

5. Babatsikou F.P. The sick building syndrome/ health Science J. — 2011. — Vol. 5, Issue 2. — P. 72–73.
6. Interactions of Limax amoebae and gram-negative bacteria: Experimental studies and review of current problems / J. Walochnik, O. Picher, Ch. Aspöck, M. Ullmann and et al. // Tokai J Exp Clin Med. — 1999. — Vol. 23, № 6. — P. 273–278.
7. Isolation of potentially pathogenic strains of Acanthamoeba in wild squirrels from the Canary Islands and Morocco / J. Lorenzo-Morales, M. Lopez-Darias, E. Martínez-Carretero and et al. // Experimental Parasitology. — 2007. — № 117. — P. 74–79.
8. Matz C., Kjelleberg St. Off the hook — how bacteria survive protozoan grazing. — Trends in Microbiology. — July, 2005. — Vol. 13, № 7 — P. 300–301.
9. Studies on Fungal and Bacterial Population of Airconditioned Environments / C. Ross, J. Menezes, T. Svidzinski, U. Albino and et al. // Brazilian Archives of Biology and Technology. — Sep., 2004. — Vol. 47, № 5. — P. 827–835.

НАЙПРОСТІШІ В ШТУЧНОМУ СЕРЕДОВИЩІ СПЛІТ-СИСТЕМ

С.В. Козуля, О.Л. Павленко, О.В. Новіков

ДЗ “Кримський державний медичний університет імені С.І. Георгієвського”, м. Сімферополь, Україна
При дослідженні біоплівки, відібраних з 36 спліт-систем м. Джанкої, АР Криму, в 16 пробах (44,4%) виявлені вільноживучі protozoa, які можуть мати епідемічну значущість, сприяти збереженню збудників інфекційних хвороб.

Ключові слова: гігієна, найпростіші, системи кондиціонування повітря.

PROTOZOA IN AN ARTIFICIAL ENVIRONMENT OF SPLIT-SYSTEMS

S.V. Kozulia, O.L. Pavlenko, A.V. Novikov

PI “Crimean State Medical University named after S.I. Georgievsky”, Simferopol, Ukraine
In the study of the biofilm sampled from 36 split-systems, Dzhankoy City, the Autonomous Republic of Crimea, in 16 samples (44.4%) free-living protozoa were found. Free-living protozoa of split-systems may have relevance to the development of an epidemic of human infectious disease in hermetic premises.

Key words: hygiene, protozoa, air-conditioning systems.

УДК 576.809.7

В.О. Пушкіна, О.О. Єгорова, Н.М. Маньковська, В.О. Самойленко

РОЛЬ PROTOZOA В ЦИРКУЛЯЦІЇ ПОТЕНЦІЙНИХ АГЕНТІВ БІОТЕРОРИЗМУ БАКТЕРІАЛЬНОЇ ПРИРОДИ У НАВКОЛИШНЬОМУ СЕРЕДОВИЩІ

ДУ “Український науково-дослідний протичумний інститут ім. І.І. Мечнікова МОЗ України”, Одеса

Встановлена можливість персистенції штамів *Yersinia pestis* EV та *Francisella tularensis* v. *holarctica* в різних видах Protozoa при їх сумісному культивуванні в модельних водних екосистемах.

Ключові слова: біотероризм, мікробна асоціація, Protozoa, дезінфекція

В останнє десятиріччя, в зв'язку з актами навмисного використання біологічних патогенних агентів у терористичних цілях, біотероризм визнано новим викликом всій світовій спільноті [1, 4].

Об'єктами першочергового вибору біотерористичних актів є штучні екосистеми суспільних об'єктів великих міст (метро, готельні комплекси, міжнародні аеропорти, адміністративні будівлі та ін.), де створюються оптимальні умови для персистенції мікроорганізмів, перш за все, у складі біоплівки, де можуть встановлюватися ендосимбіотичні відносини з найпростішими.

Дослідженнями різних авторів встановлено, що окремі бактерії використовують найпростіших для збільшення своєї чисельності, підвищують в присутності Protozoa здатність до формування

© В.О. Пушкіна, О.О. Єгорова, Н.М. Маньковська, В.О. Самойленко

біоплівки та резистентність до несприятливих умов зовнішнього середовища (температура, вологість, дезінфектанти та ін.) [2, 3, 5–9].

Цей аспект має і прикладне значення. А саме — в випадках надзвичайних ситуацій, включно акти біотероризму, виникає необхідність термінового знезараження джерел питної води. Але ж при розробці регламентів дії дезінфектантів, як правило, орієнтуються на результати досліджень, проведених з планктонними культурами мікроорганізмів, і, практично, ніколи не враховують можливу роль протозоа.

Мета роботи — дослідження ймовірності персистенції збудників чуми та туляремії як вірогідних бактеріальних агентів біотероризму в найпростіші та вплив цього процесу на зміну резистентності збудників до дезінфектантів.

Матеріали та методи

В роботі використано штам *Francisella tularensis* 15Г, 6 штамів *F. tularensis* v. *holarctica*, ізольованих із об'єктів довкілля на території України, і штам *Yersinia pestis* EV.

Сумісне культивування штамів патогенів з найпростішими проводили в умовах експериментальної водної моделі. На першому етапі визначали наявність найпростіших у зразках води штучних екосистем після центрифугування шляхом мікроскопії осадку і надосадкової рідини. Зразки води, які містили найпростіші і супутню водну мікрофлору, розливали по 500 мл (2 ємності на 1 пробу), одну з яких стерилізували автоклавуванням, другу не обробляли. Бактеріальні штами додавали в ємності з водою до кінцевої концентрації 10^7 КУО/мл. Культивування проводили паралельно при 2-х температурних режимах (+5°C і +25°C) з періодичним відбором зразків та їх мікроскопією після фарбування по Романовському-Гімза, 1% водним розчином метиленового синього, специфічними флюоресцуючими сироватками. Паралельно проводили дозовані висіви на щільні поживні середовища (чумний і FT-агар) з наступним підрахуванням колоній. Строк спостереження — 45 діб.

Визначення стійкості штамів, що персистують в найпростіших, до хлорантоїну проводили з використанням вищеописаної моделі. Дезінфектант дозовано додавали в контрольні та дослідні ємності до кінцевої концентрації 0,1%, 1%, 5% і 10% з наступними висівами мікроорганізмів на відповідні щільні середовища.

Результати та їх обговорення

В досліджених зразках превалювали 2 типи найпростіших: *Sarcocystis* (джгутиконосці та

амебоїдні форми) і *Ciliophera* (війчасті інфузорії). Серед амебоїдних поширеними були культури, визначені як *Ameoba limax*.

За результатами досліджень, отриманих при використанні модельних водних екосистем, кількість збудників була вище у необробленій пробі, незважаючи на присутність сторонньої водної мікрофлори, у порівнянні з простерилізованими водними зразками. При цьому клітини мікроорганізмів виявляли як інтра-, так і екстрацелюлярно (рис. 1, 2).

Більший строк виживаності бактеріальних штамів в експериментах із знезараженою водою виявлений при температурі +5°C. В той же час, виживаність в асоціаціях з найпростішими у необробленій воді була вище для всіх штамів при температурі +25°C. Це, можливо, пов'язано з наявністю оптимальних умов для репродукції найпростіших при даному температурному режимі.

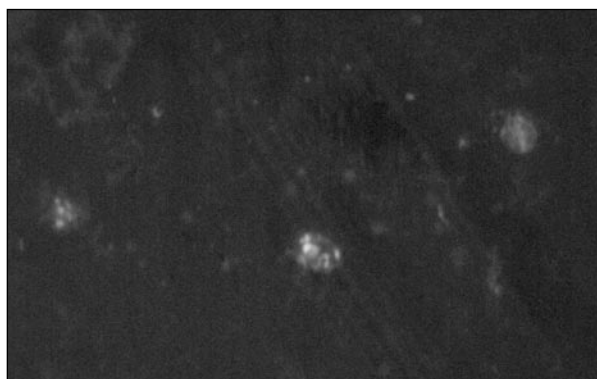


Рисунок 1. Штам *F. tularensis* 15Г при культивуванні з найпростішими (збільшення $\times 900$, фарбування специфічною туляремією флюоресцуючою сироваткою)

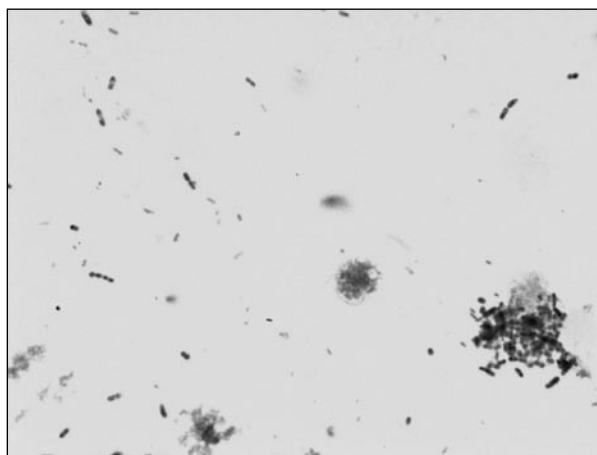


Рисунок 2. Штам *Y. pestis* EV при культивуванні з найпростішими (збільшення $\times 900$, фарбування 1% водним розчином метиленового синього)

Бактерії туляремії виявляли у пробах з необробленою водою протягом всього строку спостереження. Усереднені показники по 6 дослідженим штамам *F. tularensis* представлено на рис. 3. В ємностях із стерилізованою водою починаючи з 25–27 доби провести індикацію штамів шляхом висівів на поживні середовища не вдалося. Три штами було виділено через біопробу (з повторних пасажів).

Штам *Y. pestis EV* відносно досліджених штамів *F. tularensis* в цілому був менш стійким у водному середовищі при заданих умовах. Але при культивуванні в зразках нативної води (з найпростішими та супутньою мікрофлорою) реєстрація колоній збудника при висівах на поживні середовища була від 17 до 19 діб. При культивуванні в стерилізованій воді цей строк становив від 9 до 13 діб.

Результати дослідження резистентності бактеріальних агентів до хлорантоїну при сокультивуванні з найпростішими представлені в таблиці.

Як видно з приведених даних, для отримання бактерицидного ефекту відносно патогенних мікроорганізмів в асоціаціях з найпростішими, необхідно збільшення мінімальної концентрації хлорантоїну порівняно з діючою на суспензію чистих культур. Отримані результати дозволяють припустити, що регламентовані концентрації дезінфектантів для проведення термінового знезараження води при використанні бактеріальних агентів в цілях біотероризму, будуть неефективними, оскільки їх випробування, як правило, проводять на чистих культурах, не враховуючи існування мікроорганізмів в складі біоплівки та асоціаціях з протозою. З іншого боку підвищення концентрацій дезінфектантів може бути неможливим в зв'язку з перевищенням порогової токсичності для людини та тварин.

Висновок

Для штамів *F. tularensis* в асоціаціях з найпростішими встановлено довготривале збереження



Рисунок 3. Вживаність *F. tularensis* в асоціаціях з найпростішими і в стерилізованій воді при температурі +25°C

високих концентрацій мікробних клітин (понад 30 діб). Штам *Y. pestis EV* менш адаптований до збереження життєздатності в асоціаціях з найпростішими (11 діб).

За результатами порівняльного вивчення стійкості штамів *F. tularensis* і *Y. pestis* до хлорантоїну в планктонних культурах і в асоціаціях з протозою встановлено значне збільшення резистентності збудника до дезінфектанту в асоціаціях — в середньому від 500 до 1000 разів. Встановлено можливість персистенції досліджених штамів *F. tularensis* та штаму *Y. pestis EV* з найпростішими при заданих умовах, з їх підвищенням резистентності до хлорантоїну (в порівнянні з чистими культурами) від 50 до 100 разів.

Перспективи подальших досліджень пов'язані з необхідністю розробки науково-методичних підходів для оцінки дезінфектантів, перспективних для використання при надзвичайних ситуаціях з урахуванням реальних умов існування біологічних патогенних агентів.

Таблиця. Мінімальна бактерицидна концентрація хлорантоїну при дії на суспензію патогенних мікроорганізмів в експериментальних водних екосистемах в асоціаціях з найпростішими та в чистих культурах

Штами мікроорганізмів	Концентрація хлорантоїну	
	Чиста культура мікроорганізмів	Культура мікроорганізмів в асоціації з найпростішими
<i>F. tularensis</i>	0,1%	10%
<i>Y. pestis EV</i>	0,1%	5,0%

ЛІТЕРАТУРА

1. Андрейчин М., Копча В. Биотерроризм: медична протидія. — Тернопіль: Укрмедкнига, 2005. — 300 с.
2. Бухарин О.В. Персистенция патогенных бактерий: теория и практика / О.В. Бухарин // Журнал микробиологии. — 2000. — № 4. — С. 4–7.
3. Каминская А.А. Паразитизм в простейших Burkholderia серасіа в зависимости от факторов окружающей среды / А.А. Каминская // Материалы научно-практической конференции молодых ученых и специалистов “Окружающая среда и здоровье”. — Суздаль, 2005. — С. 66–68.
4. Онищенко Г.Г. Биотерроризм: национальная и глобальная угроза / Г.Г. Онищенко, Л.С. Сандахчиев, С.В. Нетесов, Р.А. Мартынюк // Вестник РАН. — 2003. — Т. 73, № 3. — С. 195–204.
5. Barbeau J. Biofilms augment the number of free-living amoebae in dental unit waterlines / J. Barbeau, T. Buhler // Res. Microbiol. — 2001 — № 152. — P. 753–760.
6. Schwartz T. Formation of natural biofilms during chlorine dioxide and u.v. disinfection in a public drinking water distribution system / T. Schwartz, S. Hoffman, U. Obst // J. Appl. Microbiol. — 2003. — Vol. 95 (3). — P. 591–601.
7. Taylor S.S. Faction of Acanthamoeba castellanii with Mycobacterium bovis and M. bovis BCG and survival of M. bovis within the amoebae / S.S. Taylor, L.J. Ahonen, A.A. Frans F.A., de Leij, J.W. Dale // Appl. Environ. Microbiol. — 2003. — P. 4316–4319.
8. Tezcan-Merdol D. Uptake and replication of Salmonella enterica in Acanthamoeba rhyodes / D. Tezcan-Merdol, M Ljungstrom., J. Winiecka-Krusnell, E. Linder, L. Engstrand, M. Rhen // Appl. Environ. Microbiol. — 2004. — Vol. 70 (6). — P. 3706.
9. Wang W. Mobility of protozoa through narrow channels / W. Wang, L.M. Shor, E.J. Le Boeuf, J.P. Wikswo, D.S. Kosson // Appl. Environ. Microbiol. — 2005. — Vol. 71 (8). — P. 4628–4637.

РОЛЬ ПРОТОЗОА В ЦИРКУЛЯЦИИ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АГЕНТОВ БИОТЕРРОРИЗМА БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПРИРОДЫ В ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЕ

V.A. Пушкина, Е.А. Егорова, Н.Н. Маньковская, В.А. Самойленко
ГУ “Украинский научно-исследовательский противочумный институт
им. И.И. Мечникова МЗ Украины”, Одесса, Украина

Установлена возможность персистенции штаммов *Yersinia pestis EV* и *Francisella tularensis v. holarctica* в различных видах простейших при их совместном культивировании в модельных водных экосистемах.

Ключевые слова: биотерроризм, микробная ассоциация, protozoa, дезинфекция.

THE ROLE OF PROTOZOA IN THE CIRCULATION OF POTENTIAL BIOTERRORISM AGENTS OF BACTERIAL NATURE IN THE ENVIRONMENT

V.A. Pushkina, O.O. Yegorova, N.N. Mankovskaya, V.A. Samoylenko

SI “I.I. Mechnikov Ukrainian Anti-Plague Research Institute of the Ministry of Health of Ukraine”, Odessa, Ukraine

The possibility of *Yersinia pestis EV* and *Francisella tularensis v. holarctica* strains persistence in different species of protozoa during their co-culture in model aquatic ecosystems was determined.

Key words: bioterrorism, microbial association, protozoa, disinfection.