

Изучение влияния низкой температуры и популяции автохтонной микрофлоры на выживаемость патогенных и потенциально-патогенных бактерий в воде в условиях эксперимента

*Е.Ю. Панасюк, В.В. Дрюккер, В. В. Парфенова,
Лимнологический институт СО РАН*

Проблема антропогенного влияния на водные микробиоценозы ставит вопрос о выживаемости патогенной и потенциально-патогенной микрофлоры в воде озера Байкал. В статье приведены результаты лабораторного эксперимента по выживаемости этих бактерий, показывающие, что автохтонная микрофлора и низкая температура вод Байкала не являются лимитирующим фактором при выживаемости патогенных и потенциально-патогенных бактерий.

Вода открытых водоемов не является естественной средой обитания для патогенных и потенциально-патогенных бактерий, однако в ряде случаев, их там обнаруживают [1]. Длительность пребывания этих бактерий в воде определяется условиями окружающей среды, видовыми и генетическими особенностями конкретного штамма. По данным литературы, к факторам, влияющим на гибель этих видов бактерий, относят природную бактерицидность воды, взаимоотношения с автохтонной микрофлорой, температуру, рН, наличие химических примесей и органических веществ и др. [2,3,4]. Выделение из литоральных вод Байкала потенциально-патогенных бактерий [5], несмотря на отсутствие их в пелагиали, ставит вопрос о факторах, влияющих на выживаемость этой группы микроорганизмов в уникальном озере.

Целью работы было изучение влияния низкой температуры и популяции байкальской автохтонной микрофлоры на выживаемость патогенных и потенциально-патогенных штаммов бактерий - клинических изолятов - в условиях эксперимента в стерильной и нестерильной байкальской воде.

Материалы и методы

Для эксперимента использовались клинические изоляты штаммов бактерий следующих видов: *Salmonella typhi*, *Shigella Flexneri 2a*, *Citrobacter freundii*, *Esherihia coli O26*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*. Суточные культуры этих видов бактерий выращивались на 1%-ной пептонной воде при температуре 37 °С. Разведения культуры готовили с использованием стандартов оптической плотности 10 ЕД, что соответствовало 1 млн. клеток в одном миллилитре.

В первом варианте 1 мл стандартно разведенной культуры вносили в колбу со 100 мл стерильной байкальской воды. Во втором варианте исследуемые культуры вносили в колбы (100 мл) с нестерильной байкальской водой. Посевы в колбах инкубировались при температуре +4 °С. Каждые 3-6 ч. проводили посевы на селективные среды: бактоагар Плоскирева, Эндо, висмут-сульфид-агар. Далее чашки инкубировались в термостате при 37°С 18-24 ч.. После этого подсчитывали число КОЕ/мл.

Контроль №1- стерильная байкальская вода без культур бактерий.

Контроль №2 - нестерильная байкальская вода без внесенной культуры.

Микробный антагонизм изучали с использованием музейных штаммов *Esherihia coli*, (O26), *Shigella sonne*, *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi*, *Salmonella typhimurium*. Указанные штаммы засеивали газон с помощью шпателя на чашки с РПА-10 в разведении 10⁶ кл./мл. Сверху наносили репликатором штаммы байкальских гетеротрофных микроорганизмов, выращенные в течение одних суток на 1%-ной пептонной воде. Учет проводили по зоне задержки роста.

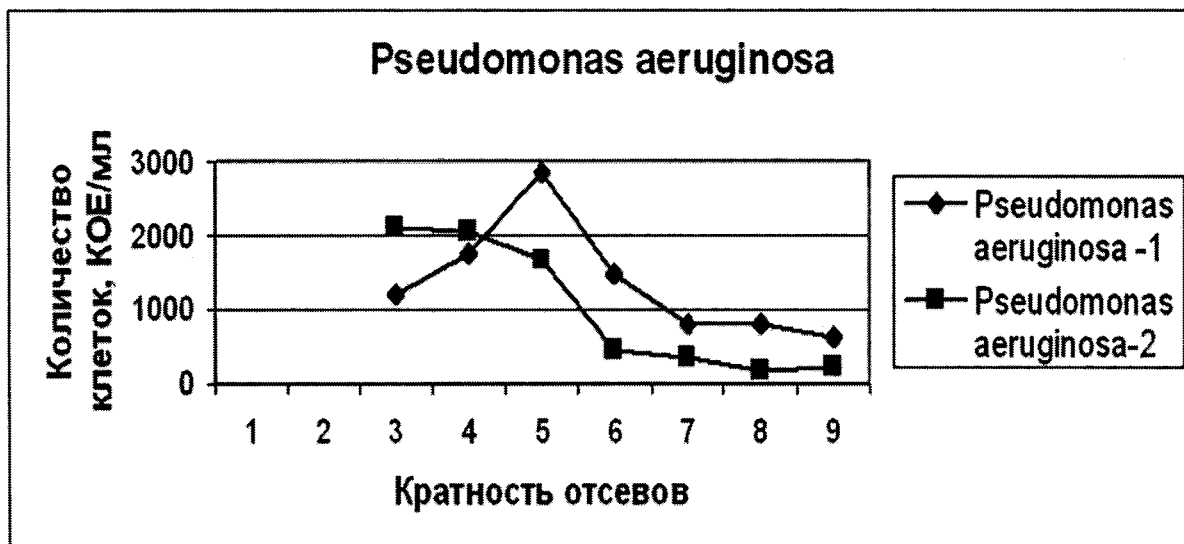
Результаты и обсуждение

При исследовании влияния низкой температуры на выживаемость патогенных и потенциально-патогенных бактерий не наблюдалось нарушений их жизнедеятельности. Низкая температура инкубации не вызывала гибели большинства бактерий - клинических изолятов, кроме *Esherihia coli* и *Citrobacter freundii*. Дальнейшее размножение и накопление биомассы изученных штаммов соответствовало общим закономерностям роста и размножения бактерий.

Результаты эксперимента показаны в таблице и на рисунке (А, В, Г, Д, Е), характеризующем кривые роста различных штаммов бактерий.

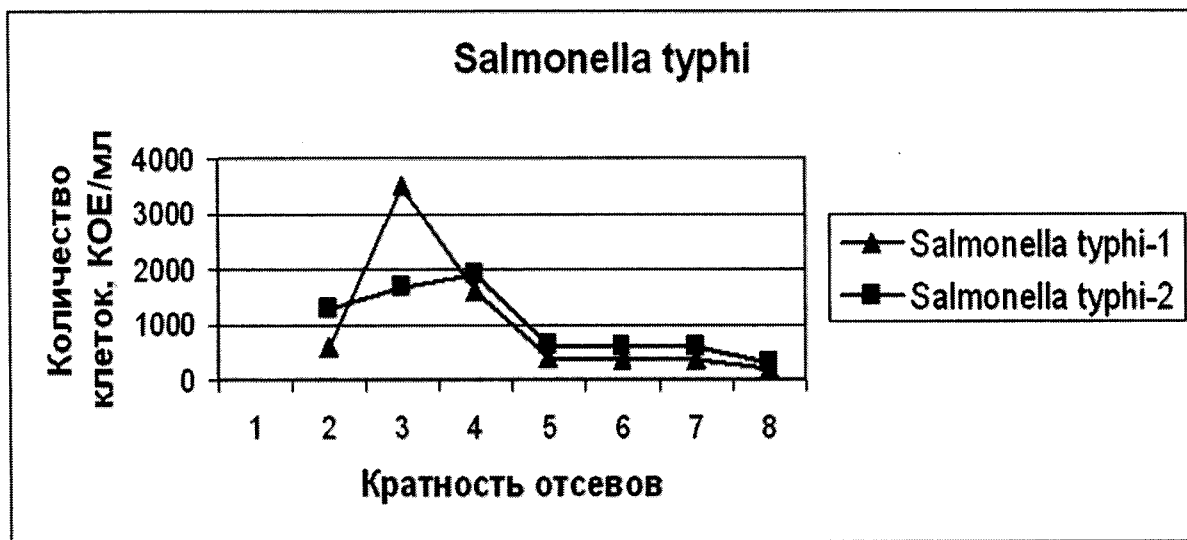
Выживаемость патогенных и потенциально-патогенных бактерий в лабораторном эксперименте

Исследуемые штаммы	Байкальская вода	Контрольные высевы, КОЕ/мл						
		1	2	3	4	5	6	7
Enterobacter cloacae	Стер.	900	952	1712	576	560	1735	708
	Н/стер.	430	1376	2080	440	437	700	302
Shigella Fl. 2a	Стер.	526	688	1348	270	260	362	170
	Н/стер.	376	1628	756	257	218	85	71
Salmonella thyphi	Стер.	600	3496	1616	400	370	360	200
	Н/стер.	1300	1688	1896	628	600	600	300
Hafnia alvei	Стер.	420	2400	2664	800	699	824	1120
	Н/стер.	611	850	1792	704	500	184	206
Pseudomonas aeruginosa	Стер.	1200	1760	2848	1474	803	800	612
	Н/стер.	2100	2052	1664	450	340	160	210
Контроль	Стер.	0	0	0	0	0	0	0
	Н/стер.	2	29	29	1	1	3	1

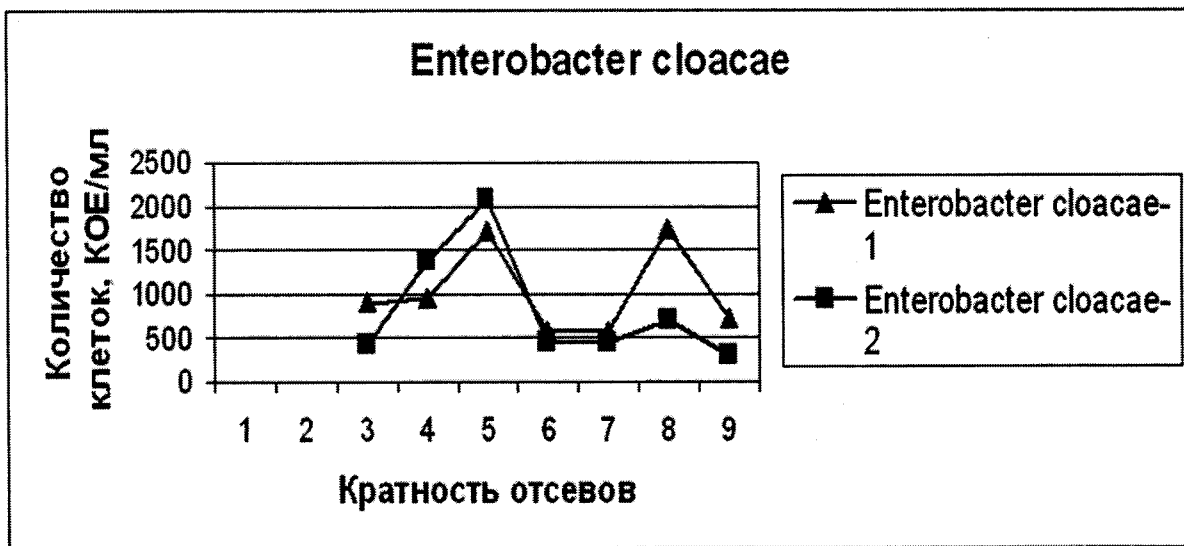

А

Б



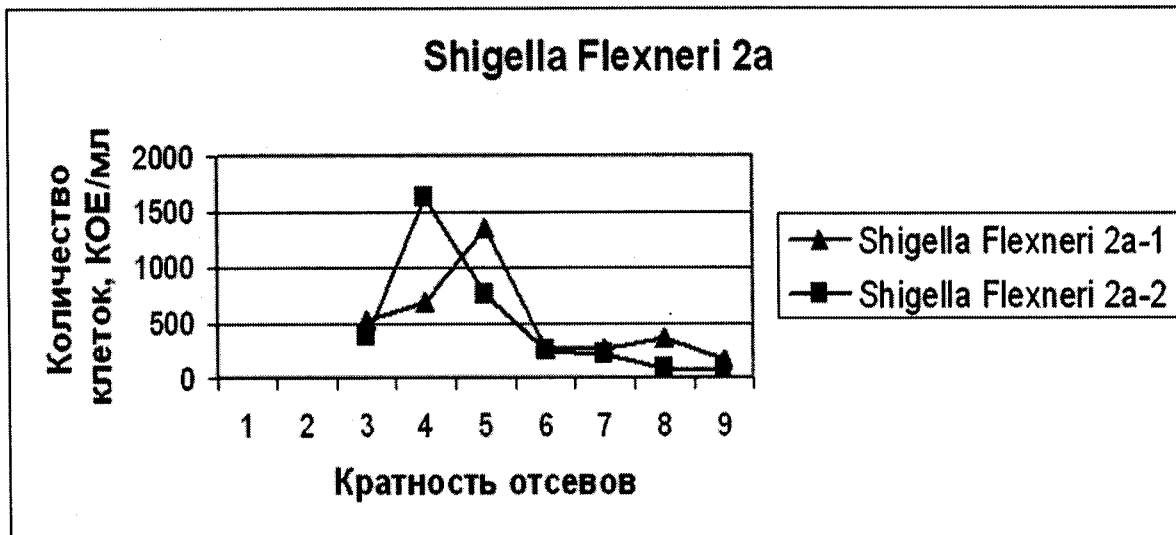
В



Г



Д



Е

Рис. Выживаемость патогенных и потенциально-патогенных бактерий в стерильной и нестерильной байкальской воде (А,Б,В,Г,Д,Е).

- в нестерильной байкальской воде (1).

 - в стерильной байкальской воде (2).

Общей тенденцией для всех штаммов патогенных бактерий считается наличие адаптационного периода, который характеризуется снижением КОЕ/мл по сравнению с первоначальным высевом. Некоторые же потенциально-патогенные бактерии могут миновать лаг-фазу и сразу прогрессивно увеличивают количество клеток, достигая максимума в фазе экспоненциального роста. У некоторых штаммов можно наблюдать после максимума роста резкое снижение численности, после чего вновь наступает прогрессивное увеличение роста клеток.

Стационарная фаза – длительная, колебания численности клеток во время нее – незначительны.

Длительность периода выживаемости в байкальской воде исследованных штаммов потенциально-патогенных бактерий (*Enterobacter cloacae*, *Hafnia alvei*, *Pseudomonas aeruginosa*) показывает, что он длиннее, чем у санитарно-показательной *Escherichia coli*. Эти же потенциально-патогенные бактерии предлагается использовать в качестве дополнительных индикаторов качества воды при микробиологическом мониторинге. Настораживает тот факт, что патогенные штаммы так же разви-

вались в условиях низкой температуры и популяции автохтонной микрофлоры. Их период выживаемости по сравнению с потенциально-патогенными штаммами был короче. Тем не менее трудно прогнозировать, сколько времени они будут развиваться в байкальской воде и какие последствия это несет.

При изучении микробного антагонизма в лабораторном эксперименте ни одна из культур байкальских гетеротрофов, выделенных нами, не проявила антагонизма по отношению к патогенным штаммам.

Таким образом, данные эксперимента показывают, что низкая температура и популяция автохтонной микрофлоры не являются лимитирующими факторами для выживания и развития патогенной и потенциально-патогенной флоры. Использовать потенциально-патогенные микроорганизмы, такие как *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* и др., в качестве дополнительных индикаторов при оценке качества воды современно и актуально. Попадание патогенных штаммов бактерий кишечной группы в воду несет эпидемиологическую опасность вопреки существующему мнению, что они погиба-

ют в Байкале.

Литература

1. Калина Г.П. Методический подход к изучению условно-патогенных микроорганизмов в объектах окружающей среды // Гигиена и санитария.-1982.- №1.- С.40.
2. Михайлова А.О., Хайтович А.Б. Факторы сохранения холерных вибрионов в водоемах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.- 2000.-№6.- С.99-104.
3. Мисетов И.А., Немцева Н.В. Персистентные свойства микрофлоры открытых водоемов и питьевой воды // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.- 2000.- №4.-С.95-99.
4. Мойсеенко Н.Н. Условно-патогенные бактерии в морской воде рекреационных зон // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии.-1994.—№1.- С.8-11.
5. Панасюк Е.Ю. Условно-патогенные микроорганизмы – индикаторы состояния окружающей среды // Тезисы докл. региональной научно-практической конференции «Биоразнообразии микроорганизмов Восточно-Сибирского региона и их научно-практическое использование». - Иркутск.- 1998.- С.27-29.