

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНІ МІКРООРГАНІЗМИ В АГРОЕКОСИСТЕМАХ ЯК ЧИННИК РИЗИКУ ДЛЯ ЗДОРОВ'Я ЛЮДИНИ

Л.Ю. Симочко

ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

*Наведено результати досліджень ґрунту агроecosистем, де культивували лікарські рослини *Mentha piperita*, *Inula helenium*, *Thymus serpyllum*, *Rosa odorata*, *Calendula officinalis*. Здійснено верифікацію та ідентифікацію антибіотикорезистентних мікроорганізмів. Виявлено патогенні і умовно патогенні мікроорганізми: *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia odorifera* biogroup 1, *Pantoea agglomerans*, *Yersinia pestis*, які володіють антибіотикорезистентністю і є чинником ризику для здоров'я людини.*

Ключові слова: агроecosистема, мікроорганізми, ґрунт, антибіотикорезистентність, здоров'я.

Сучасні агроecosистеми є джерелом поширення патогенних і умовно-патогенних антибіотикорезистентних мікроорганізмів, що зумовлено інтенсифікацією використання антибактеріальних препаратів у сільському господарстві, зокрема тваринництві. Встановлено, що драйверами резистентності мікроорганізмів у агроecosистемах можуть бути не тільки антибіотики, але й біоциди, важкі метали, гени [1, 2]. Перманентне використання антибіотиків у невисоких концентраціях для відповідної профілактики призводить до формування антибіотикорезистентності мікроорганізмів, подальше поширення якої відбувається шляхом горизонтального або вертикального переносу гена антибіотикорезистентності.

Антибіотикорезистентність основних збудників інфекційних захворювань є однією з найбільших проблем сучасної медицини, енвайронментальної мікробіології та екології. Швидкість, з якою формується і розповсюджується стійкість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, є значно високою. Згідно з даними Всесвітньої організації охорони здоров'я, швидке підвищення стійкості мікроорганізмів до антибіотиків загрожує здоров'ю людства

загалом. Для розв'язання цієї проблеми необхідно створювати методи контролю розповсюдження резистентності мікроорганізмів до препаратів, що вже існують і використовуються [3, 4]. Нині в Україні не існує актуальних об'єктивних систематизованих даних щодо стану антибіотикорезистентності мікроорганізмів. Резистентність мікроорганізмів до антибіотиків може бути природною і набутою. Природна стійкість є постійною видовою ознакою мікроорганізмів, вона відома, легко прогнозується і впродовж певного часу залишається без змін. Натомість резистентність мікроорганізмів є значною проблемою, і прогнозувати її доволі складно. Основною особливістю набутої резистентності є її зміна впродовж певного періоду. Виникнення набутої стійкості може відбуватися двома шляхами: мутації у власних генах мікроорганізмів та отримання іззовні генетичного матеріалу, що зумовлює резистентність [5–7].

Проблема антибіотикорезистентності є різнобічною і складною для розв'язання. Чинники виникнення і швидкого розповсюдження резистентності мікроорганізмів на сьогодні не є всебічно визначеними. Антибіотикорезистентні організми виявляють у воді, ґрунті, звідки вони мігрують трофічними ланцюгами і потрапляють в організм

теплокровних тварин та людини. Відомо також про існування зворотних векторів поширення антибіотикорезистентності. Застосування антибіотиків у тваринництві спричиняє їх поширення у навколишньому природному середовищі, зокрема в агро-екосистемах, де використовуються органічні системи удобрення [4, 8]. Метою досліджень було виявлення, верифікація та ідентифікація антибіотикорезистентних мікроорганізмів у агроекосистемах лікарських рослин.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для досліджень були відібрані зразки ґрунту в агроекосистемах лікарських рослин *Mentha piperita* (м'ята), *Inula helenium* (оман), *Thymus serpyllum* (чабрець) на дослідних ділянках Закарпатської державної сільськогосподарської станції, які вирощуються для виробництва фіточаїв. Ґрунти дослідного поля – дерново-буроземні опідзолені середньосуглинкові.

Агрохімічна характеристика орного шару: рН (KCl) – 5,0; гідролітична кислотність – 2,6 мг-екв/100 г ґрунту; вміст гумусу (за Тюрнімом) – 1,56%, рухомого фосфору (за Чиріковим) – 1,9 мг/100 г, обмінного калію (за Масловою) – 14,1 мг/100 г ґрунту. Площа ділянок – 100 м², розміщення – систематичне, послідовне. А також в агроекосистемах, де культивувались *Calendula officinalis* (календула) і *Rosa odorata* (троянда) для виробництва фіточаїв фірми НІРР (с. Кібляри). Мікробіологічні дослідження проводили за загальноприйнятими методиками з використанням твердих елективних поживних середовищ, таких як МПА, ЕНДО, САБУРО, Вільсона – Блера, ГА, Гра. Виділення домінуючих бактерій здійснювали за культурально-морфологічними властивостями [9]. Верифікацію антибіотикорезистентності ізолятів здійснювали методом Кірбі – Бауера. Подальшу ідентифікацію штамів, які проявили антибіотикорезистентність, проводили за схемою: фарбування за Грамом та мікроскопія; виділення чистої культури; висів чистої культури на хромогенне середовище URI-select; біохімічна ідентифікація

за допомогою тестових систем компанії LACHEMA згідно з інструкцією.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень засвідчили, що серед 22 протестованих домінуючих бактерій, виділених з ґрунту, де вирощували *Thymus serpyllum*, два з них (428-*Serratia marcescens*, 1020-*Yersinia pestis*) володіють помірною антибіотикорезистентністю. Ізолят 1020 виявився стійким до низки антибіотиків, таких як ванкоміцин, олетандоміцин, лінкоміцин, ампіцилін, цефепім, ципрофлоксацин (рис. 1). *Yersinia pestis* – грамнегативна патогенна бактерія, що спричиняє запалення легень. *Serratia marcescens* – довгий час вважалась непатогенним мікроорганізмом, на сьогодні встановлено – це агресивний патоген, що зумовлює у дітей захворювання шлунково-кишкового тракту, а інфікування у дорослих призводить до захворювань сечовидільної системи і дихальних шляхів.

З ґрунту, де вирощували оман було виділено 30 ізолятів-домінантів, скринінг яких продемонстрував наявність серед них 211-*Pantoea agglomerans*, що володіє помірною антибіотикорезистентністю (рис. 2).

З агроекосистеми, де вирощували м'яту, було виділено і протестовано 12 бактеріальних домінантів, серед яких 377-*Serratia odorifera biogroup 1* проявив помірну антибіотикорезистентність, зокрема, штам

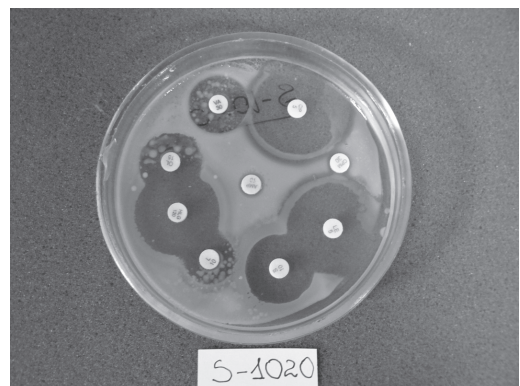


Рис. 1. Верифікація ізоляту № 1020, виділеного з агроекосистеми *Thymus serpyllum*

виявився стійким до ванкоміцину (доза – 30 мкг/д), лінкоміцину (доза – 10), ампіциліну (доза – 10) і – малочутливим до цефепіму (доза – 30 мкг/д). *Serratia odorifera biogroup 1* – грамнегативний факультативний анаероб, опортуністичний патоген, що спричиняє захворювання травної і сечостатевої системи людини.

В агроecosистемах (с. Кібляри), де культивували календулу, було протестовано на антибіотикорезистентність 28 виділених ізолятів, два з яких проявили доволі високий рівень антибіотикорезистентності (321-*Enterococcus faecalis*; 324-*Enterococcus faecalis*) (рис. 3).

Слід зауважити, що в обох агроecosистемах застосовували органічну систему удобрення (гній, 30 т/га), що стало джерелом бактеріального забруднення ґрунту антибіотикорезистентними мікроорганізмами.

З агроecosистеми, де вирощували *Rosa odorata* для виробництва фіточаю, було виділено і протестовано на антибіотикорезистентність 16 ізолятів. За результатами верифікації встановлено, що ізолят № 371, який проявив високу антибіотикорезистентність, належить до виду *Bacillus cereus*. З дев'яти протестованих антибіотиків він виявився чутливим тільки до цефепіму (доза – 30 мкг/д). *Bacillus cereus* – ґрунтова грам-позитивна паличкоподібна бактерія спричиняє харчові токсикоінфекції у людини, продукує ентеротоксини.

ВИСНОВКИ

Ґрунт агроecosистем, де вирощували лікарські рослини, такі як *Mentha piperita*, *Inula helenium*, *Thymus serpyllum*, *Rosa odorata*, *Calendula officinalis* для одержання первинної продукції з метою виробництва фіточаїв, є джерелом поширення антибіо-

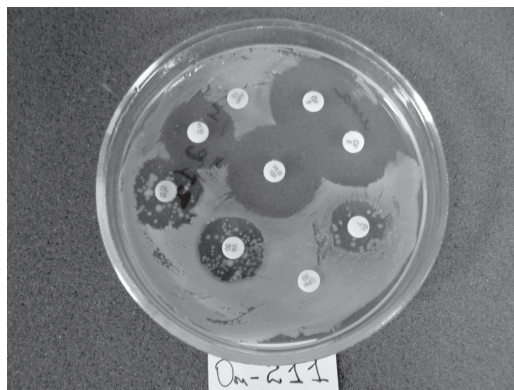


Рис. 2. Верифікація ізоляту № 211, виділеного з агроecosистеми *Inula helenium*

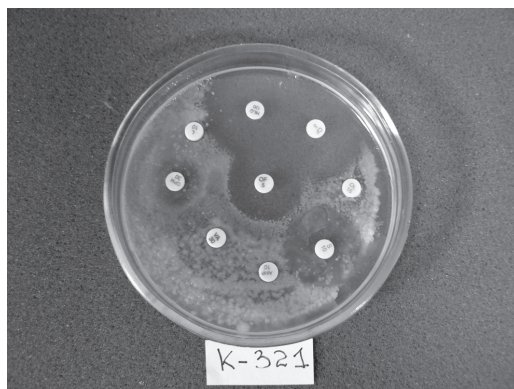


Рис. 3. Верифікація ізоляту № 321, виділеного з агроecosистеми *Calendula officinalis*

тикорезистентних умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів. Ізоляти: *Serratia marcescens*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia odorifera biogroup 1*, *Pantoea agglomerans*, *Yersinia pestis*, виділені з ґрунту агроecosистем, володіють антибіотикорезистентністю і можуть становити загрозу для здоров'я людини.

ЛІТЕРАТУРА

1. Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators / A. Singer, H. Shaw, V Rhodes, A. Hart // Front Microbiol. – 2016. – Vol. 7 – P. 1728–1736.
2. Antibiotic resistant soil microbial communities in agroecosystems / L. Symochko, O. Pallah, T. Meshko, N. Boyko // Book of abstracts International Conference «Microbiology and Immunology the development outlook in the 21st century» (Kyiv, 14–15 April 2016). – Kyiv, 2016. – P. 41.
3. Lewis K. Prospects for plant-derived antibacterials / K. Lewis, F.M. Ausubel // Nat. Biotechnol. – 2006. – Vol. 24 – P. 1504–1507.

4. *Davies J.E.* Origins and evolution of antibiotic resistance / J.E. Davies, D. Davies // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* — 2010. — Vol. 74 — P. 417–433.
5. *Фещенко Ю.І.* Антибіотико резистентність мікроорганізмів. Стан проблеми та шляхи її вирішення / Ю.І. Фещенко, М.І. Гуменюк, О.С. Денисов // *Український хіміотерапевтичний журнал.* — 2010. — № 1–2 (23). — С. 4–10.
6. *Martínez J.-L.* Natural antibiotic resistance and contamination by antibiotic resistance determinants: The two ages in the evolution of resistance to antimicrobials / J.-L. Martínez // *Front. Microbiol.* — 2012. — Vol. 3 — P. 338–346.
7. Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940 / C.W. Knapp, J. Dolfing, P.A.I. Ehlert, D.W. Graham // *Environ. Sci. Technol.* — 2010. — Vol. 44 — P. 560–587.
8. *Díaz-Cruz M.S.* Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge / M.S. Díaz-Cruz, M.J. López de Alda, D. Barcelo // *Trends Anal. Chem.* — 2003. — Vol. 22 — P. 340–351.
9. Експериментальна ґрунтова мікробіологія: монографія / В.В. Волкогон, О.В. Надкєрнична, Л.М. Токмакова та ін.; за ред. В.В. Волкогона. — К.: Аграрна наука, 2010. — 464 с.

REFERENCES

1. Singer, A., Shaw, H., Rhodes, V., Hart, A. (2016). Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators. *Front Microbiol.*, 7, 1728–1736 [in English].
2. Symochko, L., Pallah, O., Meleshko, T., Boyko, N. (2016). Antibiotic resistant soil microbial communities in agroecosystems. *Book of abstracts International Conference: Microbiology and Immunology the development outlook in the 21st century.* (pp. 41). Kyiv [in English].
3. Lewis, K.; Ausubel, F.M. Prospects for plant-derived antibacterials. (2006). *Nat. Biotechnol.*, 24, 1504–1507 [in English].
4. Davies, J.E., Davies, D. Origins and evolution of antibiotic resistance. (2010) / *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 74, 417–433 [in English].
5. Feshchenko, Yu.I., Gumenyuk, M.I., Denisov, O.S. (2010). Antybiotyko rezystentnistj mikroorganizmiv. Stan problemy ta shljakhy iji vyrishennja [Antibiotic resistance of microorganisms. State of problem and ways of its solutions]. *Ukrainsjkiy khimioterapevtychnyj zhurnal* — *Ukrainian chemotherapeutic Journal*, 1–2 (23), 4–10 [in Ukrainian].
6. Martínez, J.-L. (2012) Natural antibiotic resistance and contamination by antibiotic resistance determinants: The two ages in the evolution of resistance to antimicrobials. *Front. Microbiol.*, 3, 338–346 [in English].
7. Knapp, C.W., Dolfing, J., Ehlert, P.A.I., Graham, D.W. (2010). Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. *Environ. Sci. Technol.*, 44, 560–587 [in English].
8. Díaz-Cruz, M.S., López de Alda, M.J., Barcelo, D. (2003). Environmental behavior and analysis of veterinary and human drugs in soils, sediments and sludge. *Trends Anal. Chem.*, 22, 340–351 [in English].
9. Volkogon, V.V., Nadkernichna, O.V., Tokmakova, L.M. (2010). *Eksperimentalna ґрунтова мікробіологія: монографія [Experimental soil microbiology: monograph]*. Kyiv: Agrarna nauka [in Ukrainian].