

УДК 579.8(26):614.7

## ПРОЯВЛЕНИЕ ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ У МОРСКИХ БАКТЕРИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ АНТРОПОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

© 2016 г. <sup>1,2</sup>Л. С. Бузолева, <sup>2</sup>А. В. Ким, <sup>1</sup>Г. Г. Компанец, <sup>2</sup>Е. А. Богатыренко<sup>1</sup>НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. П. Сомова,  
<sup>2</sup>Дальневосточный федеральный университет, г. Владивосток

Материалы статьи посвящены изучению биологической активности, в том числе факторов патогенности, морских бактерий, выделенных из вод районов с разной антропогенной нагрузкой, которые расположены как в зоне активной береговой деятельности с комплексным загрязнением разными видами загрязнителей, так и в чистых, свободных от антропогенного воздействия районах. Для чистоты эксперимента из коллекции полученных нами морских микроорганизмов были исключены энтеробактерии. С оставшимися изолятами была проведена работа по выявлению у них гидролитической активности в отношении органических субстратов, антибиотикорезистентности, а также таких факторов патогенности, как цитотоксичность, гемолитическая активность, активность ферментов плазмокоагулазы и гиалуронидазы. Сравнительные исследования проявления гидролитической активности у микроорганизмов, выделенных из морских акваторий с разной антропогенной нагрузкой, не выявили различий по этим показателям. Однако штаммы, выделенные из акваторий, испытывающих мощное влияние промышленных, бытовых и речных стоков, обладали высокой антибиотикоустойчивостью, высокоадгезивными свойствами и цитотоксичностью по сравнению со штаммами, выделенными из чистых морских вод. Можно предположить, что загрязнение морской среды приводит к проявлению агрессивных свойств у микроорганизмов как ответной реакции на воздействие стрессового фактора, что имеет как общебиологическое, так и важное эколого-эпидемиологическое значение.

**Ключевые слова:** морские бактерии, ферментативная активность, антропогенное загрязнение, факторы патогенности

## MANIFESTATION OF PATHOGENIC PROPERTIES IN MARINE BACTERIA UNDER IMPACT OF ANTHROPOGENIC POLLUTION

<sup>1,2</sup>L. S. Buzoleva, <sup>2</sup>A. V. Kim, <sup>1</sup>G. G. Kompanets, <sup>2</sup>E. A. Bogatyrenko<sup>1</sup>Somov Institute of Epidemiology and Microbiology,  
<sup>2</sup>Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia

The article is devoted to the study of biological activity, including pathogenicity factors, of marine bacteria isolated from water in areas with different anthropogenic load, both coastal zones with high levels of different pollutants and pure zones with no human impact. To maintain the experimental integrity, we excluded *Enterobacteriaceae* from the obtained collection of marine microorganisms. Then we worked with the rest of the isolates for detection of their hydrolytic activity toward organic substrates, antibiotic resistance and such pathogenicity factors as: cytotoxicity, hemolytic activity, plasma coagulase and hyaluronidase activities. Comparative studies of hydrolytic activity in microorganisms isolated from sea water with different anthropogenic load have not revealed any differences in these indicators. However, the strains isolated from water areas with great impact of industrial, domestic and river drains, were highly antibiotic-resistant, highly adhesive and cytotoxic compared to the strains isolated from pure sea water. It is assumed that pollution of marine environment results in manifestation of aggressive properties of microorganisms, as a response to impact of stress factors that is both of general biological, ecological and epidemiological significance.

**Keywords:** marine microorganisms, enzymatic activity, anthropogenic pollution, pathogenicity factors

### Библиографическая ссылка:

Бузолева Л. С., Ким А. В., Компанец Г. Г., Богатыренко Е. А. Проявление патогенных свойств у морских бактерий под влиянием антропогенного загрязнения // Экология человека. 2016. № 3. С. 30–36.

Buzoleva L. S., Kim A. V., Kompanets G. G., Bogatyrenko E. A. Manifestation of Pathogenic Properties in Marine Bacteria under Impact of Anthropogenic Pollution. *Ekologiya cheloveka* [Human Ecology]. 2016, 3, pp. 30-36.

В настоящее время одной из наиболее актуальных проблем состояния Мирового океана является антропогенное загрязнение, представленное разнообразными загрязнителями, выступающее в роли стрессора для морских микроорганизмов, что может являться причиной модификационных изменений у бактерий. Загрязнение морских акваторий оказывает отрицательное воздействие на микроорганизмы, влияя на их биологические свойства, состав микробных ценозов. Приспосабливаясь к новым химическим соединениям, загрязняющим морскую

среду, они способны трансформировать и утилизировать практически все существующие в природе органические вещества. Приспособления эти могут выражаться в изменении как морфологии, так и генотипа бактерий [6, 13]. Вместе с тем экологические и эпидемиологические последствия этих изменений еще не определены, но можно предположить, что подобные приспособления могут сопровождаться приобретением микроорганизмами признаков, представляющих опасность для гидробионтов, наземных организмов и человека [18]. Данные о влиянии за-

грязнения морской среды на проявление патогенных свойств у сапрофитных микроорганизмов нами не обнаружены, однако, по сообщению ряда исследователей [11, 16], изменение абиотических факторов среды приводило к повышению вирулентных свойств у патогенных бактерий.

Цель работы — дать сравнительную характеристику биологических свойств, в том числе факторов патогенности, морских бактерий, выделенных из акваторий с разной антропогенной нагрузкой.

Для достижения цели необходимо было собрать коллекцию морских штаммов, полученных из вод акваторий с разной антропогенной нагрузкой. Изюмляты проверяли с помощью определенных тестов на свойства, характеризующие факторы патогенности бактерий (ферментативные свойства в отношении органических субстратов, гемолитическую активность, адгезивные и инвазивные свойства — активность ферментов плазмокоагулазы и гиалорунидазы, цитотоксичность), т. е. способность адгезировать на поверхности эпителия и проникать внутрь макроорганизма.

#### Методы

Объектом исследования явились микроорганизмы, выделенные из прибрежных акваторий в Японском море: б. Золотой Рог, б. Киевка, б. Круглая. В июне — августе 2014 года в каждой из указанных бухт в 500 м от берега с соблюдением условий стерильности трижды отбирали пробы воды с глубины 10–15 см от поверхности. Исследуемые районы расположены как в зоне активной береговой деятельности, для которых характерно комплексное загрязнение одновременно всеми видами поллютантов, что вызывает значительное экологическое напряжение и стрессы (б. Золотой Рог), так и в чистых (свободных от антропогенного воздействия) районах (б. Киевка, б. Круглая) (рис. 1).

*Бухта Золотой Рог* вдается в северный берег пролива Босфор Восточный, между мысом Тигровым и мысом Голдобина, с северо-запада бухта ограничена полуостровом Шкота, вследствие чего для нее характерен низкий водообмен. Бухта используется для судоходства круглый год. Объем годового стока в бухту от разнообразных источников в 4,6 раза превышает объем воды ее акватории. Основными источниками загрязнения являются сточные системы городской канализации, судоремонтные предприятия, крупные городские порты. Часть акватории практически постоянно покрыта нефтяной пленкой, толщина которой у берегов может достигать 100 мкм, в донных осадках толщина отложений нефтесодержащих отходов составляет от 1 до 3 метров. В воде и грунтах высоко содержание техногенных металлов, фенолов, хлороорганических и поверхностно-активных соединений [4].

*Бухта Киевка* вдается в берег между мысом Суткового и мысом Островной. Северозападный и восточный берега бухты высокие, а берег вершины от мел и окаймлен песчаным пляжем. К берегу вершины бухты выходит низменная долина, по которой протекает река Киевка. На побережье отсутствуют жилые постройки, в летний период времени бухта испытывает незначительную рекреационную нагрузку. Бухта более открыта, имеет место более активный водообмен по сравнению с другими выбранными, мониторинговые исследования позволяют отнести ее воды к категории «чистые» [5].

*Бухта Круглая*, защищенная от юго-восточных ветров, незначительно вдается в северо-западный берег полуострова Брюса в 1,4 мили к WSW от мыса Брюса. Входные мысы бухты скалистые и обрывистые, к вершине бухты берег понижается и переходит в широкий галечный пляж. На берегу располагается санаторно-оздоровительный комплекс. Несмотря на то, что техногенного загрязнения здесь не на-



Рис. 1. Карта-схема районов работ: бухта Золотой Рог(1), бухта Круглая (3), бухта Киевка (2)

блюдается, в летний период времени имеет место рекреационная нагрузка [10].

Для выделения чистой культуры морских бактерий использовали известные микробиологические методы [14] и среду для морских гетеротрофных микроорганизмов [20]. Для выделения бактерий сем. *Enterobacteriaceae* использовали среду Эндо. Определение исследуемых изолятов проводили на основании таксономических признаков с помощью АРІ-стрипов фирмы BioMerieux (Франция).

Определение липолитической, протеолитической и амилолитической активности проводили в соответствии с известными методами, описанными в литературе [14], высевая суточную культуру на соответствующие среды: с агаровой средой, содержащей 3 % липидного гомогенизата; 25 % снятого молока; 0,2 % крахмала. Активность ферментов определяли по проявлению реакции на этих средах (рис. 2). Определение активности плазмокоагулазы и гиалуронидазы проводили согласно известным методам [14].

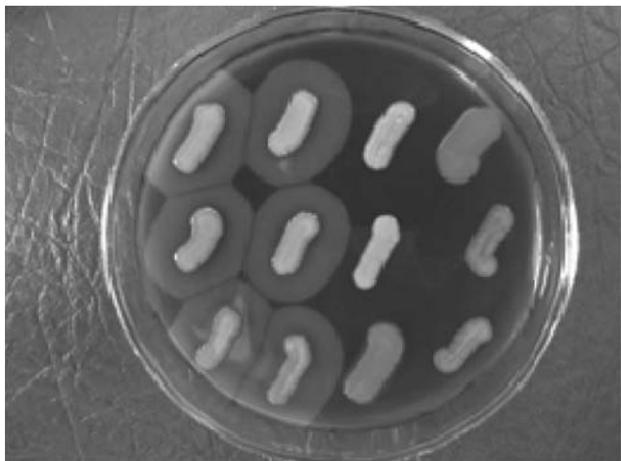


Рис. 2. Пример учета липазной активности изучаемых штаммов

Для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам использовали метод диффузии антибиотика в питательный агар на основе гидролизата рыбной муки (ГРМ-агар) с применением бумажных дисков, пропитанных антибиотиком. Взятые в работу

антибиотики (карбеницилин, тетрациклин, ампицилин, цефотаксим, ципрофлоксацин, цефтозидим, цефоперазон) обладают широким спектром действия. Действуют на различные микробные структуры, такие как клеточная стенка, генетический аппарат, белки [19].

При определении чувствительности методом диффузии в агар чистую культуру бактерий засеивали «газоном» на питательный агар в чашке тампоном, смоченным в стандартизованной ( $10^8$  КОЕ/мл) суспензии микроорганизма. Затем на поверхность агара укладывали стандартные бумажные диски с антибиотиками, которые диффундируют в агар, создавая градиент концентрации. На чашку диаметром 90 мм равномерно укладывали 6–7 дисков. После инкубирования при комнатной температуре измеряли диаметры зон задержки роста вокруг дисков и по специальным таблицам определяли степень устойчивости к тому или иному антибиотику [8]. Диаметр зон задержки роста микроорганизмов выражали в мм. Учитывали все случаи встречаемости штаммов, не чувствительных к тому или иному антибиотику.

К факторам патогенности относят проявление у микроорганизмов гемолитической, цитопатической активности и адгезивных свойств. Для исследования гемолитической активности использовали 5 % кровяной агар [14].

Для постановки опыта с целью изучения адгезивных свойств исследуемых штаммов была использована методика В. И. Брилис [2]. В качестве экспериментальной модели были взяты эритроциты человека О (I) группы Rh (+) крови. Взвесь бактерий готовили в концентрации  $10^9$  клеток/мл, бактерии инкубировали при 37 °С. Адгезию изучали под световым микроскопом на микроскопе Microscop mc 20. При оценке адгезивных свойств микроба использовали следующие показатели: средний показатель адгезии, коэффициент участия клеток в адгезивном процессе и индекс адгезивности микроорганизма (ИАМ). Подсчет вели на 100 клетках, просматривая все предметное стекло. Микроорганизмы считали неадгезивными при ИАМ меньше 1,75, низкоадгезивными — от 1,76 до 2,5, среднеадгезивными — от 2,51 до 4,0 и высокоадгезивными при ИАМ выше 4,0.

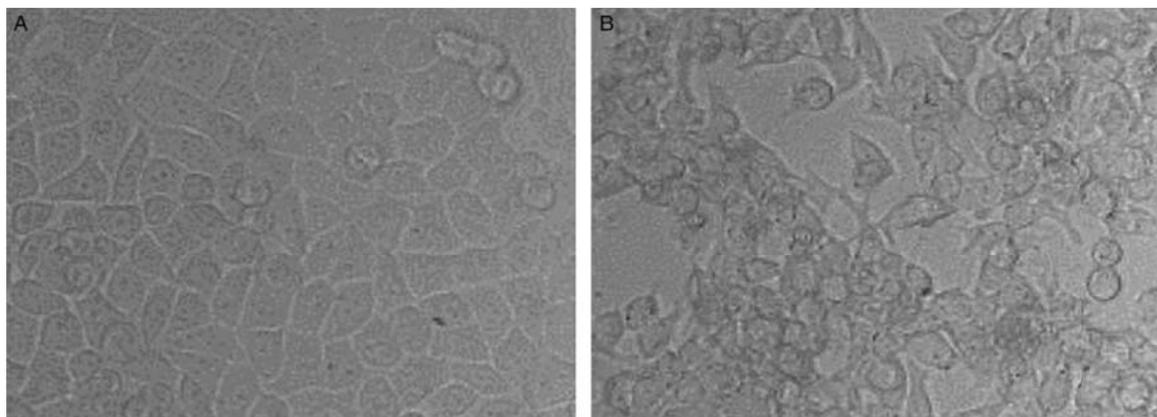


Рис. 3. Визуальная оценка цитопатогенного действия морских микроорганизмов на монослой клеток Vero E6, выращенного в течение 3 суток на среде Игла MEM. (А) — неповрежденный монослой; (В) — разрушенные клетки монослоя

Для исследования цитопатических свойств микроорганизмов использовали культуру клеток Vero E6. Монослой клеток выращивали в течение 3 суток на культуральных 96-луночных планшетах с использованием среды Игла МЕМ (minimal essential medium) с двойным набором аминокислот и витаминов, дополненной L-глутамином (1 мг/мл) и 7 % сыворотки эмбрионов коров. Для инокуляции клеточных культур готовили суспензию бактериальных клеток, выращенных на питательной среде для морских гетеротрофных организмов [21]. В эксперимент были взяты разведения культуры по стандарту мутности от  $10^{-9}$  до  $10^{-1}$  клеток/мл. Инокуляцию проводили суспензией 22-часовой культуры. Через определенные интервалы времени (24, 48 часов) оценивали цитотоксические и инвазивные свойства по инфицированию культуры клеток бактериями, по изменению морфологии отдельных клеток и деструкции монослоя при микроскопическом исследовании (рис. 3). Цитопатические свойства микроорганизмов считали выраженными при наблюдении в поле зрения микроскопа дегенеративных изменений монослоя Vero E6 (гибель более 50 % клеток в трех полях зрения).

**Результаты**

На первом этапе исследования были выделены из морской воды 75 морфотипов бактерий, из них 25 изолятов из б. Золотой Рог, 27 – из б. Круглая, 23 – из б. Киевка, при этом в коллекцию не были включены штаммы сем. *Enterobacteriaceae* (с целью исключения из эксперимента патогенных и условно-патогенных бактерий).

У полученных изолятов исследовали наличие активности гидролитических ферментов (липаза, амилаза, протейназа) как ответную реакцию на изменение факторов среды. При этом сравнительные исследования случаев проявления гидролитической активности у микроорганизмов, выделенных из морских акваторий с разной антропогенной нагрузкой, не выявили различий по этим показателям.

В результате проверки теста на устойчивость к антибиотикам в большинстве случаев у штаммов из б. Золотой Рог отмечена более высокая устойчивость к антибиотикам, используемым в эксперименте, по сравнению с изолятами, выделенными из чистых акваторий (рис. 4а).

Были исследованы свойства морских бактерий, которые характеризовали бы их потенциал с точки зрения патогенности – способность клеток бактерий к адгезии и инвазии. Исследования показали, что доля штаммов, обладающих сильноадгезивными свойствами, была выше в б. Золотой Рог, по сравнению с чистыми акваториями (рис. 4б). Неадгезивными свойствами (ИАМ меньше 1,75) в большинстве (75 %) своем обладали штаммы из б. Киевка.

К факторам патогенности относятся такие показатели, как гемолитическая активность (способность разрушать эритроциты человека), активность ферментов гиалуронидазы (инвазивные свойства – способность проникать внутрь клетки хозяина),

плазмокоагулазы (формирует непроницаемый для антител и затрудняющий действие фагоцитов «чехол»), адгезивные свойства (отвечают за первый этап проникновения в клетку хозяина).

Гемолитическая активность была обнаружена только у двух изолятов, выделенных из б. Золотой Рог. При сравнении случаев проявления плазмокоагулазной активности было установлено, что у микроорганизмов из б. Золотой Рог встречаемость штаммов, обладающих этим ферментом, составила 68 %, из б. Круглая – 44,4 % и из б. Киевка – 47,8 %. Доля штаммов, обладающих гиалуронидазной активностью, также была выше у изолятов б. Золотой Рог (60 %), чем у изолятов б. Круглая (40,7 %) и б. Киевка (47,8 %).

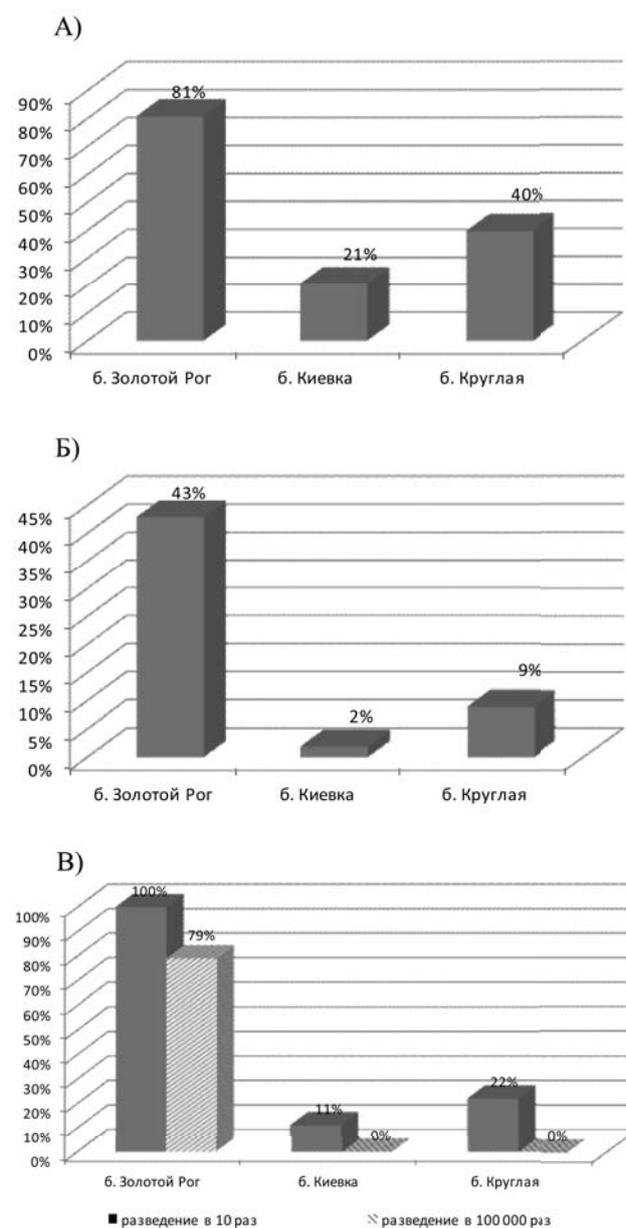


Рис. 4. Сравнительная характеристика антибиотикочувствительности (А), адгезивных свойств (при ИАМ от 4,0 и выше) (Б) и ЦПД (гибель клеток составила 50 % и выше) (В) морских бактерий из районов с разной степенью антропогенной нагрузки

При изучении цитотоксических свойств исследуемых штаммов при исходной концентрации клеток  $10^9$  клеток/мл не было получено четких результатов, так как в большинстве случаев наблюдали цитолиз клеток монослоя. Разведение культур штаммов позволило наблюдать более существенную разницу в отношении их токсичности к чувствительным тест-клеткам. Штаммы из б. Киевка и б. Круглая слабо разрушали клетки монослоя при десятикратном разведении культуры, и практически не наблюдалось цитопатического действия при последующих разведениях культуры этих бактерий (рис. 4в). Высокий цитопатический эффект (50 % и более гибели монослоя клеток при контакте с микроорганизмами) наблюдали у штаммов, выделенных из б. Золотой Рог, даже при разведении культуры бактерий до  $10^5$  кл/мл (рис. 4 в).

### Обсуждение результатов

По данным наших исследований, практически все изоляты, независимо от места их выделения, обладали гидролитической активностью. Возможно, в данном случае этот тест не подходит в качестве показательного в силу того, что морские микроорганизмы разлагают органические субстраты независимо от их происхождения (коммунально-бытовые стоки или остатки разлагающихся растений, животных и т. д.). Известно, что микроорганизмы, относящиеся к роду *Pseudomonas*, морские аэробные гетеротрофные бактерии типа *Bacteroidetes* способны усваивать широкий спектр разнообразных субстратов [6, 9]. Морские микроорганизмы, как и многие другие, обладают потенциальной устойчивостью к большинству факторов среды, включая и антропогенную нагрузку (устойчивость к различным ядам, в том числе и к антибиотикам бактерий природных экосистем) [20]. Известно, что факторы среды оказывают влияние на микробиологическую антибиотическую активность. С возрастанием интенсивности антропогенной нагрузки на водоток увеличивается доля резистентных бактерий в составе микробного сообщества [12]. Наши исследования подтвердили, что значительная доля коллекции изолятов из б. Золотой Рог обладала устойчивостью к большинству антибиотиков, взятых в эксперимент, по сравнению с микроорганизмами, обитающими в чистых водах. Кроме того, согласно данным литературы, в водах б. Золотой Рог высока численность микроорганизмов, устойчивых к тяжелым металлам [1], а металлоустойчивость у бактерий часто связана с антибиотикорезистентностью, что может быть обусловлено присутствием в бактериальной клетке одних и тех же плазмид, где локализованы соответствующие гены [15].

В грязных водах были обнаружены два штамма с гемолитической активностью. Гемолизины — внеклеточно секретируемые молекулы с мембраноповреждающей способностью — занимают особое место в ряду факторов патогенности бактерий. Микроорганизмы, синтезирующие гемолизины, обладают гемолитической активностью, в результате чего происходит

лизис эритроцитов с последующим освобождением гемоглобина, а способность усваивать железо является для большинства патогенных бактерий необходимым фактором сохранения жизнеспособности [7]. Сорбируя из среды железо, бактерии приобретают способность лучше противостоять неблагоприятным факторам, а также получают преимущества в конкурентной борьбе [3].

В водах б. Золотой Рог, подверженных антропогенному загрязнению, высока доля микроорганизмов, обладающих выраженными факторами патогенности, что, по-видимому, является отражением агрессивности среды. Способность таких микроорганизмов адсорбироваться на определенных, чувствительных к данному микробу клетках эпителия обеспечивает их проникновение внутрь макроорганизма за счет разрушения кислых мукополисахаридов, составляющих межклеточное вещество соединительной ткани, и представляет угрозу для организма хозяина.

Очевидно, что биологическое загрязнение (условно-патогенные и патогенные микроорганизмы, попадающие в бухту с хозяйственно-бытовыми стоками), которое имеет место в б. Золотой Рог, может быть причиной приобретения или утраты тех или иных факторов патогенности морскими бактериями, а также следствием изменения выраженности патогенных свойств. В основе этих процессов лежат закономерности функционирования генов патогенности, мутации, а также перенос генов между микроорганизмами одного или разных видов. Учитывая, что гены, ответственные за патогенные свойства, часто локализованы в плазмидах, можно предположить, что они могут мигрировать в клетки сапрофитных бактерий [17]. Кроме того, не исключена возможность влияния поллютантов (нефтеуглеводородов, фенолов, тяжелых металлов) как стрессовых факторов, являющихся причиной не только фенотипической модификационной изменчивости, но и генетических изменений [6, 13].

Для окончательных выводов необходимо исследовать штаммы из других акваторий с похожими характеристиками в отношении загрязнения. Кроме того, идентификация изолятов даст дополнительную информацию о влиянии загрязнения на сообщество морских микроорганизмов, доминировании определенных таксонов в этих условиях, что является задачей дальнейших наших исследований.

Таким образом, сравнительная характеристика биологических свойств морских микроорганизмов, выделенных из районов с разной антропогенной нагрузкой, показала, что большая доля штаммов со свойствами, характерными для факторов патогенности, выделена в б. Золотой Рог, где имеет место высокое загрязнение по сравнению с изолятами из чистых вод. При сравнительных исследованиях патогенных свойств микроорганизмов было установлено, что большинство штаммов, выделенных из б. Золотой Рог, были более устойчивы к антибиотикам, характеризовались более высокой способностью к адгезии и разрушению живых клеток, чем штаммы

из вод чистых районов, что свидетельствует об их потенциальной опасности с эпидемиологической точки зрения. Можно предположить, что загрязнение морской среды приводит к проявлению агрессивных свойств у морских микроорганизмов, как ответной реакции на воздействие стрессового фактора, что имеет как общебиологическое, так и важное эколого-эпидемиологическое значение.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (Соглашение № 14-50-00034).

#### Список литературы

1. Безвербная И. П., Бузолева Л. С., Христофорова Н. К. Металлоустойчивые гетеротрофные бактерии в прибрежных акваториях Приморья // Биология моря. 2005. Т. 31, № 2. С. 89–93.
2. Брилис В. И. Методика изучения адгезивного процесса. М. : Лабораторное дело. 1986. № 4. С. 210–212.
3. Бухарин О. В., Гинцбург А. Л., Романова Ю. М., Эль-Регистан Г. И. Механизмы выживания бактерий. М. : Медицина. 2005. 366 с.
4. Ващенко М. А. Загрязнение залива Петра Великого Японского моря и его биологические последствия // Биология моря. 2000. Т. 26, № 3. С. 149–159.
5. Галышева Ю. А. Биологические последствия органического загрязнения прибрежных морских экосистем российской части Японского моря // Известия ТИНРО. 2009. Т. 158. С. 209–227.
6. Иванов Д. В., Егоров А. М. Распространение и механизмы резистентности микроорганизмов штаммов бактерий *Pseudomonas* // Фарматека. 2007. № 8/9. С. 159–168.
7. Меньшикова Е. А. Гемолитическая активность токсигенных и нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* eltor и *V. cholerae* O139 серогруппы // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2004. № 5. С. 106–108.
8. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. М. : Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.
9. Недашковская О. И. Морские аэробные гетеротрофные бактерии типа *Bacteroidetes* : дис. ... д-ра биол. наук. 2007. 240 с.
10. Современное экологическое состояние залива Петра Великого Японского моря / под ред. Н. К. Христофоровой. Владивосток : Изд. дом Дальневост. федерал. ун-та, 2012. 440 с.
11. Сомов Г. П., Бузолева Л. С. Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды. Владивосток : ОАО Примполиграфкомбинат, 2004. 167 с.
12. Страчунский Л. С., Козлов С. Н. Макролиды в современной клинической практике. Смоленск : Смоленская государственная медицинская академия, 2007. 200 с.
13. Цыбань А. В., Панов Г. В., Барина С. П., Мошарова И. В., Кнаб В. А. Экологические свойства и динамика гетеротрофных микроорганизмов. М. : Наука, 2000. 375 с.
14. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований : учебное пособие / под ред. Лабинской А. С., Блинковой Л. П., Ещиной А. С. М. : Медицина, 2005. 600 с.
15. Alonso A., Sanchez P., Martinez J. L. Environmental selection of antibiotic resistance genes // Environ. Microbiol. 2001. Vol. 3, N 1. P. 1–9.

16. Pannekoek Y., Van Putten, J. P. M., Dankert, J. Identification and molecular analysis of a 63-kilodalton stress protein from *Neisseria gonorrhoeae* // J. Bact. 1992. Vol. 174, N 21. P. 6928–6937.

17. Reddy G. N., Prasad M. N. V. Heavy metal binding proteine. Polypeptide: occurrence, structure, synthesis and function // Environ. Exp. 1990. Vol. 30, N 3. P. 251–264.

18. Secades P., Alvarez B., Guijarro J. A. Purification and characterization of a psychrophilic, calcium-induced, growth-phase-dependent metalloprotease from the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum* // Appl. Environ. Microbiol. 2001. Vol. 67, N 6. P. 2436–2444.

19. Shefet D., Robenshtok E., Paul M., Leibovici L. Empirical atypical coverage for inpatients with community-acquired pneumonia: systematic review of randomized controlled trials // Arch Intern Med. 2005. Vol. 165. P. 1992–2000.

20. Tran V., Jacoby M. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance // Prot. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. Vol. 16, N 8. P. 5638–5642

21. Youchimizu M., Kimura T. Study on intestinal microflora of Salmonids // Fish. Pathol. 1976. Vol. 10, N 2. P. 243–259.

#### References

1. Bezverbnaya I. P. Buzoleva L. S., Hristoforova N. K. Metal resistant heterotrophic bacteria in coastal waters of Primorye. *Biologiya moria* [Marine biology]. 2005, 31 (2), pp. 89-93. [in Russian]
2. Brilis V. I. Technique of studying the adhesive process. *Laboratornoe delo* [Laboratory science]. 1986, 4, pp. 210-212. [in Russian]
3. Buharin O. V., Gincburg A. L., Romanova Ju. M., Jel>Registan G. I. *Mehanizmy vyzhivaniya bakterij* [Survival mechanisms of bacteria]. Moscow, 2005, 366 p.
4. Vashhenko M. A. Contamination of Peter the Great Bay, Sea of Japan and its biological consequences. *Biologiya moria* [Marine biology]. 2000, 26 (3), pp. 149-159. [in Russian]
5. Galysheva Ju. A. Biological effects of organic pollution coastal marine ecosystems of the Russian part of the Sea of Japan. *Izvestija TINRO* [News of PFR], 2009, 158, pp. 209-227. [in Russian]
6. Ivanov D. V., Egorov A. M. Distribution and mechanisms of microbial resistance strains of bacteria *Pseudomonas*. *Farmateka* [Pharmaceutics]. 2007, 8/9, pp. 159-168. [in Russian]
7. Men'shikova E. A. Hemolytic activity of toxigenic and nontoxigenic strains of *Vibrio cholerae* eltor and *V. cholerae* O139 serogroup. *Zhurnal mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii* [Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology]. 2004, 5, pp. 106-108.
8. МУК 4.2.1890-04 «*Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'num preparatam*» [MI «Determination of the sensitivity of microorganisms to antibiotics»]. Moscow, Federal Centre for Sanitary Inspection Ministry of Health of Russia, 2004, 91 p.
9. Nedashkovskaya O. I. *Morskie ajerobnye geterotrofnye bakterii tipa Bacteroidetes*. *Dis. d-ra biol. nauk* [Marine aerobic heterotrophic bacteria type *Bacteroidetes*. Doct. Diss.]. 2007, 240 p.
10. *Sovremennoe ekologicheskoe sostoyanie zaliva Petra Velikogo Japonskogo moria*. [The modern ecological condition of Peter the Great Bay, Sea of Japan]. Edited by N. K. Hristoforova. Vladivostok, 2012, 440 p.
11. Somov G. P., Buzoleva L. S. *Adaptacija patogennyh bakterij k abioticheskim faktoram okruzhajushhej sredy*

[Adaptation of pathogenic bacteria to abiotic environmental factors]. Vladivostok, 2004, 167 p.

12. Strachunskij L. S., Kozlov S. N. *Makrolidy v sovremennoj klinicheskoj praktike* [Macrolides in modern clinical practice]. Smolensk, Smolensk State Medical Academy, 2007, 200 p.

13. Cyban A. V., Panov G. V., Barinova S. P., Mosharova I. V., Knab V. A. *Ekologicheskie svoystva i dinamika geterotrofnih mikroorganizmov* [The environmental properties of and dynamics of heterotrophic microorganisms]. Moscow, 2000, 375 p.

14. *Chastnaia meditsinskaja mikrobiologiya s tehnikoj mikrobiologicheskikh issledovaniy: uchebnoe posobie* [Private medical microbiology with appliances microbiological studies: a tutorial]. Edited by Labinskaya A. S., Blinkovo L. P., Eschinoy A. S. Moscow, 2005, 600 p.

15. Alonso A. Sanchez P., Martinez J. L. Environmental selection of antibiotic resistance genes. *Environ. Microbiol.* 2001, 3 (1), pp. 1-9.

16. Pannekoek Y., Van Putten, J. P. M., Dankert, J. Identification and molecular analysis of a 63-kilodalton stress protein from *Neisseria gonorrhoeae*. *J. Bact.*, 1992, 174 (21), pp. 6928-6937.

17. Reddy G. N., Prasad M. N. V. Heavy metal binding proteine. Polypeptide: occurrence, structure, synthesis and function. *Environ. Exp.* 1990, 30 (3), pp. 251-264.

18. Secades P., Alvarez, B., Guijarro, J. A. Purification and characterization of a psychrophilic, calcium-induced, growth-phase-dependent metalloprotease from the fish pathogen *Flavobacterium psychrophilum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, 67 (6), pp. 2436-2444.

19. Shefet D., Robenshtok E., Paul M., Leibovici L. Empirical atypical coverage for inpatients with community-acquired pneumonia: systematic review of randomized controlled trials. *Arch Intern Med.* 2005, 165, pp. 1992-2000.

20. Tran V., Jacoby M. Mechanism of plasmid-mediated quinolone resistance. *Prot. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 16, (8), pp. 5638-5642

21. Youchimizu M., Kimura T. Study on intestinal microflora of Salmonids. *Fish. Pathol.* 1976, 10 (2), pp. 243-259.

#### **Контактная информация:**

*Бузолева Любовь Степановна* – доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии, микробиологии и биотехнологии школы естественных наук ДВФУ, зав. лабораторией экологии патогенных бактерий НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г. П. Сомова

Адрес: 690087, Приморский край, г. Владивосток, ул. Сельская, 1

E-mail: buzoleva@mail.ru