

**Н.Ю. Васильєва, І.В. Страшнова, О.В. Басюл, І.О. Ковтун,  
В.О. Іваниця**

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,  
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна,  
e-mail: [tatkamic@onu.edu.ua](mailto:tatkamic@onu.edu.ua)

## **СТІЙКІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ МОЛОЧНОКИСЛИХ КОКІВ, ІЗОЛЬОВАНИХ З ЧОРНОМОРСЬКИХ ВОДОРОСТЕЙ І МІДІЙ**

*Метою роботи є визначення стійкості до антибіотиків молочнокислих коків, виділених з чорноморських водоростей і мідій *Mytilus galloprovincialis*. Методи.* Класичні мікробіологічні методи використовували для вивчення культуральних і фізіолого-біохімічних характеристик. Визначення бактерій до виду здійснювали за спектром жирних кислот з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock методом газової хроматографії. На підставі отриманих результатів ізоляти віднесені до видів *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus bovis* і *Leuconostoc mesenteroides*. Стійкість до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом. Графічну обробку даних проводили за програмою Microsoft Excel та R 3.4.0. **Результати.** Ізольовані бактерії за сукупними фізіолого-біохімічними ознаками та за складом жирних кислот віднесені до родів *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*. Показано, що більшість бактерій роду *Enterococcus* стійкі до бензилпеніциліну (85,7%) і цефазоліну (71,4%). Майже половина з них стійкі також до рифампіцину, цефіксиму і стрептоміцину (42,9%). Представники роду *Pediococcus* резистентні до бензилпеніциліну (83,3%), цефазоліну (83,3%), канаміцину (66,7%) і цефіксиму (66,7). Бактерії роду *Streptococcus* були найбільш стійкими до дії антибіотиків. Процент стійких штамів коливався від 50,0% до 100,0% в залежності від антибіотика. Показники стійкості до антибіотиків представників роду *Leuconostoc* були досить варіативними та їх профіль відрізнявся від усіх інших молочнокислих коків. Представники роду *Lactococcus* були стійкими майже до усіх досліджених антибіотиків. **Висновки.** На основі отриманих даних встановлено, що більшість досліджених чорноморських штамів молочнокислих коків, асоційованих з водоростями і мідіями володіють природною резистентністю до антибіотиків.

*Ключові слова:* молочнокислі коки, Чорне море, водорості, *Mytilus galloprovincialis*, антибіотики, резистентність

Зрослий останнім часом інтерес до пробіотичних бактерій додав популярності технологіям, які використовують молочнокислі бактерії. Серед найбільш поширених представників молочнокислих бактерій, які використовують для виготовлення продуктів харчування, представники родів *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* і *Lactobacillus* [12].



Однак, на сьогодні, роль молочнокислих бактерій як резервуара детермінант стійкості до антибіотиків з потенціалом передачі їх до патогенних видів все більше визнається [16, 19].

Деякі види *Lactococcus*, які традиційно використовуються для приготування кисломолочних продуктів і відносяться до непатогенних бактерій, також ніколи не вважалися загрозою для людини [18]. Технологічні властивості представників *Lactococcus*, в основному, пояснюються їх здатністю до швидкого підкислення завдяки продукуванню L-молочної кислоти. Нажаль, і серед представників *Lactococcus*, ізольованих з продуктів харчування, все частіше ідентифікують стійкі до антибіотиків штами [18].

Наприклад, дослідженнями Flo'rez з колегами [11] показано присутність стійких до антибіотиків штамів *Lactococcus* у сирому молочному сирі, причому деякі з них мали плазмиду з множинною лікарською стійкістю рK214 і ген mdt(A), раніше позначений як mef214 (множинний транспортер ліків) [16], який надає стійкості штамам *Lactococcus* до макролідів, лінкозамідів, стрептограмінів і тетрацикліну.

Ще одними з досить популярних штамів молочнокислих бактерій, які використовують при виготовленні продуктів харчування є представники роду *Enterococcus*, чий внесок у органолептичні властивості ферментованих харчових продуктів та здатність виробляти бактеріоцини (ентероцини) є важливими характеристиками для їх застосування в харчовій технології. Дослідження мікробіоти традиційних сирів в країнах Середземномор'я, які в основному виробляються з овечого або козячого молока, показали, що ентерококи відіграють важливу роль у дозріванні цих сирів, ймовірно, завдяки здатності виробляти ліполітичні ферменти і розщепляти цитрати, що сприяє їх типовому смаку і аромату. Вони також присутні в інших ферментованих харчових продуктах, таких як ковбаси та маслини [6].

Така ситуація спостерігається і при використанні інших потенційних пробіотичних молочнокислих бактерій, ізольованих з продуктів харчування. У зв'язку з цим актуальним є пошук нового джерела мікроорганізмів-пробіотиків, наприклад тих, що мешкають у морі або існують серед мікробіоти, що асоційована з гідробіонтами.

Метою даного дослідження було визначення стійкості до антибіотиків молочнокислих коків, що ізольовані з чорноморських водоростей і мідій *Mytilus galloprovincialis*.

### Матеріали та методи

Молочнокислі бактерії ізолювали з чорноморських мідій *Mytilus galloprovincialis*, зібраних за допомогою легководолазного обладнання на глибині 5–6 м в Одеській затоці (Малий Фонтан) на відстані від берега 300–400 м к.б.н. Ковтуном О.О. з зелених та червоних водоростей Чорного моря родів *Ulva*, *Enteromorpha*, *Porphyra*, *Cladophora*, *Polysiphonia*. У результаті було ізолювано та досліджено 32 штами молочнокислих коків.

Зразки мідій транспортували в лабораторію в контейнерах об'ємом 10 л з морською водою впродовж до 3 год. Мідії тричі промивали морською водою, яку попередньо фільтрували та стерилізували шляхом автоклавування.



Після цього, зовнішню поверхню мушлі молюсків опромінювали в боксі ультрафіолетом протягом 15 хв, стерильним скальпелем розрізали мускул-замикач, розкривали мушлі, тканини молюсків вилучали та гомогенізували механічним шляхом. Серійні розведення готували з 1 см<sup>3</sup> отриманого гомогенату на стерильному фізіологічному розчині, висівали на щільне середовище MRS та культивували при температурі 37,0 °C протягом 48–72 год.

Штами молочнокислих коків, асоційованих з зеленими та червоними водоростями Чорного моря родів *Ulva*, *Enteromorpha*, *Porphyra*, *Cladophora*, *Polysiphonia*, отримали після висіву змивів з їх поверхонь на селективне живильне середовища MRS-агар [4].

Ідентифікацію до роду проводили на підставі основних морфологічних, культуральних і біохімічних тестів [4]. Видову ідентифікацію штамів проводили за складом жирних кислот клітинних ліпідів з використанням автоматичної системи ідентифікації мікроорганізмів MIDI Sherlock на газовому хроматографі Agilent 7890 (Agilent Technologies, USA) з капілярною колонкою ULTRA-2 (25мм × 0,2 мм × 0,33мкм) і полум'яно-йонізаційним детектором [2] Для ідентифікації досліджуваних штамів використовували бібліотеку RSTBA6 6.2.

Для визначення рівня резистентності до антибіотиків отриманих ізолятів використовували диско-дифузійний метод. Досліджували антибіотики, які входять до груп макролідів, аміноглікозидів, цефалоспоринів, хінолонів, пеніцилінів, амфеніколів, тетрациклінів та рифампіцинів (концентрація антибіотика у дисках наведена у таблиці 1). За розміром зони пригнічення росту (мм) всі штами поділяли на чутливі, проміжні та стійкі до даного антибіотика, згідно з рекомендацією EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [9].

### Результати та їх обговорення

За результатами вивчення складу жирних кислот клітинних ліпідів вивчені штами молочнокислих коків були віднесені до представників *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus bovis*, *Leuconostoc mesenteroides* і *Lactococcus spp.*

У результаті проведених досліджень показано (рис. 1), що 14,3% досліджених штамів *Enterococcus* виявилися стійкими до макролідів (кларітроміцин і ерітроміцин). Слід відзначити, що цей показник значно перевищує рівень стійкості до антибіотиків цієї групи у представників *Lactobacillus*, який описано нами раніше [1].

До аміноглікозидів, які використовують в основному при лікуванні кишкових інфекцій стійкими до канаміцину виявилися 28,6% і до стрептоміцину 42,9% штамів *Enterococcus*.

Максимальна кількість бактерій (85,7%) була резистентною до бензилпеніциліну, а до ампіциліну і оксациліну стійкими виявилися 14,3% штамів (рис. 1).

Досліджені штами *Enterococcus*, виявилися стійкими по відношенню до цефазоліну (71,4%) і цефіксиму (42,9%). Частка стійких штамів до хлорам-

феніколу і тетрацикліну становила 14,3% (рис. 1), а до рифампіцину – 42,9%, що набагато більше, ніж у представників роду *Lactobacillus* [1].

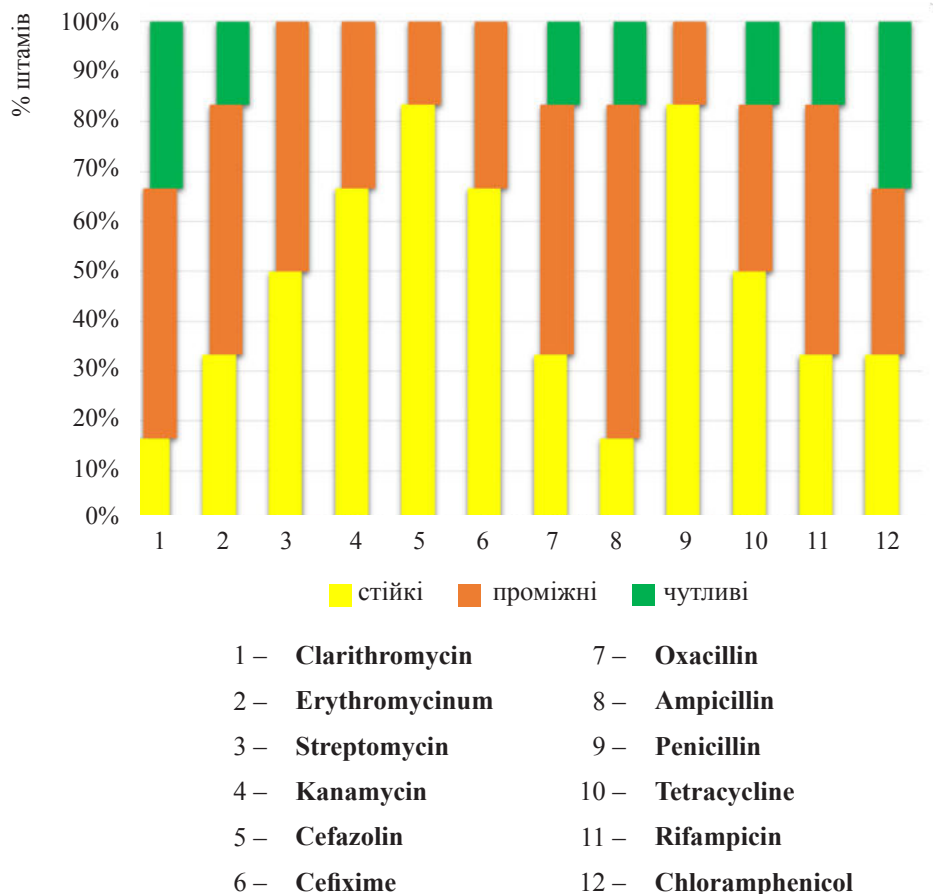


Рис. 1. Частка штамів *Enterococcus faecalis*, ізольованих з чорноморських водоростей і мідій, в залежності від рівня резистентності до антибіотиків

Fig. 1. Percentage distribution of *Enterococcus faecalis* strains isolated from Black Sea algae and mussels depending on antibiotic resistance level

З літературних джерел відомо, що представники *Enterococcus* володіють як природною, так і набутою стійкістю до антибіотиків [13]. Більшість ентерококків, ізольованих з молочних і м'ясних продуктів харчування, чутливі до ампіциліну (100%), левофлоксацину (від 80 до 95%) і хлорамфеніколу (90–100%) та мають високу частку штамів з проміжною резистентністю до цедоспоринів (80–90%) [10]. Серед цих представників молочнокислих коків також поширеною є резистентність до тетрацикліну, макролідів, аміноглікозидів, хінолонів, а також до глікопептидів (ванкоміцин) [13].

Аналіз бактерій, які були ідентифіковані як *Pediococcus pentosaceus*, свідчить про те, що вони характеризувалися досить високим рівнем резистентності до аміноглікозидів. Частка стійких штамів до стрептоміцину становила 50,0%, а до канаміцину – 66,7% (рис. 2).



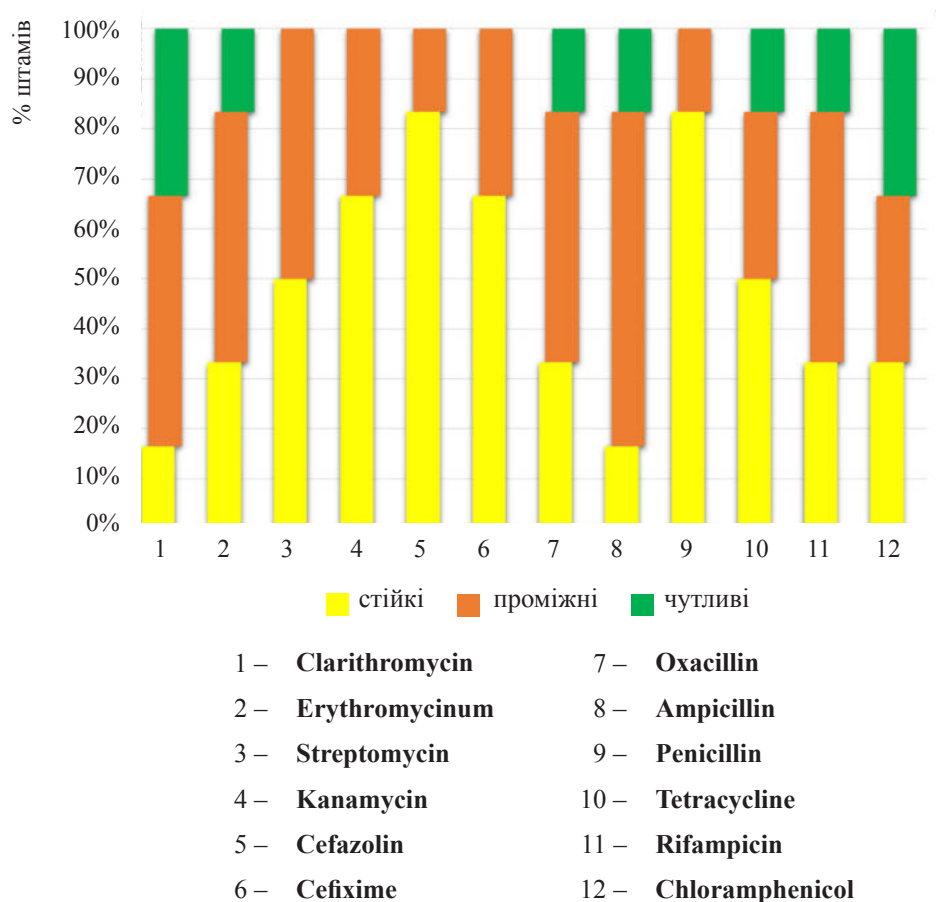


Рис. 2. Частка штамів *Pediococcus pentosaceus*, ізольованих з чорноморських водоростей і мідій, в залежності від рівня резистентності до антибіотиків

Fig. 2. Percentage distribution of *Pediococcus pentosaceus* strains isolated from Black Sea algae and mussels depending on antibiotic resistance level

Процент штамів роду *Pediococcus*, стійких до цефазоліну склав 83,3%, до цефіксиму – 66,7%, а до антибіотиків групи пеніцилінів на представників *Pediococcus pentosaceus* майже не впливав бензилпеніцилін (83,3% стійких штамів).

Стійкість до макролідів представників *Pediococcus* була низькою – від 16,7 до 33,3% штамів. З літературних джерел відомо, що штами *Pediococcus* чутливі до макролідів [14]. Однак отримані нами дані свідчать, що для штамів *Pediococcus*, ізольованих з чорноморських водоростей і мідій більш характерною була проміжна резистентність до макролідів (рис. 2).

На відміну від представників *Pediococcus pentosaceus* штами, ідентифіковані як *Streptococcus bovis*, мали високу стійкість до макролідів. Як наочно видно з рис. 3, кількість стійких штамів до кларитроміцину і еритроміцину становила 50,0% від усіх досліджених штамів *Streptococcus*.

Стійкість до макролідів у представників *Streptococcus* зазвичай опосередковано забезпечується двома основними механізмами. По-перше, модифі-

кацією сайта-мішені рибосомальної метилази, який пов'язаний з генами erm (ermA і ermB). По-друге, макролід-специфічним механізмом відтоку (фенотип M), який кодується генами mef [15]. Механізми стійкості до тетрацикліну у *Streptococcus* включають білки рибосомального захисту, які, в основному, кодується генами tetM/ tetO або tetK/ tetL [8].

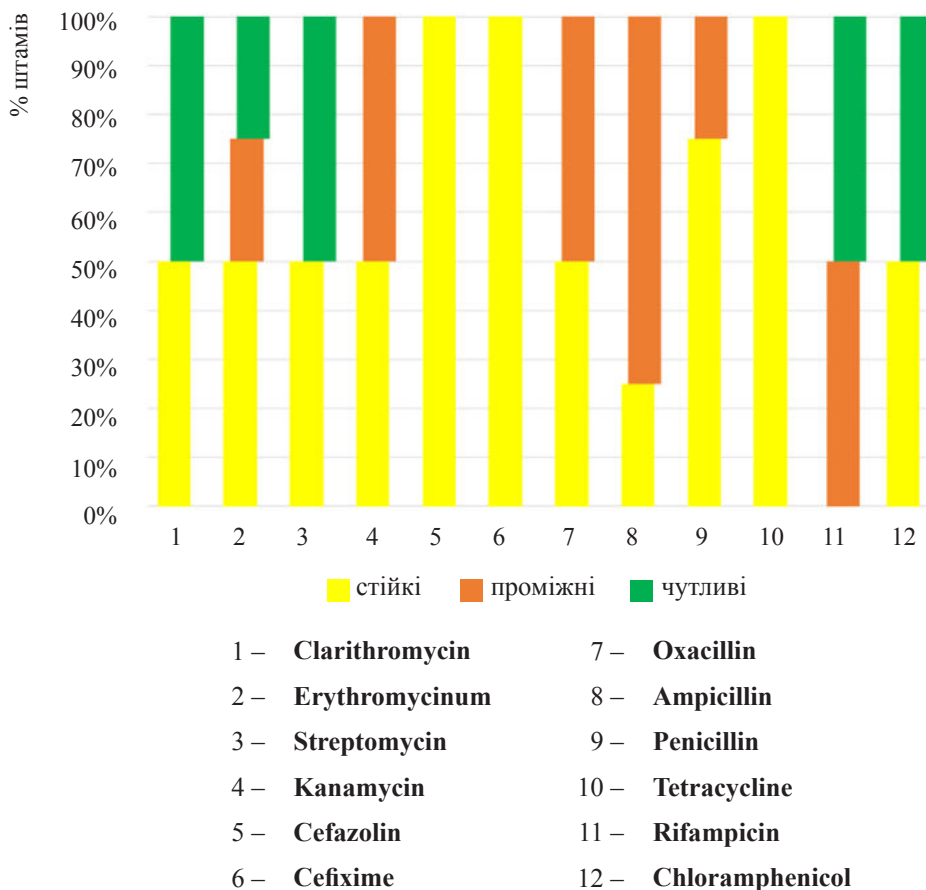


Рис. 3. Частка штамів *Streptococcus bovis*, ізольованих з чорноморських водоростей та мідій, в залежності від рівня резистентності до антибіотиків

Fig. 3. Percentage distribution of *Streptococcus bovis* strains isolated from Black Sea algae and mussels depending on antibiotic resistance level

Часто представники роду *Streptococcus* стають причиною неонатального сепсису і менінгіту, а також виявляються як патогени у вагітних жінок і літніх людей [17]. Тому, можливо, високий рівень резистентності до антибіотиків пов'язаний саме з широкою практикою використання антибіотикотерапії при лікуванні захворювань, викликаних представниками *Streptococcus*. При цьому рівень резистентності до еритроміцину, який спостерігається в нашому дослідженні (50,0%), вказує на необхідність ретельного епідагляду.

Аналіз стійкості до антибіотиків штамів *Leuconostoc mesenteroides-dextranicum* показав значні відмінності від усіх молочнокислих коків, які ми досліджували раніше.



Відомо, що штами *Leuconostoc mesenteroides-dextranicum* [10] в основному відповідальні за ферментацію різних овочів, таких як кімчи (корейська ферментована рослинна їжа) і квашеної капусти [10], в умовах низької температури і помірної солоності, хоча деякі з представників *Leuconostoc* були виділені з молочних продуктів, таких як сир.

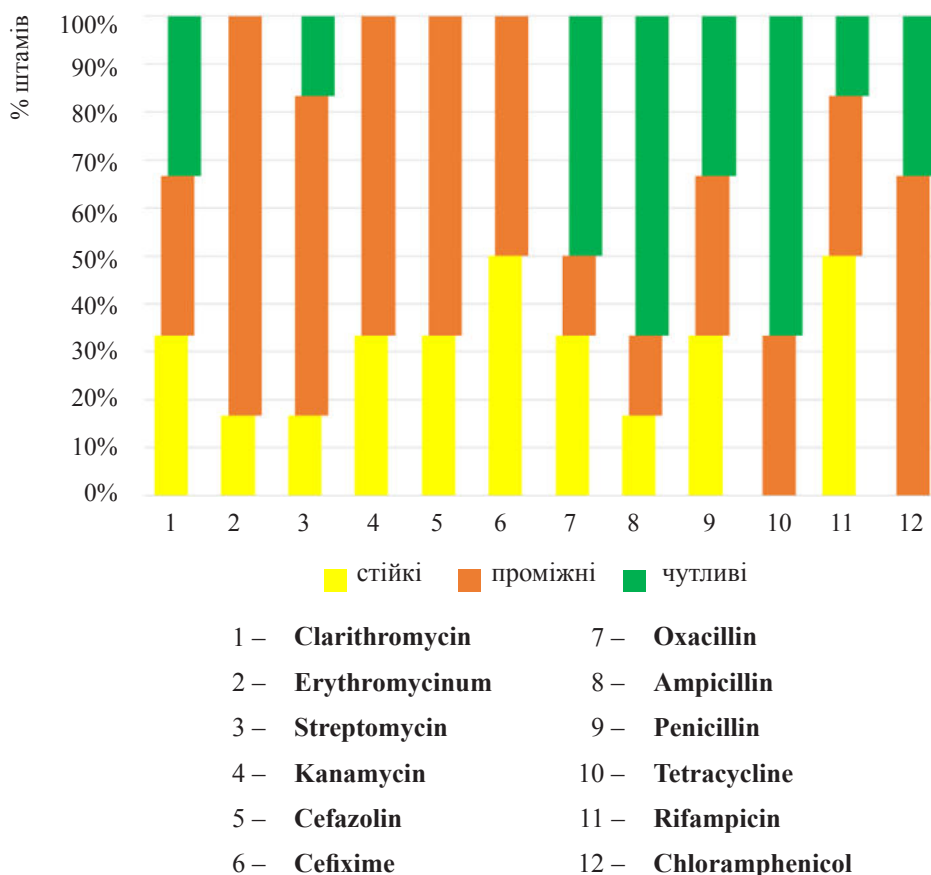


Рис. 4. Розподіл штамів *Leuconostoc mesenteroides*, ізольованих з чорноморських водоростей та мідій, в залежності від рівня резистентності до антибіотиків

Fig. 4. Percentage distribution of *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from Black Sea algae and mussels depending on antibiotic resistance level

Показано, що серед досліджених бактерій *Leuconostoc mesenteroides*, кількість стійких до макролідів штамів склала до клатитроміцину 33,3%, а до еритроміцину – 16,7%, що співпадає з даними літератури [14].

Аналіз результатів вивчення стійкості бактерій *Leuconostoc mesenteroides* по відношенню до аміноглікозидів показав, що кількість штамів стійких до канаміцину склала 33,3%, а по відношенню до стрептоміцину – 16,7% (рис. 4). При цьому чутливі штами були практично відсутні.

Штами резистентні до хлорамфеніколу і тетрацикліну серед *Leuconostoc mesenteroides* не були виявлені. При цьому, кількість штамів, стійких до ри-

фампіцину становила 50,0% (рис. 4). Можливо це пов'язано з тим, що представники *Leuconostoc* досить часто є супутніми при захворюваннях, що лікують з використанням рифампіцину [5].

Ізольовані представники роду *Lactococcus sp.* володіють високим рівнем стійкості до антибіотиків. За даними літератури [26] бактерії роду *Lactococcus* вважаються стійкими до тетрацикліну, стрептоміцину, кліндамицину і еритроміцину [18].

Досліджені штами *Lactococcus sp.* виявилися чутливими до тетрацикліну та рифампіцину (100,0%). До еритроміцину і кларитроміцину і досліджені штами проявили проміжний рівень стійкості (до 80,0% від усіх досліджених штамів) (рис. 5).

По відношенню до аміноглікозидів штами *Lactococcus sp.* були стійкими (рис. 5) – 100,0% стійких штамів до стрептоміцину та канаміцину.

При аналізі даних за рівнем стійкості до антибіотиків у молочнокислих

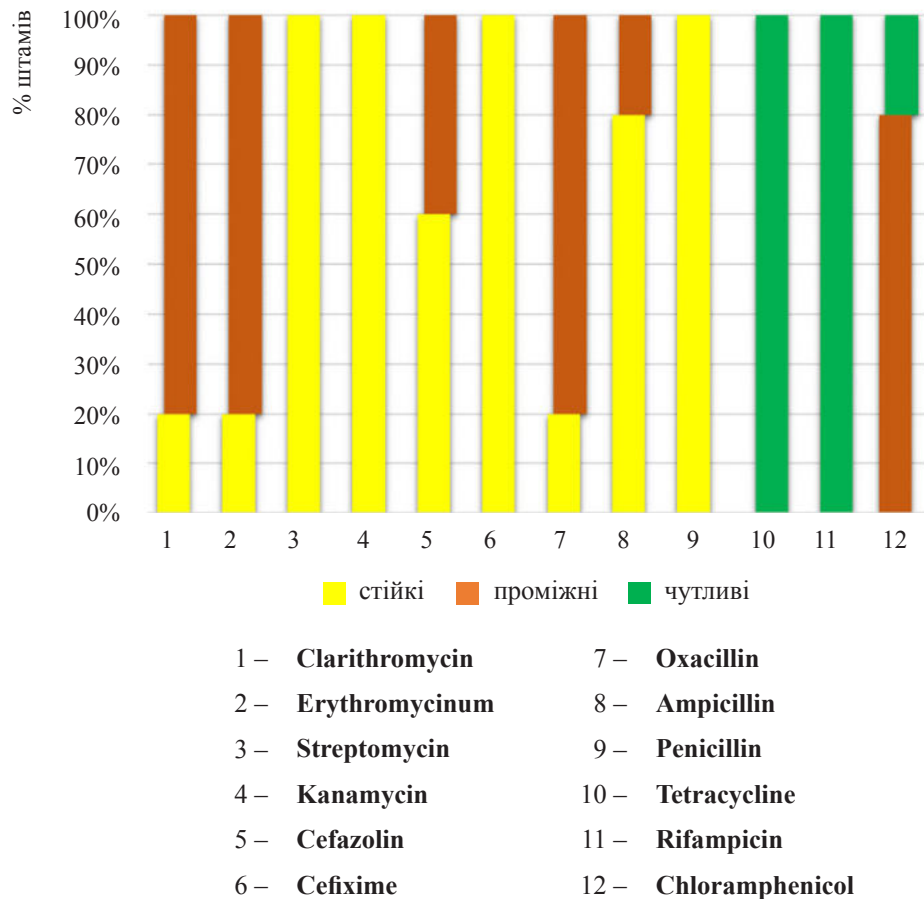


Рис. 5. Розподіл штамів *Lactococcus sp.*, які були ізольовані з чорноморських водоростей та мідій, в залежності від рівня резистентності до антибіотиків

Fig. 5. Percentage distribution of *Lactococcus sp.* strains isolated from Black Sea algae and mussels depending on antibiotic resistance level





коків отримані результати були порівняні з показниками, що характерні для представників роду *Enterococcus*, оскільки їх стали відносити до серйозних нозокоміальних умовних патогенів [3]. Цьому сприяє висока генетична пластичність цих бактерій, яка зумовлена наявністю у них множинних детермінант стійкості до антибіотиків. Крім природної резистентності ентерококів до ряду антибіотиків (аміноглікозиди, деякі цефалоспорини), встановлена їх висока резистентність до дезінфікувальних засобів і чинників зовнішнього середовища. Також показано, що патогенні властивості представників *Enterococcus* локалізовані в тих самих генетичних елементах, що кодують резистентність до антибіотиків [7].

Однак, порівнюючи стійкість до антибіотиків штамів родів *Lactobacillus* і *Enterococcus*, відмічено що, серед останніх було більше чутливих штамів до хлорамфеніколу, тетрацикліну, оксациліну і цефалоспоринів (рис. 1), ніж у представників роду *Lactobacillus* [1]. Крім того, частка штамів з проміжною чутливістю до кларитроміцину і канаміцину у штамів *Enterococcus* також була вищою, ніж у представників *Lactobacillus* [1].

Порівнюючи рівень резистентності бактерій *Enterococcus faecalis* і *Pediococcus pentosaceus*, можна помітити, що педіококи більш стійкі до каноміцину і цефазоліну. На відміну від ентерококів у представників *Pediococcus* присутні штами з проміжною стійкістю до хлорамфеніколу і тетрацикліну. Більша частка чутливих до антибіотиків штамів також була виявлена серед штамів *Pediococcus* (рис. 1 і рис. 2).

Взагалі, частка чутливих до антибіотиків штамів *Pediococcus pentosaceus* була малою. Приблизно 16,7% штамів були чутливими до еритроміцину, оксациліну, ампіциліну і тетрацикліну (рис. 2). До стрептоміцину, канаміцину, цефазоліну, цефіксиму і бензилпеніциліну чутливих штамів не виявлено (рис. 2).

Як відомо *Pediococcus spp.* зазвичай зустрічаються у мікробіоти в слизових оболонках людини і тварин, в молочних продуктах та на поверхнях рослин. Однак, вони все частіше визнаються як опортуністичні патогени, які викликають захворювання у людини. Скоріше за все бактерії *Pediococcus pentosaceus*, що були стійкими до антибіотиків, потрапили у морське середовище з суходолу.

При порівнянні резистентності до антибіотиків у представників *Streptococcus* і *Enterococcus* (рис. 1, рис. 3), відмічено відсутність серед *Streptococcus* штамів з проміжною резистентністю до кларитроміцину, стрептоміцину і канаміцину. При цьому до кларитроміцину і стрептоміцину реєстрували збільшення чутливих штамів. Усі штами *Streptococcus bovis* були стійкими до цефалоспоринів та тетрацикліну (рис. 3).

Важливим є той факт, що серед представників *Streptococcus* великою є частка бактерій стійких до антибіотиків групи пеніцилінів. Оскільки в США і Японії вже були зареєстровані перші резистентні до пеніциліну представники *Streptococcus* [17]. Отримані нами дані свідчать, що серед штамів *Streptococcus*, ізольованих відсоток стійких до макролідів становить 50,0%, до пеніцилінів від 25,0 до 75,0%% (рис. 3).

Досить специфічна антибіотикограма представників *Leuconostoc* ско-



ріш за все пов'язана з тим, що хоча ці мікроорганізми вважаються неінфекційними агентами у людей, однак, були клінічні повідомлення про те, що *Leuconostoc mesenteroides* може бути пов'язаним з певними захворюваннями людини, такими як абсцес мозку, ендокардит, порушення функціонування центральної нервової системи, туберкульозу [5].

Таким чином, проведені дослідження показали, що більшість молочнокислих коків, ізольованих з морських водоростей та мідій, резистентні до одного або кількох антибіотиків, причому багато бактерій продемонстрували специфічні профілі стійкості до антибіотиків, які частково не відповідають літературним даним і можуть бути пояснені місцем виділення (морське середовище). Проведене дослідження показало наявність молочнокислих коків серед мікробіоти асоційованої з водоростями і мідіями, що є новою інформацією для цього регіону Чорного моря. Аналіз спектру стійкості до антибіотиків у ізольованих штамів показав, що вони відрізняються за цією ознакою від типових представників молочнокислих коків ізольованих з продуктів харчування або хворих людей і тварин.

**Н.Ю. Васильева, І.В. Страшнова, Е.В. Басюл,  
І.О. Ковтун, В.А. Іваниця**

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,  
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина,  
тел: +38 (0482) 68 79 64;  
e-mail: tatkamic@onu.edu.ua

## **УСТОЙЧИВОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ КОККОВ, ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ ЧЕРНОМОРСКИХ ВОДОРΟΣЛЕЙ И МИДИЙ К АНТИБИОТИКАМ**

### **Реферат**

*Целью работы является определение степени устойчивости к антибиотикам молочнокислых кокков, выделенных из черноморских мидий рода *Mytilus galloprovincialis* и водорослей. Методы. Классические микробиологические методы использовали для изучения культуральных и биохимических характеристик изолированных штаммов, что по совокупным показателям позволило отнести изолированные штаммы к родам *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*. Идентификацию до вида осуществляли на основании спектра жирных кислот методом газовой хроматографии с использованием автоматической системы идентификации микроорганизмов MIDI Sherlock. На основании полученных результатов штаммы идентифицировали как виды *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus bovis* и *Leuconostoc mesenteroides*. Устойчивость к антибиотикам определяли диско-диффузным методом. Графическую обработку данных проводили по программе Microsoft Excel и R 3.4.0. Результаты. По результатам исследования показано, что большинство штаммов *Enterococcus* были устойчивыми к пенициллину (85,7%) и цефазолину (71,4%). Почти половина из них была устойчива и к рифампицину, цефиксиму и стрептомицину (42,9%). Представители *Pediococcus* были устойчивыми к пенициллину (83,3%), цефазолину (83,3%), канамицину (66,7%) и*



цефксиму (66,7%). 50,0% представителів *Pediococcus* були стійкими до тетрацикліну. Представителі *Streptococcus* були максимально стійкими до дії антибіотиків – процент стійких штамів коливався від 50,0% до 100,0% в залежності від антибіотика. Показателі стійкості до антибіотиків представителів *Leuconostoc* були достатньо варіативними і їх профіль відрізнявся від всіх інших молочнокислих кокків. Представителі *Lactococcus* були стійкими майже до всіх досліджуваних антибіотиків. **Висновки.** На основі отриманих даних показано, що більшість досліджуваних чорноморських штамів молочнокислих кокків, асоційованих з водорослями і мідіями мають природну резистентність до антибіотиків.

*Ключевые слова:* молочнокислые кокки, Черное море, водоросли, *Mytilus galloprovincialis*, антибиотики, резистентность

**N.Yu. Vasylieva, I.V. Strashnova, O. V. Basiul,  
I.O. Kovtun, V.O. Ivanytsia**

Odesa I.I. Mechnikov National University,  
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine,  
tel.:+38 (0482) 68 79 64, e-mail: tatkamic@onu.edu.ua

## RESISTANCE OF LACTIC COCCI ISOLATED FROM BLACK SEA ALGAE AND MUSSELS TO ANTIBIOTIC

### Summary

**The aim** of this work was determining the level of resistance to antibiotics of lactic acid cocci of the genus *Mytilus galloprovincialis* isolated from Black Sea algae and mussels. **Methods.** The classical microbiological methods were used to study the cultural and biochemical characteristics of the isolated strains. According to the total obtained data, the isolated strains were assigned to the genus *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*. Based on the obtained results, strains were identified as *Enterococcus faecalis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus bovis* u *Leuconostoc mesenteroides*. To determine resistance to antibiotic was used diffusion test. Graphic data processing was performed using Microsoft Excel and R 3.4.0. **Results.** According to the results of the study, it was shown that most strains of *Enterococcus* were resistant to penicillin (85.7%) and cefazolin (71.4%). Almost half of them were resistant to rifampicin, cefixime and streptomycin (42,9%). Representatives of the genus *Pediococcus* were resistant to penicillin (83.3%), cefazolin (83.3%), kanamycin (66.7%) and cefixime (66.7%). 50.0% of all strains of *Pediococcus* were resistant to tetracycline. Representatives of the genus *Streptococcus* were most resistant to antibiotics – the percentage of resistant strains ranged from 50.0% to 100.0% depending on the antibiotic. The antibiotic resistance of *Leuconostoc* representatives was quite variable and their profiles was different from all other lactic cocci. Representatives of *Lactococcus* were resistant to almost all antibiotics. **Conclusions.** Based on the obtained data, it was shown that most of the lactic acid cocci strains that were isolated from Black Sea algae and mussels of the genus *Mytilus galloprovincialis* were resistant to antibiotics.

*Key words:* lactic acid cocci, Black Sea, algae, *Mytilus galloprovincialis*, antibiotics, resistance



### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Васильєва Н.Ю., Страшнова І.В., Васильєв М.А., Метеліцина І.П. Стійкість бактерій роду *Lactobacillus*, ізольованих з чорноморських губок, до антибіотиків і важких металів// Мікробіологія і біотехнологія. – 2019. – № 47. – С. 58–77. doi.: [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2019.3\(47\).186592](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2019.3(47).186592)
2. Остапчук А.М. Молекулярно-біологічна характеристика и ідентифікація штаму *Vacillus sp.* ONU14 з ентомопатогенною активністю// Мікробіологія і біотехнологія. – 2015. – № 1. – С. 6–13. doi.: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/MiB\\_2015\\_1\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/MiB_2015_1_4)
3. Сычева М.В., Карташова О.Л., Щенитова Н.Е., Сафронов Ал.А. Антибиотикорезистентность бактерий рода *Enterococcus*, выделенных из организма человека в норме и при патологии// Антибиотики и Химиотерапия.– 2016.– Т. 61. – С. 27–32.
4. Хоулт Дж., Криг Н., Снит П. Определитель бактерий Берджи. – Изд: Мир, 1997. – 800 с.
5. Barletta J., Estrada T., Rolyn M. J., Erbin M., Kaufman S., Perez H. Meningitis due to *Leuconostoc mesenteroides* associated with central nervous system tuberculosis: a case report. //Ann Clin Case Rep.– 2017.–Vol. 2. – article:1228.
6. Ben Omar N., Castro A., Lucas R., Abriouel H., Yousif N.M.K., Franz C.M.A.P., Holzapfel W.H., Perrez-Pulido R., Martinez-Cañamero M., Gralvez A. Functional and safety aspects of enterococci isolated from different Spanish foods. //Systematic and Applied Microbiology . – 2004. – Vol. 27.– P. 118–130. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00248>
7. Ben Sallem R., Klibi N., Klibi A. Antibiotic resistance and virulence of enterococci isolates from healthy humans in Tunisia. //Annals of Microbiology. – 2016. – Vol. 66 .– P. 717– 725. doi: [10.1007/s13213-015-1157-3](https://doi.org/10.1007/s13213-015-1157-3)
8. Chopra I., Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. //Microbiol Mol Biol Rev – 2001. – Vol. 65. –P. 232–260. doi.: [10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001](https://doi.org/10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001)
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrobial Wild Type Distributions of Microorganisms. <http://217.70.33.99/eucast2/> (28 February 2007, date last accessed).
10. Feedap E. Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance // EFSA J.– 2012. – Vol. 10, No. 6.– Article ID 2740. doi: [10.2903/j.efsa.2012.2740](https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2740)
11. Flo'rez A.B., Ammor M.S., Mayo B. Identification of tet(M) in two *Lactococcus lactis* strains isolated from a Spanish traditional starter-free cheese made of raw milk and conjugative transfer of tetracycline resistance to lactococci and enterococci. //Int. J. Food Microbiol. – 2008. – Vol. 121. – P. 189–194. doi:[10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.029](https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.029)
12. Gonzalez-Rodriguez I., Ruiz L., Gueimonde M., Margolles A., Sanchez B. Factors involved in the colonization and survival of bifidobacteria in the gastrointestinal tract.// FEMS Microbiol. Lett. – 2013. – Vol. 340. – P. 1–10. doi.:[10.1111/1574-6968.12056](https://doi.org/10.1111/1574-6968.12056)



13. Klare I., Werner G., Witte W. *Enterococci*. Habitats, infections, virulence factors, resistances to antibiotics, transfer of resistance determinants. // Contributions to Microbiology. – 2001. – Vol. 8. – P. 108–122. doi.: 10.1159/000060406
14. Klare I., Konstabel C., Werner G., Huys G. Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use// Journal of Antimicrobial Chemotherapy . – 2007. – Vol. 59. – P. 900– 912 doi:10.1093/jac/dkm035 Advance Access publicati
15. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications //Clin Infect Dis. – 2002. – Vol. 34. – P. 482–492. doi.: 10.1086/324626
16. Mathur S., Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. // Int. J. Food Microbiol. – 2005. – Vol. 105.– P. 281–295 doi.: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008
17. Shabayek S., Abdalla S. Macrolide- and tetracycline-resistance determinants of colonizing group B streptococcus in women in Egypt// Journal of Medical Microbiology. –2014. – Vol. 63. –P. 1324–1327 doi.: 10.1099/jmm.0.077057-0
18. van Hylckama Vlieg J.E., Rademaker J.L., Bachmann H., Molenaar D., Kelly W.J., Siezen R.J. Natural diversity and adaptive responses of *Lactococcus lactis*. //Curr. Opin. Biotechnol. – 2006. – Vol.17. – P. 183–190 doi.: 10.1016/j.copbio.2006.02.007
19. van Reenen C. A., Dicks L. M. Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities. A review. //Arch. Microbiol. – 2011. – Vol. 193. – P. 157–168 doi.: 10.1007/s00203-010-0668-3

### References

1. Vasylieva NYu, Strashnova IV, Vasyliiev MA, Metelitsyna IP. Resistance of *Lactobacillus* strains isolated from the Black sea sponges to antibiotics and heavy metal. Microbiology and Biotechnology.2019; 47:58-77 doi.: [https://doi.org/10.18524/2307-4663.2019.3\(47\).186592](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2019.3(47).186592) [In Ukraine]
2. Ostapchuk AM. Molecular-biological characteristics and identification of Bacillus sp. ONU14 strain with entomopathogenic activity . Microbiology and Biotechnology. 2015; 1:6–13 [http://nbuv.gov.ua/UJRN/MiB\\_2015\\_1\\_4](http://nbuv.gov.ua/UJRN/MiB_2015_1_4) [In Ukraine]
3. Sycheva MV, Kartashova O L, Shchepitova NE, Safronov AIA. Antibiotic resistance of *Enterococci* isolated from healthy humans and patients with various pathologies. Antibiotics and Chemotherapy.2016;61:27-32 [In Russian]
4. Hoult J, Krieg N. Snit P. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. –Ed: Mir,1997. – 800 p. [In Russian]
5. Barletta J, Estrada T, Rolyn MJ, Erbin M, Kaufman S, Perez H. Meningitis due to *Leuconostoc mesenteroides* associated with central nervous system tuberculosis: a case report. Ann Clin Case Rep.2017; 2:Article:1228.



6. Ben Omar N, Castro A, Lucas R, Abriouel H, Yousif NMK, Franz CMAP, Holzapfel WH, Perrez-Pulido R, Martrinez-Cañamero M, Gralvez A. Functional and safety aspects of enterococci isolated from different Spanish foods. *Systematic and Applied Microbiology* . 2004; 27:118–130. <https://doi.org/10.1078/0723-2020-00248>
7. Ben Sallem R, Klibi N, Klibi A. Antibiotic resistance and virulence of enterococci isolates from healthy humans in Tunisia. *Annals of Microbiology*. 2016;66 : 717– 725. doi: 10.1007/s13213-015-1157-3
8. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2001; 65: 232–260. doi.: 10.1128/MMBR.65.2.232-260.2001
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antimicrobial Wild Type Distributions of Microorganisms. <http://217.70.33.99/eucast2/> (28 February 2007, date last accessed).
10. Feedap E. Guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance . *EFSA J*.2012;10(6):Article ID 2740. doi: 10.2903/j.efsa.2012.2740
11. Flo´rez AB, Ammor MS, Mayo B. Identification of tet(M) in two *Lactococcus lactis* strains isolated from a Spanish traditional starter-free cheese made of raw milk and conjugative transfer of tetracycline resistance to lactococci and enterococci. *Int. J. Food Microbiol*. 2008; 121: 189–194. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.029
12. Gonzalez-Rodriguez I, Ruiz L, Gueimonde M, Margolles A, Sanchez B. Factors involved in the colonization and survival of bifidobacteria in the gastrointestinal tract. *FEMS Microbiol. Lett*. 2013; 340:1–10 doi.:10.1111/1574-6968.12056
13. Klare I, Werner G, Witte W. *Enterococci*. Habitats, infections, virulence factors, resistances to antibiotics, transfer of resistance determinants. *Contributions to Microbiology*. 2001;8: 108–122. doi.: 10.1159/000060406
14. Klare I, Konstabel C, Werner G, Huys G. Antimicrobial susceptibilities of *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Lactococcus* human isolates and cultures intended for probiotic or nutritional use. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* . 2007; 59: 900– 912 doi:10.1093/jac/dkm035 Advance Access publication
15. Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clin Infect Dis*. 2002; 34:482–492. doi.: 10.1086/324626
16. Mathur S, Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. *Int. J. Food Microbiol*. 2005; 105: 281–295 doi.: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.03.008
17. Shabayek S, Abdalla S. Macrolide- and tetracycline-resistance determinants of colonizing group B streptococcus in women in Egypt. *Journal of Medical Microbiology*. 2014; 63: 1324–1327 doi.: 10.1099/jmm.0.077057-0
18. van Hylckama Vlieg JE, Rademaker JL, Bachmann H, Molenaar D, Kelly WJ, Siezen RJ. Natural diversity and adaptive responses of *Lactococcus lactis*. *Curr. Opin. Biotechnol*. 2006;17: 183–190 doi.: 10.1016/j.copbio.2006.02.007



19. van Reenen CA, Dicks LM. Horizontal gene transfer amongst probiotic lactic acid bacteria and other intestinal microbiota: what are the possibilities. A review. Arch. Microbiol. 2011; 193: 157–168 doi.: 10.1007/s00203-010-0668-3

Стаття надійшла до редакції 17.09.2020 р.

