

Е.Д. Савилов, Л.М. Мамонтова, Е.В. Анганова, В.А. Астафьев

УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ И ИХ РОЛЬ В ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ВОД

НИИ эпидемиологии и микробиологии ГУ НЦМЭ ВСНЦ СО РАМН, Иркутск

В статье представлены результаты многолетнего изучения микробных сообществ крупнейших водоемов Восточной Сибири – рек Ангары, Лены, Селенги, озера Байкал. Показано, что в условиях усиливающегося антропогенного воздействия на окружающую среду происходят структурные изменения сложившихся биоценозов водных объектов, повышается количество условно-патогенных грамотрицательных микроорганизмов, увеличивается доля антибиотико-резистентных штаммов бактерий.

Ключевые слова: поверхностные водоемы, условно-патогенные микроорганизмы, антибиотикорезистентность.

Как известно, по экологическому признаку все микроорганизмы подразделяются на сапрофиты, паразиты и большую группу микробов, обладающих двойственной природой, которые, приобретая способность заселять теплокровный организм и вызывать инфекционный процесс, сохранили свою способность обитать в окружающей среде. Их принято называть переходными формами, условно-патогенными или потенциально-патогенными бактериями [1]. Вместе с тем следует отметить, что нет четких критериев выделения данной группы микроорганизмов. Использование в микробиологии достижений молекулярной биологии свидетельствует об относительности деления возбудителей на официально признанные патогенные и условно-патогенные [2–4]. Это предопределяет значимость изучения данной группы микроорганизмов, в том числе в природных экосистемах.

Бытующее ранее среди некоторых эпидемиологов мнение, что внешняя среда – это кладбище для патогенных бактерий, в настоящее время претерпевает значительные изменения. Анализ фактического материала, полученного в последние годы [5–7], свидетельствует о необходимости изучения роли внешней среды в качестве резервуара ряда патогенных микроорганизмов. В этой связи следует отметить, что из различных объектов окружающей среды особую эпидемиологическую опасность представляет вода и, соответственно, водный путь передачи инфекта.

Цель исследований – оценка качества вод по распространенности и видовому разнообра-

занию условно-патогенных микроорганизмов, а также уровню их антибиотикоустойчивости.

Материалы и методы

В работе представлены результаты изучения в 1990–2005 гг. биологического загрязнения крупнейших источников водоснабжения Восточной Сибири и Севера: оз. Байкал, р. Ангара от истока до Братского водохранилища (Иркутская область), р. Селенги от Улан-Удэ до впадения в оз. Байкал (Республика Бурятия), р. Лены на всей ее протяженности, от верховья (Иркутская область) до впадения в море Лаптевых (Республика Саха (Якутия)). Указанные водоемы отличаются степенью антропогенного воздействия и имеют различия не только между собой, но и на отдельных участках каждой реки. Так, по коэффициенту комплексности воды р. Лена в черте Якутска относится к источникам II класса (в районе сброса сточных вод – III класса), ниже по течению реки, в малонаселенных местах, – к I–II классам. Качество воды Ангары в истоке относится к источникам II класса, в черте Иркутска (центральный водозабор) оценено на уровне II–III класса, Ангарска – II–III (два контрольных створа) и III–IV (фон Ангарска) классов. Качество воды р. Селенги относится к III классу.

Сбор проб воды осуществляли согласно ГОСТ 51592–2000. Концентрацию выполняли методом фильтрации воды через мембранные фильтры. Идентификацию выделенных микроорганизмов и определение их устойчивости к 12 антимикробным препаратам шести фармакологических

групп (пенициллины, цефалоспорины, аминогликозиды, фторхинолоны, тетрациклины, сульфаниламиды) осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками [8–10]. Полиантибиотико-резистентными считали микроорганизмы, устойчивые к пяти и более препаратам. Всего выделено и идентифицировано более 3500 штаммов бактерий.

Вирусы индицировали методом иммуноферментного анализа с предварительной концентрацией проб воды с использованием мембранной фильтрации. Антиген вируса гепатита А определяли на тест-системах ЗАО «Вектор-Бест», антиген ротавируса — на системах «Рота-анализ». Всего проведено около 3540 санитарно-вирусологических исследований проб воды.

Статистическую обработку материалов проводили с использованием стандартных параметрических и непараметрических критериев [11, 12], а также пакета компьютерных программ «Statistica».

Результаты и обсуждение

Проведенные многолетние исследования показывают, что в условиях активного антропогенного загрязнения вод открытых водоемов наблюдаются значительные изменения структуры их микробных сообществ, существенно увеличивается количество условно-патогенных грамотрицательных факультативно-анаэробных и аэробных микроорганизмов, повышается уровень их антибиотикоустойчивости.

Изучение микробоценозов р. Лены, являющейся основной водной артерией Республики Саха (Якутия), показало, что в структуре микробных сообществ водоема количество грамотрицательных микроорганизмов составляло незначительную долю (12,5%). Принимая во внимание, что длина Лены составляет 4400 км, а на ее берегах расположены 75 населенных пунктов, вполне естественно, что данный показатель на всей ее протяженности значительно варьировал. Например, в черте крупных городов (Якутск, Ленск) доля условно-патогенных грамотрицательных штаммов бактерий увеличилась в 2–3 раза, а в районе небольших населенных пунктов, напротив, микробное сообщество воды было представлено только грамположительными микроорганизмами. В целом, на протяжении реки от верховья до низовья (малонаселенные места) происходило изменение структуры микробоценоза в сторону уменьшения количества условно-патогенных грамотрицательных бактерий.

В истоке р. Ангары, являющейся крупнейшим источником водоснабжения Иркутской

области, в районе порта Байкал, количество грамотрицательных условно-патогенных бактерий, как и в целом по р. Лене, было небольшим (около 20 %). Другая картина наблюдалась в черте Иркутска и Ангарска, расположенных на расстоянии 60 и 90 км от истока реки соответственно. Несмотря на незначительную удаленность обоих городов от Байкала, Ангара характеризуется в этих створах существенным антропогенным прессингом. В микробных сообществах реки значительно возрастает доля грамотрицательных бактерий, составляя более половины всех штаммов (70 и 57 % соответственно). При изучении микробного пейзажа р. Селенги, биологический режим которой существенно изменен под антропогенным влиянием, установлено доминирование грамотрицательных форм бактерий (83 %).

Структурные изменения микробоценозов водных объектов в сторону увеличения доли грамотрицательных бактерий позволяют в определенной степени судить об уровне потенциальной эпидемической опасности вод, учитывая, что возбудители острых кишечных инфекций, как правило, представляют собой многочисленные роды семейства *Enterobacteriaceae* и неферментирующих бактерий.

Проведенные исследования также показали изменение таксономической характеристики и видового разнообразия микробных сообществ водоемов по мере нарастания антропогенного воздействия на водоемы. В частности, из воды Лены были выделены условно-патогенные бактерии, относящиеся к 14 видам. Оценка доминирующих видов грамотрицательных бактерий микробных сообществ исследованных водных объектов показала, что в воде р. Лены доминировали энтеробактерии (83,1 %). Среди них около половины (42,5 %) составили штаммы *E.coli*. Широко (21,0 %) были распространены штаммы рода *Enterobacter*, представленные микроорганизмами четырех видов, среди которых типовой вид (*E. cloacae*) встречался наиболее часто. Кроме того, среди энтеробактерий следует отметить выделение штаммов *Proteus*, *Serratia* и *Klebsiella*. Кроме энтеробактерий, в биоценозе воды р. Лены присутствовали неферментирующие грамотрицательные бактерии, хотя они были менее значимы (7,8 %), а также бактерии семейства *Vibrionaceae* (9,1 %), представленные штаммами рода *Aeromonas*.

В р. Ангаре в черте Иркутска и Ангарска, по сравнению с истоком реки, где идентифицированы три вида микроорганизмов, спектр

грамотрицательных бактерий значительно увеличился и достиг 18 видов. В микробоценозе истока этой реки (район порта Байкал) были выделены бактерии родов *Citrobacter* *Enterobacter*. В черте Иркутска и Ангарска в микробных ассоциациях реки преобладала *E. coli*, составляя около трети всех изолятов. Наряду с ними значительной была частота встречаемости штаммов *Enterobacter*, *Citrobacter* и *Arizonae*. Кроме того, идентифицированы бактерии родов *Serratia*, *Klebsiella* и *Proteus*, однако частота их выделения была незначительной (2–4 %). Характерной чертой микробоценоза данного участка реки является довольно высокая частота встречаемости штаммов *Ps. aeruginosa*. Также среди грамотрицательных бактерий выделены представители *Acinetobacter*.

Братское водохранилище испытывает на себе воздействие сбросов промышленных и хозяйственно-бытовых сточных вод из очистных сооружений Иркутска, Ангарска, Усолья-Сибирского и других населенных пунктов Иркутской области, что приводит к дальнейшему ухудшению качества воды, это отразилось на количественном составе микробных ассоциаций (выявлены штаммы бактерий 23 видов, 10 родов). Здесь преобладали бактерии родов *Citrobacter*. Также широкое распространение получил штаммы *E. coli*.

В р. Селенге (в районе Улан-Удэ) количественная характеристика микробоценоза водоема оказалась еще шире и включала уже 27 видов микроорганизмов. В отношении данного водоема следует отметить, что его микробное сообщество было разнообразно и представлено бактериями многих таксономических групп. При этом особенностью микробоценоза р. Селенги была высокая частота встречаемости штаммов *Ps. aeruginosa*, которые вместе с *E. coli* составили половину всех выделенных микроорганизмов. Кроме того, значительную часть полученных бактерий составляли *Klebsiella*, *Enterobacter* и *Alcaligenes*. Также были идентифицированы штаммы *Citrobacter*, *Serratia*, *Proteus* и др.

Следующим этапом изучения микробных сообществ водных объектов было определение антибиотикорезистентности бактерий, являющейся одним из информативных показателей антропогенной нагрузки на водоемы. Исследованиями ряда авторов показано, что в объектах, загрязненных сточными водами, создаются благоприятные условия для формирования и сохранения резистентных штаммов [7, 13, 14]. Результаты исследований показали, что час-

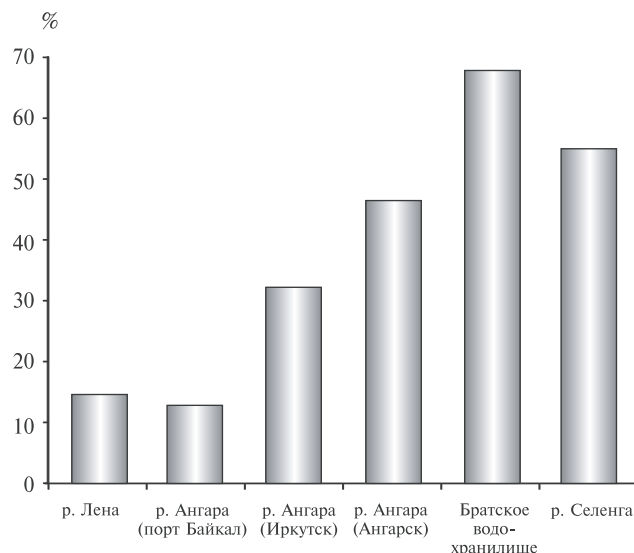


Рис. 1. Доля полиантибиотико-резистентных бактерий микробных сообществ некоторых водоемов Сибири

тота встречаемости антибиотико-устойчивых штаммов бактерий водных экосистем зависит от степени антропогенного загрязнения их среды обитания. Например, в р. Лене отмечена низкая доля резистентных штаммов бактерий (16,7%). В то же время в районах крупных городов (Ленск, Якутск), расположенных на берегах этой реки, частота встречаемости бактерий с множественной антибиотикорезистентностью оказалась достоверно ($p < 0,01$) выше (48,3 и 41,8 % соответственно). В истоке Ангары (порт Байкал) количество устойчивых к антибиотикам штаммов бактерий составило 15,4 %, а в черте Иркутска и Ангарска данный показатель оказался достоверно выше ($p < 0,01$) и составил 36,0 и 48,9 % соответственно. Наибольшая частота встречаемости штаммов с множественной резистентностью (более половины всех штаммов) выявлена у микроорганизмов Братского водохранилища и р. Селенги (рис. 1).

Кроме того, установлено, что в Лене доминировали микроорганизмы со спектром резистентности к 3–5 антибиотикам. Отличительная особенность микробоценоза р. Лены – присутствие бактерий (5,3 %), чувствительных ко всем протестированным антимикробным препаратам. В Ангаре и Селенге такие микроорганизмы отсутствовали. Штаммы бактерий, выделенные в истоке Ангары, характеризовались фенотипами с детерминантами устойчивости к 1–2 антибиотикам, а в черте Иркутска и Ангарска к 5–6 антимикробным препаратам. Микроорганизмы, полученные из Селенги, облада-

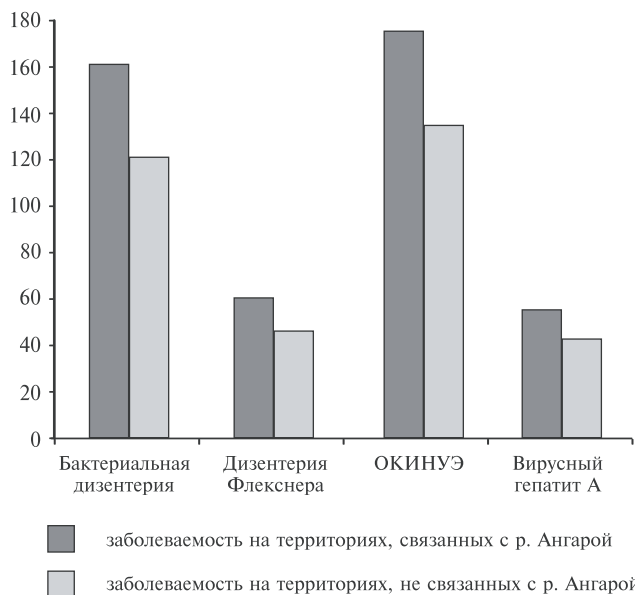


Рис. 2. Заболеваемость инфекциями, имеющими водный путь передачи (Иркутская область)

ли самым широким спектром резистентности (к 5–10 антимикробным препаратам).

Различия в уровне антибиотикоустойчивости микроорганизмов в исследуемых водоемах подтверждены и в отношении возбудителей, относящихся к группе условно-патогенных бактерий, выделенных от больных бактериальными острыми кишечными инфекциями в городах Иркутске, Ангарске, Якутске. Так, количество полиантибиотико-резистентных копрокультур составляло в Ангарске 95,7, в Иркутске – 74,1, в Якутске – 48,2 %. При этом возбудители кишечных инфекций в Иркутске имели фенотипы антибиотикоустойчивости преимущественно к 6–10 антимикробным препаратам, в Ангарске к 10–12, в Якутске – к 1–4 антибиотикам.

Как видно из представленных данных, имеется отчетливая связь между антибиотикоустойчивостью условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из источников водоснабжения, и аналогичными показателями возбудителей инфекционных заболеваний. В этой связи несомненный интерес представляет сравнение полученных результатов по изучению микробиоценозов водоемов с данными по заболеваемости различными формами острых кишечных инфекций, для которых водный путь передачи является бесспорно установленным. Указанное сопоставление проведено на примере основного источника водоснабжения Иркутской области – р. Ангары. В Иркутской области многолетняя заболеваемость кишечными инфекци-

ями, имеющими водный путь передачи, достоверно превышает аналогичные показатели по Российской Федерации. Проведенный анализ показал, что в районах, для которых оз. Байкал является основным резервуаром водоснабжения, уровень заболеваемости инфекциями с водным путем передачи инфекта достоверно ниже ($p < 0,05$), чем на территориях, использующих воду для питьевых целей из Ангары. Кроме того, заболеваемость кишечными инфекциями населения области, которое использует для питьевых целей воду р. Ангары, достоверно превышает аналогичные показатели для групп населения, использующего другие источники водоснабжения (рис. 2).

Особого обсуждения требует проблема загрязнения водоисточников и питьевой воды патогенными вирусами, специфической особенностью которой является способность вирусов сохраняться несколько месяцев или даже лет в водах различного качества. При этом длительность сохранения вирусов в воде значительно увеличивается при понижении температуры, что имеет существенное значение в условиях Сибири.

Исследования на наличие маркеров вируса гепатита А и ротавируса р. Ангары и питьевой воды в городах Иркутской области показали довольно широкое распространение указанных патогенов. При этом в Ангаре доля проб с присутствием маркеров патогенных вирусов колебалась от 1 до 29 %. И хотя частота индикации патогенных вирусов на обследованных участках была неравномерной, выявлена высокая приуроченность положительных проб к местам с неблагоприятным качеством вод по микробиологическим показателям.

Подводя итоги, следует отметить, что под воздействием деятельности человека происходят значительные нарушения эволюционно сложившихся водных биоценозов, наблюдаются их структурные изменения, существенно увеличивается количество условно-патогенных грамотрицательных микроорганизмов, изменяется их видовое разнообразие. Кроме того, имеет место замещение антибиотико-чувствительной микрофлоры на резистентную: условно-патогенные микроорганизмы, выделенные из водных экосистем в районах с высокой степенью антропогенного загрязнения, характеризуются множественной антибиотикоустойчивостью и преобладанием фенотипов с детерминантами резистентности к 6–12 препаратам.

Сложность взаимосвязей в микробных сообществах, их изменчивость и непредсказуемость всех возможных результатов воздействия со сто-

роны человека обуславливают необходимость совершенствования микробиологического мониторинга окружающей среды. В условиях антропогенного загрязнения природных экосистем микробиологический мониторинг приобретает дополнительные особенности, позволяющие интерпретировать его результаты не только в санитарно-эпидемиологических прогнозах, но и обозначить, в каком направлении идут изменения микробных сообществ с общеэкологических позиций.

CONDITIONALLY – PATHOGENIC MICROORGANISMS IN WATER OBJECTS EASTERN SIBERIA AND THEIR ROLE IN QUALITY EVALUATION OF WATERS

E.D. Savilov, L.M. Mamontova, E.V. Anganova, V.A. Astaf'ev

In the article results of long-term studying of microbial communities of the largest reservoirs of Eastern Siberia – the rivers of Angara, Lena, Selenga, lake Baikal are submitted. It is shown, that in conditions of amplifying anthropogenous influence on an environment there are structural alterations usual microbial communities water objects, the quantity conditional – pathogenic gramnegative microorganisms raises, the share antibiotic resistance bacteria is increased.

Литература

1. Калина Г.П. Микроэволюция антропофильных прокариот как фактор изменения активности эпидемических процессов. Микроэволюция патогенности // Ж. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. 1991. 5. 71–74.
2. Фролов А.Ф., Зарицкий А.М., Фельдман Ю.А. Еще раз об условной патогенности микроорганизмов (ответ оппоненту) // Ж. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. 1989. 5. 96–98.
3. Петровская В.Г., Бондаренко В.М. Общие принципы генетического контроля патогенности бактерий // Ж. микробиологии, эпидемиологии, иммунологии. 1994. 3. 106–110.
4. Бондаренко В.М., Петровская В.Г., Нестерова Н.И. Проблема патогенности клебсиелл. Ульяновск, 1996.
5. Бухарин О.В., Литвин В.Ю. Патогенные бактерии в природных экосистемах. Екатеринбург: УрО РАН, 1997. 277 с.
6. Сомов Г.П., Литвин В.Ю. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий: Экологические аспекты. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1988. 208 с.
7. Мамонтова Л.М., Савилов Е.Д., Протодьяконов А.П. и др. Инфекционная «агрессивность» окружающей среды. Концепция микробиологического мониторинга. Новосибирск: Наука, 2000. 240 с.
8. Покровский В.И., Поздеев О.К. Медицинская микробиология. М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА, 1998. 1200 с.
9. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клиничко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ МЗ СССР от 22.04.85. № 535. Москва, 1985. 125 с.
10. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.
11. Амшарин Н.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Медгиз, 1962. 180 с.
12. Савилов Е.Д., Мамонтова Л.М., Астафьев В.А. и др. Применение статистических методов в эпидемиологическом анализе. М.: МЕДпресс-информ, 2004. 112 с.
13. Мойсеенко Н.Н. Характеристика санитарно-бактериологического состояния прибрежной морской воды с изучением распространения резистентных к антибиотикам штаммов клебсиелл и псевдомонас аэругиноза // Гигиенические аспекты изучения биологического загрязнения объектов окружающей среды: Тез. докл. X всесоюзной конф. «Гигиеническое изучение биологического загрязнения окружающей среды и разработка оздоровительных мероприятий». Москва, 1988. 98–99.
14. Савилов Е.Д., Долженко Ю.А., Протодьяконов А.П. и др. Эколого-эпидемиологическая оценка качества вод реки Лены. Новосибирск: Наука, 2006. 136 с.