

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ

Романова А.А. - студентка 4 курса факультета ветеринарной
медицины и биотехнологии, marselliya@yandex.ru

Научный руководитель - Пульчеровская Л. П. кандидат
биологических наук, доцент
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

Ключевые слова: Антибиотик, *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Bacillus mycoides*, *Listeria monocytogenes* 56, резистентность.

В работе рассматривается чувствительность микроорганизмов к антибиотикам после взаимодействия их с гомологичными бактериофагами.

Бактериофаги (греч. *phagos* - пожирающий, лат. *bacteriophaga* - разрушающий бактерии) — это вирусы бактерий, обладающие способностью специфически проникать в бактериальные клетки, репродуцироваться в них и при выходе потомства вызывать в большинстве случаев разрушение (лизис) бактерий. [1,6,8]

Бактериофаги незримо присутствуют повсюду в нашем мире. Они – наиболее представленная форма жизни на Земле – от 10^{30} до 10^{32} вирусных частиц в биосфере, - и играют ключевую роль в поддержании баланса всех исследованных микробных экосистем.

Широкое внедрение антибиотиков в медицину и ветеринарию привело к значительному повышению резистентности микроорганизмов к ним. Резистентные бактерии можно разделить на две группы: 1) устойчивые к одному антибиотику и 2) устойчивые одновременно к нескольким антибиотикам (множественная резистентность). [2,3]

Патогенные микроорганизмы, в силу того, что с ними ведется постоянная борьба – становятся все более устойчивыми к большинству применяемых антибиотиков. в последнее время такая резистентная флора все больше стали распространяться среди вполне здоровых

людей. Это процесс очень тяжело контролировать и еще труднее предотвратить. Чем чаще используются антибиотики, тем быстрее теряется чувствительность у бактерий и тем сложнее становится лечить бактериальные болезни, вызванные ими у людей и животных. [4,5].

В связи с выше изложенным целью наших исследований стал поиск альтернативного метода снижения антибиотикорезистентности микроорганизмов при проведении лечебных мероприятий.

В работе использовались пробы водопроводной воды, искусственно контаминированные бульонной культурой бактерий: *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Bacillus mycoides*, *Listeria monocytogenes* 56. в качестве фактора воздействия использовали бактериофаги: S-31 УлГАУ, E-053 УлГАУ, B-012 УлГАУ, L-56 УлГАУ, выделенные авторским коллективом из окружающей среды и являющиеся строго специфичными в отношении бактерий изучаемых видов.

В две колбы со стерильной водопроводной водой (по 100 мл) вносили по 10 мл суточной бульонной культуры изучаемого штамма. в первую колбу (опытная колба) в объеме 2 мл вносили дополнительно фаг, активный в отношении бактерий. Во вторую колбу бактериофаг не вносили (контрольная колба).

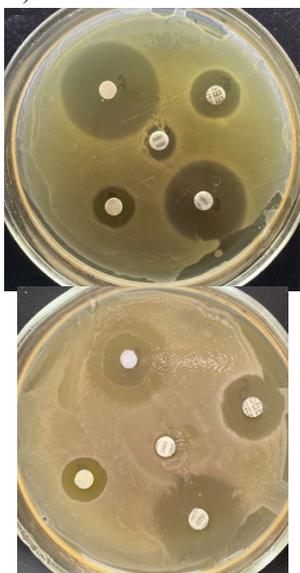
Опытную и контрольную колбы каждого микроорганизма помещали в термостат при температуре 30 °С, 37°С на 21 день. Спустя время фиксировали результаты антибиотикочувствительности.

Изучение чувствительности микроорганизма к антибиотикам проводилось согласно действующей нормативной документации с использованием диско-диффузионного метода. Для приготовления исследуемой суспензии использовали суточные культуры штаммов *S. marcescens*, *E. coli*, *B. mycoides*, *L. monocytogenes* 56, выделенные из контрольных колб (без контакта со специфическим бактериофагом) и опытных колб.

Не позднее, чем через 15 мин после инокуляции на поверхность питательной среды наносили диски с антибактериальными препаратами. Апликацию дисков проводили с помощью стерильного пинцета. Расстояние от диска до края чашки и между дисками было (15-20) мм. Таким образом, на одну чашку диаметром 100 мм помещали не более 6-ти дисков. Диски равномерно контактировали с поверхностью

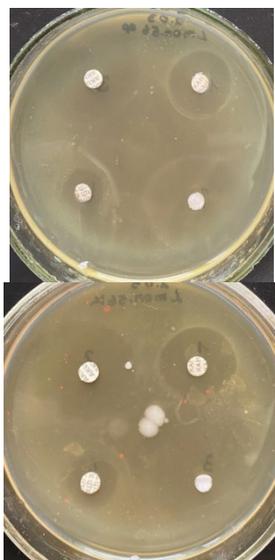
агара, для чего их аккуратно прижимали пинцетом. Непосредственно после аппликации дисков чашки Петри помещали в термостат вверх дном и инкубировали при температуре 30°C, 37°C в течение (18–24) ч. Диффузия антибиотика в агар приводит к формированию зоны подавления роста микроорганизмов вокруг дисков.

При измерении зон задержки роста ориентировались на зону полного подавления видимого роста. Не обращали внимания на очень мелкие колонии, выявляемые в пределах зоны задержки роста только при особых условиях освещения или увеличении, и едва заметный налет у края зоны. Результат учитывали по величине диаметра зоны подавления роста вокруг диска, измеренной в миллиметрах (рис. 1-4, табл. 1).



а б

Рис. 1. Результаты определения резистентности бактерий рода *E. coli* к антибиотикам: из опытной колбы(а), из контрольной колбы (б)



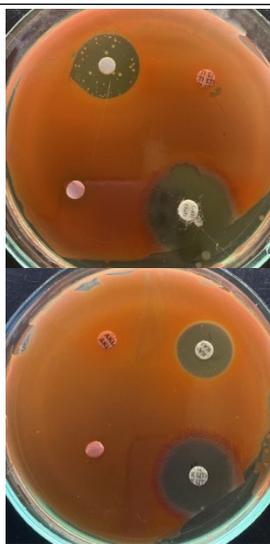
а б

Рис. 2. Результаты определения резистентности бактерий рода *L. monocytogenes* 56 к антибиотикам: из опытной колбы(а), из контрольной колбы(б)



а б

Рис. 3. Результаты определения резистентности бактерий рода *B. mycoides* к антибиотикам: из опытной колбы (а), из контрольной колбы (б)



а б

Рис. 4. Результаты определения резистентности бактерий рода *S. marcescens* к антибиотикам: из опытной колбы (а), из контрольной колбы (б)

Таблица 1 – **Результаты определения антибиотикочувствительности бактерий**

Антибиотик/микроорганизм	<i>E.coli</i> без фага	<i>E.coli</i> с фагом	<i>L. monocytogenes</i> 56 без фага	<i>L. monocytogenes</i> 56 с фагом	<i>B. mycoides</i> без фага	<i>B. mycoides</i> с фагом	<i>S. marcescens</i> без фага	<i>S. marcescens</i> с фагом
Канамицин	19	12	24	20	21	22	19	21
Амоксициллин	11	0	30	30	22	23	0	0
Бициллин	14	19	0	30	36	39	0	0
Цефотаксим	20	23	13	14	19	22	22	21
Цефазолин	20	20	24	28	31	31	0	0
Манурал	24	16	8	13	20	20	20	20
Фурагин	0	14	10	12	18	22	0	0
Цефтриаксон	24	27	12	20	26	27	19	19
Нистатин	0	8	8	0	0	8	0	0

Из таблицы 1 видно, что чувствительность к антибиотикам у изучаемых штаммов в присутствии специфических фагов повышается. Так, задержка роста в сегменте *E. coli* «цефтриаксон» увеличилась с 24-х мм до 27-и мм; в сегменте *L. monocytogenes* 56 «Цефазолин» – с 24-х мм до 28-ми мм, в сегменте *B. mycoides* «Фурагин» – с 18-и мм до 22-х мм, в сегменте *S. marcescens* «Цефазолин» – с 24-х мм до 28-ми мм, в сегменте *B. mycoides* «Канамицин» – с 19-и мм до 21-го мм.

В результате проведенных исследований было установлено, что в условиях экспериментальной контаминации специфическим бактериофагом количество бактерий в воде снижалось за счет взаимодействия бактерий со специфическим фагом и также приводило к изменению некоторых биологических свойств микроорганизма, т.е. в присутствии бактериофага снизилась резистентность патогена к антибиотикам, что говорит о снижении у него защитной функции и повышении чувствительности к химическим факторам [9]. в данном случае бактериофаг выступает как повреждающий фактор. Изученный в данном исследовании феномен может быть использован в качестве механизма, повышающего эффективность использования антибиотиков при лечении бактериальных инфекций или проведении дезинфекции поверхностей и уменьшением риска повышения бактериальной резистентности [7,10].

Библиографический список:

1. Золотухин С.Н. Малоизученные энтеробактерии и их роль в патологии животных. Ульяновск. 2004. С. 64–75
2. Ляшенко Е.А., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. Индикация бактерий рода *Klebsiella* с помощью специфических бактериофагов в объектах ветеринарного надзора // в сб. «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности». Матер. Междунар. науч.-практ. конф. 2013. С. 36–40.
3. Ковалева Е.Н., Васильев Д.А. Специфические бактериофаги как средство биоконтроля пищевого листериоза //Биотика.– 2015. – №.1. – С.13-18.
4. Бульканова Е.А. Фагоидентификация бактерий рода *Klebsiella*/ Е.А.Бульканова, С.Н.Золотухин, Д.А. Васильев //Роль молодых ученых

в реализации национального проекта "развитие АПК": Материалы международной научно-практической конференции.- 2007. -с. 222-225.

5. Контаминация пищевых продуктов инфекционным объектом *Serratia marcescens*. Ефрейторова Е.О., Пульчеровская Л.П., Золотухин С.Н., Васильев Д.А. // Актуал. вопр. контроля инфекц. болезней животных / Всерос. науч.-исслед. ин-т ветеринар. вирусологии и микробиологии. -Покров, 2014.-Ч. 2.-С. 270-275.-Рез. англ.-библиогр.: С.274. шифр 15-79. Ветеринария. Реферативный журнал. 2015. № 3. С. 537.

6. Ефрейторова Е.О. Методы индикации и идентификации бактерий вида *Serratia marcescens* в песке детских площадок/ Е.О. Ефрейторова, Л.П.Пульчеровская, Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин, Н.И. Молофеева// Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VI Международной научно-практической конференции. - Ульяновск.- 2015.- С. 114-117.

7. Ефрейторова Е.О. Распространенность бактерий вида *S. marcescens* в объектах окружающей среды и пищевых продуктах/ Е.О. Ефрейторова, Л.П. Пульчеровская, Д.А. Васильев, С.Н. Золотухин /Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VII Международной научно-практической конференции.-Ульяновск.- 2016.- С. 204-211.

8. Пульчеровская Л.П. Изыскание альтернативных средств и методов для диагностики заболеваний, вызываемых бактериями рода *Citrobacter* / Л.П.Пульчеровская, С.Н. Золотухин, Д.А.Васильев// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии.- 2004. -№ 12.- С. 53-57.

9. Золотухин С.Н. Бактерии рода *Citrobacter* и их бактериофаги/ С.Н.Золотухин, Л.П.Пульчеровская, Д.А. Васильев //Вопросы микробиологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы: сборник научных работ.- Ульяновск.- 2000. -С. 53-58.

10. Ахметова В.В. Качественный состав молока коров при скармливании препарата "АМИНОВИОЛ"/ В.В.Ахметова, Л.П.Пульчеровская, Е.В. Свешникова, М.Е.Дежаткин, Н.А. Любин//Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. -2019. -Т. 238.- № 2.- С. 13-18.

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF MICROORGANISMS

A.A. Romanova

Keywords: *Antibiotic, Escherichia coli, Serratia marcescens, Bacillus mycoides, Listeria monocytogenes 56, resistance.*

The paper considers the sensitivity of microorganisms to antibiotics after their interaction with homologous bacteriophages. Keywords: Antibiotic, Escherichia coli, Serratia marcescens, Bacillus mycoides, Listeria monocytogenes 56, resistance. The paper considers the sensitivity of microorganisms to antibiotics after their interaction with a homologous bacteriophage.