

УДК 574:579.68 (571.61)

**Макаров Ю.А., Горковенко Н.Е., Пономарева О.С., ДальЗНИВИ, г. Благовещенск
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ПРИРОДНЫХ ВОДОЕМОВ
ЗЕЙСКО-БУРЕЙНСКОЙ РАВНИНЫ**

Рассматривается влияние природно-климатических и экологических факторов на микробиоценозы природных водоемов. Проводится микробиологическая оценка воды природных водоемов сельскохозяйственного водопользования по основным санитарно-гигиеническим нормативам. Изучаются биологические и персистентные характеристики выделенных микроорганизмов.

**Makarov U.A., Gorkovenko N.E., Ponomaryova O.S.
MICROBIOLOGICAL ESTIMATION OF NATURAL RESERVOIRS
OF ZEJSKO-BUREJNSKAYA PLAIN**

Influence of natural-climatic and ecological factors on microbiocenoses of natural reservoirs is examined. The microbiological estimation of water of natural reservoirs of agricultural water use by the basic sanitary-and-hygienic specifications is being done. Biological and persistent characteristics of the allocated microorganisms are studied.

Зейско-Буреинская равнина (ЗБР) географически располагается между реками Зея, Амур, Селемджа и хребтом Турана. В формировании рельефа ЗБР главную роль сыграли водные потоки. Значительная часть равнины – широкие террасы рек, в долинах которых имеется много небольших пойменных озер- стариц и проток [1]. Экономическое значение ЗБР обусловлено тем, что здесь живет более половины всего населения Амурской области, сосредоточены основные массивы пахотных угодий, сельскохозяйственные и промышленные предприятия.

Многочисленные пойменные озера и протоки ЗБР используются сельскохозяйственными предприятиями для обустройства летних лагерей животноводческих ферм, их водоснабжения, водопоя животных при пастьбе. Это приводит к загрязнению природных водоемов стоками животноводческих ферм, выделениями животных, с которыми в воду попадают условно патогенные и патогенные микроорганизмы. Тем самым нарушается естественный баланс между сапрофитической и паразитической частью микробиоценоза, происходит эвтрофикация водоема. Однако оценка санитарно-микробиологического состояния природных водоемов Зейско-Буреинской равнины до настоящего времени не проводилась.

Уровень естественной обсемененности воды природных водоемов микроорганизмами зависит от температуры, времени года, типа

водоема, а также его санитарных и экологических особенностей и колеблется в широких пределах (от 10^2 до 10^7 особей/мл) [2, 3]. В поверхностных водоемах принято различать автохтонную (аборигенную) и аллохтонную (привнесенную) микрофлору. Среди бактерий аллохтонной микрофлоры, по данным различных исследователей [3, 4], наиболее распространены бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, а также *Pseudomonas*, *Alcaligenes* и *Aeromonas*. Большую часть перечисленных микроорганизмов принято считать условно патогенными, так как при определенных обстоятельствах они могут иметь этиологическое значение в возникновении и развитии факторных и ассоциативных инфекционных болезней. Они способны не только длительно автономно обитать в субстратах внешней среды – воде и почве, но и накапливаться в них. Бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, кроме того, считаются общепризнанными индикаторными микроорганизмами при оценке микробиологического качества воды.

Выживанию и накоплению микроорганизмов в объектах окружающей среды, в том числе в воде, способствуют факторы персистенции: антилизоцимная, антиинтерфероновая, антикомплементарная активности, адгезивность и ряд других. Уровень распространенности и выраженности персистентных характеристик микроорганизмов водоема является показателем степени его санитарно-микробиологического благополучия [5, 6,7].

В настоящей работе предпринимается попытка изучить видовой состав микробиоценозов природных водоемов сельскохозяйственного водопользования Зейско-Буреинской равнины и определить персистентные свойства условно патогенных микроорганизмов, выделенных из воды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для микробиологического анализа пробы воды отбирались периодически с мая по октябрь 2001 – 2005 гг. из рек, проток и пойменных озер, располагающихся возле летних лагерей и пастбищ и используемых для водопоя крупного рогатого скота. Пробы отбирались на расстоянии 1 – 6 м от берега из поверхностных слоев воды (0 – 20 см) в стерильные флаконы. После отбора пробы воды немедленно доставлялись в лабораторию для посева. Определяли общее число микроорганизмов (ОМЧ) в 1 см³ воды и коли-индекс (количество бактерий группы кишечной палочки, БГКП в 1 дм³ воды) в соответствии с действующими стандартами ГОСТ 18963-73, ГОСТ 17.1.3.07-82, ГОСТ 24849-81, МУК 4.2.1884-04. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили с использованием «Определителя бактерий Берджи» [8]. Изучение персистентных характеристик выделенных культур включало определение антилизоцимной активности (АЛА) и антиинтерфероновой активности (АИА) методом отсроченного антагонизма [9, 10], антикомплементарной активности (АКА) методом парциального гемолиза в геле [11], адгезивных свойств по методу В.И. Бриллис [12]. Для определения чувствительности выделенных культур к антибиотикам использовали метод диффузии в агар.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты бактериологического анализа воды поверхностных водоемов представлены в таблице. Анализ полученных данных показывает, что уровень микробной обсемененности водоемов значительно изменялся в течение летнего сезона. Количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП) в 1 дм³ воды колебалось от 300 до 240 тыс. и более.

Наличие в воде водоема *E. coli* в количестве свыше 1000 в 1 дм³ свидетельствует о недавнем поступлении

фекального загрязнения, незавершенных процессах самоочищения и др. [7]. В этих случаях водоем представляет потенциальную эпидемическую и эпизоотическую опасность.

Оценивая качество воды водоема с позиций использования его как источника хозяйственно-питьевого водоснабжения (ГОСТ 17.1.3.07-82) по количеству сапрофитных бактерий в 1 мл воды, качество воды большинства водоемов относится к III–VI классу, от «умеренно загрязненных» до «очень загрязненных». По количеству общих колиформных бактерий 34,9 % проб воды не соответствовали требованиям, предъявляемым СанПиН 2.1.5.980-00 к воде водных объектов для хозяйственно-бытового и питьевого водоснабжения и рекреационного водопользования.

Разработанные нормативы микробиологического качества воды природных водоемов ориентированы на то, что используемая вода должна быть обеззаражена, профильтрована с коагулированием, и только после такой обработки ее можно использовать в хозяйственно-питьевых целях. Однако необходимо учесть, что в данном случае вода используется без какой-либо обработки.

Если оценивать воду водоемов с позиций пригодности ее для питья животным, то по нормам ГОСТ Р 512332-98 коли-индекс питьевой воды должен быть не более 3, а по требованиям СанПиН 2.1.4.544-96 (для источников нецентрализованного водоснабжения) – не более 10.

Как показали проведенные исследования, из всех исследованных проб этим требованиям не удовлетворяло качество воды ни одного водоема. Кроме того, из 15,2% проб воды были выделены энтеропатогенные *E. coli* нескольких серогрупп (O1, O2, O4, O101, O103, O117).

Рассматривая изменение физических (рис.1) и микробиологических (рис. 2) параметров воды в течение пастбищного периода на примере одного из водоемов (озеро на летнем лагере с. Косицыно) в динамике, можно отметить, что общее количество бактерий в единице объема воды возрастает по мере увеличения температуры воды и достигает максимальной величины в июле, затем постепенно снижается.

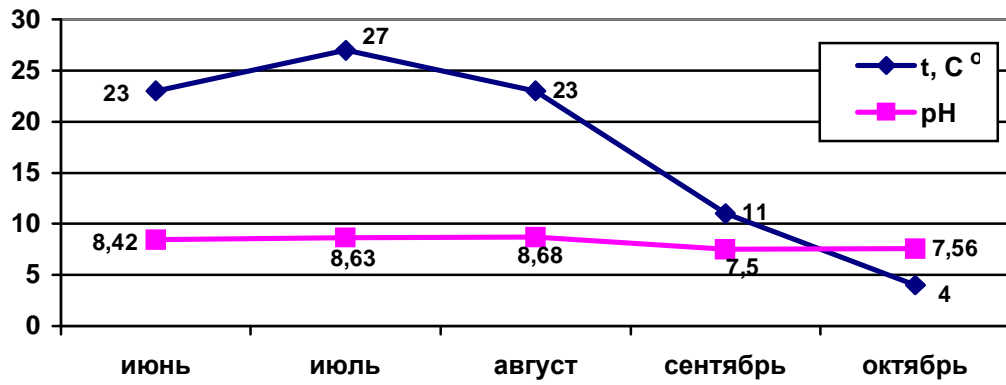


Рис. 1. Изменение температурного режима и рН воды пойменного озера

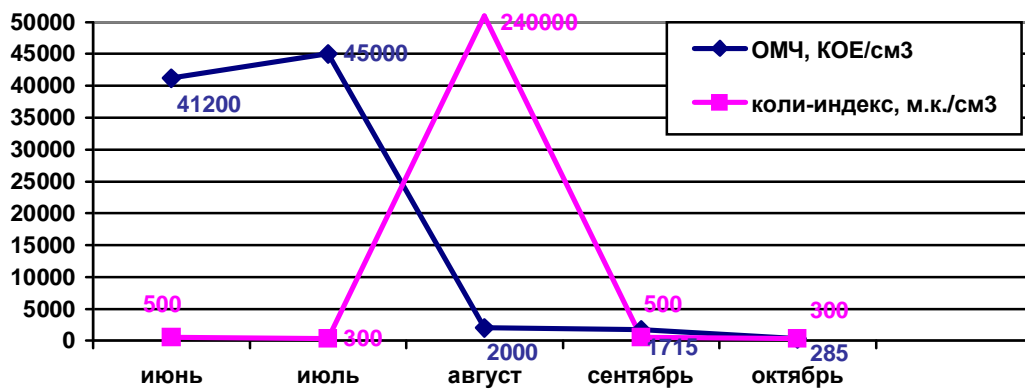


Рис. 2. Динамика изменчивости микробиологических параметров воды пойменного озера

Коли-индекс воды водоема также увеличивался по мере прогревания воды и был максимальным в августе. Что свидетельствует, с одной стороны, о более благоприятных условиях для роста и размножения микроорганизмов в этот период. А с другой стороны, о микробном загрязнении водоема. Видовой спектр выделяемой микрофлоры не изменялся течение летнего и осеннего периодов независимо от снижения температуры воды с 27°C в июле до 4°C в октябре. Вместе с тем в осенние месяцы (сентябрь – октябрь) отмечено преобладание более неприхотливых к температурному режиму микроорганизмов рода *Proteus* и *Pseudomonas*.

Существенным дополнением в оценке санитарного состояния водоема является изучение персистентных свойств микроорганизмов, поскольку уровень их выраженности позволяет индцировать аллохтонную микрофлору в водоеме.

Антилизосимная активность является одним из существенных факторов персистенции микроорганизмов. Среди изученных изолятов данный признак встречался достаточно часто. Так, 100% изолятов бактерий рода *Citrobacter* были антилизосимактивными, уровень активности составлял от 1 до 10 мкг/мл, в среднем $5,7 \pm 1,1$ мкг/мл. АЛА бактерий рода *Klebsiella* составляла в среднем $5,9 \pm 0,6$ мкг/мл и обнаруживалась у 92,9% изолятов. 83,3% изолятов *E.coli* и 66,7% *Edwardsiella* обладали АЛА, средняя активность составляла $4,6 \pm 0,4$ и $2,2 \pm 0,6$ мкг/мл соответственно. Наименьшее количество изолятов, активных в отношении лизосима, отмечено у *Staphylococcus*.

Результаты изучения АИА бактерий, изолированных из воды, показали, что этот признак у них встречался реже, чем АЛА. Больше всего антиинтерферонактивных изолятов отмечено среди *Klebsiella* (57,6 %), *Citrobacter* (66,7 %) и *E.coli* (33,6 %), уровень АИА которых составил от 0,1 до 0,5 усл.ед. Среди культур *Edwardsiella* и *Enterobacter* АИА обладали 8,7 % и 25,4 % изолятов соответственно.

Определение антикомплемментарных свойств микроорганизмов, выделенных из водоемов, показало, что данный признак встречался чаще всего у энтеробактерий: *Klebsiella*, *Citrobacter* и *Enterobacter*, *Salmonella*, *E.coli*. Среди этих групп бактерий отмечено наибольшее количество культур, активных в отношении комплемента – от 51,7 до 96,3 %, средний уровень АКА составил $0,48 \pm 0,1$ усл.ед. Тогда как другие группы микроорганизмов характеризовались более низкими показателями АКА – от $0,15 \pm 0,02$ усл.ед. у *Proteus* до $0,25 \pm 0,001$ усл.ед. у *Hafnia*.

При изучении адгезивного процесса микроорганизмов выяснено, что все изоляты обладали различной степенью адгезивности. К высокоадгезивным были отнесены 31,2% изолятов *Bacillus*, 13,6% изолятов *Klebsiella*. Остальные группы микроорганизмов по индексу адгезивности (ИАМ) были отнесены к средне- и низкоадгезивным.

Изучение влияния антимикробных препаратов на изолированные из воды природных водоемов микроорганизмы показало, что многие из них обладали полирезистентностью к ним. Так, к четырем из десяти испытанных антибиотиков были резистентны 27% изолятов *Klebsiella*, 21,2% изолятов *E. coli*, 75 % *Edwardsiella*, 50% изолятов *Staphylococcus*. Наиболее устойчивыми к воздействию антимикробных препаратов оказались бактерии рода *Pseudomonas*, 50% изолятов которых были резистентны к пяти, а 25% – к восьми из десяти испытанных антибиотиков. Отмечено, что большинство изолятов, полирезистентных к антибиотикам, обладали всеми тремя признаками персистенции, хотя корреляционной зависимости между этими признаками не выявлено.

В результате проведенных исследований установлено, что значительная часть условно патогенной микрофлоры водоемов обладает полирезистентностью к антимикробным препаратам. По мнению ряда авторов [13, 14], приобретение бактериями плазмид резистентности влияет на их биологические свойства (вирулентность, ферментативную активность, устойчивость во внешней среде). Кроме того, это свидетельствует о постоянной циркуляции микроорганизмов между организмом животных и объектами окружающей среды.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование многочисленных пойменных озер и проток Зейско-Буреинской равнины сельскохозяйственными предприятиями для обустройства летних животноводческих ферм, их водоснабжения, водопоя животных при пастьбе приводит к микробному загрязнению природных водоемов. Результаты бактериологического анализа воды поверхностных водоемов ЗБР показали, что по количеству общих колиформных бактерий 34,9% проб воды не соответствовали требованиям, предъявляемым СанПиН 2.1.5.980-00 к воде водных объектов для хозяйственно-бытового и питьевого водоснабжения и рекреационного водопользования.

В течение пастбищного периода общее количество бактерий в 1 мл воды (ОМЧ) возрастает по мере увеличения температуры воды и достигает максимальной величины в июле, затем снова снижается. Коли-индекс воды также увеличивается по мере прогревания воды и достигает максимума (24000 КОЕ/дм³) в августе.

Изучение персистентных свойств микроорганизмов, изолированных из водоисточников, показало значительную вариабельность этих признаков. У 22% изолятов энтеробактерий и псевдомонад были выявлены сочетание трех (АЛА, АКА, АИА), у 54% – двух изучаемых признаков (АЛА и АКА, АЛА и АИА). Эта же группа микроорганизмов характеризовалась более высокими показателями АЛА, АКА и АИА. Значительное количество изолятов обладали всеми тремя факторами персистенции, что, безусловно, подтверждает их организменное происхождение и свидетельствует о фекальном загрязнении водоемов. Использование такой воды в хозяйственно-бытовых и питьевых целях небезопасно в эпидемическом и эпизоотическом отношении.

Таким образом, подтверждается необходимость проведения микробиологического мониторинга естественных водоемов, находящихся в сельскохозяйственном водопользовании.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шульман, Н.К. География Амурской области: учебное пособие /Н.К. Шульман. – Амурское отделение Хабаровского кн. изд., 1984. – 160 с.
2. Мисетов, И.А. Факторы персистенции микрофлоры воды и их использование в санитарно-гигиенической практике: автореф. дис. канд. мед. наук. Оренбург, 1999. – 19 с.
3. Ляшенко, И.Э. Факторы персистенции *Escherichia coli*: автореф. дис. канд. мед. наук. – Оренбург, 1995. – 23 с.
4. Литвин, В.Ю. Эколого-эпидемиологические аспекты случайного паразитизма некоторых патогенных бактерий / В.Ю. Литвин // ЖМЭИ – 1986 – № 1. – С.85 – 91.
5. Ковальчук, Н.М. Биологическая характеристика *Escherichia coli* по персистентным свойствам и факторам вирулентности, выделенным из разных экологических зон / Н.М. Ковальчук // Сельскохозяйственная наука АПК Сибири, Монголии, Казахстана и Кыргызстана: Тр.7-ой Междунар. науч.-прак. конф. (Улан-Батор, 19-23 июля, 2004 г.), – Новосибирск, 2004. – С. 342 – 350.
6. Макаров, Ю.А. Экология и здоровье животных / Ю.А. Макаров, Н.Е. Горковенко. – Благовещенск: ДальГАУ, 2006. – 204 с.
7. Немцева, Н.В. Определение свежего фекального загрязнения воды поверхностных водоемов / Н.В. Немцева, И.А. Мисетов, Г.П. Алехина // ЖМЭИ. – 1994. – № 4. – С. 120 – 123.
8. Определитель бактерий Берджи : в 2 томах / под. ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – 432с.
9. Бухарин, О.В. Метод определения антилизоцимной активности микроорганизмов /О.В. Бухарин // ЖМЭИ. – 1984. – № 2. – С. 27 – 28.
10. Соколов, В.Ю. Ускоренный метод определения антиинтерфероновой активности бактерий / В.Ю. Соколов, А.В. Тарасевич // ЖМЭИ – 1992. – № 2. – С. 10.
11. Брудастов, Ю.А. Биологическое значение антикомплемментарной активности бактерий / Ю.А. Брудастов, Д.Г. Дерябин // ЖМЭИ – 1994. – Прил. – С. 28-31.
12. Бриллис, В.И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В.И. Бриллис, Т.А.Брилене, Х.П. Ленцнер // Лабораторное дело. – 1986. – № 4. – С.210.
13. Бриан, Л.Е. Бактериальная резистентность и чувствительность к химиопрепаратам /Л.Е. Бриан. – М. : Медицина, 1984 – 272 с.
- Тапальский, Д.В. Адгезивность и антибиотикорезистентность сальмонелл в Гомельской области / Д.В. Тапальский, В.А. Осипов, С.В. Жаворонок // ЖМЭИ. – 2004. – №2. – С.82 – 87.