

Федеральная служба по надзору в сфере защиты  
прав потребителей и благополучия человека

ФБУН «РОСТОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
МИКРОБИОЛОГИИ И ПАРАЗИТОЛОГИИ» РОСПОТРЕБНАДЗОРА  
(ФБУН РостовНИИ микробиологии и паразитологии Роспотребнадзора)

Утверждено на заседании Ученого  
совета

ФБУН «Ростовский НИИ  
микробиологии и паразитологии»,  
Роспотребнадзора

Председатель Ученого совета,

д.м.н.

Т.И. Твердохлебова



---

Протокол № 7  
от «29» октября 2020 года



## **АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР**

**Распространение условно-патогенных бактерий в водной среде  
на территории Ростовской области**

Ростов-на-Дону

2020 г.

### Список исполнителей

Руководитель лаборатории, д.м.н.		П.В. Журавлёв
Ст. научный сотрудник, к.б.н.		Н.В. Алексанина
Мл. научный сотрудник		А.С. Калужин
Мл. научный сотрудник		Д.А. Седова

### В работе принимали участие

От Территориального управления Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Ростовской области:

**А.А. Глухов** – начальник территориального отдела Территориального управления Роспотребнадзора по Ростовской области в городах Азове, Азовском и Кагальницком районах

**В.А. Гордеев** - начальник территориального отдела Территориального управления Роспотребнадзора по Ростовской области в Цимлянском, Волгодонском, Семикаракорском, Константиновском районах

От филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в Ростовской области в г. Зернограде:

**Б.Х. Джансейидов** – главный врач филиала ФБУЗ

**Е.И. Деревякина** – заведующая баклабораторией филиала ФБУЗ

От филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в Ростовской области в Цимлянском районе:

**И.П. Казачок** – главный врач филиала ФБУЗ

**Т.Н. Черногорова** – заведующая баклабораторией филиала ФБУЗ

## Содержание

Принятые термины и сокращения.....	4
Введение.....	5
1. Современное состояние вопроса.....	6
1.1 Распространение бактерий в водной среде.....	6
1.2 Распространение бактерий в воде открытых водоёмов.....	7
1.3 Распространение бактерий в питьевой воде.....	11
1.4 Биологические свойства бактерий.....	15
1.4.1 Антибиотикоустойчивость.....	15
1.4.2 Факторы патогенности.....	17
2. Собственные исследования.....	19
2.1 Санитарно-бактериологическая характеристика воды Цимлянского водохранилища (приплотинный участок).....	19
2.2 Санитарно-бактериологическая характеристика воды Нижнего Дона.....	20
2.3 Санитарно-бактериологическая характеристика питьевой воды г. Цимлянска.....	23
2.4 Санитарно-бактериологическая характеристика питьевой воды г. Азова.....	25
2.5 Изучение устойчивости бактерий к дезинфицирующим средствам...26	
2.6 Антибиотикорезистентность <i>P. aeruginosa</i> и <i>K. pneumoniae</i> , выделенных из воды поверхностных водоёмов.....	30
2.7 Факторы патогенности <i>Klebsiella pneumoniae</i> и <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , выделенных из воды поверхностных водоемов в гг. Ростов-на-Дону и Азов в период 2017 – 2019 гг. ....	33
2.8 Разработка питательной среды для выделения <i>Pseudomonas aeruginosa</i> из водных объектов.....	36
Список литературы.....	46

## **Принятые термины и сокращения**

СГМ – социально-гигиенический мониторинг

УПБ – условно-патогенные бактерии

ОКИ – острые кишечные инфекции

ОКЗ – острые кишечные заболевания

СП – синегнойные палочки

ОКБ – общие колиформные бактерии

ЛКП/ОКБ – лактозоположительные общие колиформные бактерии

ОКБ – общие колиформные бактерии

ТКБ – термотолерантные колиформные бактерии

ГКБ – глюкозоположительные колиформные бактерии

ППМ – потенциально патогенные бактерии

КОЕ – число образующих колонии бактерий

НВЧ – наиболее вероятное число

КОЕ – число образующих колонии бактерий

МПА – мясо-пептонный агар

## Введение

Государственная политика России в медико-социальной сфере направлена на сохранение и укрепление здоровья граждан страны. Решение такой крупномасштабной задачи невозможно без детального гигиенического обоснования комплекса природоохранных мер, без выделения приоритетных направлений, выбора необходимых подходов и расчёта эффекта от их применения. Поэтому в Концепции национальной безопасности Российской Федерации важное значение придаётся вопросам взаимодействия ведомств, ответственных за здоровье населения и ведение социально-гигиенического мониторинга (СГМ), что подтверждается в Законе РФ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30.03.1999г. за № 52 – ФЗ (ред. от 13.07.2020) и Постановлении Правительства РФ от 02.02.2006 г. № 60 (ред. от 25.05.2017), которым утверждено «Положение о проведении социально-гигиенического мониторинга». Введение мониторинга позволяет на государственном уровне проводить систему наблюдений, анализа, оценки и прогноза состояния здоровья населения и среды обитания человека, а также определение связи состояния объектов окружающей среды и здоровья человека.

В современных условиях здоровье населения во многом определяется воздействием факторов окружающей среды, которые, по мнению экспертов, ВОЗ обуславливают до 20 % всех заболеваний. Состояние здоровья общества на 20-30 % зависит от решения экологических проблем и лишь на 15-20 % от развития системы здравоохранения.

В настоящее время специалисты в области здравоохранения и охраны окружающей среды отдают приоритетную значимость состоянию водной среды [1, 2].

Данные целенаправленных исследований последних десятилетий показывают, что качество воды поверхностных водоёмов неуклонно ухудшается по причине усиления антропогенного и техногенного

воздействия [3, 4]. Интенсивное биологическое и химическое загрязнение водоемов приводит к изменению баланса циркулирующей в них микрофлоры, следствием чего является нарушение процессов самоочищения [5]. Ухудшение качества воды открытых водоёмов связано не только с антропогенным загрязнением сточными водами, но и с неблагоприятным действием донных отложений аккумулирующих биогенные и токсические компоненты, которые служат индикатором долговременного воздействия и своеобразным источником вторичного загрязнения водной среды в биотопах.

В связи с увеличением водопотребления для питьевых, оздоровительных, технологических целей и учитывая возросшую роль условно-патогенных бактерий (УПБ) в этиологии кишечных инфекций, а также возможность передачи инфекционного агента водным путём, проводится изучение распространения патогенных и потенциально патогенных бактерий в гидросфере.

## **1. Современное состояние вопроса**

### **1.1. Распространение бактерий в водной среде**

По мнению ряда авторов [6 – 13], в нашей стране недостаточно внимания уделяется оценке уровня микробного загрязнения водных объектов с эпидемиологических и санитарно-гигиенических позиций и не учитывается диспропорция, наблюдаемая в структуре микробного сообщества водоёмов. На необходимость проведения комплексных санитарно-бактериологических исследований водных объектов, включающих определение не только индикаторных микроорганизмов, но и потенциально патогенных и патогенных бактерий неоднократно указывалось в литературе [14 – 17]. Об этом свидетельствует также и то, что согласно пункту 3.2.10 приказа МЗ РФ за № 234 от 22.07.02 «О дальнейшем развитии и совершенствовании работы по ведению социально-гигиенического мониторинга» информацию об обнаружении УПБ в питьевой воде систем хозяйственно-питьевого водоснабжения региональные центры Роспотребнадзора должны предоставлять в Федеральный центр. Вместе с тем, в нормативных

документах не предусмотрено определение потенциально патогенной микрофлоры в водной среде.

За последние полтора – два десятилетия в этиологической структуре острых кишечных инфекций произошли существенные изменения. Наряду с общепризнанными возбудителями кишечных инфекций (сальмонеллы, шигеллы, патогенные эшерихии и др.) значительную роль играют острые кишечные инфекции (ОКИ), обусловленные УПБ, встречающиеся во всех возрастных группах, но преимущественно у лиц с пониженной сопротивляемостью организма [18 – 22].

Аналогичная ситуация наблюдается и в структуре водных вспышек кишечных инфекций, где помимо патогенных энтеробактерий – традиционных возбудителей кишечных инфекций (сальмонеллы, шигеллы), описаны случаи острых кишечных заболеваний (ОКЗ) водного происхождения, где этиологическим фактором являлись УПБ. Причём это могут быть ацинетобактеры, аэромонады, иерсинии, клебсиеллы, легионеллы, моракселлы, протеи, синегнойные палочки и другие [23 – 29].

Самую разнообразную микрофлору, в т.ч. патогенные и потенциально патогенные бактерии можно обнаружить практически в любой водной среде: в речной и подземной водах, в распределительной сети, в сельских системах грунтового водоснабжения, в воде плавательных бассейнов и т.д.

## **1.2 Распространение бактерий в воде открытых водоёмов**

Наиболее многочисленной и разнообразной по составу является микрофлора открытых водоёмов, т.к. вода рек, озёр, морей может быть естественной средой обитания многих бактерий. Особое значение приобретает сброс сточных вод, с которыми в воду открытых водоёмов поступает большое количество микроорганизмов.

Приведённые в литературе данные о количестве, содержании и частоте выделения УПБ из водных объектов имеют значительные различия, и это зависит от степени интенсивности антропогенной нагрузки на

водоём [4, 30 – 32]. Особое место в этом отношении занимают зарегулированные водоёмы, т.к. санитарное состояние водоёмов, используемых в качестве приёмника сточных вод, ухудшается после зарегулирования за счёт сложных и, нередко, менее благоприятных условий смешения и разбавления в водоёме сточных вод, а также возможности накопления загрязняющих веществ.

Материалы, публикуемые в доступной печати о количественном содержании и частоте выделения болезнетворных бактерий неоднозначны, а порой противоречивы. Но в целом их содержание в водных объектах динамично и, в основном, отражает санитарную характеристику водоёма [25 – 29]. По результатам исследований десятилетнего периода (1999 – 2009 годы) водных объектов Российской Федерации А.В. Загайновой [30] в 8% выделены индикаторные, в 25,8% – патогенные и в 74,8% – УПБ. В совокупности представленные данные свидетельствуют о широком распространении УПБ в воде различного вида пользования.

Наибольшее распространение получили микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* [31, 32]. Так, клебсиеллы из проточной речной воды выделяются в пределах от 10 – 20,6 % до 95 – 100 %, а из воды водохранилища в 14,2 – 66,6%, в отдельных случаях до 100% [33, 34]. Частота выделения цитробактеров из воды открытых водоёмов составляет 7,3 – 8,6%, энтеробактеров 16,6 – 26,3% [35, 36].

Высокий процент обнаружения в водных объектах свойственен и представителям других семейств УПБ. Так, иерсинии выделялись в 81% проб, ацинетобактеры зарегистрированы в 16-39% проб, аэромонады – в 36,7% проб, кампилобактеры – в 25,8% проб [37, 38].

Частота выделения наиболее значимого в патологии человека представителя семейства *Pseudomonadaceae* – синегнойной палочки (СП) – из речной воды составила от 16,6% до 34,5% [8, 35], в то время как В.В. Алешня с соавт. [39] обнаруживала их в 81,4% проб.



Максимальное загрязнение водоёмов УПБ, по мнению одних авторов, приходится на летние месяцы, у других – на осенние месяцы, или даже на осенне-зимний период [40, 41].

Установлено, что УПБ могут встречаться и в сточных водах подвергающихся очистке, и являются наиболее показательными (особенно клебсиеллы и СП) для вод, прошедших дезинфекционную обработку [42 – 45].

Загрязнение водоёма неочищенными или недостаточно очищенными сточными водами в зоне рекреации означает потенциальную эпидемическую опасность для купающихся [27, 46]. Например, в районе городского пляжа г. Владивостока [47], расположенного сравнительно недалеко от выпуска сточных вод городской канализации, отмечался высокий уровень содержания энтеробактерий – сальмонелл, шигелл и клебсиелл. При этом наблюдалось чёткое сезонное нарастание количества энтеробактерий и их видовое разнообразие.

По данным Ростовского областного центра Госсанэпиднадзора (в настоящее время – Управление Роспотребнадзора по Ростовской области) [48] в конце 90-х годов прошлого века качество воды в зонах рекреации не отвечало гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям в среднем по региону в 43,5 % проб, размах колебаний составил от 10,9% в г. Волгодонске до 95,7% в г. Новочеркасске. При этом в больших количествах выделялись УПБ, также значительные концентрации отмечены у патогенных бактерий, в т.ч. ежегодно встречается холероподобная микрофлора. В период 2005 – 2011 гг.[49] высокие показатели микробного загрязнения водных объектов в черте населённых мест и зонах рекреации сохранились и даже стали выше. Так, в 2010 г. удельный вес проб, не отвечающих существующим стандартам по микробиологическим показателям составил 46,1%, в 2011 г. – 47,7%.

Исследования, проведённые Л.М. Мамонтовой [30] на водоёмах Восточной Сибири, показали, что в чистой воде в микробных ассоциациях

преобладали грамположительные бактерии, но, по мере увеличения антропогенного загрязнения на водные объекты, соотношение микрофлоры меняется в сторону увеличения процента содержания грамотрицательных бактерий.

По данным Е.Д. Савилова [50] среди грамотрицательных бактерий в этом же регионе также преобладали микроорганизмы семейства *Enterobacteriaceae* (75,6%), из числа которых чаще встречались эшерихии, клебсиеллы, энтеробактеры, протеи и цитробактеры, в несколько меньшей степени выделились сальмонеллы. Помимо энтеробактерий грамотрицательная микрофлора было представлена также аэромонадами, псевдомонадами, моракселлами и алкалигенес.

Санитарно-бактериологические исследования дельты реки Волги [51] показали разнообразие микробного пейзажа, где наиболее часто выделялись энтеробактерии (38,6%), аэромонады (35,7%), псевдомонады (34,5%), кампилобактеры (25,8%). В структуре энтеробактерий преобладали протеи, клебсиеллы, энтеробактеры, патогенные энтеробактерии не обнаружены. Результаты исследований, проведённых там же через 20 лет [36, 38], подтверждают преобладание энтеробактерий (39,4%), где чаще встречались протеи и цитробактеры. В меньшем проценте проб обнаруживались клебсиеллы, шигеллы, гафнии, эдвардсиеллы, серрации. Качество воды реки Волги на участке в пределах Тверской области характеризовалось увеличением содержания ЛКП/ОКБ с 240 – 24000 КОЕ/л в период 1974 – 1985 гг. до 70000 – 240000 КОЕ/л – в 1998 – 2005 гг. [52].

В регионах с интенсивной антропогенной нагрузкой на водные объекты отмечается стабильное снижение содержания индикаторных микроорганизмов (кишечных палочек и фекальных стрептококков) с изменением их биологических и культуральных свойств на фоне количественного преобладания потенциально патогенных и патогенных бактерий. В этих условиях снижается самоочищающая способность воды водоисточников как на участках водозаборов, так и в зонах рекреации, а

также эффективность водоподготовки на станциях очистки питьевой воды, что оказывает неблагоприятное влияние на здоровье населения.

### **1.3 Распространение бактерий в питьевой воде**

В настоящее время, с 2012 – 2019 годы количество источников централизованного водоснабжения уменьшилось на 7,4 % (94633 источника), что составило 94,5% населения России, которое обеспечивается питьевой водой из поверхностных источников, 35,08% из них не соответствуют санитарным нормам [58]. Питьевой водой из нецентрализованных источников водоснабжения в Российской Федерации в 2019 году пользовались 8,421 млн. чел. (на 181,7 тыс. меньше, чем в 2018 году).

Качественной питьевой водой из систем централизованного водоснабжения в 2019 году было обеспечено 93,2 % городского населения Российской Федерации, что ниже целевого уровня показателя, предусмотренного федеральной программой «Чистая вода» на этот год (94,5 %). Анализ регионального распределения данного показателя выявил 40 регионов Российской Федерации, на территориях которых в 2019 году доля городского населения, обеспеченного качественной питьевой водой из систем централизованного водоснабжения, была на уровне или превысила целевой показатель 2019 года (94,5 %), и 10 субъектов Российской Федерации, достигших уровень целевого показателя 2024 года (99,9 %) [58].

Качество питьевой воды, подаваемой населению Российской Федерации с использованием распределительных сетей централизованного водоснабжения улучшилось по микробиологическим и санитарно-химическим показателям. В течение 2012–2019 гг. наблюдался достоверный тренд ( $p = 0,0$ ) к снижению доли проб питьевой воды, отобранных из распределительной сети, не соответствующих гигиеническим нормативам по санитарно-химическим и микробиологическим показателям (на 4,3 % и на 1,77 %, соответственно). За тот же период наблюдался рост доли проб воды, не соответствующих санитарным требованиям по паразитологии [58].

В Ростовской области (2005 – 2011 гг.) по данным органов Роспотребнадзора [54] на качество питьевой воды существенное влияние оказало санитарно-техническое состояние водопроводных сетей, неудовлетворительное состояние которых и частые аварийные ситуации приводили ко вторичному бактериальному загрязнению питьевой воды. Между качеством питьевой воды и количеством аварий в распределительных сетях существует прямая корреляционная зависимость: с ростом количества аварий водопроводных сетей наблюдается увеличение удельного веса проб питьевой воды не соответствующей гигиеническим требованиям по микробиологическим показателям. В 2011 г. превышение уровня микробного загрязнения водопроводной воды в среднем по региону составило 4,9%. Вместе с тем превышение нормативов микробиологических показателей в Багаевском районе равнялось 26,7%, в Неклиновском – 32,5%, в Куйбышевском – 13,3%, в Константиновском – 23,3%, в Целинском – 25,9%.

В настоящий период в Ростовской области удельный вес населения, обеспеченного питьевой водой, отвечающей требованиям безопасности (качественная) составил 80,0%, не отвечающей требованиям безопасности (некачественная) – 17,3%. [58]. Удельный вес населения, обеспеченного качественной питьевой водой из централизованных систем водоснабжения, составил в 2019 году 78,4%, некачественной – 14,8%. Удельный вес проб питьевой воды, отобранной из распределительной сети и не соответствующей гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям, составил 2,4% (2018 г. – 3,4, 2017 г. – 2,7%).

По данным исследований сотрудников Московского НИИ гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана [59] удельный вес нестандартных проб по бактериологическим показателям превышает среднероссийский (13,1%) на ряде территорий в 1,5 – 2 раза: в Карелии – 20%, в Приморском крае – 22,4%, в Смоленской области – 26%, в Калининградской области – 24,1%.

Доля проб из водопроводной сети, не соответствующих гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям, в 2012 г. составила 5,1%,

в этом же году из разводящих сетей в Свердловской области и Камчатском крае были выделены возбудители инфекционных заболеваний [58].

В Вологодской области в 2011 г. [60] более половины населения (53%) употребляли для питьевых целей воду, не соответствующую гигиеническим нормативам по микробиологическим показателям, опасную в эпидемическом отношении.

В Тыве [61] по микробиологическим показателям не отвечали гигиеническим требованиям в 2008 г. – 3,6% проб, в 2009 г. – 3,3% проб. В структуре бактериологических показателей, не отвечающих установленным гигиеническим нормативам, количество составило по ОКБ – 40,3%, энтерококкам – 21%, совместное выделение ОКБ и ТКБ – 15,3%, СП – 0,85%. При этом, была прослежена зависимость инфекционной заболеваемости от водного фактора.

При проведении санитарно гигиенического мониторинга в Красноярском крае в 2001 – 2005 гг. [62] установлено, что питьевая вода централизованного хозяйственно-питьевого водоснабжения не отвечала гигиеническим нормативам по санитарно-бактериологическим показателям в 8,7% проб.

В Воронежской области по данным местных органов Роспотребнадзора [63] качество питьевой воды также связано со степенью санитарной надёжности водораспределительной сети и системы водоподготовки.

В загрязнённой питьевой воде могут обнаруживаться различные УПБ – клебсиеллы, псевдомонады (в т. ч. СП), серрации, энтеробактеры, эрвинии, коринебактерии, ацинетобактеры, аэромонады, моракселлы [64 – 68].

Для предотвращения вспышек кишечных инфекций необходимо проводить полноценную водообработку и адекватную дезинфекцию, что показали исследования, проведённые в России и ряде европейских стран: Германия, Великобритания, Голландия, Франция [48, 69 – 71].

Заключительным этапом водоподготовки является обеззараживание. Наиболее распространённым методом обеззараживания воды, как в нашей

стране, так и за рубежом является хлорирование [48, 70 – 73]. Этот метод до недавнего времени считался достаточно эффективным в отношении УПБ, так как устойчивость кишечных палочек к хлору была выше по сравнению с другими бактериями [74].

Полное обеззараживание инфекционных агентов при хлорировании возможно при определённых условиях. Для обеззараживания питьевой воды от УПБ требуются более высокие концентрации дезинфицирующих веществ и более длительная экспозиция, чем для удаления индикаторных. Хлорирование заведомо избыточными дозами хлора ухудшает органолептические показатели и вызывает денатурацию воды. Кроме того, гиперхлорирование воды приводит к риску возникновения злокачественных новообразований [75, 76].

В последнее время появились сообщения о появлении в природных популяциях водной среды различных видов бактерий, устойчивых к дезинфектантам, в том числе, регистрируется выделение из воды разводящих сетей хлорустойчивой микрофлоры [77 – 79]. Одним из представителей хлорустойчивых бактерий являются псевдомонады, в том числе и потенциально патогенные СП, выделение которых из разводящих сетей является критерием санитарно-эпидемического неблагополучия, так как эти бактерии способны вызывать у ослабленных лиц кишечные инфекции и наружные воспалительные процессы. Более того, СП могут расти после воздействия дезинфектантов в концентрациях, равных и даже выше применяемых на практике [80].

В работе по обеспечению населения питьевой водой стандартного качества необходимо соблюдать правила эксплуатации водоразводящей системы и учитывать любую возможность контаминации воды болезнетворными бактериями. Например, при недостаточном давлении в разводящей сети может произойти попадание загрязнённых грунтовых вод, при нарушении режима хлорирования – вторичный рост, при снижении

барьерной роли системы водоподготовки – прямое проникновение бактерий в питьевую воду [81].

#### **1.4 Биологические свойства бактерий**

В водных объектах, помимо качественных и количественных изменений микробных сообществ, наблюдаются изменения биологических свойств циркулирующих микроорганизмов. Как считает В.Ю. Литвин [82, 83], «если биологические свойства и факторы патогенности у патогенных бактерий достаточно изучены, то вопрос о таковых у потенциально патогенных микроорганизмов остаётся открытым».

Возросший со стороны медиков и биологов интерес к УПБ, как возможным возбудителям кишечных инфекций, и их широкое распространение в гидросфере предопределило изучение не только вопросов циркуляции потенциально патогенной микрофлоры в водных объектах, но и изучения факторов, влияющих на их жизнедеятельность в водной среде.

УПБ обладают выраженной биологической пластичностью, позволяющей им адаптироваться и существовать в различных экологических ситуациях. При этом, для потенциально патогенной микрофлоры естественной средой обитания может быть и организм человека, и организмы отдельных животных, и окружающая среда.

Приспособительная активность бактерий лежит в основе бактериальной изменчивости. Во многом эта способность определяет пластичность и слаженность обменных процессов сложившаяся в ходе эволюции конкретного вида бактерий.

##### **1.4.1 Антибиотикоустойчивость**

Одной из информативных характеристик микробных сообществ водных объектов является антибиотикорезистентность составляющих их микроорганизмов. Под воздействием антропогенного прессинга наблюдается существенное увеличение доли антибиотикоустойчивых бактерий в водоёмах. Антибиотикочувствительность микроорганизмов является одним из показателей антропогенной нагрузки на водоёмы.

Изучению лекарственной устойчивости различных микроорганизмов и, в частности, болезнетворных бактерий уделяется пристальное внимание. Однако публикуемые данные касаются в основном характеристики антибиотикочувствительности штаммов выделенных в лечебных учреждениях, и лишь единичные работы [8, 55, 84] посвящены определению лекарственной устойчивости микроорганизмов, изолированных из водных объектов.

По данным Л.М. Мамонтовой с соавт. [42] соотношения резистентных и чувствительных к антибиотикам бактерий в водных объектах весьма различны и связаны со степенью антропогенного загрязнения. Так на относительно чистых участках водоёмов встречались штаммы бактерий, устойчивых к 3 – 4 антибиотикам, на загрязнённых – к 7 – 8 препаратам. Кроме того, на загрязнённых участках установлено широкое распространение полирезистентных штаммов бактерий, где уровень лекарственной устойчивости достигал 98% от числа выделенных штаммов.

В другой работе этих же авторов [10] подтверждается обусловленность уровня антибиотикорезистентности от степени микробного загрязнения водных объектов. Например, в чистых водоёмах (Иркутское водохранилище) устойчивость бактерий зарегистрирована, в основном, к 1–2 антибиотикам, в загрязнённых (река Селенга, Братское водохранилище) – к 5 – 10 антибиотикам. Кроме того, исследования показали, что ассоциированной и перекрестной устойчивостью обладали 60% культур, выделенных из чистых вод, загрязнённых – около 100%.

Зависимость антибиотикоустойчивости от степени загрязнения водных объектов подчёркивается и в исследованиях Е.Д. Савилова с соавт. [55], которые показали, что частота встречаемости антибиотикорезистентных штаммов бактерий зависит от степени антропогенного загрязнения водоёмов. Так, в целом по реке Лене авторами отмечена низкая доля устойчивых штаммов (16,7%), а в районах городов Ленск и Якутск – 48,3 и 41,8% соответственно. На чистом участке р. Ангары количество



антибиотикорезистентных штаммов бактерий составила 15% , а в черте городов Иркутск и Ангарск 36 и 49% соответственно. Наибольшая частота регистрации полирезистентных штаммов в рассматриваемом регионе выявлена у микроорганизмов р. Селенга – 56%. Кроме того, на модели реки Лены, где множественной антибиотикорезистентностью обладала пятая часть бактерий, показаны особенности антибиотикоустойчивости бактерий, входящих в микробиоценоз реки в зависимости от расположения населённых пунктов и удалённости от берега. Суммарный показатель полирезистентных бактерий, выделенных из реки Лены выше населённых пунктов, составил 22,2%, а ниже – увеличился в полтора раза. Удельный вес полиантибиотикоустойчивых бактерий в прибрежной части реки составил 19,5 %, а в фарватере оказался достоверно ниже – 12,3%. Выявлено достоверное снижение данного показателя от верховья реки до её низовья, с повышением частоты встречаемости резистентных бактерий, прежде всего в районах крупных городов, расположенных на берегах реки. Выделенные бактерии обладали высокой степенью резистентности к антибиотикам и при определённых условиях способны вызывать острые или вялотекущие инфекционные процессы, лечение которых затрудняется при подборе необходимого антибиотика.

Таким образом, под воздействием антропогенного прессинга наблюдается существенное увеличение доли антибиотикоустойчивых бактерий в водных объектах, что приводит к проникновению их в водопроводную сеть. Прежде всего, это касается ППМ, т.к. они обладают более выраженными адаптационными возможностями по сравнению с классическими возбудителями кишечных инфекций [85, 86].

#### **1.4.2 Факторы патогенности**

В водной среде под воздействием различных неблагоприятных факторов происходит изменение ряда биологических свойств циркулирующих микроорганизмов. В борьбе за существование и с целью

сохранения биологического вида бактерии приобретают такие свойства как патогенность и вирулентность. В механизме воздействия бактерий на человека ведущее место занимают их патогенные свойства, поскольку эти свойства в основном определяют тяжесть поражения

В качестве защитных свойств бактерии, продуцируя ферменты патогенности, способны проявлять гемолитическую, ДНК-азную, адгезивную и инвазионную активность, продуцировать токсины – энтеротоксины и цитотоксины [87 – 90]. Однако данные литературы по факторам патогенности УПБ неоднозначны, что свидетельствует о недостаточном изучении этого вопроса.

В результате проведённых исследований, Е.В. Ангановой [87] показано, что 31,8% бактерий, выделенных из реки Лены, обладали ферментативной активностью. Доказано, что микроорганизмы разных таксономических групп обладают разной степенью ферментативной активности. Продукция ферментов у аэромонад встречается в 59,6%, у энтеробактерий – в 22,1%, у моракселл – в 23,5%, у алкалигенес – в 18,5%. Наличие гемолитической активности отмечалось у 20,2% изолированных штаммов, ДНК-азной – у 17,5% и протеолитической – у 6,6% штаммов. ДНК-азная активность чаще наблюдалась у энтеробактерий и моракселл 22 и 13,7% соответственно, в то же время протеолиз у представителей этих семейств отмечался в 10% случаев. Вирулентность энтеробактерий в большинстве случаев была связана с продукцией ДНК-азы.

По данным некоторых авторов [89, 91] при исследовании питьевой воды различных систем водоснабжения установлено, что от 50 до 100 тысяч колоний проявляли вирулентность, причём, по их мнению, риск вирулентности невысок. Другие авторы [90, 92] подчёркивают высокую степень риска при обнаружении потенциально патогенной микрофлоры в питьевой воде и потенциальную опасность водопользования, так как в 55,5% случаев микроорганизмы проявляли гемолитическую активность, в 53,7% – ДНК-азную, в 49,7% – лецитиназную, в 54,8% – липазную, в 16% –

коагулазную, в 64,4% – протеиназную. При этом 96% гемолитических штаммов были цитотоксическими к клеткам HEp-2. Среди этих потенциально патогенных микроорганизмов регистрировались клебсиеллы, псевдомонады, ацинетобактеры, моракселлы, аэромонады.

По данным Н.В. Немцевой и О.В. Бухарина [93] в водоисточнике обнаружено присутствие бактерий с высоким персистентным потенциалом, где преобладали аллохтонные штаммы с антилизосимной и антикомплементарной активностью. Наиболее высокие значения выявлены у псевдомонад (*P.aeruginosa*) и энтеробактерий (протеи, цитробактеры, энтеробактеры).

Присутствие в питьевой воде бактерий обладающих, факторами патогенности указывает на её низкое качество. Наличие в воде вирулентных штаммов микроорганизмов, способных продуцировать токсины, указывает на эпидемическую опасность водопользования [31, 36, 94, 95].

## **2. Собственные исследования**

### **2.1 Санитарно-бактериологическая характеристика воды**

#### **Цимлянского водохранилища (приплотинный участок)**

Анализ данных по выделению изучаемых микроорганизмов из воды приплотинного участка Цимлянского водохранилища показал высокий уровень их содержания и широкое распространение по всей акватории на протяжении всего периода наблюдения (35 лет).

В анализируемый период исследований (2016 – 2018 гг.) по сравнению с прошлым периодом 2011 – 2015 гг. отмечается значительное улучшение качества воды приплотинного участка Цимлянского водохранилища по санитарно-бактериологическим показателям (табл. 1).

Уровень содержания в среднем по водоёму составил у ОКБ –20907, ТКБ –790, ГКБ –51540, клебсиелл –23350, синегнойных палочек –140 КОЕ/100, НВЧ/1000 сальмонелл – 6 (табл. 1).

Таблица 1. Санитарно-бактериологическая характеристика воды приплотинного участка Цимлянского водохранилища

Период наблюдения	Количество бактерий и частота обнаружения	Изучаемые микроорганизмы					
		ОКБ	ТКБ	ГКБ	Клебсиеллы	Синегнойные палочки	Сальмонеллы НВЧ/1000
2011 – 2015 гг.	Индексы КОЕ/100	64000	1230	319000	89000	3500	17,4
	Частота выделения (%)	100	64,7	100	100	72,3	31,2
2016 – 2018 гг.	Индексы КОЕ/100	20900	790	51540	23350	140	6
	Частота выделения (%)	100	54	100	100	82	38,6

Вода характеризуется высокой степенью микробной контаминации, так как в этой части водохранилища сосредоточены основные населённые пункты данного региона г. Цимлянск, г. Волгодонск, х. Кривской, ст. Жуковская, ст. Калининская.

Максимальное значение достигало: у ОКБ и клебсиелл 240000 – КОЕ/100, ТКБ и СП – 24000 КОЕ/100, ГКБ 2100000 КОЕ/100.

Всего из воды приплотинного участка Цимлянского водохранилища выделено 69 культур сальмонелл 11 сероваров. Чаще других выделялись *S. typhimurium* – 18%, *S. essen* – 15%, *S. derby* – 12%, *S. enteritidis* – 10%, *S. london* – 7%.

## 2.2 Санитарно-бактериологическая характеристика воды

### Нижнего Дона

Нижний Дон – это участок реки от Цимлянского гидроузла до её устья, в настоящей работе рассматривается акватория р. Дон от водозабора

г. Ростова-на-Дону до устья (включая часть дельты реки). Основными источниками загрязнения Нижнего Дона являются его притоки (реки Северский Донец, Сал, Маныч, Темерник и протока Аксай), а также выпуски сточных вод Ростовской и Азовской канализаций. Кроме того, в водоём поступает большое количество сельскохозяйственных, животноводческих и ливневых стоков. Загрязнение Нижнего Дона ухудшило его гидрологический режим, т.е. произошло уменьшение водности реки, что отрицательно сказалось на процессах бактериального самоочищения.

Санитарно-бактериологические исследования воды Нижнего Дона на участке от Ростова-на-Дону до Азова показали широкое распространение и высокий уровень содержания патогенных, потенциально патогенных и санитарно-показательных микроорганизмов.

Частота обнаружения ОКБ, ТКБ и ГКБ, клебсиелл и синегнойных палочек составила 100%. Индекс ОКБ в среднем по водоёму равнялся 453600 КОЕ/100, ТКБ – 107300 КОЕ/100, ГКБ – 689600 КОЕ/100, клебсиелл составил 497500 КОЕ/100, СП – 2800 КОЕ/100, НВЧ/1000 – 10,5 (табл. 2).

Наиболее чистыми, в бактериальном отношении, биотопами являются водозаборы Ростова и Азова: индекс ОКБ в среднем 68000 КОЕ/100 и 108170 КОЕ/100, ТКБ – 24000 КОЕ/100 и 26700 КОЕ/100, ГКБ – 137200 КОЕ/100 и 346300 КОЕ/100, клебсиелл – 97500 КОЕ/100 и 118850 КОЕ/100, СП – 830 КОЕ/100 и 1060 КОЕ/100 соответственно. Заметна существенная разница между степенью обсеменённости воды водозаборов. Высокий уровень микробной контаминации воды азовского водозабора связан с тем, что этот водозабор находится в 37 км ниже выпуска сточных вод ростовской горканализации и впадения р. Темерник, имеющей высокую степень бактериального загрязнения.

Самый высокий уровень содержания санитарно-показательных микроорганизмов отмечался в биотопах ниже выпусков городских канализаций - Ростовской (ОКБ в среднем 801400 КОЕ/100, ТКБ – 162100 КОЕ/100, ГКБ – 952200 КОЕ/100, клебсиелл – 891100 КОЕ/100, СП – 4940

КОЕ/100) и Азовской (ОКБ – 790500 КОЕ/100, ТКБ – 232200 КОЕ/100, ГКБ – 878200 КОЕ/100, клебсиелл – 792900 КОЕ/100 и СП – 7500 КОЕ/100).

Таблица 2. Санитарно-бактериологическая характеристика воды Нижнего Дона за 2016 – 2020 гг.

Биотоп	Индексы (КОЕ/1000)					НВЧ/1000
	ОКБ	ТКБ	ГКБ	Клебсиеллы	СП	Сальмонеллы
Ростовский водозабор	68000	24000	137200	97500	830	н.о.
Ростовский городской пляж	385000	84000	556000	412000	1320	6,6
В районе речного вокзала	367280	82100	838300	431600	1190	5,3
Ниже впадения р.Темерник	640000	129900	847900	736100	4120	5,7
Ниже выпуска ростовской городской канализации	801400	162100	952200	891100	4940	23,8
Азовский водозабор	108170	26700	346300	118850	1060	6,7
Азовский городской пляж	468600	116540	961000	499650	2600	7,6
Ниже выпуска азовской городской канализации	790500	233200	878200	792900	7500	17,9
В среднем по водоёму	453600	107300	689600	497500	2800	10,5

Значительное бактериальное загрязнение рассматриваемой акватории отражается и на качестве воды городских пляжей: ростовского (ОКБ – 385000 КОЕ/100, ТКБ – 84000 КОЕ/100, ГКБ – 556000 КОЕ/100, клебсиелл – 412000 КОЕ/100, СП – 1320 КОЕ/100) и азовского (ОКБ – 468600 КОЕ/100, ТКБ – 116540 КОЕ/100, ГКБ – 961000 КОЕ/100, клебсиелл – 499650 КОЕ/100, СП – 2600 КОЕ/100).

Из воды Нижнего Дона в среднем выделены сальмонеллы в 38,8% проб с НВЧ/1000 мл 10,5. За изучаемый период было выделено 274 культуры сальмонелл 36 сероваров. Наиболее высокий процент выделенных культур сальмонелл относился серогруппе В – 47,1% , 19,3% - к серогруппе D, к серогруппе С – 16,1%, к серогруппе Е –17,5%.

Наиболее часто выделялись сальмонелла *S.typhimurium*, *S.enteritidis*, *S.bredeney*, *S.derby*, *S.virchow*, *S.anatum*, *S.utah*.

### **2.3 Санитарно-бактериологическая характеристика питьевой воды Цимлянска**

Источником питьевого водоснабжения г. Цимлянска служит, в основном, береговой водозабор из р. Дон в районе нижнего бьефа Цимлянского гидроузла. Кроме того, часть воды поступает из Цимлянского водохранилища, фильтруясь через тело плотины (дренажная вода) и из подземных скважин, гидравлически связанных с водохранилищем.

Цимлянский водозабор расположен на относительно чистом по микробиологическим показателям участке р. Дон. Тем не менее, проведенные исследования показали, что за изучаемый период вода водозабора по регламентируемым показателям (ОКБ и ТКБ) соответствует СанПиН 2.1.5.980-00 в 84% проб. В то же время в 100% выделялись ГКБ, в 86% - клебсиеллы, в 54% - СП, патогенные энтеробактерии не обнаружены.

Система водоподготовки Цимлянского водопровода не имеет типового набора очистных сооружений – вода отстаивается и обеззараживается. Проводится гиперхлорирование дозами хлора от 5,0 мг/л до 7,5 мг/л. Однако, хлораторная камера имеет небольшой объём, вследствие чего нет достаточной экспозиции контакта обрабатываемой воды с хлором. Поэтому микроорганизмы не погибают полностью, часть их переходит в сублетальное состояние, т.е. теряет способность расти на питательных средах, но сохраняет свои патогенные свойства, в разводящей сети они могут восстанавливать биологические свойства.

Таблица 3. Санитарно-бактериологическая характеристика питьевой воды г. Цимлянска за 2016 – 2018 гг.

Период (год)	ОКБ		ТКБ		ГКБ		Клебсиеллы		Синегнойные палочки	
	%	КОЕ/100	%	КОЕ/100	%	КОЕ/100	%	КОЕ/100	%	КОЕ/100
2016	0	0	0	0	46,6	0,62	13,3	0,05	0	0
2017	33,3	7,1	0	0	44,4	27,1	33,3	3,8	0,26	0,04
2018	6,7	0,13	11,1	0,06	6,7	0,13	5,7	0,03	0	0

В период 2006 – 2010 гг. зарегистрировано низкое качество питьевой воды г. Цимлянска по бактериологическим показателям: ОКБ выделялись в 46%, ГКБ – в 88,6%, клебсиеллы – в 73,3%, СП – в 21,7%. В следующий период (2011 – 2015 гг.) качество питьевой воды Цимлянска заметно улучшилось: ОКБ выделялись в 12,4%, ГКБ – в 61,6%, клебсиеллы – в 33,3%, СП – в 0,07%. В рассматриваемый период (2016 – 2020 гг.) качество питьевой воды Цимлянска ещё улучшилось, о чём свидетельствует представленная в таблице 3 динамика выделения изучаемых микроорганизмов.

Улучшение качества питьевой воды г. Цимлянска связано с тем, что наши материалы о низком качестве питьевой воды и воды водоисточников по итогам санитарно-гигиенического мониторинга, направленные в адрес органов Роспотребнадзора и администрации г. Цимлянска, послужили одним из обоснований проведения санитарно-технических мероприятий в системе водоподготовки и разводящей сети для обеспечения эпидемиологической безопасности питьевой воды, подаваемой населению. Положительная динамика улучшения качества питьевой воды также связана с частичной заменой труб в разводящей сети г. Цимлянска и с установкой частичного привода, смягчающего гидравлический удар при отключении - включении подачи воды, что повлекло за собой снижение числа аварий (порывов труб).



## 2.4 Санитарно-бактериологическая характеристика питьевой воды Азова

Питьевое водоснабжение г. Азова осуществляется из р. Дон. Азовский водозабор расположен в 37 км ниже выпуска сточных вод ростовской горканализации, поэтому вода в месте водозабора имеет высокую степень микробной концентрации. Кроме того, технологическое состояние водоочистных сооружений и санитарно-техническое состояние городского водопровода не позволяет поддерживать качество питьевой воды, поступающей потребителям, соответствующее требованиям СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода».

В предыдущий отчетный период (2010 – 2015 гг.) качество питьевой воды г. Азова по бактериологическим показателям составило: ОКБ выделялись в 10,7%, ТКБ – в 2,8%, ГКБ – в 30%, клебсиеллы – в 17%, СП – в 6%. В рассматриваемый период (2016 – 2020 гг.) анализ бактериального состава питьевой воды г. Азова за 5 лет показал нестабильность её качества (табл.4). Тем не менее, качество питьевой воды г. Азова улучшилось: ОКБ выделялись в 3,6%, ТКБ – в 0,14%, ГКБ – в 23%, клебсиеллы – в 1%, СП – в 0,2%.

Таблица 4. Санитарно-бактериологическая характеристика питьевой воды г. Азова за 2016 – 2020 гг.

Период (год)	ОКБ		ТКБ		ГКБ		Клебсиеллы		Синегнойные палочки	
	%	КОЕ/100	%	КОЕ/100	%	КОЕ/100	%	КОЕ/100	%	КОЕ/100
2016	4,3	1,2	0,4	0,1	28	1,2	21	1,2	3,8	0,4
2017	3,8	0,8	0,1	0,3	26	1,1	18	1,1	3,4	0,2
2018	4,1	0,6	0,2	0,1	25	1,3	17	0,8	2,3	0,3
2019	3,5	0,7	0	0	22	1,1	15	0,7	1,5	0,1
2020	2,2	0,4	0	0	17	0,8	11	0,3	0	0

Значительное улучшение качества питьевой воды связано с тем, что результаты проведённых исследований регулярно докладывались нами на совещаниях Главы администрации г. Азова, а также на Городской комиссии по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения и ведению социально-гигиенического мониторинга. Поэтому материалы нашей работы использованы территориальной службой Роспотребнадзора и «Водоканала» г. Азова для принятия технических и технологических мер по улучшению качества питьевой воды с проведением ряда технических мероприятий на водоочистных сооружениях и частичной заменой труб в разводящей сети.

## **2.5 Изучение устойчивости бактерий к дезинфицирующим средствам**

Учитывая высокий уровень содержания в воде водоисточника патогенных и потенциально патогенных микроорганизмов, большой процент выделения из питьевой воды клебсиелл и синегнойных палочек, находки сальмонелл, и, принимая во внимание их роль в инфекционной патологии человека, нами проведены экспериментальные исследования по определению чувствительности этих микроорганизмов, а также *E. coli*, к обеззараживающему действию хлора, как основного реагента, используемого в этих целях на водопроводных станциях страны.

Результаты проведённых исследований представлены в таблицах 5 и 6. Из таблиц видно, что обеззараживающее действие хлора зависит от исходной концентрации микроорганизмов в воде. Так, при индексе сальмонелл 45500 микробных клеток в 1 л воды уже через 5 минут контакта с хлором отмечалась их инактивация на 97,6 %, а через 30 минут – стопроцентная гибель. При увеличении концентрации сальмонелл в 10 раз (455000 микр. кл. в 1 л) и в 100 раз (4550000 микр. кл. в 1 л) и контакте с хлором в течение часа, наблюдалась их инактивация на 99,9 %.

Подобным образом происходит воздействие хлора на клебсиеллы – уже через 5 мин. контакта отмечалась их инактивация на 98 %. Спустя 30 мин.,

как и в случае с сальмонеллами, происходит их полное уничтожение. Увеличение количества клебсиелл в 10 (500000 микр. кл. в 1 л) и в 100 (5000000 микр. кл. в 1 л) раз даже при контакте с хлором в течение часа не приводило к их полной ликвидации – инаktivация составляла 99,9 %.

Таблица 5. Динамика инаktivации клебсиелл и синегнойных палочек под воздействием хлора в водной среде (доза активного хлора 5 мг/л)

Время контакта (мин.)	Содержание (КОЕ в 1 л)		Инаktivация (%)		Свободный остаточный хлор (мг/л)		Связанный остаточный хлор (мг/л)		Общий остаточный хлор (мг/л)	
	Клебсиелл (M ± m)	СП (M ± m)	Клебс иелл	СП						
Конт- роль	50000	36500	0	0	–	–	–	–	–	–
5	1000 ± 306	2000 ± 642	98,0	94,5	0,89	1,73	1,48	2,27	2,37	4
20	100 ± 34	0	99,8	100	0,84	1,43	1,06	2,11	1,9	3,54
30	0	0	100	100	0,7	1,19	0,97	2,22	1,67	3,41
60	0	0	100	100	0,31	0,82	0,96	2,03	1,27	2,9
Конт- роль	500000	365000	0	0	–	–	–	–	–	–
5	15000 ± 4726	33000 ± 9833	97,0	91	0,84	1,27	2,36	2,65	3,2	3,92
20	7000 ± 2877	13000 ± 4135	98,6	96,4	0,49	0,97	1,28	2,33	1,77	3,3
30	3000 ± 857	9000 ± 2452	99,4	97,5	0,32	0,83	1,13	2,08	1,45	2,91
60	200 ± 67	2000 ± 6314	99,9	99,5	0,13	0,46	0,92	2,2	1,05	2,66
Конт- роль	5000000	3650000	0	0	–	–	–	–	–	–
5	260000 ± 87101	380000 ± 124477	94,8	89,6	0,86	1,13	2,11	2,26	2,97	3,39
20	180000 ± 54268	260000 ± 84056	96,4	92,9	0,84	0,82	1,43	1,98	2,27	2,8
30	80000 ± 26415	120000 ± 34973	98,4	96,7	0,58	0,69	1,45	1,72	2,03	2,41
60	4000 ± 1267	30000 ± 9222	99,9	99,2	0,43	0,21	1,13	2,05	1,56	2,26

Таблица 6. Динамика инактивации сальмонелл и *E. coli* под воздействием хлора в водной среде (доза активного хлора 5 мг/л)

Время конта кта (мин.)	Содержание (КОЕ в 1 л)		Инактивация (%)		Свободный остаточный хлор (мг/л)		Связанный остаточный хлор (мг/л)		Общий остаточный хлор (мг/л)	
	<i>E. coli</i> (M ± m)	Сальмонел л (M ± m)	<i>E. coli</i>	Саль- мо- нелл						
Конт- роль	48000	45500	0	0	—	—	—	—	—	—
5	1300 ± 370	1100 ± 354	97,3	97,6	0,86	0,93	1,54	1,57	2,4	2,5
20	0	150 ± 44	100	99,7	0,78	0,82	1,02	1,38	1,85	2,2
30	0	0	100	100	0,65	0,73	0,96	1,04	1,61	1,77
60	0	0	100	100	0,24	0,51	0,92	0,94	1,16	1,45
Конт- роль	480000	455000	0	0	—	—	—	—	—	—
5	14000 ± 4333	18000 ± 4270	97	96	0,81	0,88	2,33	2,41	3,14	3,29
20	6500 ± 1956	8000 ± 2330	98,7	92,2	0,43	0,56	1,27	1,32	1,7	1,88
30	700 ± 212	4000 ± 1257	99,9	99,1	0,28	0,37	1,11	1,22	1,39	1,59
60	0	800 ± 264	100	99,8	0,15	0,21	0,96	0,98	1,11	1,19
Конт- роль	4800000	4550000	0	0	—	—	—	—	—	—
5	320000 ± 94250	300000 ± 86530	93,3	93,4	0,78	0,87	2,17	2,12	2,95	2,99
20	130000 ± 35873	150000 ± 36724	97,3	96,7	0,73	0,77	1,33	1,53	2,06	2,3
30	46000 ± 12736	70000 ± 22104	99,1	98,5	0,55	0,61	1,3	1,58	1,85	2,19
60	1500 ± 440	23000 ± 7340	99,97	99,5	0,41	0,45	1,1	1,18	1,51	1,63

Аналогичная ситуация наблюдалась при воздействии хлора на синегнойные палочки. Чем выше их исходная концентрация в воде, тем

меньше отмечалось обеззараживающее действие хлора. Стопроцентная инактивация синегнойных палочек под воздействием хлора регистрировалась через 20 минут контакта при исходной концентрации синегнойных палочек 36500 микробных клеток в 1 л воды. При увеличении концентрации синегнойных палочек в 10 раз (365000 микр. кл. в 1 л) и в 100 раз (3650000 микр. кл. в 1 л) и контакте с хлором в течение часа, зафиксирована их инактивация на 99,46 и 99,18 % соответственно.

Динамика обеззараживания воды от *E. coli* протекала, как и у вышеописанных бактерий: через 5 мин. – инактивация на 97,3 %, через 20 мин., как и у синегнойных палочек – полная гибель. Вместе с тем, при увеличении количества *E. coli* в 10 раз (480000 микр. кл. в 1 л), т.е. до концентрации, которая реально встречается в воде водоисточника и в системе водоподготовки, после часа контакта с хлором произошло их полное уничтожение. В то время как сальмонеллы, клебсиеллы и синегнойные палочки инактивировались только на 99,9 %. При возрастании числа *E. coli* в 100 раз (4800000 микр. кл. в 1 л) их инактивация после часа хлорирования составляла 99,97 %.

Таким образом, результаты проверки обеззараживающего действия хлора на изучаемые бактерии показали, что при высоких уровнях контаминации дозы хлора, предусмотренные СанПиН 2.1.4.1074-01, не приводят к полной гибели этих микроорганизмов в воде, в связи с чем отмечается высокая частота их обнаружения в питьевой воде. Гарантированное обеззараживание воды расчётной дозой хлора (5 мг/л) при концентрации микрофлоры  $10^4$  наступает у сальмонелл и клебсиелл через 30 мин. контакта, у *E. coli* и синегнойных палочек – через 20 мин. При этом процесс инактивации микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* происходит более интенсивно по сравнению с синегнойными палочками. На инактивацию энтеробактерий расходуется больше активного хлора, чем на инактивацию синегнойных палочек. Отмечается обратная зависимость обеззараживающего действия хлора от исходной концентрации

микроорганизмов в воде: чем выше количество клебсиелл и синегнойных палочек в воде, тем меньше обеззараживающее действие хлора, т.е. с увеличением уровня контаминации эффективность инаktivации микрофлоры снижается.

Учитывая высокий уровень содержания в местах водозаборов сальмонелл, клебсиелл и синегнойных палочек и достаточно высокую их устойчивость к воздействию хлора, на водоочистных сооружениях города Азова не происходит стопроцентной инаktivации этих микроорганизмов, в связи с чем отмечается их поступление в водопроводную сеть.

## **2.6 Антибиотикорезистентность *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, выделенных из воды поверхностных водоёмов**

Отношение к антимикробным препаратам (АМП) является принципиально важным информативным свойством микроорганизмов поверхностных водоёмов. Исследования, проводимые в последние годы, показывают, что микроорганизмы, выделенные из водных объектов в пределах урбанизированных территорий, обладают множественной лекарственной устойчивостью, что в свою очередь диктует необходимость мониторинга за изменением данного свойства у бактерий, циркулирующих в водоёмах в условиях усиливающегося антропогенного прессинга.

Изучалась чувствительность к 22 антибиотикам, относящимся к различным группам по химическому составу и механизмам действия, наиболее часто применяемым в клинической практике для лечения кишечных инфекций. Определение антибиотикорезистентности микроорганизмов и интерпретацию результатов проводили с применением диско-диффузионного метода, согласно МУК.4.2.1890-04. Результаты представлены в таблице 7.

Анализ проведенных исследований показал, что все исследованные микроорганизмы обладали множественной резистентностью к антибиотикам различных групп.

Таблица 7. Чувствительность к антибиотикам разных классов *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*, выделенных из воды поверхностных водоёмов

Антибиотики	<i>P.aeruginosa</i> (n = 310)		<i>K.pneumoniae</i> (n = 230)	
	Число/ процент чувствительных и резистентных штаммов			
	Ч	R	Ч	R
<b>АМИНОГЛИКОЗИДЫ</b>				
Аминогликозиды III поколения				
Амикацин	268 / 86,5	42 / 13,5	77 / 33,5	153 / 66,5
Аминогликозиды II поколения				
Гентамицин	249 / 80,3	61 / 19,7	52 / 22,6	178 / 77,4
Тобрамицин	280 / 90,3	30 / 9,7	68 / 29,6	162 / 70,4
<b>ФТОРХИНОЛОНЫ</b>				
Фторхинолоны III поколения				
Левифлоксацин	288 / 92,9	22 / 7,1	61 / 26,5	169 / 73,5
Фторхинолоны II поколения				
Офлоксацин	117 / 37,7	193 / 62,3	33 / 14,3	197 / 85,7
Ципрофлоксацин	274 / 88,4	36 / 11,6	41 / 17,8	189 / 82,2
Норфлоксацин	296 / 95,5	14 / 4,5	57 / 24,8	173 / 75,2
<b>БЕТА-ЛАКТАМНЫЕ АНТИБИОТИКИ</b>				
Цефалоспорины IV поколения				
Цефепим	184 / 59,4	126 / 40,6	26 / 11,3	204 / 88,7
Цефалоспорины III поколения				
Цефотаксим	87 / 28,1	223 / 71,9	56 / 24,3	174 / 75,7
Цефтазидим	178 / 57,4	132 / 42,6	12 / 5,2	218 / 94,8
Цефоперазон	195 / 62,9	115 / 37,1	9 / 3,9	221 / 96,1
Цефалоспорины II поколения				
Цефуросксим	73 / 23,5	237 / 76,5	15 / 6,5	215 / 93,5
Цефалоспорины I поколения				
Цефазолин	82 / 26,5	228 / 73,5	49 / 21,3	181 / 78,7
Карбапенемы				
Имипенем	256 / 82,6	54 / 17,4	128 / 55,7	102 / 44,3
Меропенем	249 / 80,3	61 / 19,7	113 / 49,1	117 / 50,9
Аминопенициллины				
Амоксициллин	57 / 18,4	253 / 81,6	43 / 18,7	187 / 81,3
Ингибиторзащищенные антибиотики				
Амоксициллин/клавуланат (амоксиклав)	97 / 31,3	213 / 68,7	96 / 41,7	134 / 58,3
Цефоперазон/сульбактам	239 / 77,1	71 / 22,9	67 / 29,1	163 / 70,9
<b>ХЛОРАМФЕНИКОЛЫ</b>				
Левомецетин	38 / 12,3	272 / 87,7	52 / 22,6	178 / 77,4
<b>НИТРОФУРАНЫ</b>				
Фуразолидон	0 / 0	310 / 100	8 / 3,5	222 / 96,5
Фурадонин	0 / 0	310 / 100	2 / 0,9	228 / 99,1
Нитрофурантоин	0 / 0	310 / 100	0 / 0	230 / 100

У штаммов *P. aeruginosa* высокая чувствительность выявлена к аминогликозидам – 80,3 – 90,3 % чувствительных штаммов, фторхинолонам (левофлоксацин, норфлоксацин и ципрофлоксацин) – 88,4 – 95,5 % чувствительных штаммов. Среди бета-лактамов высокий уровень активности зафиксирован у карбапенемов (имипенем и меропенем) – 80,3 – 82,6 % чувствительных культур. К цефалоспорином (цефтазидим и цефоперазон), используемым в клинической практике, чувствительность была средней и составила 57,4 % и 62,9 % соответственно.

У *K. pneumoniae* зафиксирован более высокий уровень устойчивости к антибиотикам. Средняя активность выявлена лишь у карбапенемов – 49,1 - 55,7 % чувствительных штаммов и у амоксицилина – 41,7 % чувствительных штаммов, к остальным антибиотикам она была низкой и варьировала в пределах от 21,3 до 33,5 %.

Следует отметить, что у исследованных микроорганизмов отмечено увеличение количества штаммов, чувствительных к ингибиторзащищённым антибиотикам (амоксицилин и цефоперазон/сульбактам).

Для *P. aeruginosa* количество чувствительных штаммов к амоксицилину составило 31,3 % и цефоперазон/сульбактаму - 77,1 %, для *K. pneumoniae* – 41,7 % и 29,1 % штаммов соответственно. В то время как чувствительность к амоксицилину и цефоперазону у культур встречалась значительно реже. Этот факт косвенно указывает на наличие у культур, выделенных из воды, бета-лактамаз расширенного спектра действия.

Низкая чувствительность к антибактериальным препаратам или полное отсутствие её зафиксировано к нитрофуранам и хлорамфениколам.

Проведенные исследования показали, что среди изученных штаммов микробного сообщества данных водоёмов не было выявлено изолятов чувствительных или устойчивых ко всем использованным антибиотикам. В микробном сообществе доминировали умеренно-резистентные штаммы. Свойство полирезистентности отмечено в большей степени среди штаммов *K. pneumoniae*, чем среди *P. aeruginosa*.



**2.7 Факторы патогенности *K. pneumoniae* и *P.aeruginosa*, выделенных из воды поверхностных водоемов в г.г. Ростов-на-Дону и Азов в период 2017 – 2019 гг.**

Проведены мониторинговые исследования воды на наличие патогенной и потенциально патогенной микрофлоры в воде Нижнего Дона г. Ростова-на-Дону и в местах водозабора и пляжа г. Азова. За весь период наблюдения патогенная микрофлора (*Salmonella* и *Shigella*) не обнаружена. Основными представителями водного микробиоценоза являлись кишечные палочки (лактозоположительные и лактозоотрицательные). Среди неферментирующих бактерий преобладали *Pseudomonas aeruginosa*, выделенные из всех проб воды в наибольших количествах в летние месяцы. Также в 65 – 87 % случаев были выделены бактерии родов *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Acinetobacter*. Наиболее загрязненными с микробиологической точки зрения явились городской пляж г. Азова и место сброса сточных вод, где были обнаружены практически все вышеуказанные микроорганизмы. Результаты изучения ферментов патогенности у выделенных культур представлены в таблице 8.

Таблица 8. Частота обнаружения ферментов патогенности *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, выделенных из воды в период 2017 - 2019 гг.

Культуры	Количество штаммов (n)	Ферменты патогенности							
		ДНК-азная активность		Гемолитическая активность		Протеолитическая активность		Лецитиназная активность	
		Встречаемость признака (M± m) %							
		n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	230	84	36,5±3,2	59	25,7±2,9	87	37,8±3,2	0	0
		146	63,5±3,2	171	74,3±2,9	143	62,2±3,2		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	310	63	20,3±2,3	237	76,5±2,4	235	75,8±2,4	0	0
		247	79,7±2,3	73	23,5±2,4	75	24,2±2,4		

Примечание: числитель - число штаммов, имеющих признак; знаменатель – число штаммов, у которых данный признак отсутствует.

Проведено изучение биологических свойств и факторов патогенности 540 штаммов потенциально патогенных микроорганизмов (*K. pneumoniae* – 230 штаммов; *P. aeruginosa* – 310 штаммов), выделенных из воды поверхностных водоемов в течение 3-х лет (2017-2019гг.) как наиболее значимых патогенов для человека и животных. Клебсиеллы являются типичными представителями энтеробактерий, широко распространены в водной среде и играют заметную роль в этиологической структуре кишечных инфекций у человека, мало изучены биологические свойства клебсиелл, выделенных их водных объектов. Синегнойные бактерии (*P. aeruginosa*) являются представителями неферментирующих грамотрицательных бактерий, также широко распространены в водной среде, имеют определенный удельный вес и являются возбудителями нозокомиальных инфекций. Изучены ферменты патогенности (ДНК-азная, гемолитическая, лецитиназная и протеолитическая активность), вирулентные, токсигенные свойства и антибиотикорезистентность. Статистически значимых различий в частоте обнаружения ферментов патогенности и свойствах у культур, выделенных в разные годы, не обнаружено.

Культуры, выделенные из воды, были типичными по морфологическим и биохимическим свойствам, обладали гемолитической, протеолитической и ДНК-азной активностью. Наибольший процент гемолитических штаммов 76,5 % выявлен у *P. aeruginosa*, в то время как у *K. pneumoniae* он составил 25,7 % (в 3 раза ниже). Количество штаммов, обладающих протеолитической активностью было высоким у *P. aeruginosa* и составило 75,8 %, у *K. pneumoniae* частота обнаружения признака была в 2 раза ниже и составила 37,8 %. Частота обнаружения штаммов, обладающих ДНК-азной активностью, была выше у *K. pneumoniae* и составила 36,5 %. Лецитиназную активность не проявил ни один из исследуемых штаммов.

В процессе работы проведены исследования по изучению вирулентности у *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* (по 20 штаммов каждого микроорганизма). В результате выявлена высокая степень вирулентности у

всех изученных культур. Минимальная доза, вызывающая гибель 50% мышей в среднем для *Pseudomonas aeruginosa* составила  $\lg LD_{50} 8,14 \pm 0,2$ , для *Klebsiella pneumoniae* –  $\lg LD_{50} 8,49 \pm 0,3$ . Изучение энтеротоксигенности показало высокий процент выявления токсигенных штаммов среди *P. aeruginosa* – 74,2 % (230 штаммов) и среди *K.pneumoniae* – 41,3 % (95 штаммов). Как показали исследования среди *P. aeruginosa* чаще обнаруживались культуры, вырабатывающие энтеротоксины.

Результаты изучения вирулентных и токсигенных свойств у *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* представлены в таблице 9.

Таблица 9. Характеристика вирулентных и токсигенных свойств *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, выделенных из воды в период 2017 -2019 гг.

Исследуемые культуры	Характеристика свойств культур		
	Вирулентные свойства штаммов $LD_{50}$ в млн. м.т. и в $\lg (M \pm m)$ $n = 20$	Токсигенные свойства штаммов	
		Степень энтеротоксигенности	
		n	$M \pm m$ %
<i>Klebsiella pneumoniae</i>  n= 230	От 93 до 564 млн. м.т. $M \pm m = 349 \pm 147$	токсигенные 34	14,8 $\pm$ 2,3
		среднетоксигенные 61	26,5 $\pm$ 2,9
	$\lg LD_{50}$ от 7,97 до 8,75 $M \pm m = 8,49 \pm 0,3$	слаботоксигенные 37	16,1 $\pm$ 2,4
		нетоксигенные 98	42,6 $\pm$ 3,3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>  n=310	От 71 до 288 млн. м.т. $M \pm m = 167 \pm 88$	токсигенные 133	42,9 $\pm$ 2,8
		среднетоксигенные 97	31,3 $\pm$ 2,6
	$\lg LD_{50}$ от 7,85 до 8,46 $M \pm m = 8,14 \pm 0,2$	слаботоксигенные 35	11,3 $\pm$ 1,8
		нетоксигенные 45	14,5 $\pm$ 2,0

В результате проведенных исследований показано, что представители потенциально патогенной микрофлоры, в частности, *K.pneumoniae* и *P. aeruginosa*, выделенные из воды поверхностных водоёмов, обладают набором агрессивных (патогенных) факторов, что указывает на их высокие адаптационные возможности и на эпидемическую опасность водопользования.

## 2.8 Разработка питательной среды для выделения *Pseudomonas aeruginosa* из водных объектов

Ухудшение экологического состояния и проблема обеспечения эпидемической безопасности водных объектов предопределяет необходимость проведения санитарно-бактериологического мониторинга качества воды. Антропогенное загрязнение водоёмов приводит к уменьшению содержания индикаторных микробов, изменению их биологических и культуральных свойств на фоне количественного преобладания условно-патогенных микроорганизмов. Среди многих возбудителей кишечных заболеваний, связанных с водным фактором передачи, следует выделить микроорганизмы рода *Pseudomonas*.

*Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка) – грамотрицательная бактерия, обитающая в воде и почве. Синегнойная палочка – условно – патогенный микроорганизм, возбудитель нозокомиальных инфекций, обладающий высокой устойчивостью к антибиотикам. Одним из характерных биологических признаков, отличающих синегнойную палочку от других микроорганизмов, является способность синтезировать водорастворимый пигмент – пиоцианин (производное феназинов), регистрация которого используется в рутинной практике при идентификации *P. aeruginosa*. Встречаются беспигментные штаммы *P. aeruginosa*, которые, по литературным данным, играют особую роль в синегнойно-кандидозных ассоциациях - распространенной этиологической причине полимикробных инфекций.

Выделение *Pseudomonas aeruginosa* из воды исследуемых водных объектов осуществляют в 2 этапа. На 1 этапе проводят посев воды в среду накопления, в которой могут расти не только *Pseudomonas aeruginosa*, но и другие грамположительные и грамотрицательные микроорганизмы, обитающие в воде. На 2 этапе проводят высев из среды накопления на твердые дифференциально - диагностические среды. Выделение штаммов *Pseudomonas aeruginosa* на простых питательных средах (мясопептонный

агар (МПА), кровяной агар) затруднено в связи с обильным ростом сопутствующих бактерий, угнетающих рост синегнойной палочки.

В настоящее время для выделения *P. aeruginosa* из водных объектов используется среда «Блеск». Данная среда обеспечивает подавление роста сопутствующих микроорганизмов, но не дает возможности визуального наблюдения выработки синегнойными бактериями пигмента пиоцианина. Использование в составе среды молока требует дополнительной термической обработки при ее изготовлении. В практике здравоохранения используют среду Кинг А, цетирмидный агар и другие, предназначенные для селективного выделения и идентификации бактерий *P. aeruginosa* из клинического материала.

Недостатком вышеуказанных сред является то, что, наряду с угнетением сопутствующей грамположительной и грамотрицательной микрофлоры ингибиторами, входящими в их состав, происходит одновременное угнетение роста ряда штаммов синегнойной палочки. Кроме того, селективное действие данных сред основано на активации пигментообразования, что затрудняет выделение и диагностику атипичных, не образующих пигмент штаммов *P. aeruginosa*, особенно при проведении широкомасштабного эпидемиологического мониторинга. При этом указанные отечественные и зарубежные питательные среды многокомпонентны, имеют сложный состав, включающий дорогостоящие ингредиенты, не всегда доступны.

Нами предложена плотная дифференциально-диагностическая питательная среда для селективного выделения *P. aeruginosa* из воды, которая обеспечивает преимущественный рост синегнойной палочки при максимальном подавлении роста сопутствующей микрофлоры, а также позволяет выделить и диагностировать атипичные беспигментные штаммы синегнойной палочки. Среда содержит мясо-пептонный агар, глюкозу, сульфат меди –  $\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$  и глицерин в определенных концентрациях. В предлагаемой питательной среде МПА и глюкоза являются источником углерода и азота, необходимых для роста бактерий. Сульфат меди –  $\text{CuSO}_4 \times$

5H<sub>2</sub>O (медный купорос, выпускаемый отечественной промышленностью в виде сухого кристаллического порошка синего цвета и применяемый как асептическое и фунгицидное средство) ингибирует рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, отличных от *Pseudomonas*. Глицерин служит источником энергии и способствует выработке пигмента пиоцианина (табл.10).

Таблица 10. Питательная среда для выделения *Pseudomonas aeruginosa* водных объектов (состав в г/л)

Мясо-пептонный агар (МПА)	1 л
Сульфат меди (CuSO <sub>4</sub> × 5H <sub>2</sub> O)	0,14 г
Глюкоза	10,0 г
Глицерин	10,0 мл
pH – 7,0 ± 0,2	

При высеве из среды накопления на предлагаемую дифференциально-диагностическую среду достигается максимальное подавление роста сопутствующей микрофлоры без угнетения роста *P. aeruginosa*, что обеспечивает также возможность выделения и диагностики беспигментных штаммов синегнойной палочки за счет преимущественного роста *P. aeruginosa*. Данная среда позволяет изолировать из микробных ассоциаций при температуре инкубации 42<sup>0</sup> С в термостате в течение 18-24 ч только синегнойные бактерии.

**Способ приготовления питательной среды:** предварительно готовят мясо-пептонный агар с 1% глюкозы. Для этого 20 г агара микробиологического и 10 г глюкозы растворяют в 1000 мл дистиллированной воды, нагревают и кипятят 2 мин до полного растворения агара, разливают в стерильные флаконы по 100 мл и стерилизуют автоклавированием при 1,1 атм (120 + 2<sup>0</sup> С) в течение 20 минут. К 100 мл стерильного, расплавленного мясо-пептонного агара с глюкозой, охлажденного до 60<sup>0</sup> С, добавляют 0,014 г сульфата меди (CuSO<sub>4</sub> × 5H<sub>2</sub>O) и

1,0 мл глицерина. Содержимое энергично перемешивают до полного растворения и разливают в стерильные чашки Петри (не менее 20-25 мл). Перед посевом чашки с питательной средой подсушивают. Среду готовят в лаборатории непосредственно перед использованием. Готовая среда слегка зеленоватого цвета. На данной среде формируются крупные или средние полупрозрачные колонии *P. aeruginosa* (1,5 - 3 мм) серо-зеленого или сине-зеленого цвета, с выделением специфического сладковатого запаха жасмина.

#### **Подбор концентраций ингредиентов в составе предлагаемой питательной среды**

Питательную среду готовят по вышеуказанному способу, используя разные концентрации сульфата меди (таблица 11).

Таблица 11.

Состав питательной среды в г/л:	1 вариант	2 вариант	3 вариант
Мясо-пептонный агар (МПА)	1 л	1 л	1 л
$\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$	0,12 г	0,14 г	0,16 г
Глюкоза	10,0 г	10,0 г	10,0 г
Глицерин	10,0 мл	10,0 мл	10,0 мл
pH – 7,0 ± 0,2			

При подборе концентраций ингредиентов использовали тест-штаммы: *P.aeruginosa* 10145; *S.paratyphi* B 506; *E.coli* 3912/41. Для приготовления микробных взвесей суточные агаровые культуры тест-штаммов смывают 0,9 % стерильным изотоническим раствором хлорида натрия, доводят взвеси до 10 ед. по оптическому стандарту мутности, что соответствует  $10^9$  микробных клеток в 1 мл. Затем серийными десятикратными разведениями доводят до содержания 100 тыс. ( $10^4$ ), 10 тыс. ( $10^5$ ) и 1 тыс. ( $10^6$ ) микробных клеток в 1 мл взвеси. Высев производят из разведений  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  по 0,1 мл на чашки со средой, содержащей разные концентрации сульфата меди, и инкубируют при температуре  $37^0$  и  $42^0$  С в течение 18-24 час.

Данные по ростовым свойствам среды представлены в таблицах 3 и 4.

Рост *Pseudomonas aeruginosa* в количестве, соответствующем посевной дозе микроорганизма, отмечен на среде с минимальным и оптимальным содержанием сульфата меди. При этом преимущественный рост псевдомонад регистрировали при температуре 42<sup>0</sup> С. На среде с максимальным содержанием сульфата меди наблюдали угнетение роста синегнойных бактерий (единичные колонии, отсутствие роста).

Рост других микроорганизмов (*E.coli* и *S.paratyphi B*) зависит от посевной дозы микроорганизма и на среде с оптимальным содержанием сульфата меди наблюдали значительное угнетение роста. При максимальном содержании сульфата меди рост сопутствующих бактерий отсутствует. При температуре 42<sup>0</sup> С на данной среде растут только синегнойные палочки. При необходимости, принадлежность колоний к *P.aeruginosa* подтверждают дополнительными видоспецифическими тестами (образование цитохромоксидазы, флуоресцирующих пигментов и др.).



Таблица 12. Зависимость роста *P. aeruginosa* от концентрации сульфата меди в предлагаемой питательной среде при t 37° С.

Состав среды	<i>P. aeruginosa</i> 10145 посев по 0,1 мл					<i>S. paratyphi B</i> 506 посев по 0,1 мл					<i>E. coli</i> 3912/41 посев по 0,1 мл				
	Разведения микроорганизмов														
	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Минимальное значение CuSO <sub>4</sub>	МПА – 1 л глюкоза – 10г CuSO <sub>4</sub> – 0,12 г глицерин -10 мл	Сплошной рост	Сплошной рост	до 100 колоний	Сплошной рост	Сплошной рост	до 100 колоний	Единичные колонии	Сплошной рост	до 100 колоний	Единичные колонии	Сплошной рост	до 100 колоний	Единичные колонии (32)	
Оптимальное значение CuSO <sub>4</sub>	МПА – 1 л глюкоза – 10г CuSO <sub>4</sub> – 0,14 г глицерин -10 мл	Сплошной рост	Сплошной рост	до 100 колоний	до 100 колоний	до 100 колоний	Единичные колонии	Роста нет	до 100 колоний	Единичные колонии (30-35)	Роста нет	до 100 колоний	Единичные колонии (30-35)	Роста нет	
Максимальное значение CuSO <sub>4</sub>	МПА – 1 л глюкоза – 10 г CuSO <sub>4</sub> – 0,16 г глицерин -10 мл	Единичные колонии	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	

Таблица 13. Зависимость роста *P. aeruginosa* от концентрации сульфата меди в предлагаемой питательной среде при t 42<sup>o</sup> C

Состав среды	<i>P. aeruginosa</i> 10145 посев по 0,1 мл		<i>S. paratyphi B</i> 506 посев по 0,1 мл				<i>E. coli</i> 3912/41 посев по 0,1 мл		
	Разведения микроорганизмов								
	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>
Минимальное значение CuSO <sub>4</sub>	МПА – 1 л глюкоза – 10г CuSO <sub>4</sub> – 0,12 г глицерин -10 мл	Сплошной ой рост	до 100 колоний	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет
Оптимальное значение CuSO <sub>4</sub>	МПА – 1 л глюкоза – 10г CuSO <sub>4</sub> – 0, 14 г глицерин -10 мл	Сплошной ой рост	до 100 колоний	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет
Максимальное значение CuSO <sub>4</sub>	МПА – 1 л глюкоза – 10 г CuSO <sub>4</sub> – 0, 16 г глицерин -10 мл	Единич ные колони и	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет	Роста нет

**Определение ростовых и морфологических характеристик референс-штаммов на предлагаемой питательной среде в зависимости от температурных условий культивирования**

Для оценки предлагаемой питательной среды использовали культуры музейных штаммов: *P.aeruginosa* 10145; *S. aureus* 209-P 6538; *E.coli* 3912/41; *S.sonnei* (S-форм); *S.paratyphi* B 506; *K.pneumoniae* 79.

Референс-штаммы готовили вышеуказанным способом. Высев производили из разведения  $10^{-6}$ . Посевы инкубировали аэробно при температуре  $37 \pm 1^{\circ}\text{C}$  и  $42 \pm 1^{\circ}\text{C}$  в течение 18-24 час. Учитывали форму и характер роста колоний. Ростовые и морфологические характеристики референс-штаммов на опытной среде в зависимости от температурных условий культивирования представлены в таблице 14.

Таблица 14. Ростовые и морфологические характеристики референс-штаммов на предлагаемой питательной среде через 24 – 48 час при  $t\ 37^{\circ}\text{C}$  и  $42^{\circ}\text{C}$

Штамм микроорганизмов (АТСС)	Условия культивирования (температурный режим)		Морфология (цвет и форма колоний)
	Рост при температуре $37^{\circ}\text{C}$	Рост при температуре $42^{\circ}\text{C}$	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (10145)	Обильный	Обильный	Серо-зелёные или сине-зеленые полупрозрачные колонии (1,5-3мм)
<i>Staphylococcus aureus</i> (209-P № 6538)	Подавляется	Подавляется	-
<i>Escherichia coli</i> (3912/41)	Умеренный	Подавляется	Серо-белые колонии (1-2мм)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (79)	Умеренный	Подавляется	Белые слизистые колонии (2-3,5мм)
<i>Shigella sonnei</i> («S-форм»)	Умеренный	Подавляется	Светло-серые мелкие колонии (1-1,5 мм)
<i>Salmonella paratyphi</i> (B506)	Умеренный	Подавляется	Светло-серые мелкие колонии (1-1,5мм)

Предлагаемая питательная среда для выделения псевдомонад, содержащая мясо-пептонный агар, глюкозу, сульфат меди и глицерин, приготовленная в соответствии с предложенной рецептурой, обеспечивает рост *P.aeruginosa* в виде колоний серо-зеленого или сине-зеленого цвета (1,5-3 мм в диаметре). Рост сопутствующих грамположительных и грамотрицательных бактерий при  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$  в значительной степени ингибируется, при  $42\pm 1^{\circ}\text{C}$  – рост сопутствующих бактерий отсутствовал.

#### **Сравнение эффективности предлагаемой питательной среды и прототипа при выделении *Pseudomonas aeruginosa* из объектов водной среды**

Изучена сравнительная эффективность предлагаемой питательной среды и прототипа для выделения *P. aeruginosa* из воды поверхностных водоемов и сточных вод. Исследование объектов окружающей среды на *P. aeruginosa* состояло из трех этапов: накопление *P. aeruginosa* в жидкой питательной среде для обогащения, выделение *P. aeruginosa* на плотной питательной селективно-дифференциальной среде, идентификация *P. aeruginosa* с использованием ограниченного набора наиболее надежных тестов.

Производили посев проб воды реки Дон и сточной воды в среду накопления (Магниева среда, жидкая питательная среда накопления (MP 01-19/98-17 от 06.11.1995 г.) и культивировали при температуре  $42^{\circ}\text{C}$  в течение 18-24 час (титрационный метод). Затем производили высев образцов воды на предлагаемую питательную среду бактериологической петлей со среды накопления штрихами для получения изолированных колоний. Всего изучено 45 проб воды реки Дон и 45 проб сточной воды (таблица 15).

Таблица 15. Сравнительная оценка эффективности предлагаемой питательной среды и прототипа (агар с цетримидом) при выделении *P. aeruginosa* из речной и сточной вод.

Объекты исследования	Общее кол – во проб (n)	Выявляемость <i>Pseudomonas aeruginosa</i>				P
		Опытная среда с CuSO <sub>4</sub> x 5H <sub>2</sub> O		Агар с цетримидом		
		Абс. ч.	М ± m (%)	Абс. ч.	М ± m (%)	
р. Дон	45	39	86,7 ± 5,1	32	71,1 ± 6,8	P < 0,01
Сточная вода	45	42	93,3 ± 3,7	35	77,8 ± 6,2	P < 0,01

С помощью опытной среды из 86,7 % проб воды реки Дон и 93,3 % проб сточной воды была изолирована *P.aeruginosa*, в том числе и атипичные беспигментные штаммы *P.aeruginosa*. При использовании агара с цетримидом выделение синегнойной палочки зафиксировано в значительно меньшем количестве проб. Различия статистически достоверны. Натурные исследования показали, что предлагаемая питательная среда обеспечивает более эффективное выделение синегнойной палочки из объектов водной среды различной загрязненности.

Таким образом, проведенные исследования показали преимущество использования предлагаемой питательной среды с сульфатом меди при выделении *Pseudomonas aeruginosa* из воды различной степени биологического загрязнения, что позволяет адекватно оценить степень эпидемической опасности водных объектов и свидетельствует о возможности использования её в практике.

Разработанная питательная среда для выделения *Pseudomonas aeruginosa* водных объектов признана изобретением: Патент № 2710160 от 24.12.2019 г. «Питательная среда для выделения *Pseudomonas aeruginosa* из водных объектов».

## Список литературы:

1. Рахманин Ю.А., Михайлова Р.И. Окружающая среда и здоровье: приоритеты профилактической медицины. Гигиена и санитария. 2014; 93(5): 5-10.
2. Попова А.Ю. Стратегические приоритеты Российской Федерации в области экологии с позиции сохранения здоровья нации. Здоровье населения и среда обитания. 2014; (2): 4-7.
3. Рахманин Ю.А., Новиков С.М., Румянцев Г.И. Методологические проблемы оценки угроз здоровью человека факторов окружающей среды // Гигиена и санитария. – 2003. – № 6. – С. 5 – 10.
4. Журавлёв П.В., Алешня В.В., Головина С.В., Панасовец О.П. Мониторинг бактериального загрязнения водоёмов Ростовской области // Гигиена и санитария. – 2010. - №5. – С. 33-36.
5. Журавлёв П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П., Айдинов Г.В., Швагер М.М., Митрофанова Т.В., Джансейидов Б.Х., Мартынов Г.А., Деревякина Е.И. Санитарно-бактериологическая характеристика воды Нижнего Дона. // Гигиена и санитария. – 2012. – №4. – С. 28 – 31
6. Рахманин Ю.А. Научно-методические основы изучения, оценки и регламентирования биологических факторов в гигиене окружающей среды // Гигиена и санитария. – 2010. – № 5. – С. 4 – 8.
7. Недачин А.Е., Артёмова Т.З., Алешня В.В., Журавлёв П.В. Проблемы эпидемической безопасности питьевого водопользования населения России // Гигиена и санитария. – 2005. – № 6. – С. 14 – 18.
8. Савилов Е.Д., Анганова Е.В. Микробиологический мониторинг водных экосистем // Гигиена и санитария. – 2010. – № 5. – С. 56 – 58.
9. Dauson D.J., Sartory D.P. Microbiological safety of water. // Brit. Med. Bull. – 2000. – 56(1). – P.74 – 83.
10. Dechesne M., Soyeux E. Assessment of source water pathogen contamination // Journal of Water and Health.-2007.-V.5, Suppl 1.- P. S39-S50.

11. Drzewiecka, D. Significance and Roles of *Proteus* spp. Bacteria in Natural Environments. *Microbial Ecology*, 72(4), 741–758. doi:10.1007/s00248-015-0720-6. 2016.
12. Poullis D.A., Attwell R.W., Powell S.C. The characterization of waterborne-disease outbreaks // *Rev. Environ. Health.*-2005.-V.20,N2.- P.141-149
13. September S.M., Els F.A, Venter S.N., Brözel V.S. Prevalence of bacterial pathogens on biofilms of drinking water distribution systems // *Journal of Water and Health.*- 2007.-V.5,N2.- P.219-227.
14. Беляев Е.Н., Домнин С.Г. Щербаков К.П. Опыт ведения социально-гигиенического мониторинга на современном этапе // *Гигиена и санитария.* – 2005. – № 6. – 10 – 13.
15. Алешня В.В., Журавлёв П.В., Головина С.В., Панасовец О.П., Недачин А.Е., Артёмова Т.З., Иванова Л.В., Талаева Ю.Г., Загайнова А.В. Значение индикаторных микроорганизмов при оценке микробного риска в возникновении эпидемической опасности при питьевом водопользовании // *Гигиена и санитария.* – 2008. – №2. – С. 23 – 26.
16. Журавлёв П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П. Значение глюкозоположительных колиформных бактерий и потенциально патогенных бактерий как показателей эпидемической безопасности водопроводной воды // *Гигиена и санитария.* – 2013. – №1. – С.56 – 58.
17. Ainsworth R. Safe, piped water: Managing microbial water quality in piped distribution systems. IWA Publishing, London, for the World Health Organization, Geneva.-2004.
18. Грижебовский Г.М., Онищенко Г.Г., Таран В.И. Вспышка брюшного тифа в Чеченской республике в 2000 г.: эпидемиологическая характеристика // *ЖМЭИ.* – 2001. – № 6. – С. 45 – 47.
19. Литвин В.Ю., Пушкарёва В.И., Емельяненко Е.Н. Биоценотические основы природной очаговости сопронозов (итоги 15-летних наблюдений) // *ЖМЭИ.* – 2004. – № 4. – С. 102 – 108.

20. Alamanos Y. A community waterborne outbreak of gastro-enteritis attributed to *Shigella sonnei* // *Epidemiology and Infection*.-2000.-V.125.-P.499-503
21. Dechesne M., Soyeux E. Assessment of source water pathogen contamination // *Journal of Water and Health*.-2007.-V.5, Suppl 1.- P. S39-S50.
22. Herridge W.P., Shibu P., O'Shea J., Brook T.C., Hoyles L. Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses // *Journal of Medical Microbiology*. – 2020. – V. 69. – I. 2. – P. 176 – 194.
23. Manohar P., Tamhankar A.J., Stalsby Lundborg S., Nachimuthu R. Therapeutic Characterization and Efficacy of Bacteriophage Cocktails Infecting *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter* Species // *Frontiers in Microbiology*. – 2019. – V. 10. – I. 574. – 12 p.
24. Rice G., Heberling M.T., Rothermich M. The role of disease burden measures in future estimates of endemic waterborne disease // *Journal of Water and Health*.-2006.-V.4,Suppl. 2.- P.187-199.
25. Журавлёв П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П., Гордеев В.А., Казачок И.П., Черногорова Т.Н. Санитарно-бактериологическая характеристика воды Цимлянского водохранилища. // *Ж. «Здоровье населения и среда обитания»*. – 2012. – № 4. – С. 8 – 11.
26. Журавлёв П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П., Айдинов Г.В., Швагер М.М., Митрофанова Т.В., Джансейидов Б.Х., Мартынов Г.А., Деревякина Е.И. Санитарно-бактериологическая характеристика воды Нижнего Дона. // *Гигиена и санитария*. – 2012. – №4. – С. 28 – 31.
27. Allen M.J., Clancy J.L. The plain hard truth about pathogen monitoring // *American Water Works Association*. 2000. Vol. 92(9). - P. 64-76.
28. Lee S.H., Levy D.A., Craun G.F. et al. / Surveillance for waterborne-disease outbreaks – United States, 1999-2000 // *MMWR Surveill Summ*. – 2002.- V.51, N 22.- P.1-47.
29. Рахманин Ю.А., Иванова Л.В., Артемова Т.З., Гипп Е.К., Загайнова



А.В., Журавлев П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П. Распространение бактерий рода *Klebsiella* в водных объектах и их значение в возникновении водообусловленных острых кишечных инфекций // Гигиена и санитария. 2016. Т. 95. № 4. С. 397-406.

30. Мамонтова Л.М., Савилов Е.Д., Рахманин Ю.А. Условно-патогенные микроорганизмы и их распространение в водных экосистемах Сибири // Гигиена и санитария. – 2005. – №3. – С. 13 – 17.

31. Razzolini M.T.P., Di Bari M., Sato M.I.Z., Sanchez P.S. *Aeromonas* detection and their toxins from drinking water from reservoirs and drinking fountains // *Journal of Water and Health*-2008.-V.6,N1.- P.117-123.

32. Mondal, A. H., Siddiqui, M. T., Sultan, I., & Haq, Q. M. R. (2018). Prevalence and diversity of blaTEM, blaSHV and blaCTX-M variants among multidrug resistant *Klebsiella* spp. from an urban riverine environment in India. *International Journal of Environmental Health Research*, 1–13. doi:10.1080/09603123.2018.1515425

33. Craun G.F., Calderon R.L., Craun M.F. Outbreaks associated with recreational water in the United States. // *Int. J. Environ. Health. Res.* – 2005. – v. 15. - № 4. – P. 243 – 262.

34. Carraro E., Bonetta S., Palumbo F., Gilli G. Microbiological risk associated with consumption of drinking water in developed countries // *Ann. Ist. Super Sanita.*-2004.-V.40,N1.- P.117-140.

35. Pokhrel B.M., Thapa N. Prevalence of *Aeromonas* in different chemical and water samples with special reference to gastroenteritis // *Nepal Med. Col. J.* – 2004. – V.6, №2. – P. 139 – 143.

36. Загайнова А.В., Талаева Ю.Г., Дмитриева Р.А. Оценка эпидемической опасности патогенных и условно-патогенных бактерий, выделенных из воды различного вида водопользования // Гигиена и санитария. – 2010. – № 5. – С. 68 – 73.

37. Алешня В.В., Головина С.В., Журавлёв П.В. Методические подходы к выделению условно-патогенных микроорганизмов из водных

объектов // Медицинская микробиология – XXI век. Мат. Всеросс. науч.-пр. конф. – Саратов, 2004. – С. 19 – 20.

38. Савилов Е.Д., Анганова Е.В., Савченков М.Ф. Гигиеническая оценка биологических загрязнений водоёмов Восточной Сибири и Севера // Гигиена и санитария. – 2008. – № 3. – С. 16.– 18.

39. Марков А.В. Условно-патогенные микроорганизмы в крупнейших водоёмах Восточной Сибири и их роль в гигиенической оценке качества воды // Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2004.

40. Мамонтова Л.М., Савилов Е.Д., Рахманин Ю.А. Условно-патогенные микроорганизмы и их распространение в водных экосистемах Сибири // Гигиена и санитария. – 2005. – №3. – С. 13 – 17.

41. Обухова О.В., Ларцева Л.В., Лисицкая И.А. Санитарно-микробиологическая оценка гидросистемы дельты Волги при антропогенном загрязнении // Гигиена и санитария. – 2009. – №1. – С. 23 – 25.

42. Мамонтова Л.М., Авдеев В.В., Марков А.В. Мониторинг микробных сообществ водных экосистем // Гигиена и санитария. – 2001.- №2.- С.33 - 35.

43.Обухова О.В., Ларцева Л.В., Лисицкая И.А. Роль аэромонад в мониторинге гидроэкосистемы Волго-Каспийского региона // Гигиена и санитария. – 2011. – №3 – С. 15 – 17.

44. Алешня В.В., Журавлёв П.В., Головина С.В. Особенности индикаторного значения бактериологических показателей при оценке качества воды в отношении эпидемической безопасности в условиях зарегулированного водоёма // Вода: Экология и технология. Сб. мат. 5-го международного конгресса «Экватек – 2002». Москва (4 – 7) июня 2002. – С. 705.

45. Брызгало В.А., Коршун А.И., Никаноров А.М., Соколова Л.П. Гидробиологические характеристики нижних участков Дона в условиях длительного антропогенного воздействия // Водные ресурсы.- 2000.- № 27.- С.357 - 363.

46. Панасюк Е.Ю. Особенности биоразнообразия условно-патогенных бактерий озера Байкал и их значение при оценке качества воды: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Иркутск, 2002. – 27 с.
47. Коньшина Л.Г., Сергеева М.В., Липанова Л.Л., Солонин А.В. Оценка риска, обусловленного загрязнением окружающей среды, здоровья населения в городе Орске // Гигиена и санитария. – 2004. – № 2. – С. 22 – 24.
48. Craun G.F., Nwachuku N., Calderon R.L., Craun M.F. Water disinfection // J. Environmental Health. – 2002. - № 65. – P. 16 – 23.
49. Ovejero, C. M., Delgado-Blas, J. F., Calero-Caceres, W., Muniesa, M., & Gonzalez-Zorn, B. (2017). Spread of mcr-1-carrying Enterobacteriaceae in sewage water from Spain. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, dkw533. doi:10.1093/jac/dkw533
50. Suzuki, Y., Nazareno, P. J., Nakano, R., Mondoy, M., Nakano, A., Bugayong, M. P., ... Yano, H. (2019). Environmental presence and genetic characteristics of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from hospital sewage and river water in the Philippines. Applied and Environmental Microbiology. doi:10.1128/aem.01906-19
51. Donovan E.P., K.M. Unice, Roberts J.D. / Risk of Gastrointestinal Disease Associated with Exposure to Pathogens in the Water of the Lower Passaic River // Applied and Environmental Microbiology.-2008.-V.74,N.4.- P.994-1003.
52. Бузолева Л.С. Санитарно-микробиологическая характеристика поверхностных вод пляжей Владивостока // Гигиена и санитария.- 2008.- №4.- С.4-7.
53. Михеева И.В., Соловьёв М.Ю. Санитарно-гигиеническая оценка качества водных объектов в зонах рекреации Ростовской области // Нижний Дон и Северный Кавказ: туризм в регионе. Материалы научно-практической конференции, посвященной 100-летию туризма на Дону. – Ростов-на-Дону, 1998. – С. 52 – 53.

54. Соловьёв М.Ю., Ковалёв Е.В., Конченко А.В., Михеева И.В. О состоянии водоснабжения населённых мест Ростовской области // Здоровье населения и среда обитания. – 2012. – №12. – С.31 – 33.
55. Савилов Е.Д., Анганова Е.В., Савченков М.Ф. Гигиеническая оценка биологических загрязнений водоёмов Восточной Сибири и Севера // Гигиена и санитария. – 2008. – № 3. – С. 16 – 18.
56. Погорелова Н.П., Ларцева Л.В., Бойко А.В. Микробиологическая оценка загрязнения водных объектов дельты Волги // Гигиена и санитария. – 1993. – № 7. – С. 35 – 38.
57. Тулакин А.В., Сайфутдинов М.М., Горшкова А.В. Региональные проблемы обеспечения гигиенической надёжности питьевого водопользования / Гигиена и санитария. – 2007. – № 3. – С. 27 – 30.
58. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2019 году: Государственный доклад.- М.: Федеральная служба в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2020.- 299 с.
59. Новиков Ю.В., Тулакин А.В., Цыплакова Г.В. Гигиенические проблемы питьевого водопользования и пути их решения // Гигиена и санитария. – 1997. – №6. – С. 24 – 27.
60. Кузнецова И.А., Фигурина Т.Я., Шадрина С.Ю. Пути обеспечения населения Вологодской области безопасной питьевой водой с использованием методологии оценки риска. // Гигиена и санитария. – 2011. – №1. – С. 48 – 51.
61. Семёнова Т.А., Ховалыг О.Д., Юлдашева М.А., Немкова Н.К. Качество питьевой воды в Республике Тыва // Здоровье населения и среда обитания. – 2010. – №12. – С. 11 – 14.
62. Куркатов С.В., Скударнов С.Е. Социально-гигиенический мониторинг хозяйственно-питьевого водоснабжения в Красноярском крае // Гигиена и санитария. – 2008. – № 4. – С. 90 – 93.
63. Чубирко М.И., Пичужкина Н.М., Масайлова Л.А., Мониторинг

биологического загрязнения объектов хозяйственно-питьевого водоснабжения // Гигиена и санитария. – 2011. – № 3. – С. 30 – 31.

64. Алешня В.В., Журавлёв П.В., Панасовец О.П., Артемова Т.З., Загайнова А.В., Швагер М.М., Глухов А.А., Джансейидов Б.Х., Мурачева Н.Н. Роль санитарно-гигиенических факторов в распространении бактериальных кишечных инфекций водным путём / Ж. «Здоровье населения и среда обитания». – 2017. – № 11. – С. 20 – 23.

65. Рахманин Ю.А., Иванова Л.В., Артемова Т.З., А.В., Журавлев П.В., Алешня В.В. Сравнительная оценка санитарно-эпидемической значимости индикаторных колиформных показателей качества питьевой воды / Гигиена и санитария. 2019. Т. 98. № 3. С. 237 - 249.

66. Koksal F., Oguzkurt N., Samasti M., Atlas K. Prevalence and antimicrobial resistance patterns of *Aeromonas* strains isolated from drinking water samples in Istanbul, Turkey // *Chemotherapy*.-2007.-V.53,N.1.- P.30 - 35.

67. Stelma G.N., Lye D.J., Smith B.G. et al. / Rare occurrence of heterotrophic bacteria with pathogenic potential in potable water // *Int. J. Food Microbiol.*-2004.- V.92,N3.- P. 249-254.

68. Patel, C. B., Shanker, R., Gupta, V. K., & Upadhyay, R. S. (2016). Q-PCR Based Culture-Independent Enumeration and Detection of *Enterobacter*: An Emerging Environmental Human Pathogen in Riverine Systems and Potable Water. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.00172

69. Алешня В.В., Журавлёв П.В., Панасовец О.П., Седова Д.А. Экспериментальное изучение влияния активного хлора на патогенные и потенциально патогенные микроорганизмы / Ж. «Здоровье населения и среда обитания». – 2018. – № 10. – С. 17– 21.

70. Рахманин Ю.А., Загайнова А.В., Артемова Т.З., Кузнецова К.Ю., Журавлев П.В. Определение унифицированных доз ультрафиолетового обеззараживания воды от бактериального, вирусного и паразитарного загрязнения / Ж. Гигиена и санитария. 2019. – № 12. – С. 1342-1348

71. Hamsch B., Böckle K., van Lieverloo J.H.M. Incidence of faecal contaminations in chlorinated and non-chlorinated distribution systems of neighbouring European countries // *Journal of Water and Health*.-2007.-V.5, Suppl 1.- P. S119-S130.
72. Авчинников А.В. Гигиеническая оценка современных способов обеззараживания питьевой воды (обзор) // *Гигиена и санитария*. – 2001. – №2. – С. 11 – 20.
73. Гончарук В.В., Клименко Н.А, Савчина Л.А. Современные проблемы технологии подготовки питьевой воды // *Химия и технология питьевой воды*. – 2006. – Т.28, № 1. – С. 3 – 95.
74. Лопатин С.А., Нарыков В.И., Раевский К.К. Современные проблемы водоснабжения мегаполисов и некоторые перспективные пути их решения // *Гигиена и санитария*. – 2004. – №3. – С.19 – 24.
75. Журавлёв П.В., Головина С.В., Алешня В.В., Цацка А.А., Карцева Н.П. Барьерная роль водоочистных сооружений в отношении условно-патогенных микроорганизмов. // *Гигиена и санитария*. – 1997. – № 4. – С. 15 – 16.
76. Журавлёв П.В., Алешня В.В., Шелякина Т.В., Головина С.В., Кондратенко Т.А., Айдинов Г.Т., Прядко Л.И. Влияние условий водопользования на онкозаболеваемость населения // *Гигиена и санитария*. – 2000. – № 6. – С.28 – 30.
77. Артёмова Т.З., Недачин А.Е., Жолдакова З.И. Проблема реактивации микроорганизмов в оценке эффективности средств обеззараживания воды // *Гигиена и санитария*. – 2010. – № 1. – С. 15 – 18.
78. Недачин А.Е., Артёмова Т.З., Гипп Е.К. Эпидемическая опасность водопользования при реактивации бактерий после обеззараживания // *Гигиена и санитария*. – 2010. – № 5. – С.16-21.
79. Hubachcova J., Zacek I., Sladeckova A. Drinking water quality changes during the transport in distribution system // *Water supply and water quality*.- IV Int Conf.- Krakow, 2000.- P.1149-1152.

80. Парфёнова В.В., Кравченко О.С., Павлова О.Н. Влияние различных концентраций гипохлорита кальция на выживаемость потенциально патогенных микроорганизмов, изолированных из озера Байкал // Гигиена и санитария. – 2012. – № 2. – С.8-12.

81. Maurer A. M., Strüchler D. A waterborne outbreak of small round structured virus, campylobacter and shigella coinfections in La Neuveville, Switzerland, 1998 // Epidemiol. Infect.-2000.-V.125,N2.- P.325-332.

82. Литвин В.Ю., Пушкарёва В.И. Факторы патогенности бактерий: функции в окружающей среде // ЖМЭИ. – 1994. – № 1. – С. 83 – 87.

83. Лазарева А.В. и соавт. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология.- Клинико-микробиол. антимикроб. химиотер.- 2015.- Том 17, № 3.- С. 171, 180

84. Журавлёв П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П. и др. // Антибиотикорезистентность бактерий, выделенных из воды открытых водоёмов // Здоровье населения и среда обитания.- 2015.- №5.- С.24-26

85. Билёв А. Е., Жестков А.В., Абдалкин М.Е. О связи распространенности лекарственной устойчивости бактерий со структурой потребления антимикробных препаратов в Самаре // Инфекционные болезни – 2011. – Том 9. – С. 46.

86. Riedel, S., Boire, N., Carson, K. A., Vadlamudi, A., Khuvis, J., Vadlamudi, V., Parrish, N. M. (2019). A survey of antimicrobial resistance in Enterobacteriaceae isolated from the Chesapeake Bay and adjacent upper tributaries. *MicrobiologyOpen*, e839. doi:10.1002/mbo3.839.

87. Анганова Е.В. Биологические свойства условно-патогенных бактерий водных экосистем // Гигиена и санитария. – 2010. – № 5. – С. 67 – 68.

88. Журавлёв П.В., Алешня В.В., Панасовец О.П. Изучение факторов патогенности потенциально патогенной микрофлоры, выделенной из водных объектов / Ж. «Здоровье населения и среда обитания». – 2018. – № 1. – С. 7– 11.

89. Edberg S.C., Allen M.J. Virulence and risk from drinking water of heterotrophic plate count bacteria in human population groups // *Int. J. Food Microbiol.*-2004.- V.92,N3.- P. 255-263.
90. Ghenghesh K.S., El-Ghodban A., Dkakni R. / Prevalence, species differentiation, haemolytic activity, and antibiotic susceptibility of aeromonads in untreated well water // *Mem. Inst. Oswaldo. Cruz.*-2001.-V96,N2.- P.169-173.
91. Stelma G.N., Lye D.J., Smith B.G. et al. / Rare occurrence of heterotrophic bacteria with pathogenic potential in potable water // *Int. J. Food Microbiol.*-2004.- V.92,N3.- P. 249-254.
92. Pavlov D., Wet C.M. de, Grabow W.O., Ehlers M.M. / Determination of cytotoxicity and invasiveness of heterotrophic plate count bacteria isolated from drinking water // *Water Supply.*-2002.-V.2,N3.- P.115-122.
93. Немцева Н.В., Мисетов И.А., Г.П. Алехина Г.П. Определение свежего фекального загрязнения воды поверхностных водоёмов // *Журн. микробиол.* – 1997. – № 4. – С. 120 – 123.
94. Sen K., Rodgers M. Distribution of six virulence factors in *Aeromonas* species isolated from US drinking water utilities: a PCR identification // *J. Appl. Microbiol.*-2004.-V.97,N5.- P.1077-1086.
95. Singh, S. K., Ekka, R., Mishra, M., & Mohapatra, H. (2017). Association study of multiple antibiotic resistance and virulence: a strategy to assess the extent of risk posed by bacterial population in aquatic environment. *Environmental Monitoring and Assessment*, 189(7). doi:10.1007/s10661-017-6005-4