно-патогенных бактерий озера Байкал и их значение при оценке качества воды : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.00.07 / Е.Ю. Панасюк. — Иркутск, 2002. — 20 с.
17. Microbial Communities in Contrasting Freshwater Marsh Microhabitats / N. Buesing, M. Filippini, H. Bürgmann, M.O. Gessner // *FEMS Microbiology Ecology*. — 2009. — Vol. 69, iss. 1. — P. 84–97.
18. Обухова О.В. Экологические особенности устойчивости к антибиотикам условно-патогенной микрофлоры, персистирующей в гидроэкосистемах / О.В. Обухова, Л.В. Ларцева // *Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер.: Рыбное хозяйство*. — 2018. — № 4. — С. 53–57.
19. Антибиотикорезистентность бактерий, выделенных из воды открытых водоемов / П.В. Журавлёв, О.П. Панасовец, В.В. Алешня [и др.] // *Здоровье населения и среда обитания*. — 2015. — № 5 (266). — С. 24–26.
20. Кравченко О.С. Бактерии рода *Enterococcus* в озере Байкал: распределение, видовой состав, механизм адаптации : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 / О.С. Кравченко. — Улан-Удэ, 2009. — 19 с.
21. Верховина Е.В. Микроорганизмы озера Байкал как индикаторы антропогенного влияния и перспективы их использования в биотехнологии : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.23 / Е.В. Верховина. — Улан-Удэ, 2003. — 23 с.
22. Применение дисперсионного и корреляционного методов анализа при исследовании антибиотикорезистентности микроорганизмов озера Байкал / В.А. Верховина, В.А. Верховина, Ю.С. Букин, А.С. Афаров // *Вода: химия и экология*. — 2016. — № 12 (102). — С. 67–73.
23. Лисицкая И.А. Бактериальные сообщества некоторых компонентов экосистемы дельты Волги и Северного Каспия : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.18 / И.А. Лисицкая. — Астрахань, 2008. — 23 с.
24. Гетерогенность микробных сообществ поверхностных водоемов по показателям антибиотикорезистентности бактерий / Е.В. Анганова, Е.Д. Савилов, М.Ф. Савченков, Н.Н. Чemezova // *Гигиена и санитария*. — 2014. — Т. 93, № 4. — С. 19–22.
25. Анганова Е.В. Антибиотикоустойчивость бактерий микробиоценоза реки Лены в районе г. Якутска, Хангаласского и Намского районов (Республика Саха) / Е.В. Анганова, И.Ю. Самойлова // *Сибирский медицинский журнал*. — 2009. — № 7. — С. 211–212.
26. Разнообразие и физиолого-биохимические свойства гетеротрофных бактерий, изолированных из эпипланктонических биопленок озера Байкал / Е.В. Суханова, Ю.Р. Штыкова, М.Ю. Суслова [и др.] // *Микробиология*. — 2019. — Т. 88, № 3. — С. 345–357.
27. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии : учеб. пособие / А.И. Нетрусов. — Москва : Академия, 2005. — 605 с.
28. Теркина И.А. Антагонистическая активность актиномицетов озера Байкал / И.А. Теркина, В.В. Парфенова, Т.С. Ан // *Прикладная биохимия и микробиология*. — 2006. — Т. 42, № 2. — С. 195–199.
29. Супотницкий М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий / М.В. Супотницкий // *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. — 2001. — № 2 (42). — С. 4–11.
30. Determination of Persistent Tetracycline Residues in Soil Fertilized with Liquid Manure by High-Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry / G. Hamscher, S. Sczesny, H. Höper, H. Nau // *Analytical Chemistry*. — 2002. — Vol. 81, № 7. — P. 1509–1518.
31. Spigaglia P. Recent Advances in the Understanding of Antibiotic Resistance in *Clostridium Difficile* Infection / P. Spigaglia // *Therapeutic Advances in Infectious Disease*. — 2016. — Vol. 3, № 1. — P. 23–42.

REFERENCES

1. Savilov E.D., Mamontova L.M., Anganova E.V., Astafev V.A. Conditionally — Pathogenic Microorganisms in Water Objects Eastern Siberia and their Role in Quality Evaluation of Waters. *Sibirskii nauchnyi meditsinskii zhurnal = The Siberian Scientific Medical Journal*, 2008, no. 1 (29), pp. 47–51. (In Russian).
2. Lobova T.I., Feil E.J., Popova L.Yu. Multiple Antibiotic Resistance of Heterotrophic Bacteria Isolated from Siberian Lakes Subjected to Differing Degrees of Anthropogenic Impact. *Microbial drug resistance*, 2011, vol. 17, no. 17, pp. 583–591.
3. Zhang X.-X., Zhang T., Fang H.P. Antibiotic Resistance Genes in Water Environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, vol. 82, iss. 3, pp. 97–114.
4. Allen H.K., Donato J., Wang H.H., Cloud-Hansen K.A., Davies J., Handelsman J. Call of the Wild: Antibiotic Resistance Genes in Natural Environments. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, vol. 8, no. 4, pp. 251–259.
5. Anganova E.V., Dukhanina A.V., Savilov E.D. Genetic Determinants of Pathogenicity of Opportunistic Enterobacteria Isolated from Children with Acute Intestinal Infections. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology Epidemiology Immunobiology*, 2012, no. 2, pp. 34–39. (In Russian).
6. Chelossi E., Vezzulli L., Milano A., Branzoni M., Fabiano M. Antibiotic Resistance of Benthic Bacteria in Fish-Farm and Control Sediments of the Western Mediterranean. *Aquaculture*, 2003, vol. 219, iss. 1–4, pp. 83–97.
7. Poirer L., Potron A., De La Cuesta C., Cleary T., Nordmann P. Wild Coastline Birds as Reservoirs of Broad-Spectrum — B-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Miami Beach, Florida. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2012, vol. 56, no. 5, pp. 2756–2758.
8. Cernat R., Lazăr V., Balotescu C., Cotar A., Coipan E., Cojocaru C. Distribution and Diversity of Conjugative Plasmids Among Some Multiple Antibiotic Resistant *E. coli* Strains Isolated from River Waters. *Bacteriology Virology Parasitology Epidemiology*, 2002, vol. 47, iss. 3–4, pp. 147–153.
9. Shakibaie M.R., Jalilzadeh K.A., Yamakanamardi S.M. Horizontal Transfer of Antibiotic Resistance Gene Among Gram Negative Bacteria in Sewage and Lake Water and Influence of Some Physico-Chemical Parameters of water on Conjugation Process. *Journal of Environmental Biology*, 2009, vol. 30, no. 1, pp. 45–49.

10. Berglund B. Environmental Dissemination of Antibiotic Resistance Genes and Correlation to Anthropogenic Contamination with Antibiotics. *Infection Ecology & Epidemiology*, 2009, vol. 5, pp. 285–294.
11. Gifford D.R., Moss E., MacLean R.C. Environmental Variation Alters the Fitness Effects of Rifampicin Resistance Mutations in *Pseudomonas Aeruginosa*. *Evolution*, 2016, vol. 70, iss. 3, pp. 725–730.
12. Juhas M. Horizontal Gene Transfer in Human Pathogens. *Critical Reviews in Microbiology*, 2015, vol. 41, no. 1, pp. 101–108.
13. Thavasi R. Plasmid Mediated Antibiotic Resistance in Marine Bacteria. *Journal of Environmental Biology*, 2007, vol. 28, no. 3, pp. 617–621.
14. Oliveira P.H., Touchon M., Cury J., Rocha E. The Chromosomal Organization of Horizontal Gene Transfer in Bacteria. *Nature Communications*, 2017, vol. 8, no. 1, pp. 841.
15. Verkhozina E.V., Verkhozina V.A., Verkhoturov V.V., Bukin Yu.S., Safarov A.S. Analysis of Microbial Community in the Littoral Zone of Southern Lake Baikal Ecosystem. *Voda i ekologiya: problemy i resheniya = Water and Ecology*, 2017, no. 3 (71), pp. 100–114. DOI: 10.23968/2305-3488.2017.21.3.99-113. (In Russian).
16. Panasyuk E.Yu. *Osobennosti bioraznoobraziya uslovno-patogennykh bakterii ozera Baikal i ikh znachenie pri otsenke kachestva vody. Avtoref. Kand. Diss.* [Peculiarities of Biodiversity of Opportunistic Pathogenic Bacteria in Lake Baikal and Their Significance for Evaluation of Water Quality. Cand. Diss. Thesis]. Irkutsk, 2002. 20 p.
17. Buesing N., Filippini M., Bürgmann H., Gessner M.O. Microbial Communities in Contrasting Freshwater Marsh Microhabitats. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, vol. 69, iss. 1, pp. 84–97.
18. Obukhova O.V., Lartseva L.V. Ecological Characteristics of Antibiotic Resistance of Conditionally Pathogenic Microorganisms Persistent in Hydroecosystems. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khozyaistvo = Vestnik of Astrakhan State Technical University. Series: Fishing Industry*, 2018, no. 4, pp. 53–57. (In Russian).
19. Zhuravlyov P.V., Panasovets O.P., Aleshnya V.V., Kazachok I.P., Chernogorova T.N., Derevyakina Ye.I. Antibiotic Resistance of Bacteria Isolated from Water of the Open Reservoirs. *Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya = Public Health and Life Environment*, 2015, no. 5 (266), pp. 24–26. (In Russian).
20. Kravchenko O.S. *Bakterii roda Enterococcus v ozere Baikal: raspredelenie, vidovoi sostav, mekhanizm adaptatsii. Avtoref. Kand. Diss.* [Bacteria *Enterococcus* in Lake Baikal: Their Distribution, Species Composition and Adaptation Mechanism. Cand. Diss. Thesis]. Ulan-Ude, 2009. 19 p.
21. Verkhozina E.V. *Mikroorganizmy ozera Baikal kak indikatory antropogennogo vliyaniya i perspektiva ikh ispol'zovaniya v biotekhnologii. Avtoref. Kand. Diss.* [Microorganisms of Lake Baikal as Indicators of Anthropogenic Effect and Possibilities of their Use in Biotechnology. Cand. Diss. Thesis]. Ulan-Ude, 2003. 23 p.
22. Verkhozina E.V., Verkhozina V.A., Bukin Yu.S., Safarov A.S. The Use of Variance and Correlation Methods of Analysis for the Study of Antibiotic Resistance of Microorganisms of Lake Baikal. *Voda: khimiya i ekologiya = Water: Chemistry and Ecology*, 2016, no. 12 (102), pp. 67–73. (In Russian).
23. Lisitskaya I.A. *Bakterial'nye soobshchestva nekotorykh komponentov ekosistemy del'ty Volgi i Severnogo Kaspiya. Avtoref. Kand. Diss.* [Bacterial Community of Some Components of the Ecosystem of the Delta of the Volga and the North Caspian. Cand. Diss. Thesis]. Astrakhan, 2008. 23 p.
24. Anganova E.V., Savilov E.D., Savchenkov M.F., Chemezova N.N. Heterogeneity of Microbial Communities of Surface Waters According to Indices of Antibiotic Resistance of Bacteria. *Gigiena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*, 2014, vol. 93, no. 4, pp. 19–22. (In Russian).
25. Anganova E.V., Samojlova I.Yu. Antibiotic Resistance Bacteria Microbic Community the Rivers of Lena Around Yakutsk, Hangalassky and Namsky Areas (Republic Sakha (Yakutia)). *Sibirskii meditsinskii zhurnal = Siberian Medical Journal*, 2009, no. 7, pp. 211–212. (In Russian).
26. Sukhanova E.V., Shtykova Yu.R., Suslova M.Yu., Pestunova O.S., Kostornova T.Ya. Diversity and Physiological and Biochemical Properties of Heterotrophic Bacteria Isolated from Lake Baikal Epilithic Biofilms. *Mikrobiologiya = Microbiology*, 2019, vol. 88, no. 3, pp. 345–357. (In Russian).
27. Netrusov A.I. *Praktikum po mikrobiologii* [Workshop on Microbiology]. Moscow, Akademiya Publ., 2005. 605 p.
28. Terkina I.A., Parfenova V.V., Ahn T.S. Antagonistic Activity of Actinomycetes of Lake Baikal. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya = Applied Biochemistry and Microbiology*, 2006, vol. 42, no. 2, pp. 195–199. (In Russian).
29. Supotnitskiy M.V. Mechanisms of Antibiotic Resistance in Bacteria. *BIOpreparaty. Profilaktika, diagnostika, lechenie = BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*, 2001, no. 2 (42), pp. 4–11. (In Russian).
30. Hamscher G., Sczesny S., Höper H., Nau H. Determination of Persistent Tetracycline Residues in Soil Fertilized with Liquid Manure by High-Performance Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 2002, vol. 81, no. 7, pp. 1509–1518.
31. Spigaglia P. Recent Advances in the Understanding of Antibiotic Resistance in *Clostridium Difficile* Infection. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*, 2016, vol. 3, no. 1, pp. 23–42.

Информация об авторах

Зименс Екатерина Андреевна — младший научный сотрудник лаборатории водной микробиологии, Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация, e-mail: ekaterinasiemens93@gmail.com.

Суханова Елена Викторовна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории

Authors

Ekaterina A. Zimens — Junior Researcher in Laboratory of Aquatic Microbiology, Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, the Russian Federation, e-mail: ekaterinasiemens93@gmail.com.

Elena V. Sukhanova — Ph.D. in Biology, Researcher in Laboratory of Aquatic Microbiology, Limnological

водной микробиологии, Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация, e-mail: sukhanovalena17@gmail.com.

Белых Ольга Ивановна — кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории водной микробиологии, Лимнологический институт СО РАН, г. Иркутск, Российская Федерация, e-mail: belykh@lin.irk.ru.

Для цитирования

Зименс Е.А. Антибиотикоустойчивость гетеротрофных бактерий, изолированных из различных биотопов литоральной зоны озера Байкал / Е.А. Зименс, Е.В. Суханова, О.И. Белых. — DOI: 10.17150/2500-2759.2019.29(4).513-522 // Известия Байкальского государственного университета. — 2019. — Т. 29, № 4. — С. 513–522.

Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, the Russian Federation, e-mail: sukhanovalena17@gmail.com.

Olga I. Belykh — Ph.D. in Biology, Associate Professor, Leading Researcher in Laboratory of Aquatic Microbiology, Limnological Institute, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Irkutsk, the Russian Federation, e-mail: belykh@lin.irk.ru.

For Citation

Zimens E.A., Sukhanova E.V., Belykh O.I. Antibiotic Resistance of Heterotrophic Bacteria Isolated from Various Habitats of the Litoral Area of Lake Baikal. *Izvestiya Baikal'skogo gosudarstvennogo universiteta = Bulletin of Baikal State University*, 2019, vol. 29, no. 4, pp. 513–522. DOI: 10.17150/2500-2759.2019.29(4).513-522. (In Russian).