

## ГАЛОТОЛЕРАНТНОСТЬ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВОДЫ И РЫБЫ В ДЕЛЬТЕ РЕКИ ВОЛГИ

<sup>1</sup>ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет», 414056, Астрахань; <sup>2</sup>ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный университет», 414056, Астрахань

*В статье представлены результаты исследования галотолерантности энтеробактерий, выделенных из воды и рыбы в дельте р. Волги, которые были доминирующими в микробном пейзаже данных биотопов. Их галотолерантность изучали путем посева суточных чистых культур на мясо-пептонный бульон (МПБ) с 3,0, 7,0 и 10,0% содержанием хлорида натрия; инкубировали при 37° С. Установлено, что вся исследованная микрофлора имела значительные показатели галотолерантности с превалированием у водных изолятов. Причем в 3,0 и 7,0% концентрациях с NaCl они были весьма близки, но в 10,0%-ном бульоне с NaCl галотолерантность водных штаммов была почти в 2,0 раза выше, чем рыбных. Среди выделенных энтеробактерий наиболее галофильными оказались бактерии группы протея, цитробактеры и энтеробактеры. Галотолерантность выделенных энтеробактерий в гидроэкосистеме дельты р. Волги имела сезонную специфичность и динамичность. Установлен динамичный рост этого признака у водных и рыбных штаммов от весны к осени. Таким образом, анализ результатов многолетнего исследования показал широкое распространение условно-патогенных энтеробактерий в воде и рыбе, их высокую галотолерантность и способность некоторых из них оставаться жизнеспособными до изготовления соленой продукции. Это дает основание рекомендовать необходимость введения в нормативную документацию при осуществлении санитарно-микробиологического контроля не только сырья, но и готовой соленой рыбопродукции.*

Ключевые слова: энтеробактерии; галотолерантность; сезонная динамика; дельта р. Волги; вода; рыба.

Для цитирования: Гигиена и санитария. 2015; 94(5): 28-30.

### Obukhova O.V., Lartseva L.V. HALOTOLERANCE OF ENTEROBACTERIA ISOLATED FROM WATER AND FISH IN THE VOLGA RIVER DELTA

Astrakhan State Technical University", Astrakhan, Russian Federation; 414056

*In the article there are presented the results of a study of halotolerance of enterobacteria isolated from water and fish in the Volga River delta, which were dominant in the microbial landscape of these biotopes. Their halotolerance was studied by means of inoculation of daily pure cultures of meat - peptone broth with 3, 7 and 10 % of sodium chloride and incubation at 37°C. At that all studied microflora was found to have significant indices of halotolerance with a predominance of aquatic isolates. At that in 3,0 and 7,0 % NaCl concentrations were very similar; but in 10% NaCl broth the halotolerance of water strain was almost 2,0 times higher than the in fish ones. Among isolated Enterobacteriaceae most halophilic bacteria were from the Proteus group, Citrobacteria and Enterobacteria. The halotolerance of isolated enterobacteria in hydroecosystem of the Volga River delta had seasonal specificity and dynamics. There was established the dynamic growth of this sign in the water and fish strains from spring to autumn. Thus, the analysis of the obtained results of the long-term conducted study has shown the wide dissemination of conditionally pathogenic enterobacteria in water and fish, and their high halotolerance and the ability of some of them to remain viable up to salt production. It gives grounds to recommend the necessity of the introduction of them into the normative documentation in the implementation of the sanitary-microbiological control of not only raw materials but also ready salted fish production.*

Key words: enterobacteria; halotolerance; seasonal dynamics; Volga River delta; water; fish.

Received 17.04.14

Citation: Gigena i Sanitariya. 2015; 94(5): 28-30. (In Russ.)

Условно-патогенные микроорганизмы, обитающие в гидроэкосистемах, относятся к факультативным галофилам. В то же время существует группа бактерий умеренных галофилов, которые растут при концентрации соли 5–15%. Основным механизмом приспособления к осмотическому состоянию среды служит синтез микроорганизмами осмопротекторов (осмолитов) – низкомолекулярных органических веществ (аминокислоты и их производные, сахара и гетерогликозиды), концентрация которых в цитоплазме уравнивает внешнее давление. Их состав зависит от концентрации NaCl в среде и не одинаков у разных микроорганизмов [7].

Слабые концентрации поваренной соли обычно стимулируют, а сильные – подавляют процессы дыхания,

подвижность и спорообразование микроорганизмов. Ионы хлора в определенных концентрациях токсичны для многих видов бактерий. Кроме того, поваренная соль не только тормозит размножение клеток, но и влияет на их биохимическую активность. Показано, что по мере снижения солёности воды, увеличивалась встречаемость штаммов бактерий, обладающих некоторыми факторами патогенности (антилизоцимная, антигистонозная). При этом, выраженность персистентных свойств бактерий, в частности кишечной палочки, различалась и убывала по мере нарастания их галотолерантности. Это может объясняться ингибированием их роста по мере увеличения солёности воды [11]. Кроме того, солевые растворы подавляют протеолитическую активность бактерий, замедляют гнилостные процессы в рыбе даже тогда, когда происходит рост микроорганизмов. В то же время, обладая галофильностью, они остаются жизнеспособными до готовой соленой продукции, снижая ее пищевую цен-

Для корреспонденции: Обухова Ольга Валентиновна, obuhova-ov@yandex.ru

For correspondence: Obukhova Olga, obuhova-ov@yandex.ru.

ность [4, 3, 2, 15, 14]. Поэтому изначальное присутствие штаммов бактерий в воде и рыбном сырье, обладающих галотолерантностью можно рассматривать как явление риска. В пользу этого свидетельствуют данные о возникновении диарейных инфекций людей в связи с употреблением в пищу недоброкачественных пищевых рыбных продуктов, особенно слабого посола [13, 12].

## Материалы и методы

Сбор материала проведен в дельте р. Волги в 1995–2010 гг. (апрель – октябрь) в районах Главного, Белинского, Гандуринского банков и р. Бузан от 447 экз. свежельвовленного судака и 375 проб воды в местах его обитания. У рыб исследовали жабры, кровь, печень, почки, содержимое кишечника и мышцы, из которых выделено 883; из воды 150 штаммов энтеробактерий. Монотипность изолированных культур контролировали путем микроскопирования окрашенных по Граму мазков. Идентификацию бактерий осуществляли по определителю Берги (1997) и Ю.М. Пивоварова и В.В. Королика (2000). Их галотолерантность изучали путем посева суточных чистых культур на мясо-пептонный бульон (МПБ) с 3,0; 7,0 и 10,0% содержанием хлорида натрия; инкубировали при 37°C. Результаты учитывали через 24 и 48 часов.

Статистическую обработку проводили с использованием стандартов параметрического и непараметрического критериев, а также пакета компьютерного программирования Statistica for Windows. Значимые различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Результаты исследований, проведенные в 1995–2010 гг. в дельте р. Волги, показали, что в бактериоценозе судака и воды в местах его обитания представители сем. *Enterobacteriaceae* были доминирующими, что согласуется с ранее проведенными исследованиями в этом регионе [4, 8]. В воде они зарегистрированы в  $24,0 \pm 0,6$ ; в рыбе – в  $25,5 \pm 0,4\%$  проб ( $p < 0,05$ ). В структуре семейства бактерии группы протей (*pp. Proteus, Providencia* и *Morganella*) обсеменяли воду и рыбу в  $27,0 \pm 0,8$  и  $30,6 \pm 0,9\%$  проб; бактерии *p. Citrobacter* – в  $24,0 \pm 1,0$  и  $22,3 \pm 0,8\%$  проб, соответственно; бактерии *p. Enterobacter* – в  $12,8 \pm 0,9$  и  $17,0 \pm 0,7\%$  проб. Водные штаммы сальмонелл, клебсиелл составляли по  $3,5 \pm 0,9\%$ ; эдвардсиелл и эшерихий – по  $10,6 \pm 1,0$  и  $5,7 \pm 0,6\%$  проб. Рыбные штаммы клебсиелл и сальмонелл составляли  $0,1 \pm 0,6$  и  $2,6 \pm 0,7\%$  проб. Рыбные изоляты эдвардсиелл и эшерихий регистрировали в  $7,1 \pm 0,8$  и  $4,2 \pm 0,7\%$  проб, соответственно. Гафнии и сerratии в анализируемом материале встречались единично. При этом, кишечник был обсеменен энтеробактериями в  $29,8 \pm 0,9$ ; жабры – в  $24,9 \pm 0,9$ ; почки – в  $17,6 \pm 0,8$ ; печень – в  $15,2 \pm 0,9$ ; кровь – в  $8,9 \pm 1,0$ ; мышцы – в  $3,6 \pm 1,0\%$  случаях ( $p < 0,05$ ). Часто, особенно кишечник и жабры, были инфицированы одновременно несколькими видами энтеробактерий, что указывает на потенциальный синергизм между этими бактериями.

Представители этого семейства зарегистрированы весной в воде в  $14,2 \pm 1,0$ ; летом – в  $33,8 \pm 0,8$ ; осенью – в  $24,0 \pm 0,9\%$  проб. В рыбе – весной – в  $19,0 \pm 0,8$ ; летом – в  $32,4 \pm 1,0$ ; осенью – в  $25,2 \pm 1,2\%$  проб ( $p < 0,05$ ). Следовательно, рыбы, как пойкилотермные организмы, однозначно повторяют микробное состояние среды своего обитания, что согласуется с ранее проведенными исследованиями в этом регионе [4, 8, 6].

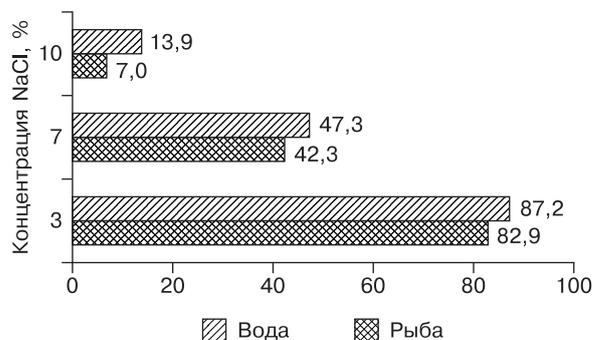


Рис. 1. Средние показатели галотолерантности энтеробактерий, выделенных из воды и рыбы

Энтеробактерии, выделенные из воды и рыбы, имели значительные показатели галотолерантности с их преобладанием у водных изолятов (рис. 1). Причем, в 3,0 и 7,0% концентрациях с NaCl они были весьма близки, отличаясь в 1,1 раза. Только в 10,0%-ном бульоне с NaCl галотолерантность водных штаммов была почти в 2,0 раза выше, чем у рыбных ( $p < 0,05$ ).

Среди выделенных энтеробактерий наиболее галотолерантными оказались бактерии группы протей, цитробактеры и энтеробактерии. Их водные штаммы оставались жизнеспособными в 3,0% - ном МПБ с NaCl в  $100,0 \pm 0,4$ ;  $73,8 \pm 0,9$  и  $70,4 \pm 0,9\%$  случаях, соответственно. Рыбные изоляты имели галотолерантность в 1,1–1,2 раза ниже. В 7,0%-ном МПБ с NaCl водные штаммы были галотолерантны соответственно в  $68,8 \pm 0,8$ ;  $52,6 \pm 1,0$  и  $47,6 \pm 1,2\%$  случаев. Изоляты, выделенные от рыб, имели показатели солеустойчивости в 1,2 раза ниже. В 10,0%-ном МПБ с NaCl водные штаммы соответственно были галотолерантны в  $30,1 \pm 0,9$ ;  $18,0 \pm 0,9$  и  $20,2 \pm 0,8\%$  случаев; их рыбные штаммы имели показатели солеустойчивости в 1,8 раза ниже ( $p < 0,05$ ).

Санитарно-значимые эшерихии и сальмонеллы оставались жизнеспособными в 3,0% хлориде натрия в  $77,9 \pm 1,2$  и  $47,8 \pm 1,0\%$ ; в 7,0% - в  $59,0 \pm 0,9$  и  $33,1 \pm 1,0\%$ ; в 10,0% -  $17,6 \pm 1,4$  и  $9,2 \pm 1,2\%$  случаев, соответственно ( $p < 0,05$ ). Похожая тенденция была отмечена и ранее [4, 8, 6].

Галотолерантность выделенных энтеробактерий в гидросистеме дельты р. Волги имела сезонную специфичность и динамичность. Фактические материалы, приведенные на рис. 2, свидетельствуют о значительной

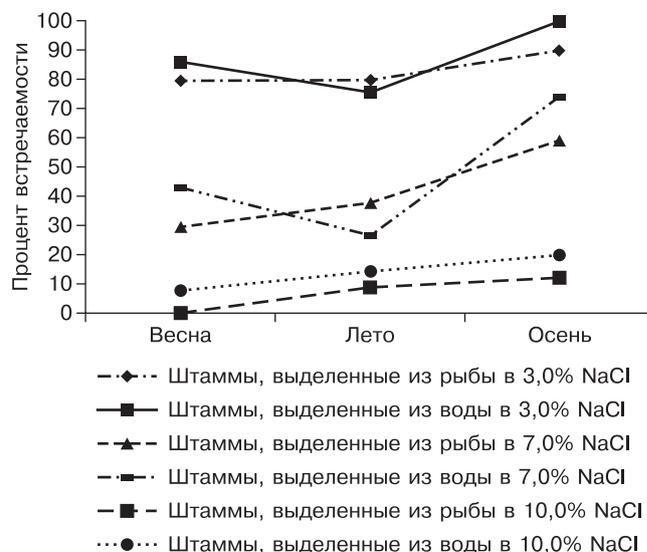


Рис. 2. Сезонная динамика галотолерантности выделенных из воды и рыбы энтеробактерий.

сезонной гетерогенности галофильного признака у анализируемой группы бактерий. Они показывают стимулирующую роль 3,0% концентрации хлорида натрия в развитии всех бактерий этого семейства.

Определенное их преобладание в рыбе по сравнению с водой в летний сезон скорее всего обусловлено миграцией морских штаммов бактерий с самой рыбой, поскольку летом начинается массовый ход судака из морской в речную экосистему, который заканчивается осенью. В этот же сезон нами отмечена тенденция увеличения галофильности водных штаммов, вероятно, связанная с повышением солености северокаспийских вод в результате нагонных морянных ветров, перемещающих в дельте морскую и пресную воду, поднимая ее уровень на 1 м. Как следствие, осенью увеличились показатели галотолерантности в 7,0% МПБ с NaCl энтеробактерий, выделенных в обоих биотопах. В пользу этого свидетельствуют данные по их жизнеспособности в 10,0% растворе с NaCl. На рис. 2 показан динамичный рост этого признака у водных и рыбных штаммов от весны к осени. Возможность длительного существования энтеробактерий в речных и морских экосистемах, обладающих факторами патогенности, отмечена ранее в литературе [5, 6, 9].

Результаты микробиологического анализа икры осетровых по мере ее технологической обработки показали наличие в соленом продукте перед его стерилизацией цитробактеров и протеев. Эти же бактерии выделяли из готовых балыков осетровых, в консервах из леща перед их стерилизацией [4].

Таким образом, анализ полученных результатов, проведенного многолетнего исследования показал широкое распространение условно – патогенных энтеробактерий в воде и рыбе, их высокую галотолерантность и способность некоторых из них оставаться жизнеспособными до соленой продукции, дает основание рекомендовать необходимость их введения в нормативную документацию при осуществлении санитарно-микробиологического контроля не только сырья, но и готовой соленой рыбопродукции.

#### Литература (п.п. 14–16 см. References )

1. Хоулт Дж., Криг Н. *Определитель бактерий Берджи*. М.: Издательство Мир; 1997.
2. Дараселия Г.Я. *Биологическая безопасность продуктов питания: Учебник*. Астрахань: Издательство АГТУ; 2006.
3. Долганова Н.В., Першина Е.В., Хасанова З.К. *Микробиология рыбы и рыбных продуктов*. М.: Мир; 2005.
4. Ларцева Л.В. *Гигиеническая оценка по микробиологическим показателям рыбы и рыбных продуктов Волго-Каспийского региона*: Дисс. ... докт. биол. наук. М.; 1998.
5. Ларцева, Л.В., Обухова О.В., Лисицкая И.А. *Микрофлора рыб и других гидробионтов: Учебное пособие*. Астрахань: Издательский дом «Астраханский университет»; 2008.
6. Лисицкая И.А. *Бактериальные сообщества некоторых компонентов экосистемы дельты Волги и Северного Каспия*: Дисс. ... канд. биол. наук. Астрахань; 2008.
7. Нетрусов А.И., ред. *Экология микроорганизмов: Учебник для студентов вузов*. М.: Издательский центр «Академия»; 2004.
8. Обухова О.В. *Бактериоценоз воды и судака (Stizostedion lucioperca) в дельте Волги*: Дисс. ... канд. биол. наук. М.; 2004.
9. Обухова О.В., Ларцева Л.В., Лисицкая И.А. Факторы патогенности условно-патогенных энтеробактерий в гидроэко-системе дельты реки Волги. *Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство*. 2013; 3: 58–66.
10. Пивоваров Ю.П., Королик В.В. *Санитарно-значимые микроорганизмы*. М.: Издательство «ИКАР»; 2000.
11. Селиванова Е.А., Немцова Н.В. Персистентные свойства микроорганизмов, обитающих в высокоминерализованных водоемах. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 2012; 4: 63–6.
12. Шульгин Ю.П., Лаженцева Л.Ю., Шульгина Л.В. Гигиеническая оценка потребления и качества рыбных продуктов. *Гигиена и санитария*. 2007; 2: 39–42.
13. Шульгина Л.В., Загородная Г.И., Шульгин Ю.П., Бывальцева Т.М., Галкина Л.М. Микрофлора дальневосточных морей и ее влияние на продукцию из промышленных объектов. *Гигиена и санитария*. 1995; 1: 14–6.

#### References

1. Khoul Dzh., Krig N. *The Determinant of Bacteria Burgi [Opredelitel' bakteriy Berdzh]*. M.: Izdatel'stvo Mir; 1997. (in Russian)
2. Daraseliya G.Ya. *Biological Safety of Food: Textbook [Biologicheskaya bezopasnost' produktov pitaniya: Uchebnik]*. Astrakhan': Izdatel'stvo AGTU; 2006. (in Russian)
3. Dolganova N.V., Pershina E.V., Khasanova Z.K. *Microbiology of Fish and Fish Products [Mikrobiologiya ryby i rybnykh produktov]*. Moscow: Mir; 2005. (in Russian)
4. Lartseva L.V. *Hygienic Assessment of Microbiological Indicators of Fish and Fish Products Volga- Caspian Region*: Diss. Moscow; 1998. (in Russian)
5. Lartseva, L.V., Obukhova O.V., Lisitskaya I.A. *Microflora of Fish and Other Aquatic Organisms: Textbook [Mikroflora ryb i drugikh gidrobiontov: Uchebnoe posobie]*. Astrakhan': Izdatel'skiy dom «Astrakhanskiy universitet»; 2008. (in Russian)
6. Lysytska I.A. *Bacterial Community of Some Components of the Ecosystem of the Delta of the Volga and Northern Caspian*: Diss. Astrakhan'; 2008. (in Russian)
7. Netrusov A.I., ed. *Ecology of Microorganisms: Textbook for Students [Ekologiya mikroorganizmov: Uchebnik dlya studentov vuzov]*. Moscow: Izdatel'skiy tsentr «Akademiya»; 2004. (in Russian)
8. Obukhova O.V. *Bacteriocenosis Water and Walleye (Stizostedion lucioperca) in the Volga Delta*: Diss. Moscow; 2004. (in Russian)
9. Obukhova O.V., Lartseva L.V., Lisitska I.A. Pathogenicity factors opportunistic enterobacteria in hydroecosystems Volga delta. *Vestnik AGTU. Seriya: Rybnoe khozyaystvo*. 2013; 3: 58–66. (in Russian)
10. Pivovarov Yu.P., Korolik V.V. *Sanitary Significant Microorganisms [Sanitarно-znachimye mikroorganizmy]*. Moscow: Izdatel'stvo «IKAR»; 2000. (in Russian)
11. Selivanova E.A., Nemtsova N.V. Persistent properties of microorganisms living in highly reservoirs. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii*. 2012; 4: 63–6. (in Russian)
12. Shul'gin Yu.P., Lazhentseva L.Yu., Shul'gina L.V. Hygienic evaluation of consumption and quality of fish products. *Gigiya i sanitariya*. 2007; 2: 39–42. (in Russian)
13. Shul'gina L.V., Zagorodnaya G.I., Shul'gin Yu.P., Byval'tseva T.M., Galkina L.M. The microflora of the Far Eastern seas and its effect on production of commercial items. *Gigiya i sanitariya*. 1995; 1: 14–6. (in Russian)
14. Ganthier M.J., Munro P.M., Flatan G.N., Clement R.L., Breittmayer V.A. Nouvelles perspectives sur l'adaption des enterobacteries dans le milieu marin. *Mar. Lefe*. 1993; 3(1-2): 1–18. (in French)
15. Liston J. Microbial hazards of seafood consumption. *Food Technol*. 1990; 44 (12): 58–62.
16. Urbanova E., Manova K., Pacova Z. Bacteria of the proteal – occurrence in raw materials and food, and resistance to antibiotics. *Vet. Med*. 2000; 45 (6): 171–6.

Поступила 17.04.14