

ПРОБЛЕМЫ

ПРОВ 2010

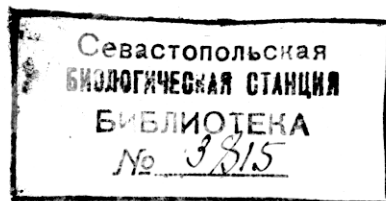
АКАДЕМИЯ НАУК
СОЮЗА СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

ТРУДЫ СЕВАСТОПОЛЬСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ

ИМЕНИ А. О. КОВАЛЕВСКОГО

Том VI

1872 — 1947



ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА 1948 ЛЕНИНГРАД

Ф. И. КОПН и С. Б. БАСИНА

К ВОПРОСУ О ВЫЖИВАНИИ МИКРОБОВ КИШЕЧНО-ТИФОЗНОЙ ГРУППЫ В МОРСКОЙ ВОДЕ

При исследовании роли канализации в загрязнении бухты нами было установлено наличие кишечной палочки в тех местах, которых воды коллектора в момент взятия пробы не достигали. Такое явление можно было объяснить либо случайным загрязнением, либо тем, что кишечная палочка способна более или менее длительное время существовать в морской воде.

Так как эти находки не были единичными, то более вероятным казалось второе предположение. Нам не удалось найти в доступной нам литературе каких-нибудь указаний на длительность выживания микробов кишечнотифозной группы в воде Черного моря. Вопросу о выживании патогенных микробов в морской воде посвящен ряд работ. Первая такая работа была проведена, повидимому, Никати и Ритшем (Nicati et Rietsch) в 1886 г. в Марселе. Вскоре была опубликована работа де Гиакса (de Giacha, 1889), проводившего санитарно-бактериологические исследования в Неаполитанской бухте. Он высказал предположение, что большинство микробов, попадающих в море из канализационных стоков, более или менее быстро отмирают в морской воде. Причиной этого отмирания де Гиакса считал конкуренцию, возникающую между обычными гнилостными и патогенными микробами, причем одни виды (*B. typhi*, *Staphylococcus*) выдерживают такую конкуренцию относительно долго, другие (*B. anthracis*, *B. cholera*) гибнут быстро. Рассель (Russel), который также проводил исследования в Неаполитанской бухте, не обнаружил патогенных микробов в морской воде. Цобелл (Zobell, 1946) не мог обнаружить кишечной палочки ни в одной из 960 проб морской воды, взятых в местах, где загрязнение с суши было исключено. Отто и Нейман (Otto u. Neumann) выделили из воды Атлантического океана микробов, близких к кишечной палочке. Близкие к кишечной палочке формы были обнаружены в 1929 г. в морской воде (Clyde sea) Ллойдом (Lloyd, 1930), а в Кильской бухте Граммом (Gramm, 1936) и Кли (Klie, 1935). Сталибасс (1936) указывает, что развитие патогенных микробов вне организма наблюдается редко и касается главным образом спорообразующих видов (столбняк, сибирская язва) и некоторых кишечных бактерий. Так, палочка брюшного тифа сохраняется в чистой воде до 3.5 месяцев, но в загрязненных водах она остается живой только несколько дней. Фильд нашел, что палочка брюшного тифа выживает в соленой воде 6—8 дней, Хердман и Бойс находили ее до 23-го дня, Белстрод и Клейн — до 4 недель, Сопер — 2—3 недели. Жизнеспособность палочки брюшного тифа в морской воде доказывают случаи заражения при купании в местах, загрязненных сточными водами (Сталибасс, 1936).

Переходим к собственным исследованиям. В качестве среды были использованы:

1) морская вода, профильтрованная через обыкновенный бумажный фильтр (первая серия);

2) морская вода, стерилизованная в автоклаве при 120° в течение полу-часа (вторая серия);

3) морская вода, стерилизованная фильтрованием через свечу Берксфельда (третья серия).

4) морская вода, простерилизованная фильтрованием через мембранный фильтр (четвертая серия).

Три последние серии перед опытом проверялись на стерильность. pH всех сред колебался от 7.8 до 8.8.

В качестве штаммов для посева служили: четыре штамма *B. typhi* (*Eberthella typhi*), выделенные С. Б. Басиной из крови больных в Севастополе, один штамм *B. typhi*, полученный из Бакинститута им. Мечникова (Москва), и один штамм, полученный из Ростовского бакинститута. Кроме того, С. Б. Басиной был использован штамм *B. coli* (*Escherichia coli*). Все перечисленные штаммы были вполне типичны по своим морфологическим, биохимическим и серологическим свойствам.

Каждая серия морской воды разливалась в ряд пробирок, и посев штамма производился в нисходящих количествах. В первую пробирку серии засеивалось 50 млн. микробов, во вторую 25 млн., в третью 2.5 млн., в четвертую 500 тыс., в пятую 100 тыс., в шестую 5 тыс.

С этих посевов на морскую воду ежедневно производились пересевы петлей на слабощелочной мясопептонный агар. Начиная с пятых суток, пересевы производились уже не петлей, а пипеткой (0.5 мл) на среды обогащения: желчь и среду Мюллера. Полученные таким образом вторично из морской воды культуры (ретрокультуры) подвергались изучению с точки зрения их биохимических свойств и агглютинабельности.

Опыт проводился при комнатной температуре (12—14° C), все посевы как на косой агар, так и на среды обогащения помещались в термостат при 37° и наблюдались в течение пяти суток. Если к этому времени посевы не давали роста, мы считали результат отрицательным.

Три последних опыта были, по техническим условиям, поставлены в несколько сокращенном виде: вместо шести пробирок в каждой серии воды брались только три, со следующими количествами микробов: первая пробирка 50 млн., вторая 5 млн., третья 500 тыс.

Таблица 1

Продолжительность жизни штаммов *B. typhi* в сутках

С р е д ы	Штаммы <i>B. typhi</i>					
	Севаст. I	Севаст. II	Севаст. III	Севаст. IV	Мечн.	Рост.
Морская вода, нестерильная . .	10	12	5	10	6	6
То же, стерилизованная в автоклаве	15	13	6	28	9	17
То же, через свечу Берксфельда	—	2	8	6	3	12
» » через мембранный фильтр	5	2	6	10	2	12

В первом опыте с культурой Севаст. I третья серия морской воды (стерилизованной фильтрованием через свечу) в опыте не участвовала. Все серии морской воды к каждому опыту готовились заново (см. табл. 1).

Из данных таблицы видно, что наиболее длительное выживание палочки брюшного тифа наблюдается в морской воде, простерилизованной в автоклаве.

Средняя продолжительность выживания *B. typhi* (в сутках) в различных сериях морской воды показана ниже.

Морская вода, нестерильная	8.1
То же, стерилизованная в автоклаве	14.7
» » через свечу Берксфельда	6.2
» » через мембранный фильтр	6.2

Как можно было ожидать заранее, время выживания в значительной мере зависит от жизнеспособности штамма, что ясно показывают следующие данные:

Севаст. I	10
Севаст. II	7.2
Севаст. III	6.2
Севаст. IV	13.5
Мечн.	5.0
Рост.	11.2

Эта разница в жизнеспособности отдельных штаммов позволяет понять, почему разные авторы дают чрезвычайно различающиеся между собой цифры выживаемости палочки брюшного тифа в соленой воде. При проверке вторично выделенных из морской воды штаммов было установлено, что биохимические свойства их изменились незначительно, агглютинабельность же в некоторых опытах сильно понизилась. Так, штамм «Рост» имел перед опытом титр 1 : 3200, а выделенный вторично из морской воды показал титр 1 : 400. Еще сильнее это сказалось на штамме «Севаст. IV»: до опыта 1 : 25 тыс., после опыта 1 : 50.

Во всех сериях можно было наблюдать значение количества употребленных для посева микробов. Чем большей была доза посевов, тем дольше удавалось выделять жизнеспособных микробов из морской воды. Как правило, последняя пробирка, содержащая всего 500 тыс. или (в сокращенных сериях) 5 тыс. микробов, раньше других давала отрицательный результат при пересевах на среды обогащения. За ней следовала предпоследняя пробирка, и, наконец, дольше всего можно было обнаружить микробов в первой пробирке, где массивность посева была относительно велика — 50 млн.

Это дает возможность предполагать, что размножение палочки брюшного тифа в морской воде не происходит, а, наоборот, микробы постепенно отмирают. В пресной воде кишечная палочка может жить очень долго. Буссон (Busson, 1929) производил посев кишечной палочки в пробирки с дистиллированной водой и наблюдал вполне жизнеспособных бактерий еще через $6\frac{3}{4}$ года.

Как уже упоминалось выше, де Гиакса (1889) высказал предположение, что причиной гибели патогенных микробов в морской воде является конкуренция с другими микробами. Это мнение было подтверждено авторитетной комиссией (Letters Reports..., 1903). Из того, что в рапе и грязи Тимбуканского озера *B. coli*, *B. typhi* и *B. paratyphi* выживали свыше 60 дней (Свешникова), явствует, что в данном случае на микробов действует

не концентрация солей. В старорусской грязи палочка брюшного тифа могла быть обнаружена до 218-го дня (Иванов), а по опытам Рубенчика (1932) кишечная палочка выживает в рапе одесских лиманов 29—34 дня. Угнетающее действие сказывается только тогда, когда концентрация солей достигает 20° по Боме (Рубенчик и др., 1932).

Наши опыты констатируют, что в стерильной морской воде палочка брюшного тифа выживает почти вдвое дольше, чем в нестерильной.

Несколько неожиданной является малая жизнеспособность палочки брюшного тифа в морской воде, простерилизованной фильтрованием через свечу или мембранный фильтр. Здесь невольно возникает предположение о наличии литического фактора, может быть фага. Неодинаковое реагирование различных примененных в опыте штаммов на его присутствие может быть объяснено тем, что для каждого опыта бралась свежая морская вода и, следовательно, количество этого фактора могло колебаться, а также различной резистентностью штамма в отношении фага. Несмотря на то, что колебания выживаемости на этой среде для различных штаммов были довольно значительны, средняя выживаемость в воде, простерилизованной фильтрованием, наименьшая: 6.2 суток. Срок этот совершенно одинаков как для воды, профильтрованной через свечу, так и через мембранный фильтр. Наша работа в основном была проделана в 1936—1938 гг. В 1938 г. была опубликована работа Красильникова (1938), обнаружившего в воде Черного моря вещества бактерицидные для выделенных с суши бактерий. В опубликованной в 1946 г. «Морской микробиологии» Цобелла (1946) приведена (на стр. 183) таблица, из которой видно, что в профильтрованной через свечу Берксфельда морской воде бактерии сточных вод уменьшались в числе гораздо быстрее, чем в простерилизованной в автоклаве.

Опыты с кишечной палочкой, проведенные по той же методике, показали, что до 17 суток рост наблюдался во всех пробирках всех серий. Через 20 суток кишечная палочка совершенно исчезла из нестерильной морской воды (первая серия), а в воде, простерилизованной фильтрованием через свечу, она могла быть обнаружена только в первой пробирке (посев 50 млн.).

В воде, простерилизованной в автоклаве, можно было обнаружить жизнеспособных кишечных палочек значительно дольше. Еще на 33-и сутки их можно было найти в тех пробирках этой серии, где посев был не меньше 5 млн. К этому времени опыт, по техническим условиям, пришлось прекратить, но уже на 23-и сутки было обнаружено, что биохимические свойства кишечной палочки претерпели изменения; глюкоза не сбраживалась, лактоза сбраживалась очень слабо.

Таким образом, наши опыты с кишечной палочкой подтвердили уже наметившуюся закономерность: наиболее длительный срок выживания наблюдается в стерильной морской воде, не содержащей ни других микробов, ни лизирующего фактора.

Проведенные нами серии опытов позволяют сделать некоторые выводы:

1. Размножение взятых для опыта микробов кишечного-тифозной группы в морской воде не происходит.
2. Массивность засева сказывается в смысле более длительного нахождения жизнеспособных особей.
3. Наиболее длительный срок выживания наблюдается в морской воде, простерилизованной в автоклаве.
4. Более короткий срок выживания в нестерильной морской воде может быть объяснен влиянием конкуренции с другими микробами.

5. Наиболее короткий срок выживания в профильтрованной через свечу или мембранный фильтр морской воде позволяет предположить наличие в последней вредного для микробов фактора.

6. Различные штаммы одного и того же вида дают различную длительность выживания (от 6 до 28 дней).

7. Пребывание в морской воде может отражаться на изменении как биохимических свойств, так и агглютинабельности микробов.

ЛИТЕРАТУРА

- Красильников. Бактерицидность морской воды. Микробиология, 1938, VII.
Рубенчик, Гойхерман и Райх. О выживаемости болезнетворных бактерий в грязи и рапе одесских лиманов. Труды Всеукр. бальнео-физ.-терап. ин-та, вып. 4, 1932, Одесса.
Сталлибрасе. Основы эпидемиологии. Биомедгиз, 1936.
Busson (цит. по Lutman, Microbiology, N. Y., 1929).
De Giæxa. Ueber das Verhalten einiger pathogener Mikroben im Meerwasser. Zeitschr. f. Hyg., 1889, 6 (цит. по Benecke).
Gramm. Die Kieler Bucht als Verfluter für städtische Abwässer. Kieler Meeresforschungen, 1936, Bd. 1, H. 1.
Klie. Der Nachweis von Keimen der Art *Bacterium coli* und deren Formen in der Kieler Bucht. Dissertation. Kiel, 1935 (цит. по Gramm).
Letts Reports of the Royal Commission on Sewage Disposal, 1903, vol. II, N 3 (цит. по Lloyd).
Lloyd. Bacteria of Clyde sea area. A quantitative Investigation. Journ. Mar. Biol. Assoc., N. S., 1930, vol. XVI, N 3.
Nicati et Rietsch (цит. по Benecke Bacteriologie des Meeres. Handb. d. biologischen Arbeitsmethoden, 1933, Teil 5, H. 6).
Zobell. Marine microbiology. 1946.