

© ШЕВЕЛЁВА С.А., 2018

УДК 613.2:579.674:579.252.55

Шевелёва С.А.

## АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В ПИЩЕ КАК ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ПРОБЛЕМА (ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ)

ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 109240, Москва

*Приведён анализ научных данных о распространении антибиотикоустойчивости у микроорганизмов из пищевых источников. Дано представление о механизмах её формирования под влиянием ветеринарных лекарственных средств (ВЛС) с антимикробным действием с учётом особенностей их применения в животноводстве. Описаны пути поступления ВЛС в пищу, потенциал их остатков в плане прямых и опосредованных рисков для здоровья человека, современная ситуация с загрязнённостью ими пищевой продукции, принципы гигиенического нормирования и контроля. Охарактеризована роль субингибиторных доз антибиотиков в формировании антибиотикоустойчивости у микроорганизмов, акцентировано значение тетрациклинов как наиболее важных агентов активизации горизонтального переноса генов резистентности в окружающей среде. Освещены факторы в объектах пищевой цепи, способствующие реализации разных типов горизонтального переноса генов, в том числе на примерах исследований руководимой автором лаборатории условий на конкретном пищевом производстве. Приведены новые данные о негативных последствиях физических и химических воздействий неантибиотической природы, сублетальных для микрофлоры в пище, а также использования продуктов микробного синтеза в качестве антимикробных технологических средств, которые проявляются усилением генного трансфера и развитием у пищевых штаммов приобретённой устойчивости к антибиотикам. Раскрыта значимость посторонней (зоонозные патогены, представители комменсальной фекальной флоры, агенты ИСМП) и специально используемой (биотехнологические, пробиотические микроорганизмы, генетически модифицированные микроорганизмы (ГММ)) микрофлоры пищевых продуктов в качестве векторов передачи резистентных микроорганизмов в организм человека. Обобщены современные данные международных организаций и литературных источников об эффективных практических мерах противодействия формированию и распространению резистентности, в том числе о перспективных инновациях в сельском хозяйстве, направленных на альтернативные применению антибиотиков технологии выращивания и откорма продуктивных животных.*

**Ключевые слова:** антибиотикоустойчивость; противомикробные ветеринарные лекарственные средства; тетрациклины; субингибиторные дозы антибиотиков; безопасность пищевых продуктов.

**Для цитирования:** Шевелёва С.А. Антибиотикоустойчивые микроорганизмы в пище как гигиеническая проблема (обзорная статья). Гигиена и санитария. 2018; 97(4): 342-354. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-4-342-354>

**Для корреспонденции:** Шевелёва Светлана Анатольевна, доктор мед. наук, зав. лаб. биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии». E-mail: [sheveleva@ion.ru](mailto:sheveleva@ion.ru)

Sheveleva S.A.

ANTIMICROBIAL-RESISTANT MICROORGANISMS IN FOOD AS A HYGIENIC PROBLEM.

Federal Research Center for Nutrition and Biotechnology, Moscow, 109240, Russian Federation

*The analysis of scientific data on the occurrence of the antimicrobial resistance in microorganisms from food sources is adduced. A presentation on the molecular mechanisms of its formation under the influence of veterinary medicinal products (VMPs) with an antimicrobial effect, taking into account the peculiarities of their use in the animal husbandry, is given. Ways of the contamination of food with VMPs, the potential of their residues in terms of direct and indirect risks for human health, the current situation with the contamination of food products, the principles of hygienic rationing and control are described. The role of sub-inhibitory doses of antibiotics in the formation of the antimicrobial resistance in microorganisms is described, and the importance of tetracyclines as the most important agents of activation of horizontal transfer of resistance in the environment is emphasized. The factors in food chain objects contributing to the realization of different types of horizontal gene transfer are highlighted, including examples of studies implemented by the author laboratory in a specific food industry establishment. The new data on the negative consequences of physical and chemical effects of non-antibiotic nature, sublethal for microflora in food, as well as products of microbial synthesis as inhibitory technological means, manifested by the enhancement of the gene transfer and the development of acquired antimicrobial resistance in food strains, is presented. The importance of extraneous (zoonotic pathogens, intestinal commensal flora representatives, HAIs agents) and the microflora of food products especially used (biotechnological, probiotic microorganisms, GMM) as vectors for transfer of resistant microorganisms to the human body have been disclosed. The modern data of international organizations and literary sources are summarized in terms of effective practical measures to counter the formation and occurrence of the*

*resistance, including promising innovations in agriculture aimed at alternative technologies to antimicrobials for the growing and fattening of productive animals.*

**Key words:** *antimicrobial resistance; antimicrobial veterinary medicinal products; tetracyclines; sub-inhibitory doses of antimicrobials; foods safety.*

**For citation:** Sheveleva S.A. Antimicrobial-resistant microorganisms in food as a hygienic problem. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)* 2018; 97(4): 342-354. (In Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0016-9900-2018-97-4-342-354>

**For correspondence:** Svetlana A. Sheveleva, MD, Ph.D., DSci., head of the Laboratory of Biosafety and Analysis of Nutrimicrobiome of the Federal Research Center for Nutrition and Biotechnology, Moscow, 109240, Russian Federation. E-mail: [sheveleva@ion.ru](mailto:sheveleva@ion.ru)

*Conflict of interest.* The author declare no conflict of interest.

*Acknowledgment.* Госбюджет. Части работы, посвящённые цитированию результатов руководимой автором лаборатории по проблеме изучения пищевого кампилобактериоза, выполнены за счёт средств РНФ по гранту № 15-16-00015.

Received: 12 December 2017

Accepted: 25 December 2017

## Введение

Понятие антибиотикорезистентности (антибиотикоустойчивости) подразумевает способность микроорганизмов противостоять действию антибиотиков, противомикробных химиопрепаратов, биоцидов за пределами нормальной восприимчивости к ним конкретных видов бактерий, микроскопических грибов, простейших, гельминтов, вирусов, когда они больше не реагируют на такие уровни указанных средств, к которым были ранее чувствительны. Сегодня, когда число вновь создаваемых антибиотиков резко снизилось, антибиотикоустойчивость приобрела крайнюю степень актуальности.

В первую очередь это явление чревато неэффективностью стандартных методов терапии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), туберкулёза, малярии, ВИЧ/СПИД, которые труднее контролируются, увеличивается их продолжительность, добавляются экономические и социальные издержки, а риск смерти возрастает. ВОЗ признаёт, что последнее сегодня наблюдается вдвое чаще, чем у больных, инфицированных нерезистентными патогенами, а сама проблема устойчивости настолько серьёзна, что угрожает развитию медицины, поскольку незначительные болезни и травмы, сопряжённые с устойчивыми микробами, превращаются в причинный фактор высокой летальности [1–3]. Британские специалисты по результатам проведённого анализа заболеваемости прогнозируют, что к 2050 г. на планете каждые 3 секунды будет умирать 1 человек при инфекциях, обусловленных резистентными возбудителями, если мер борьбы не предпринимать сейчас [4].

Исходя из этого, многие учёные рассматривают проблему распространения антибиотикоустойчивости только в аспекте клинической значимости. Но это явление, так или иначе, затронуло все виды микробов в окружающей среде, обусловив в конце XX века резкое и глобальное форсирование их эволюции. Поэтому антибиотикоустойчивость крайне важна для всех отраслей, где необходим контроль микробного роста, а риски, связанные с воздействием на человека пищи, которая становится резервуаром резистентных бактерий и выступает как фактор передачи или как объект, в котором происходит обмен микробным генным материалом и формируются резистентные штаммы, требуют оценки. В свою очередь, это определяет необходимость обоснования способов сдерживания и мер противодействия распространению резистентности через пищу.

## Виды антибиотикорезистентности у микроорганизмов и современные представления об её распространении в пищевой цепи

С гигиенических позиций принципиальным является понимание закономерностей и путей возникновения антибиотикоустойчивости, от которых зависит её рас-

пространение в пищевой цепи. Так, известно, что врождённая (хромосомная, природная) устойчивость у микробов передаётся вертикально – от материнской к дочерней клетке внутри вида. Присутствие в среде обитания антибиотиков способствует отбору и размножению устойчивых клонов, но для диссеминации последних необходимо постоянное воздействие высоких доз препаратов, нехарактерных для пищи. Для приобретения устойчивости путём спонтанных мутаций и её закрепления в хромосомном аппарате также нужны жёсткие триггеры (например, рентген-излучение, химические мутагены). Поэтому развитие устойчивости по адаптивному типу и через аберрации хромосом у «пищевых» микроорганизмов редкое явление, а основным её механизмом признают мутации, обусловленные горизонтальным переносом (трансфером, трансмиссией) генов (ГПГ). При ГПГ микробы обмениваются фрагментами ДНК и приобретают мутации без длительной вертикальной эволюции за счёт внедрения в их геномы мигрирующих генных элементов (плазмид, транспозонов, интегронов, фагов, IS-элементов), в том числе включающих кассетные гены, острова патогенности и гены множественной резистентности (MDR) [5, 6]. Существует мнение, что находки MDR у неклинических изолятов свидетельствуют об их получении исключительно путём ГПГ [7]. Характеристики путей приобретения устойчивости микроорганизмами обобщены в табл. 1.

Явно, что индигенные преимущества процесса ГПГ обусловили наблюдаемую сегодня глобализацию резистентности в микробном мире. Одна из задач данного обзора состоит в том, чтобы показать, что же дало толчок активации ГПГ у бактерий? И есть ли связь трансмиссивной антибиотикоустойчивости у микроорганизмов в пищевой цепи с количественным скачком микробной эволюции и формированием новых патогенов, произошедшим в последние три десятилетия?

## Основные понятия о механизмах антибиотикоустойчивости и аффинности к антибиотикам у бактерий пищевого происхождения

Современные знания микробиологии свидетельствуют, что у микроорганизмов, живущих в природных условиях, задолго до эры промышленных антибиотиков существовала специфическая потребность в химических факторах взаимодействия с подобными продуктами жизнедеятельности других микроорганизмов. Прояснено разнообразие функций генов, кодирующих устойчивость, доказана их способность детерминировать метаболическую модификацию различных соединений (ацетилирование, фосфорилирование) и осуществлять транспептидазный перенос для выкачивания из клетки как собственных продуктов, так и продуктов, поступающих из окружающего биотопа [8]. Стало понятным, что защитная деятельность

## Пути приобретения устойчивости микроорганизмами

Атрибуты	Способ передачи генов резистентности	
	вертикальный	горизонтальный
Механизм передачи ДНК	наследование хромосомных детерминант, в т. ч. приобретённых путём аббераций, при делении	импорт и ретранспорт мобильных генных элементов (МГЭ) при конъюгации, трансдукции фагами, захват «голой» ДНК при трансформации
Характер распространения	внутри популяции, вида	не имеет таксономических, биоценологических и географических границ
Оптимальные экологические объекты	колонизированные биотопы (преимущественно кишечник животных и человека)	почва, донные осадки, водоросли в речных грунтах, ризосфера, навоз, лиственный покров, пищевые продукты, кишечник и ротовая полость животных и человека
Время формирования устойчивости в популяции	длительное (годы, десятилетия)	минимальное (часы, дни)
Концентрация антибиотиков, индуцирующая селекцию устойчивых штаммов	выше МИК	ниже МИК

Примечание. МИК – минимальная ингибирующая концентрация.

детерминант устойчивости обуславливается селективным давлением соответствующего фактора, поэтому следствием медицинского или иного другого применения антибиотиков является неотвратимость экспрессии у микробов резистентности к любому классу этих веществ [8, 9].

Молекулярные и клеточные механизмы защиты от антибиотиков у штаммов пищевого и клинического происхождения принципиально не различаются. Они опосредуются типом воздействующих веществ, комбинируясь друг с другом для антибиотиков широкого спектра, и укладываются в целом в два направления: нарушение синтеза структурно-молекулярных клеточных мишеней антибиотиков (клеточных стенок или мембран, белка, ДНК/РНК, витаминов (фолатов) и включение структурно-биохимических приспособлений для недопущения антибиотиков в клетку или снижения их концентрации (уменьшение входа или повышение оттока путём эффлюкса, изменение проницаемости клеточной стенки, выработка инактивирующих или модифицирующих антибиотики ферментов, альтернативные метаболические пути). Судя по массиву опубликованных работ, самый изученный механизм устойчивости у клинических изолятов – ферментативная деградация или модификация антибиотиков (например, гидролиз  $\beta$ -лактамного кольца цефалоспоринов  $\beta$ -лактамазами грамотрицательных бактерий). При этом гены ферментов, модифицирующих структуру пенициллинов, цефалоспоринов, аминогликозидов, также как и гены модификации мишеней у эритромицина, метициллина, гликопептидов обычно трансмиссивны [10–14]. Обобщённых сведений о штаммах пищевого происхождения в этом плане нет.

В присутствии антибиотиков происходит мобилизация генов устойчивости из природных резервуаров и их распространение среди микробов, в том числе таксономически отдалённых, в разных экологических нишах. Важно, что селекция устойчивости в пищевой цепи может инициироваться не только антибиотиками, но и другими вредными для клеток веществами (токсичные элементы, пестициды, биоциды), резистентность к которым кодируется в кассете [15, 16]. Закрепление генов в *mar* опероне, замещение чувствительных клонов и эскалация устойчивости при отсутствии антибиотиков в окружающей среде определяется как ко-резистентность. Так, известно, что использование хлора для обработки тушек птицы может селекционировать резистентные *Salmonella spp.*, а у изолированных из птицы *L. monocytogenes* наряду с адаптивным повышением МИК гипохлорита возника-

ет ко-резистентность к ряду других препаратов [17, 18]. Соответственно, можно полагать, что пищевая цепь выступает как не менее значимый резервуар формирования множественной резистентности, чем клиническая среда.

Поэтому важно знать, от чего зависит снижение аффинности к антибиотикам и повышение МИК для циркулирующих в объектах окружающей среды штаммов.

Установлено, что конкретные действующие вещества запускают строго специфические процессы генных мутаций [19]. Так, единичные аминокислотные замены в 81-й или в 84-й позиции в генах ДНК-гиразы и субединице *parC* топоизомеразы IV, соответственно, возникая в ответ на воздействие хинолонов на клинически значимые бактерии, препятствуют связыванию этих веществ с полипептидными цепями ферментов в клетке, что приводит к снижению аффинности к ним. Или, для антибиотиков-ингибиторов синтеза белка показано, что только в ответ на их появление в среде у стафилококков и стрептококков происходит продукция метилаз: макролиды, линкозамиды, стрептограммины, активируя эти ферменты и индуцируя метилирование 23S рРНК-мишени, вызывают конформационное изменение рибосомы и со временем сами блокируют гибель бактерий.

Многочисленные подобные факты подтверждают, что развитие устойчивости определяется селективным фоном. В клинике сроки его воздействия зачастую можно прогнозировать по времени. Например, аффинность к хинолонам у возбудителей ИСПМ убывает ступенчато, как результат накопления единичных мутаций, с повышением МИК на каждой ступени от 2 до 100 раз, и уровень резистентности может не приобретать практического значения достаточно длительное время [19]. Для штаммов, живущих в объектах пищевой цепи, подобные оценки не проводились. Однако об их потенциале в этом аспекте можно судить по профилю доминирующих в биотопах бактерий и их предрасположенности к приобретению устойчивости. Такая характеристика определяется наличием высоко эффективных механизмов конъюгации между потенциальными донорами и реципиентами и укладывается в 3 категории потенциального риска (табл. 2) [18].

Среди бактерий с высокой предрасположенностью к приобретению устойчивости фигурируют колонизаторы ЖКТ позвоночных *Enterobacteriaceae* и *Enterococcus spp.* Представители этих же таксонов являются основными контаминантами продовольственного сырья, зачастую выживающими при переработке или перекрёстно загрязняющими готовые продукты. Особенно это касается

Таблица 2

## Степень вероятности реализации генного трансфера у бактерий

Категория	Наличие у штаммов механизмов для высокой частоты ГПГ	Виды бактерий
Высокая	Высоко специализированные механизмы для высокой частоты трансфера; высокая вероятность обмена между неродственными видами или с вирулентными штаммами	<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Enterococcus spp.</i>
Средняя	Узкий (внутриродовой) диапазон механизмов трансфера	<i>Lactococcus spp.</i>
Низкая	Не идентифицировано механизмов высокочастотных конъюгаций	<i>Bacillus spp.</i>

энтерококков, обладающих природной термо- и осморезистентностью. Ещё недавно малозначимые в эпидемиологическом отношении эти микробы в связи с выявлением у них способности ко всем видам ГПГ, роста ванкомицин-резистентности и появления в популяциях штаммов с мозаичным геномом (например, у *E. faecalis* V583 он больше, чем на четверть и состоит из приобретенных мобильных ДНК), сегодня названы «загадкой» для пищевой микробиологии [20, 21].

При постоянном потреблении в живом виде с пищей такие бактерии имеют высокий потенциал для непосредственного взаимодействия с представителями микробиоты ЖКТ человека (причём вне ограниченных пространств клинических учреждений), выступая векторами генов резистентности.

## Источники поступления лекарственных средств с антимикробным действием в пищевую цепь

Интенсивное использование антибиотиков в практической деятельности человека обусловило нарастающий рост их селективного давления в среде обитания. При этом большая часть антибиотиков имеет нецелевое назначение, то есть применяется не для лечения болезней, обусловленных микроорганизмами.

Так, в животноводстве антибиотики в виде ветеринарных лекарственных средств (ВЛС) назначают заводскому здоровому скоту, птице, пчёлам, аквакультуре для стимуляции роста, а также для профилактики эпизоотий при содержании больших стад в закрытых пространствах с ограничением естественного передвижения и выгула. Для этого ВЛС добавляют в корма в субингибиторных (меньших, чем МИК для возбудителей зоонозов) или субтерапевтических дозах, соответственно. По данным ВОЗ сегодня животным скармливается более 50% производимых в мире антибиотиков [1, 3].

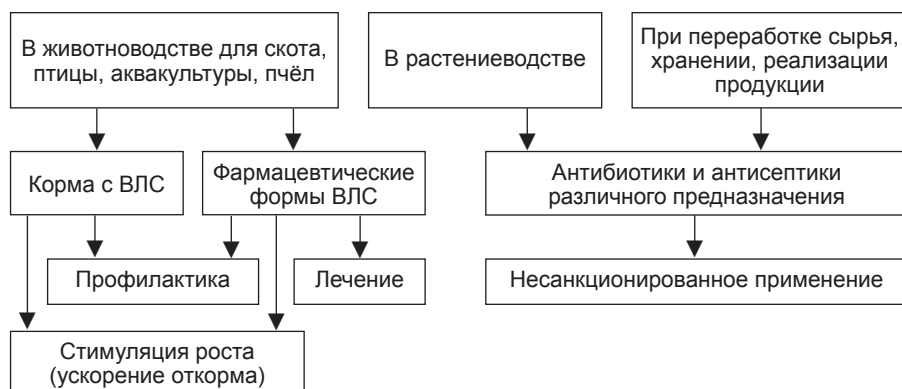


Рис 1. Пути поступления антибиотиков в пищевую цепь в РФ.

В США, Мексике их используют и в растениеводстве для защиты от возбудителей бактериозов. По оценкам специалистов количество антибиотиков для сельского хозяйства в XXI веке в разных странах от 2 до 7 раз превышает объём аналогичных средств для медицины. Пути их поступления в пищевую цепь в РФ представлены на рис. 1.

В России сегодня нет данных об объёмах применения антибиотиков в животноводстве, но среди зарегистрированных ВЛС около 500 составляют препараты противомикробного действия (антибактериальные, противовирусные, антисептические, антипротозойные и др.), большая часть которых относится к тем же фармацевтическим группам, что и медицинские. Немедицинские «кормовые» антибиотики могут включаться в состав кормов, но этот процесс непрозрачный. Нет учёта и биоцидов, консервантов, технологических антимикробных веществ, используемых в сельскохозяйственном производстве и пищевой индустрии. В целом этот массив создаёт обширные возможности для загрязнения антимикробными веществами всех объектов пищевой цепи – от содержимого органов выделения животных до получаемой продукции.

## Остаточные количества антибиотиков в пище: профиль риска, нормирование в пище и контроль

Поскольку уровни антибиотиков при нецелевом применении значимо ниже МИК и, как правило, нетоксичны, научным доказательствам существования негативных эффектов для здоровья людей долго противоборствовало мнение о благотворном действии на организм животных [22]. В то же время в трудах ряда учёных, направленных на характеристику эффектов субтерапевтических и субингибиторных доз антибиотиков при введении лабораторным животным в хронических и субхронических экспериментах, ещё в конце XX века были показаны нарушения микрофлоры ЖКТ (антагонизма бифидо- и лактофлоры, метаболической активности популяций, участвующих в энтерогепатической циркуляции и синтезе холестерина, формирование множественной резистентности, уменьшение количества лактобактерий, стафилококков на фоне роста числа кишечных палочек), а также патогистологические изменения тканей печени, почек, селезёнки, характерные для аллергии замедленного типа [23, 24]. Сегодня к числу прямых рисков при потреблении с пищей остатков ВЛС относят преимущественно селекцию резистентных кишечных бактерий, аллергические реакции, реже нарушения кишечного биоценоза. Для нитрофуранов, нитроимидазолов, хлорамфеникола доказано существование токсичности, канцерогенности, мутагенности, в связи с чем, согласно выводу JECFA<sup>1</sup>, для этих ВЛС не может быть установлена ДСД, и они не могут использоваться у продуктивных животных [25].

Развитие транскриптомики позволило подойти к изучению эффекта малых доз антибиотиков на гены представителей кишечной флоры, регулирующие дополнительное извлечение энергии из неперевариваемых углеводов, что опосредует прирост жировой массы в организме без повышения объёмов потребляемой пищи, но связь между ожирением у населения и остатками антибиотиков в пище пока не доказана [26].

<sup>1</sup> JECFA – Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives.

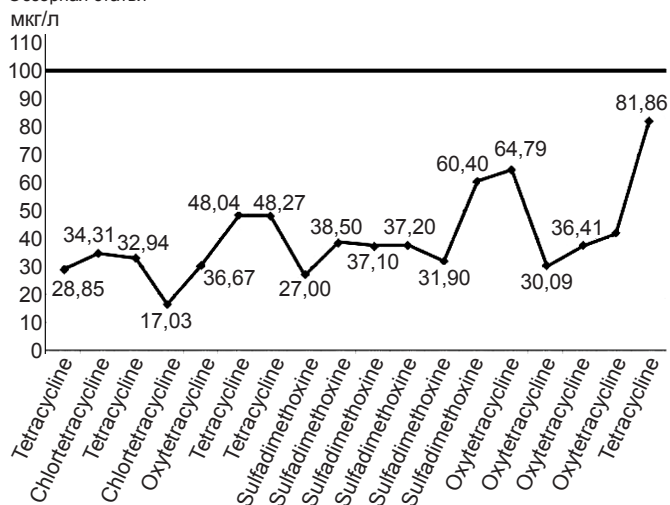


Рис. 2. Результаты ежеквартального мониторинга остатков тетрациклинов и сульфаниламидов в молоке (МДУ 100 мкг/л, не более), Бразилия, 2008–2012 гг. [по 33].

В странах ВТО, в том числе в России, при установлении максимально допустимых уровней (МДУ) остатков ВЛС учитываются рекомендации Комиссии Кодекс Алиментариус (ККА). Для каждого препарата проводится оценка риска негативного действия на организм. Одновременно изучаются токсичность, фармакологическая активность, влияние на кишечную флору и, исходя из NOEL по наиболее выраженному неблагоприятному эффекту из трёх, определяется ДСД. МДУ рассчитывается при сопоставлении допустимой суточной дозы (ДСД) с потреблением контаминанта с рационом питания (в составе эмпирической продуктовой корзины), с учётом коэффициента запаса. Повсеместно такая оценка базируется на измерении прямых отрицательных эффектов антибиотиков. Риск потребления с пищей тетрациклинов на популяционном уровне впервые был оценен только в РФ [27].

Оценка непрямых рисков здоровью и жизни человека (глобализация резистентности, ускорение эволюции микробов и появление новых возбудителей с повышенной агрессивностью) как следствия контаминации антибиотиками продуктивных животных и объектов среды обитания, стала возможной в начале XXI века при развитии методов геномного анализа [24, 28]. Но последствия такого характера при гигиеническом нормировании антимикробных ВЛС в пищевой продукции в расчёт не принимаются.

Методология нормирования противомикробных ВЛС исходит из подхода оценки риска химических контаминантов пищи для населения и отражена в документах федерального и межгосударственного уровня ЕАЭС [29, 30]; гигиенические нормативы регламентируются в Технических регламентах ЕАЭС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», 034/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции», Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требованиях к товарам, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю).

Все виды продукции животного происхождения (мясные, молочные, аквакультура, яйца, мёд) в РФ подлежат обязательному контролю на наличие наиболее широко используемых ВЛС (тетрациклины, пенициллины, стрептомицин, хлорамфеникол, бацитрацин). Их МДУ гармонизированы с международными стандартами, за исключением тетрациклина, для которого установлены более жёсткие нормативы, чем в ККА. Другие нормируемые антибиотики (56 наименований) контролируют в заяви-

тельном порядке на основании информации производителя (поставщика) продукции об их применении. Запрещённые к применению в животноводстве в странах ВТО хлорамфеникол, нитрофураны, метронидазол нормируются на уровнях, равнозначных критериям контроля запрета [25].

Несмотря на существующие гарантии выведения из организма в течение срока отмены перед убоем скота, сбором молока, яиц, добычей рыбы, ВЛС в получаемой продукции обнаруживают повсеместно. В развитых странах с налаженным контролем применения ВЛС в сельском хозяйстве обычно регистрируется низкая частота загрязнённости. Так, в Евросоюзе в 2014 г. только 0,18% проанализированных проб признано не соответствующими МДУ (кроме мёда с частотой обнаружения 0,72% сл.), в том числе по запрещённым антибиотикам – в 0,03% сл. [31, 32]. По данным Роспотребнадзора, в РФ частота несоответствия пищевой продукции МДУ антибиотиков тоже снижается – с 12% в 1992 г. до 0,57% в 2016-м.

Однако одновременно результаты мониторинга антибиотиков в пище, получаемые из официальных и научных публикаций, свидетельствуют о широкой контаминации количествами ниже МДУ. Иллюстрацией может служить представленная Минсельхозом Бразилии на Всемирном молочном саммите 2012 г. картина детекции тетрациклинов и сульфаниламидов, из которой видно, что их остатки в молоке присутствуют постоянно, но составляют величины в пределах от 17 до 82% от МДУ (рис. 2).

Такая тенденция наблюдается и в России, что подтверждено результатами, полученными высокочувствительными методами анализа: ниже МДУ тетрациклины обнаруживались в 28 – 51% случаев в образцах животных продуктов, отобранных на рынке Москвы; нитрофураны – в 6% проб мяса производства России (на МПЗ Санкт-Петербурга) [34, 35].

В целом, отражая широкое применение антибиотиков в сельском хозяйстве, это свидетельствует о своеобразном фоне из микродоз антибиотиков в пище. В силу своей биологической активности они способны взаимодействовать с микроорганизмами в самих продуктах и в пищеварительном тракте, но до сих пор в этом аспекте недооценены.

### Роль субингибиторных доз антибиотиков в формировании антибиотикоустойчивости у бактерий. Тетрациклины как факторы активизации ГПП

В ситуации с глобализацией резистентности с позиций гигиены важно, что обмен генами устойчивости у штаммов от людей и животных, получающих антибиотики, продолжается в биосфере, куда они попадают с отходами и стоками больниц, ферм, боен, предприятий аквакультуры, а также в окружающей среде данных организаций. Это подтверждается постоянным обнаружением бактерий с генами резистентности и фагов, несущих такие гены, в местах сброса стоков, повышением их содержания в воде водоёмов, почве и воздухе вокруг ферм и у работников этих ферм. Так, метагеномный анализ проб почв, собранных в Голландии в период с 1940 по 2008 г., показал возрастание в 15 раз численности генов β-лактамаз и *tet* после 1970 г., что по времени совпало с интенсивным использованием пенициллинов и тетрациклинов у скота [8]. Попадая в ЖКТ с растительной пищей, такие гены захватываются кишечными бактериями и далее могут передаваться возбудителям.

Полагают, что аналогично происходит проникновение и агентов ИСМП и их генов в пищевую цепь, когда продукты биоотстойников, донные осадки, необработанные стоки используют для удобрения и ирригации. Однако

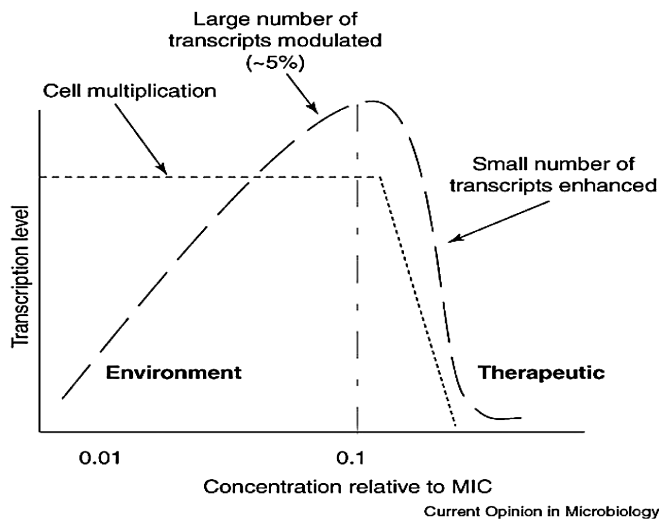


Рис 3. Кривая зависимости «доза-эффект» при воздействии на микроорганизмы разных доз антибиотиков [44].

из-за часто неукладывающихся в эту схему фактов обнаружения ИСМП в «экологичной» животной продукции, в том числе в странах, резко снизивших нецелевое применение антибиотиков, этот вопрос остаётся открытым. Связь же контаминации растений с патогенами из навоза и повышением риска для потребителей зоонозов от растительной продукции очевидна и уже проявилась многими реальными вспышками в США и странах ЕС [36–38].

Остатки неусвоенных в организме антибиотиков (по разным данным 75–90% от вводимых доз) также поступают в биосферу с фекалиями и мочой людей и животных, создавая, возможно, самый значимый фактор селективного давления и продолжения цепной реакции резистентности. В силу многократно большей численности поголовья животных над человеческой популяцией основным источником загрязнения антибиотиками окружающей среды повсеместно становится навоз, большая часть которого используется для удобрения сельхозугодий и теплиц. Так, в Китае в год производят более 618 млн тонн свиного навоза с концентрацией только хлортетрациклина ~4,0 мг/кг, а спектр применяемых препаратов гораздо шире. Немецкие учёные подсчитали, что примерно 0,1% антибиотиков, внесённых в почву с навозом, переходит в ризосферу и в съедобные части растений. Отечественные исследования развития резистоста в биосфере единичны [8, 39, 40].

До конца 1970-х гг. в большинстве работ по антибиозу в сельском хозяйстве причину устойчивости объясняли селекцией резистентных мутантов среди бактерий в организме животных в присутствии противомикробных ВЛС и вытеснения ими чувствительных штаммов из популяций. Появление данных об R-факторе и плазмидном характере переноса усилило призывы к рациональному применению (разделение на лечебные и кормовые, соблюдение сроков отмены), но не стало основой прогнозных оценок риска дальнейшей нецелевой эксплуатации антибиотиков. Появление среди возбудителей пищевых инфекций новых патогенов в начале 1980-х гг. предположительно совпало с моментом качественного изменения уровня селективного давления и реализацией ГПГ у бактерий [41–43].

Лишь после более чем 50-летней практики применения профилактических доз антибиотиков у животных в начале XXI века при использовании современных методов молекулярного анализа появилось понимание причин и механизмов форсирования горизонтальной эволюции

микробов и скачка устойчивости. Так, при помощи ДНК-микрочипирования, транскриптомного и протеомного анализа, промотор-репортёр скрининга показано, что нелетальные уровни биотехнологических антибиотиков, являющихся аналогами микробных метаболитов, в тех же концентрациях, которые встречаются в экосистемах, действуют как природные сигнальные молекулы на бактериальные клетки, стимулируя их способность к значимой активации транскрипции и синтеза белков, трансфера участков ДНК, в первую очередь кодирующих резистентность. Применявшаяся к оценке воздействия антибиотиков парадигма («большие дозы – большие повреждения, малые дозы – меньшие повреждения») изменилась, так как малым дозам оказались свойственны качественно иные биологические эффекты, которые подчиняются феномену I фазы гормезиса<sup>2</sup> [6, 27, 44–46].

На рис. 3 чётко виден дуалистический эффект терапевтических (микробицидных) и «средовых» (стимулирующих) доз антибиотиков на бактериальную популяцию и её функции.

Определён диапазон, при котором антибиотики активируют транскрипцию/трансляцию у чувствительных к ним представителей кишечной флоры (от 0,01 до ~0,8 · МИК). У клинически значимых патогенов активно изучаются реагирующие на субингибиторные дозы гены и фенотипическое выражение их эффектов. Например, что в ответ на воздействие 0,8 МИК норфлоксацина у *E. coli* O157:H7 стимулируются не только гены, ответственные за синтез белка и аминокислот, а также гены вирулентности, кодируемые в локусе сглаживания энтероцитов (*LEE*) и профагов [44].

В свете данного механизма прояснился и ростстимулирующий эффект субингибиторных доз антибиотиков. Так, один из его путей реализуется через сверхэкспрессию метаболических генов кишечных бактерий-симбионтов, что способствует утилизации неперевариваемых в норме углеводов, запасанию энергии в макроорганизме [26, 47].

Получены данные о негативной роли тетрациклинов в эскалации резистентности трансмиссивного типа и её глобализации в микробном мире [12, 48]. Показано, что их субингибиторные концентрации резко активизируют горизонтальный трансфер резистентности и сопряжённой с нею патогенности на конъюгативных транспозонах Tn916 *Streptococcus spp.* и Tn1545 *Enterococcus spp.*, а многолетнее интенсивное нецелевое использование привело к формированию самого большого в мире резистоста против антибиотиков индивидуального класса (свыше 1189 генов устойчивости *tet*, *otr*, *tcr*, идентифицированных в более чем 84 родах и 354 видах бактерий). Гены протекции рибосом (*tetM*) в результате ассоциации с транспозонами, играющими активную роль в передаче резистентности между удалёнными таксономически родами бактерий, получили широчайшее распространение. Они присутствуют в геномах всех вновь возникших в конце XX века возбудителей «пищевых» инфекций, а при трансмиссии в другие бактерии, как полагают, могут экспрессироваться непредсказуемо (например, при наличии остатков тетрациклина в бионитре – спровоцировать рост вирулентности). Описаны факты перемещения и экспрессии генов *tet(M)*, гомологичных сиквенсам *E. coli*, изолированных от скота, в человеческие изоляты *E. coli*, не обладавшие ранее этим признаком [24, 49]. В своих экспериментах с пероральным введением крысам тетрациклина в дозах ниже МИК

<sup>2</sup> Гормезис – би- или полимодальный ответ организма в целом, его структур, клеток на воздействие биологически активных веществ, процессов.

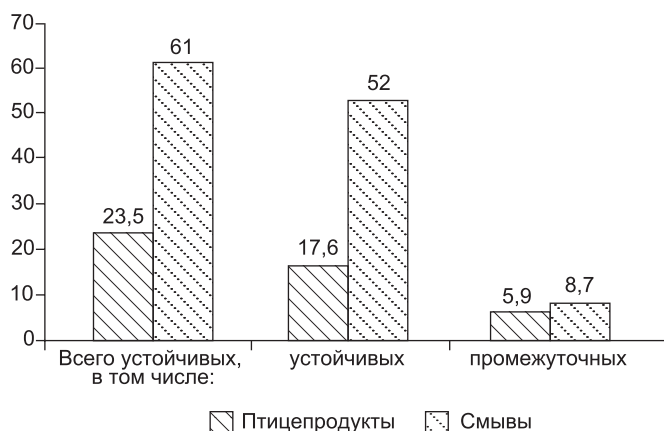


Рис. 4. Частота обнаружения устойчивости к цефотаксиму у штаммов *C. jejuni*, изолированных из птицы и смывов в процессе одного технологического цикла (%%).

для *E. coli* мы тоже наблюдали изменения в фенотипе их кишечных популяций, которые выражались в появлении устойчивости к антибиотикам других групп, что обычно связано с ГПГ [50].

Поэтому изучение процессов трансмиссии МГЭ, несущих гены *tet* и патогенности, важно для ограничения нецелевого использования тетрациклина как фактора, провоцирующего неправильную эволюцию возбудителей.

#### Условия, способствующие реализации разных типов горизонтального переноса генов резистентности в объектах пищевой цепи

Известно, что для распространения МГЭ необходимо оптимальное сочетание эндогенных (микробных) и экзогенных факторов. Такие условия есть в рубце КРС. Высокая плотность микробов, доступность воды, нейтральный pH, температура 35–37°C, низкое содержание жира, отсутствие желчи, достаточное для образования пилей время пребывания, наличие многочисленных простейших, экранирующих бактерии, в присутствии низких доз антибиотиков, действующих как индукторы, характеризуют рубец как наиболее важную, с гигиенической точки зрения, биологическую нишу для конъюгации и трансдукции по сравнению с ЖКТ моногастричных. Показано, что резидентная флора рубца улучшает перенос детерминант резистентности и патогенности между комменсалами и патогенами, например, клебсиеллами и сальмонеллами. В жизни это подтвердилось тем, что возникшие в конце XX в. возбудители новых зоонозных инфекций произошли от представителей кишечных бактерий скота, выращенного с антибиотиками, и первые вспышки заболеваний, обусловленных энтерогеморрагическим серотипом *E. coli* O157:H7, были вызваны мясопродуктами от клинически здорового КРС [43, 51].

Идеальные условия для ГПГ между различными штаммами имеет и пищеварительный канал синантропных мух. Высокая интенсивность метаболизма и быстрый процесс адаптации бактерий в их кишечнике способствует как конъюгации, так и трансдукции [52]. Так, показан трансфер устойчивости к хлорамфениколу от донорского к реципиентному штамму *E. coli* на плазмиде или лизогенном бактериофаге H-19В::Ap1, кодирующем Шига-токсин ген *Stx1*, в средней кишке и зобе *Musca domestica* при уровнях  $10^{-2}$  и  $10^{-3}$  донорских клеток всего за 1 час [53, 54].

Зафиксирована передача гена *Stx1* между кишечными палочками от разных биологических хозяев бактериофа-

гом также при низкой частоте трансдукции в присутствии цефотаксима [49].

Менее изучен процесс трансформации. Предполагается, что он происходит с низкой частотой из-за редкого сочетания ряда условий: способности бактерий к захвату свободной ДНК, наличия массива молекул гомологичной для данного вида бактерий ДНК определённой длины, и последовательных стрессовых воздействий на культуры [55]. Но отмершие клетки, неспособные к конъюгации или трансдукции, в результате повреждения клеточной мембраны могут лизироваться и высвобождать ДНК, включая возможные гены устойчивости. И как только ДНК будет выпущена, теоретически она может быть передана другим бактериям путём трансформации [45].

О реализации данного механизма сообщалось ещё в 1994 г. Показано, что фрагменты хромосомной и плазмидной ДНК могут входить в бактерии, которые сами активно не принимают ДНК, но внедрение происходит во время определённой фазы роста клеток (компетентность) при специфических физических или химических условиях [цит. по 56].

Сопоставив тенденции заболеваемости кампилобактериозом при употреблении птицепродуктов (в основном обусловлена *C. jejuni*) с результатами собственных исследований, свидетельствующими о контаминации кур практически единственным видом кампилобактерий *C. jejuni*, с параметрами технологии первичной переработки птицы, включающей резкие перепады температур, и со сведениями о способности *C. jejuni* к поглощению ДНК *in vitro* [45], мы предположили, что здесь есть взаимосвязь. Соответственно, повышение патогенных свойств *C. jejuni* может реализовываться путём трансформации ДНК, кодирующей резистентность и сцепленные с ней признаки, на предприятии (например, в стоках шарпильного отделения) с последующим распространением трансформированных штаммов путём вторичной контаминации. В пользу этого предположения свидетельствовали результаты наших исследований *C. jejuni*, циркулирующих на птицеперерабатывающем предприятии, в ходе которых был обнаружен скачок резистентности к  $\beta$ -лактаму антибиотикау цефотаксиму у штаммов из смывов, изолированных в один день со штаммами из продукции (рис. 4).

Частота резистентности к цефотаксиму у изолятов из кур составила 23% (это соответствует данным зарубежных публикаций о частоте обнаружений кодирующих её генов *BLBS* в пище), а в смывах оказалась выше в 2,7 раза [57]. Это говорит о необходимости углубления научной оценки условий, оптимальных для определённых типов ГПГ в пищевой цепи, прогноза и сдерживания устойчивости.

С учётом этих знаний должна строиться оценка любых новых подходов к откорму скота, а неотъемлемой частью оценок риска новых кормовых добавок (например, на основе микробного синтеза или ферментов микробного происхождения, способных быть донорами генного материала и индукторами ГПГ у продуктивных животных) должно быть изучение процессов ГПГ при моделировании параметров пищеварения *in vitro* и в опытах *in vivo*.

#### Сублетальные воздействия факторов химической и физической природы способствуют развитию устойчивости к антибиотикам у пищевых микроорганизмов

Известно, что для ряда пищевых патогенов (*L. monocytogenes*, *C. sakazakii*) в меньшей степени характерна приобретённая антибиотикоустойчивость. Это обусловлено тем, что противодействие различным стрессам

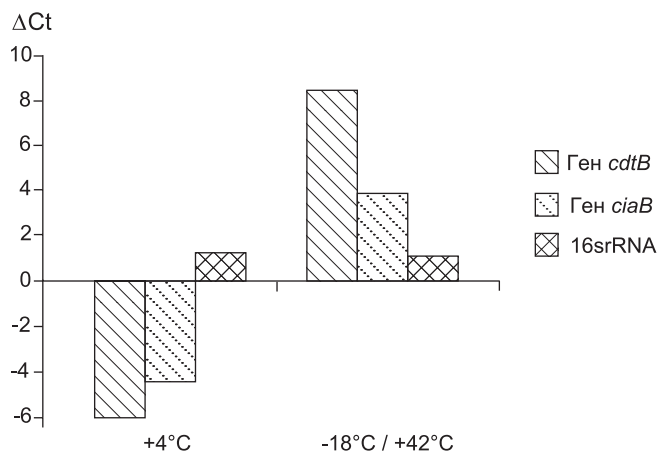


Рис. 5. Изменение количества транскриптов при температуре 42°C после охлаждения и замораживания у выделенных из кур *C. jejuni*.

как атрибут эволюции у бактерий запрограммировано и иными способами.

А именно, под влиянием любых противоборствующих факторов химической, физической и биологической природы в пищевой цепи резистентность у микробов может проявляться как структурно-биохимическими перестройками клеточного аппарата под контролем приобретаемых генов, так и детерминированным изменением поведения. Работ по механизмам такого действия до сих пор мало, но общие тенденции очевидны и свидетельствуют о том, что широкое использование сублетальных, а не бактерицидных воздействий неантибиотического характера также приводит к развитию и распространению у микробов устойчивости к антибиотикам, включая передачу на МГЭ [45].

Этот процесс подобен формированию ко-резистентности у пищевых патогенов в ответ на нелетальные воздействия биоцидов [15]. В наших последних экспериментах на крысах, получавших с питьевой водой активный хлор в диапазоне от бактериостатической до недействующей концентрации, отмечено, что фенотипические профили резистентности *Enterococcus spp.* в кишечнике включали в 1,8 и 2,0 раза больше препаратов при дозах хлора 10 и 50 мг/л (уровень 50 мг/л принят для обработки тушек битой птицы и резаных овощей в ряде стран), чем в группе, получавшей 100 мг/л и не получавшей хлор. Это свидетельствует о том, что сублетальное воздействие хлора включает механизм ответа, сходный с касетным ГПГ.

Известно также, что биоплёнки обеспечивают лучшие условия для выживания микробов и передачи резистентности за счёт фиксации, тесного контакта клеток, способствуя ГПГ через конъюгативные и даже неконъюгативные плазмиды. Но рекомендуемые концентрации биоцидов не всегда учитывают снижение диффузии активных молекул через биоплёночный экзоматрикс или тестируются на свободных клетках [58]. В итоге эффект оказывается сублетальным и индуцирует резистентность, поэтому для подбора эффективных концентраций нужно обязательно изучать устойчивость плёнкообразующих микробов в критических точках разных производств.

Актуально изучение иных типов ответа патогенов на антибиотики и другие стрессы, например, явлений некультурабельности и толерантности, возможно, предшествующих переходу в анабиоз [59–61]. В своих опытах мы тоже обнаружили способность *C. jejuni* при замораживании до (-18°C) в контаминированном фарше уходить от температурного стресса, а при смене на благоприятные для него

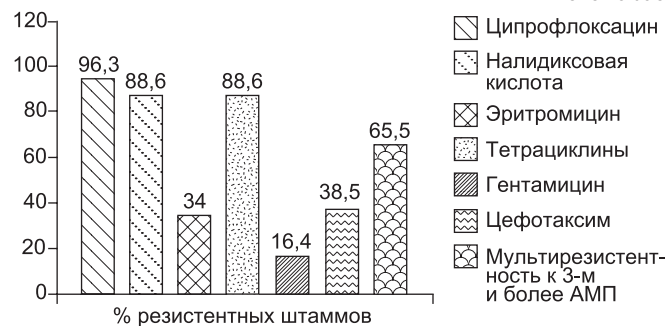


Рис. 6. Антибиотикорезистентность *C. jejuni* из птицепродуктов в 2015–2016 гг.,  $n = 55$ .

условия (42°C) всего за 1,5 ч восстанавливать функции. Из рис. 5 видно достоверное усиление экспрессии генов токсигенности и инвазии: различия в числе копий РНК, отражающие эффект воздействия стресса, для гена *cdtB* составили 2,64 lg, для гена *ciaB* – 1,14 lg по данным ОТ-ПЦР и прямой ПЦР [62].

Так, зафиксирован феномен гормезиса у представителей микрофлоры продуктов при режимах минимальной технологической обработки: последняя инициировала более высокую частоту трансфера плазмид у бактерий в обработанных образцах по сравнению с необработанными, особенно при наличии мишени в нуклеотидном аппарате клеток-реципиентов [80]. Резюмируется, что широкое использование сублетальных, а не бактерицидных систем переработки сырья (особенно при его загрязнении антибиотиками) может способствовать развитию и распространению устойчивости к противомикробным препаратам у пищевых патогенов.

Задача состоит в том, чтобы оценка риска новых технологий была опережающей и учитывала различные типы ответа бактерий на технологические стрессовые факторы.

### Пища как фактор переноса резистентных микроорганизмов

Основным каналом переноса резистентных бактерий и генов устойчивости в организм здорового человека, вне клиники, сегодня обоснованно признают пищевые продукты. Пути их обсеменения не отличаются от таковых для традиционных микробных контаминантов: животные продукты загрязняются во время убоя представителями фекальной флоры, приобретающими устойчивость во время откорма или лечения скота и птицы. Растительные (овощи, проростки) загрязняются при удобрении навозом, орошении водой, загрязнённой экскрементами людей и животных; готовая пища перекрёстно загрязняется от сырья, рук работников в процессе переработки, при реализации, хранении, в быту. Повсеместно высоко в этом плане значение сырых птицепродуктов, риск их ре-контаминации особенно высок при использовании систем погружного охлаждения, и усугубляется обработкой тушек антимикробными средствами, присутствием антибиотиков в сырье [63].

Самыми значимыми векторами передачи являются зоонозные патогены (сальмонеллы, кампилобактерии, патогенные эшерихии), представители комменсальной флоры (энтерококки, энтеробактерии), агенты ИСМП (MRSA, ESBL, VRE). Потенциал в данном аспекте имеют биотехнологические, пробиотические микроорганизмы, ГММ.

**Роль возбудителей зоонозов.** Результаты исследований нашей лаборатории, посвящённые возбудителю кампилобактериоза, свидетельствуют о практически полной



Характеристики резистентных к тетрациклину *S. jejuni* из птицы ( $n = 12$ ) в выборках разных лет

Показатель	Год	
	2004–2007	2015–2016
% устойчивых, шт.	0	88
МИК, мг/л	< 0,01	15 ± 9,8
Наличие генов, %:		
<i>TetO</i>	0	100
<i>CdtB</i>	60	100

резистентности в выборке выделенных из отечественных птицепродуктов штаммов к фторхинолонам, в подавляющем большинстве случаев – к тетрациклинам, в высоком проценте случаев – к 3 и более препаратам (рис. 6). Такая же ситуация сегодня в странах Евросоюза, где 70% изолятов кампилобактерий из бройлерной птицы и 60% от людей резистентны к ципрофлоксацину [64].

При этом выборочное сравнение штаммов, изолированных нами из птицы с интервалом 10 лет, показало возрастание частоты резистентности к тетрациклинам и значений их МИК, а также появление у изолятов генов, кодирующих трансмиссивную резистентность к этой группе антибиотиков и фактор патогенности, которые у них отсутствовали ранее (табл. 3).

Наибольший массив данных о пищевых изолятах в мире касается резистентности зоонозных агентов рода *Salmonella*: в 2014 г. в ЕС мультирезистентность обнаруживалась примерно у 1/3 штаммов: в 26% от людей, 24,8% от бройлеров, 30,5% от индеек. Самой высокой частотой MDR и высокими уровнями МИК для ципрофлоксацина отличался ряд штаммов из сероваров *S.kentucky* и *S.infantis* [64]. США сообщают об устойчивости 78% изолятов сальмонелл из птицы и свинины к 1 и более антибиотикам, 53% – к 4 и более, 39% – к 5 и более, в том числе о резистентности 61% выборки к тетрациклину [65]. Сведения национального референс-центра РФ свидетельствуют о наличии MDR у 40% *S.typhimurium* из пищи и клинического материала, устойчивости к  $\beta$ -лактамам 3–4 поколения у 5–10% *S. infantis*.

Резистентность у возбудителей зоонозов представляет собой прямой риск для потребителей загрязнённых ими продуктов, поскольку она коррелирует с повышенной вирулентностью. Это обусловлено одновременной селекцией обоих признаков за счёт интеграции вирулентных и резистентных плазмид, захвата фагами, ДНК при конъюгации, репликации или активизации транскрипции, вызванной ГПП, с повышением регуляции детерминант вирулентности и устойчивости [66, 67]. Например, в экспериментальной модели кампилобактериоза у мышей, заражённых резистентным к ципрофлоксацину и ампициллину штаммом *S. jejuni*, резистентным к ципрофлоксацину и ампициллину, мы наблюдали в 3 раза более частую и в 1,8 раза более продолжительную диарею, чем от чувствительного штамма из кишечника птицы [68].

Превазирование среди зоонозных агентов мультирезистентных штаммов – фактор риска, свидетельствующий о прогрессировании эволюции и продолжающемся процессе формирования эмерджентных патогенов. Недавнее сообщение о выявлении в Китае считавшегося исключительно хромосомным гена *mcr-1* устойчивости к антибиотику колистину на плазмиде резистентной *E.coli*, учёные считают предвестником нового опасного возбудителя и связывают это с продолжающейся эксплуатацией препарата [69].

**Роль комменсальных бактерий.** В первую очередь к ним относят колонизаторов ЖКТ (кишечные палочки, энтерококки, бактероиды), поскольку они увеличивают генофонд устойчивости. Чем больше резистентных бактерий в кишечнике, тем больше вероятность её передачи патогенам и последующего распространения от животных на получаемые от них продукты, а от человека – в объекты окружающей среды. Мы исследовали резистентность энтеробактерий и энтерококков из доброкачественных продуктов животного происхождения, приобретённых в торговой сети Москвы. Наиболее частой у изолятов из молоко- и мясopодуKтов была резистентность к тетрациклинам (45–63% и 65–80%), ампициллину (42 и 82%, соответственно). На фторхинолоны не реагировало от 5 до 20% изолятов, но к  $\beta$ -лактамам 3 и 4 поколения все штаммы были чувствительны. Обнаружены *K. pneumoniae* (из творога) и *E. coli* (из фарша индейки), устойчивые сразу к 8 антибиотикам, значение МИК тетрациклина для них превышало пограничное значение от 4 до 15 раз. Энтерококки показывали активное формирование резистентности почти ко всем испытанным препаратам, в том числе к имипенему (рис. 7) [70].

ПЦР-анализ генных элементов *tet*, кодирующих защиту рибосом и обычно локализующихся в конъюгативных транспозонах, показал присутствие *tetM* у 23% резистентных к тетрациклину колиформ, *tetS* у 78% и *tetQ* у 23% энтерококков. Из проб творога, мяса индейки, кур, содержавших полирезистентные штаммы энтеробактерий, выделены энтерококки, у половины которых имелся *tetM*. Трансмиссивная природа этой резистентности указывает на потенциал её передачи представителям нормофлоры ЖКТ потребителей.

**Роль агентов ИСПМ.** В 2012 г. в ФРГ впервые заявили о присутствии возбудителей госпитальных инфекций MRSA и ESBL (метициллин-резистентных *S. aureus* и колиформ-продуцентов  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра и карбапенемаз) в мясе птицы и свинине. Сегодня подобные находки отмечаются всё чаще. Так, по данным НИИЭМ им. Пастера, в Северо-Западном регионе России 14,3% изолятов энтеробактерий из говядины устойчивы к 2–9 антибиотикам, а 7% обладают ESBL [71].

Больше обсуждается носительство агентов ИСПМ у животных. Например, на некоторых фермах США частота выявления MRSA у свиней превышает 70%, а Евросоюзе до запрета аналога ванкомицина авопарцина в птицеводстве в 1998 г. было поголовным присутствие ванкомицин-резистентных энтерококков (VRE) у птицы. В РФ учёные на крупной птицефабрике Перми в период 2007–2013 гг. обнаружили, что все изолированные от птиц стафилококки были резистентны к резервному антибиотику линкомицину [72–74].

Сегодня доказательств прямой связи пищевых изолятов ИСПМ с заболеваемостью вне клиники нет, а также известно о клональных различиях между штаммами от животных на фермах и выделенными в стационарах у людей. Но циркуляция в пищевой цепи трансмиссивных по своей природе генов KPC, NDM, MBLBS признаётся риском для здоровья населения, поскольку она может способствовать передаче человеку с пищей и контактным путём генов устойчивости к препаратам последних поколений и увеличивает генофонд, из которого пищевые патогены их могут забирать и переносить дальше.

Голландские учёные уже получили одно косвенное доказательство передачи генов ESBL от птицы человеку: 35% тестируемых человеческих изолятов несли гены ESBL, в том числе 19% из них были идентичны генам,

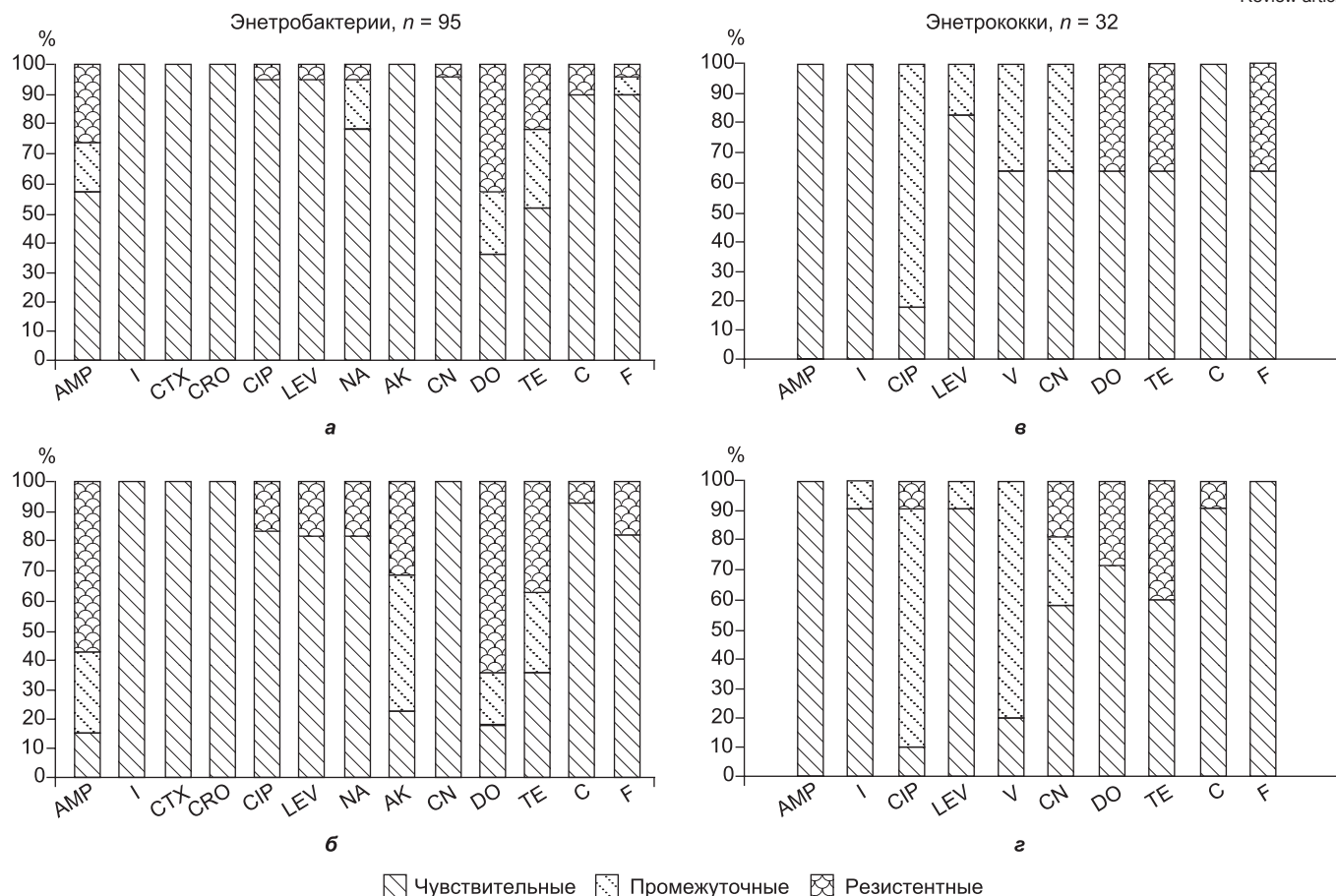


Рис.7. Резистентность у энтеробактерий и энтерококков, выделенных из пищевых продуктов, % к числу изолятов.

выделенным из куриного мяса [75]. Безусловно, для развития этого направления необходим систематический мониторинг штаммов и генов, единая методология и воспроизводимые методы детекции.

### Резистентность у биотехнологических микроорганизмов и продуктов микробного синтеза: старые и новые аспекты

Используемые в пищевой индустрии технологические и пробиотические микроорганизмы любой таксономической принадлежности также могут служить векторами резистентности, их способность участвовать в ГПП стала очевидной ещё при открытии фагоустойчивости заквасок для молочных продуктов. Сегодня частота выявления устойчивости только к тетрациклину у штаммов *Lactococcus*, *Lactobacillus spp.* в кисломолочных продуктах достигает 70%, зафиксировано присутствие генов, гомологичных агентам ИСМП. В Италии доказали, что генов резистентности больше в биотехнологических продуктах, вырабатываемых в регионах с интенсивным ведением животноводства и значительными объёмами нецелевого применения антибиотиков [42, 76]. Поскольку штаммы-продуценты потребляются в составе таких продуктов в высоких концентрациях в живом виде, они представляют угрозу для активной передачи резистентности представителям микробиоты ЖКТ. Особенный риск в этом плане связан с энтерококками из-за потенциальной патогенности ряда их видов и способности служить донорами трансмиссивной резистентности. По нашему мнению, аргументом для ограничения их пищевого при-

менения должно быть и то, что конъюгативные транспозоны семейств *Tn916-Tn1545*, кодирующие ген *tet(M)*, принадлежат энтерококкам, а именно эти транспозоны при наличии остатков тетрациклина в среде провоцируют активизацию ГПП у других бактерий. В РФ, как и в ЕС, энтерококки запрещены для использования в качестве стартовых и пробиотических культур [77].

В своих исследованиях заквасок мы выявили больше чувствительных к клинически значимым антибиотикам штаммов из кисломолочных продуктов непромышленного изготовления, чем из промышленных. Видимо, у последних быстрее происходит процесс формирования резистентности за счёт интенсивной биотехнологической эксплуатации (рис. 8).

Для предупреждения поступления с пищей опасных в этом плане культур необходим контроль на наличие трансмиссивных детерминант резистентности и МГЭ, способных их переносить, при допуске и в обращении на рынке. Порядок и методы контроля установлены в МУ 2.3.2.2789-10 «Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов». Однако с 2015 г. в ЕАЭС допуск заквасок передан в поле декларирования соответствия, при котором уровень экспертизы ниже, чем при проводившейся ранее государственной регистрации.

Что касается ГМ-штаммов и продуктов на их основе, в РФ контроль отсутствия в них трансмиссивных генов осуществляется с 2003 г. Исследовано более 1700 проб, маркеры резистентности обнаружены в 3% случаев, на

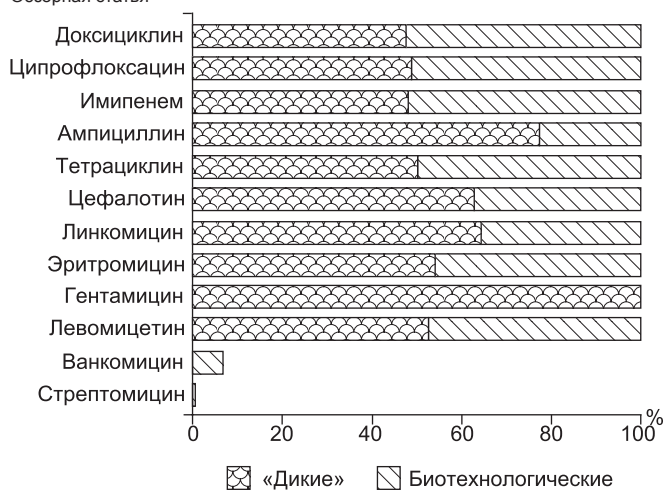


Рис. 8. Чувствительность к антибиотикам лактобацилл для кисломолочных продуктов, % к числу исследованных штаммов [по 78].

рынок эти продукты не допущены [79]. Правда, вероятность передачи от них резистентности кишечной флоре больше теоретическая, поскольку в живом виде ГММ нигде не разрешены, используются продукты, очищенные от продуцентов. Более важен мониторинг резистентности у природных штаммов-аналогов ГММ, но такая статистика по указанной выше причине отсутствует.

Повысилась и значимость консервантов на основе бактериоцинов. Выяснено, что низин (Е234) и аналогичные микробные метаболиты в субингибирующих концентрациях влияют на геном бактерий остаточной флоры в пищевых матрицах (в основном, листерий), вызывая рост устойчивости к себе. Показано, что низин также, как другие антибиотики, индуцирует транскрипцию в генах кишечных бактерий, обуславливая взаимодействие с энтероцитами и ростостимулирующий эффект в макроорганизме. В связи с этим при участии ФИЦ питания и биотехнологии, делегацией РФ был обоснован запрет на расширение области применения низина для включения в Кодексный стандарт на готовые мясopодукты до переоценки риска этой пищевой добавки. Данное предложение было поддержано 49-й сессией JECFA.

### Меры борьбы с антибиотикорезистентностью в пищевой цепи – путь к снижению глобального распространения антибиотикорезистентных микроорганизмов

Последствия для здравоохранения нецелевой эксплуатации антибиотиков научным сообществом оцениваются однозначно: одним из основных путей контроля глобальной резистентности является не только ужесточение и рационализация применения антибиотиков в медицине, но и предупреждение и замедление её развития у животных и по ходу пищевой цепи. Определяющей мерой в этом направлении, наряду с поиском и созданием новых эффективных антибиотиков, признаётся ограничение их объёмов и упорядочение использования в сельском хозяйстве. Её эффективность подтверждается опытом Швеции, Дании, Финляндии, которые, снизив применение антибиотиков в птицеводстве, аквакультуре за 10 лет на 60%, наблюдают сегодня значимое снижение уровней резистентных бактерий у животных при сохранении объёмов выработки [81].

В таких условиях для обеспечения достаточного и безопасного производства продовольствия необходимо со-

средоточение усилий на повсеместном повышении роли санитарных мер, обязательности внедрения превентивных технологий гигиены (надлежащей производственной и гигиенической практики, НАССР) во все этапы ведения сельского хозяйства, а также на укрепление профилактики и контроля заболеваний животных путём изменения технологий откорма: улучшения качества кормов, использования альтернативных антибиотикам средств (современные вакцины, пробиотики, пребиотики, иммуномодуляторы, фитодобавки-аутоиндукторы и др.). Международным сообществом на уровне ВОЗ и ФАО<sup>3</sup> рекомендуется принятие этих мер через государственный сектор и общество в целом, исходя из политики «Единого здоровья», которая, в свою очередь, базируется на обязательности комплексных мер борьбы с антибиотикорезистентностью [82].

Развёртывание надзора и мониторинга резистентности и использования противомикробных препаратов в пищевой промышленности и сельском хозяйстве – второй из четырёх главных фокусов принятого недавно ФАО плана борьбы с резистентностью [83]. Такой систематизированный мониторинг функционирует в странах ЕС, во многом на основе его результатов была подготовлена новая стратегия борьбы с антибиотикорезистентностью ВОЗ и стран G7 [64].

Для эффективного противодействия этому явлению в РФ нужен отказ от нецелевого применения антибиотиков и ужесточение контроля в ветеринарии, мониторинг резистентности штаммов, циркулирующих в пищевой цепи. Необходимо усовершенствовать методологию оценки антибиотикочувствительности неклинических изолятов с разработкой единого протокола их отбора и исследования, наработкой эпидемиологических пограничных значений, поскольку получаемые сегодня отдельные результаты сопоставляются с неподходящими для этих целей критериями для клинически значимых микроорганизмов. Для обеспечения целостного подхода к пищевой цепи решение всех вопросов должно носить межведомственный характер, опираться на координацию национальными референс-центрами, картирование и открытость результатов.

Предложения ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» в этом ключе были учтены в разработанной Минздравом России совместно с федеральными органами исполнительной власти Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности на период до 2030 года [84].

### Заключение

Таким образом, недооценка отдалённых рисков применения антибиотиков в сельском хозяйстве в XX в. обусловила не только проблемы для безопасности пищи, но и поставила мир на грань биологической угрозы человечеству, борьбой против которой сегодня страны вынуждены заниматься на самом высоком уровне. Начиная с 2015 г., меры по снижению бремени антибиотикорезистентности обсуждались на совещаниях G7 и G20, Генеральной Ассамблее ООН, ФАО и ВОЗ. В основу принимаемых решений наряду с государственной поддержкой инноваций по созданию новых антибиотиков и более эффективному использованию уже имеющихся, поощрению альтернативных средств в медицине и ветеринарии, положено сокращение использования антибиотиков в сельском хозяйстве, и в первую очередь в странах G20, на которые приходится около 80% мирового производства мяса. Самыми последними в конце 2017 г. прозвучали предложения о полном

<sup>3</sup> ФАО (FAO – Food and agriculture organization) – Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН.

прекращении использования антибиотиков у здоровых животных для предотвращения распространения антибиотикоустойчивости [85, 86].

Все эти решения, безусловно, находят поддержку и в России, поэтому первоочередным представляется решение вопроса о прекращении профилактического применения в животноводстве тетрациклинов и широкого внедрения НАССР в сельское хозяйство. Для гигиенической науки перспективным может оказаться изучение механизмов развития резистентности у микробов в пище при технологических стрессовых воздействиях различного характера, использования аутоиндукторов системы кворум-антикворум для предупреждения её горизонтального переноса, а также разработка аспектов гигиенического нормирования чужеродных веществ пищи антропогенного происхождения, способных к проявлению биологической активности в малых и сверхмалых дозах.

**Выражение признательности.** Автор выражает благодарность за помощь в организации исследований, получении и подготовке материалов, использованных в обзоре: академику В.А. Тутельяну, чл.-корр. РАН Д.Б. Никитюку, проф. С.А. Хотимченко, проф. А.К. Батурину, депутату ГД академику Г.Г. Онищенко, коллективу лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома, коллективу лаборатории химии пищевых продуктов, доктору биол. наук О.В. Багрянцевой, директору ФГБУН ВНИИ ПИ И.В. Мокшанцевой и зав. отделом С.С. Козаку.

**Финансирование.** Госбюджет. Части работы, посвящённые цитированию результатов руководимой автором лаборатории по проблеме изучения пищевого кампилобактериоза, выполнены за счёт средств РФ по гранту № 15-16-00015.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

## Литература / References

1. Борьба с устойчивостью к антибиотикам с позиций безопасности пищевых продуктов в Европе. ISBN 978 92 890 4421 9, ВОЗ, Европейское региональное бюро. Копенгаген, 2011. 106.
2. Robinson T.P., D. P. Bub, J. Carrique-Masc, E. M. Fèvred, M. Gilberte, D. Grasea, S. I. Hayf.g, J. Jiwakanonh, M. Kakkari, S. Kariukij, R. Laxminarayank, J. Lubrothl, U. Mag-nussonm, P. Thi Ngoen, T. P. Van Voeckelo and M. E. J. Woolhouse. /Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2016; 110: 377–380 doi:10.1093/trstmh/trw048.
3. Bull. World Health Organ.-2015.-93.-p.217-218. doi: Электронный ресурс: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.15.030415>.
4. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations. The review on antimicrobial resistance. Chaired by Jim O'Neill. May 2016 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://amr-review.org/Publication>
5. Capita R., C.A.Calleja. Antibiotic-Resistant Bacteria: /Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53:11–48 (2013).-p.11-48. Copyright © Taylor and Francis Group, LLC. ISSN: 1040-8398 / 1549-7852 online. DOI: 10.1080/10408398.2010.519837
6. Supotnitskiy M.V./Biopreparats (Biopharmaceuticals). 2011. N 2. P. 4–11.
7. Kelly, B.G.; Verspermann, A.; Bolton, D.J./ Food Chem. Toxicol. 2008, 47, 969–977.
8. Виноградова К.А., Булгакова В.Г., Полин А.Н., Кожевни П.А./Антибиотики и химиотерапия, 2013, т.58, № 5-6, с.38-48.
9. Humphrey T. /International J of Food Microbiology. – 2001. - Vol 67. – P. 173-186
10. Шкурат М.А., Покудина И.О., Батталов Д.В./Живые и биокосные системы.-2014.-№ 10; URL: <http://jbsk.ru/archive/issue-10/article-10>,
11. Ferenci T., Phan K./ Genes 2015, 6(4), 1113-1124; doi:10.3390/genes6041113
12. Ковалевская Н.П./Медицинские науки. Фундаментальные исследования.-2015.-№ 1, с.284-289,
13. Желдакова Р. А. Механизмы биосинтеза антибиотиков и их действие на клетки мик-роорганизмов: Учеб.-метод. комплекс для студентов специальности 1-31 01 01 «Био-логия» / Р. А. Желдакова. – Мн.: БГУ, 2004. – 111 с. ISBN 985-485-099-4.;
14. Рубцова М.Ю., Уляшова М.М., Бахман Т.Т., Шмид Р.Д., Егоров А.М./Успехи биоло-гической химии.-т.50.-2010.-с.303-348.]
15. Morente E.O, Miguel Angel Fernandez-Fuentes, Maria Jose Grande Burgos, Hikmate Abriouel, Ruben Perez Pulido, Antonio Galvez./Int. J. Food Microbiology.-2013.-162.-13–25
16. Rosenblatt-Farrell N./ Environ. Health Persp.-2009.- 117(6): A245–A250.
17. Meyer, B./Int. J. Food Microbiol. 2006, 112, 275–279,
18. SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks), As-sessment of the Antibiotic Resistance Effects of Biocides, 19 January 2009.-87 p. [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/risk\\_en.htm](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/risk_en.htm)
19. Мылдов Е.М., Тихова Л.И. Фармакологическая характеристика аминогликозидных антибиотиков./Лекционный курс кафедры фармакологии, КГМУ.2000.-35 с.
20. Franz, C. M., Stiles, M. E., Schleifer, K. H. & Holzapfel, W. H./ International Journal of Food Microbiology.-2003.- 88(2): 105–122.
21. Franz, C.M., Huch, M., Abriouel, W.H., Holzapfel, W. & Galvez, A./ International Journal of Food Microbiology.-2011.-151(2): 125–140.
22. Mathers JJ, Flick SC, Cox LA Jr/ Environ Int.- 2011 Jul;37(5):991-1004.
23. Габович П. Д., Л. С. Припутина. Гигиенические основы охраны продуктов питания от вредных химических веществ. Киев.-Здоров'я.-1987.-248 с.
24. Онищенко Г.Г., Шевелёва С.А., Хотимченко С.А./ Гигиена и санитария, 2012 .-№ 6, с.4-14.
25. Maximum residue limits (MRLs) and risk management recommendations (RMRs) for resi-dues of veterinary drugs in foods. CAC/MRL 2-2017. Updated as at the 40th Session of the Codex Alimentarius Commission (July 2017).-43 с.
26. Lin J. / Frontiers in microbiology.-2011, 2:53.
27. Зайцева Н.В., Тутельян В.А., Шур П.З., Хотимченко С.А., Шевелёва С.А./ Гигиена и санитария.-2014.-Том 93, №5.-с.70-74.
28. Davies C., Dirksen E Bussiere, Barbara L Golden, Stephanie J Porter, Venki Ramakrishnan, Stephen W. White./Journal of Molecular Biology.-1998.-Volume 279, Issue 4.-p.873–888.
29. Методология оценки рисков здоровью населения при воздействии химических, фи-зических и биологических факторов для определения показателей безопасности продукции (товаров). ЕЭК, М.: Юмани-тэ медиа, 2014 г., 120 с. ISBN 978-5-91754-174-7
30. Научное обоснование допустимых уровней содержания контаминантов химической природы и пищевых добавок в пищевых продуктах. Методические указания. МУ 1.2.2961-11.-М.: ФЦГиЭ Роспотребнадзора, 2011.- 13 с.
31. Report on the implementation of national residue monitoring plans in the member states in 2014 (Council Directive 96/23/EC). EFSA.2016. 235.
32. Takele Beyene./J. Veterinar. Sci. Technol. 7:285-301, 2016. doi:10.4172/2157-7579.1000285
33. Feijo L.D., Fleury M.S.Porz A.J., Castelo Branco R.L., Rocha R.S., Silva A.M.S./Bulletin of the International Dairy Federeation, 2013.- 465, p.1-11
34. Шевелева С.А., Бессонов В.В./Молочная промышленность. – 2016. - №5. с.32-36.
35. Лелеко С.Н. Гигиеническая оценка безопасности пищевой продукции современных мясоперерабатывающих предприятий по содержанию нитрофуранов и антибиотиков: Автореферат дисс. ... канд. мед. наук.– СПб., 2014. – 24 с.
36. Антибиотики как обязательное принудительное «блюдо российского стола».-9 с. Эл.ресурс - [http://www.strf.ru/material.aspx?CatalogId=222&d\\_no=23788](http://www.strf.ru/material.aspx?CatalogId=222&d_no=23788). © Электрон-ное издание «Наука и технологии России». Наука и техника: Живые системы 15.09.2009.
37. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2014. EFSA a. ECDPC/ EFSA Journal 2015;13(12):4329, doi:10.2903/j.efsa.2015.4329.-www.efsa.europa.eu/efsajournal.
38. Оценки ВОЗ глобального бремени болезней пищевого происхождения, 2015.-268 p./www.who.int/foodsafety/ru.
39. Hamscher, G., Sczesny, S., Hoper, H., Nau, H./ Analytical Chemistry.-2002.-74, 1509-18.
40. Wang F.H./China. Environ. Sci ,2006.-26.- p.614–617.
41. Конец прекрасной эпохи. Как мы стали свидетелями заката «эры антибиотиков». <https://nplus1.ru/material/2015/11/25/antibiotics>;
42. Devirgiliis C., Barile S., Perozzi G./Genes and Nutrition.-V.6, Issue 3, 2011.-p.275-84
43. Larsen M. H. et al. /Food Control. – 2014. – Т. 44. – С. 92-109.
44. Davies J., George B Spiegelman and Grace Yim./ Current Opinion in Microbiology 2006, 9:445–453. DOI 10.1016/j.mib.2006.08.006.
45. Verraes C., Sigrid Van Boxstael, Eva Van Meervenue, Els Van Coillie, Patrick Butaye, Boudewijn Catry, Marie-Athenais de Schaezen, Xavier Van Huffel, Hein Imberechts, Katelijne Dierick, Georges Daube, Claude Saegerman, Jan De Block, Jeroen Dewulf and Lieve Herman./ Int. J. Environ. Res. Public Health.-2013, 10, 2643-2669; doi:10.3390/ijerph10072643.
46. Кожевни П.А., Виноградова К.А., Булгакова В.Г. /Вестник Московского университета. Серия 17. Почвоведение : Научный журнал - М.: МГУ им.М.В. Ломоносова (Издательский Дом). 2014(3): 3-9.

47. Million M. Caractérisation des altérations du microbiote digestif associées à l'obésité et rôle de la manipulation du microbiote digestif dans l'obésité./ Thèse de Doctorat du grade de Docteur d'Aix-Marseille Université.-15 mai 2013.-217 p.
48. Yim G., Wang H.H. a. Davies J./Phil. Trans. R. Soc. B.-2007.-362.-p.1195-1200.
49. Smet A., Rasschaert G., Martel A., Persoons D., Dewulf J., Butaye P., Catry B., Haesebrouck F., Herman L., Heyndrickx M./J. Appl. Microbiol.-2010, 110, 541-549.
50. Шевелёва С.А., Ефимочкина Н.Р., Быкова И.Б., Пичугина Т.В., Маркова Ю.М., Ко-роткевич Ю.В./Mat.VIII Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. Москва, 28-30 марта 2016 г., с.314.
51. Brewer Matt T., Nalee Xiong, Jeffery D. Dier,Kristi L. Anderson, Mark Rasmussen, Sharon K. Franklin, Steve A. Carlson. / Veterinary Microbiol ogy.-2011.-151.-301-306.
52. Mastura A. Public health aspects of the house fly, *Musca domestica* L.(Diptera: Muscidae) - Enterococcus spp. association. M. Phil., University of Dhaka, Bangladesh, 2004. An ab-stract of a dissertation submitted in partial fulfillment of the requirements for the degree doctor of philosophy. Kansas state university Manhattan, Kansas 2008.-177 p.
53. Petridis, M., M. Bagdasarian, M. K. Waldor, and E. Walker./ J. Med. Entomol.-2006.-43: 288-295.
54. Rana S.W., A. Kumar, S.K. Walia, K. Berven, K. Cumper, S.K. Walia./ Journal of Applied Microbiology.-2010.-110, 35-43.
55. Cocolin Luca, John Donaghy, Pierre Renault, Paul Ross, Marc Van Ranst. Safety Implica-tions of the Presence of Nucleic Acids of Inactivated Microorganisms in Foods. REPORT commissioned by the ILSI Europe Emerging Microbiological Issues Task Force 2013 ILSI Europe ISBN: 9789078637400. ISSN: 2294-5504.-32 p.
56. Safety assessment of foods derived from genetically modified microorganisms. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Foods Derived from Biotechnology// WHO Headquarters.-Geneva,- 24-28 September 2001.-29 p.
57. Ефимочкина Н.Р., Короткевич Ю.В., Стеценко В.В., Пичугина Т.В., Быкова И.Б., Минаева Л.П., Шевелева С.А./Вопросы питания. – 2017. – т.85.-№ 1.- с.18-28.
58. Ciolacu (Pricope) Luminita, Anca Nicolau, Martin Wagner, Kathrin Rychli. /Food Con-trol.-2013.- 31(1):230-235. DOI 10.1016/j. foodcont.2012.09.031.
59. Эль-Регистан Г.И., Николаев Ю.А., Мулюкин А.Л., Лойко Н.Г., Демкина Е.В., Писа-рев В.М., Гапонов А.М., Тутельян А.В. /Медицинский алфавит.-2014. Т. 2. № 10. С. 49-54.
60. Lewis K. /Nature Reviews Microbiology.-2007.- 5 (1), 48-56.
61. Ling LL, T Schneider, AJ Peoples, AL Spoering, I Engels, BP Conlon, Anna Mueller, Till F Schäberle, Dallas E Hughes, Slava Epstein, Michael Jones, Linos Lazarides, Victoria A Steadman, Douglas R Cohen, Cintia R Felix, K Ashley Fetterman, William P Millett, An-thony G Nitti, Ashley M Zullo, Chao Chen, Kim Lewis./Nature.-2015.-517 (7535), 455-59.
62. Ефимочкина Н.Р., Быкова И.Б., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В., Шевелева С.А./Вопросы питания. – 2016, т.85.-№ 1.- с.66-74.
63. Шевелева С.А., Ефимочкина Н.Р., Козак С.С., Минаева Л.П., Быкова И.Б., Пичугина Т.В., Маркова Ю.М., Короткевич Ю.В./ Вопросы питания.-2016. –т. 85. -№ 2. Приложение.- с.38-39.
64. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2014. EFSA Journal 2016;14(2):4380 [207 pp.]. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4380
65. Loudon Brian C, Naarmann Daniel, Han Jing, Foley Steven L., Lynne Aaron M./Food Res. Int.- 2012. 45, № 2, 968-972.
66. Toomey N. Monaghan A. Fanning S. Bolton D.J./ Foodborne Pathog. Dis. 2009, 6, 925-933. <https://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/microbiology/index.htm>
67. Воронин Е.С, Кисленко В.Н., Колычев Н.М, Плешакова В.И. Ветеринарная микро-биология и иммунология./Электронный дидактический комплекс.-Эл.ресурс - <http://nsau.edu.ru/images/vetfac/images/ebooks/microbiology/stu/bacter/ecologia/rezistmo.htm>.
68. Шурышева Ж.Н. Оценка риска загрязненности пищевых продуктов бактериями рода *Campylobacter*. Автореферат дисс канд.наук.-Москва.-2007.-23 с.
69. Liu Yi-Yun, Yang Wang,Timothy R Walsh, Ling-Xian Yi, Rong Zhang, James Spen-cer,Yohei Doi,Guobao Tian, Baolei Dong, Xianhui Huang,Lin-Feng Yu, Danxia Gu, Hongwei Ren, Xiaojie Chen, Luchao Lv,Dandan He, Hongwei Zhou, Zisen Liang, Jian-Hua Liu,Jian-Hua Liu Jianzhong Shen. / The Lancet Infectious Disease.-2016.-Volume 16, No. 2, p161-168.
70. Короткевич Ю.В. /Вопросы питания. 2016. Т. 85. № 2. С. 5-13.
71. Смирнова Л.И., Забровская А.В., Приходько Е.И., Ярикова В.Э., Гегирова Д.М./ Международный вестник ветеринарии.- №3.- 2012.- с.32-35.
72. Verheghe M., Pletinckx L.J., Crombe F., Vandersmissen T., Haesebrouck F., Butaye P., Heyndrickx M., Rasschaert G./Zoonoses and Public Health. 2013. 60, № 5, 366-374;
73. Мойер М.У./В мире науки, 01/02.-2017.-с.136-147
74. Гордина Е.М., Горовиц Э.С., Поспелова С.В., Афанасьевская Е.В./ Мед. альм. 2014, № 2, 84-87.
75. Leverstein-van Hall, M.A.; Dierickx, C.M.; Stuart, J.C.; Voets, G.M.; van den Munckhof, M.P.; van Essen-Zandbergen, A.; Platteel, T.; Fluit, A.C.; van de Sande-Bruinsma, N.; Scharinga, J.; et al./Clin. Microbiol. Infect.-2011, 17, 873-880
76. Mathur S. Singh R./ Int. J. Food Microbiol.-2005, 105, 281-295.
77. Statement on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA 1: Suitability of taxonomic units notified to EF-SA until October 2014. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). EFSA Journal 2014;12(12):3938.-41 p.
78. Cherkasin A., Chobert J.-M., Efimochkina N., Sheveleva S., Haertle T./ European Re-searcher, 2013, vol.44, № 3-2, p.654 - 659
79. Ховаев А.А. Разработка информационного и нормативно-методического обеспечения системы гигиенического контроля за оборотом пищевой продукции, полученной и использованием генно-инженерно-модифицированных микроорганизмов. Автореферат дисс.канд. наук.-Москва – 2011.-27 с.
80. McMahon, M.A.S.; Blair, I.S.; Moore, J.E.; McDowell, D.A./J. Appl. Microbiol.-2007, 103, 1883-1888
81. Jukes H. Antimicrobial resistance : Presentation on the joint EMA/EFSA RONAFA opin-ion. Harmonisation of SPCs of antimicrobial veterinary medicines./ Joint EMA/EFSA Ro-nafa Opinion, EMA IFAH Info Day 16-17 March 2017, London. Эл. ресурс - [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Report/2017/01/WC500220032.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Report/2017/01/WC500220032.pdf)
82. Политическая декларация заседания высокого уровня Генеральной Ассамблеи по проблеме устойчивости к противомикробным препаратам, принятая резолюцией Ге-неральной Ассамблеи ООН А/ RES/71/3 от 05.10.2016 г.
83. The FAO Action Plan on Antimicrobial Resistance 2016-2020. food and agriculture organ-ization of the United Nations.-Rome, 2016.- ISBN 978-92-5-109392-4.-25 p.
84. Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности на пе-риод до 2030 года. Утв. Расп. Правительства РФ от 25.09.2017 г. № 2045-п, 13 с
85. WHO guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals ISBN 978-92-4-155013-0 © World Health Organization 2017.-88 с. Эл. ресурс - <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/258970/1/9789241550130-eng.pdf?ua=1>.
86. Пресс-релиз: Прекратить использование антибиотиков среди здоровых животных для предотвращения распространения устойчивости к антибиотикам./ Эл. ресурс - <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/antibiotics-animals-effectiveness/ru/>

Поступила 12.12.17

Принята к печати 25.12.17