

УДК 579.799(262.81)

Условно-патогенная микрофлора каспийского тюленя (*Phoca caspica*) и среды его обитания в условиях антропогенного прессинга

В.В.Володина, С.А.Дьякова

Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства (ФГБНУ «КаспНИРХ», г. Астрахань)
E-mail: Vo-Vik5@yandex.ru

Проведённые санитарно-микробиологические исследования (2010–2014 гг.) показали, что состав гидромикрофлоры северной части Каспийского моря был представлен 47 культурами. Численность бактерий в воде Северного Каспия в осенний период была ниже, чем в летний. По видовому разнообразию доминировали представители сем. Vibrionaceae и Pseudomonadaceae. Присутствие в водоёме большого разнообразия условно-патогенных микроорганизмов указывало на загрязнение антропогенного происхождения. Из внутренних органов каспийского тюленя было выделено 84 культуры. Уровень бактериальной контаминации внутренних органов и тканей изученных каспийских тюленей в большинстве случаев зависел от их физиологического состояния. Максимальное разнообразие микроорганизмов отмечено в кишечнике животных. Основная масса бактерий, контаминировавшая внутренние органы и ткани каспийских тюленей, была отнесена к сем. Enterobacteriaceae, с доминированием представителей pp. Citrobacter, Edwardsiella и Proteus, относящихся к санитарно-показательным микроорганизмам, способным как самостоятельно инициировать инфекции, так и отягощать уже имеющийся воспалительный процесс. Микроорганизмы, выделенные из внутренних органов и тканей морских млекопитающих и воды, характеризовались низкой чувствительностью к антибиотикам, а также проявляли протеолитическую, гемолитическую, лецитиназную и ДНК-азную активности (у аэромонад), что свидетельствует о высокой мутационной изменчивости микроорганизмов и способности выживать даже при самых неблагоприятных воздействиях. Заболеваний бактериальной природы у обследованных тюленей за период исследования не зарегистрировано, и большая часть микрофлоры является резидентной, однако, при ухудшении условий окружающей среды ассоциации микробных организмов способны провоцировать эпизоотии.

Ключевые слова: каспийский тюлень *Phoca caspica*, патогенная микрофлора, экосистема, загрязнение, физиологическое состояние, негативное влияние, Каспийское море.

ВВЕДЕНИЕ

Ухудшение общего экологического состояния Каспия, вызванное разведкой и разработкой нефтяных месторождений, химическими загрязнениями, поступающими с бассейна, различными гидродинамическими процессами, происходящими в море, привело к критическо-

му физиологическому состоянию каспийских гидробионтов — численность анчоусовидной и большеглазой килек (основных пищевых объектов каспийского тюленя) резко сократилась, снизилась эффективность их естественного нереста [Ходоревская и др., 2013; Катунин, 2014]. Кризис воспроизводства популяции

единственного морского млекопитающего на Каспии — каспийского тюленя *Phoca caspica*, Gmelin, 1788 также обусловлен неблагоприятными процессами, происходящими в экосистеме моря. Выявлено, что на фоне подавления поллютантами иммунной системы животных прогрессируют инфекционные и паразитарные заболевания [Захарова, 2007].

В течение XX столетия численность популяции каспийских ластоногих сократилась в 2,5 раза с 1 млн. до 400 тыс. голов. В октябре 2008 г. каспийский тюлень был классифицирован Международным союзом охраны природы как вид, находящийся под угрозой исчезновения [Тимирханов, 2012], поэтому информация о состоянии здоровья водных животных очень важна для оценки экологической ситуации в акваториях, подвергнутых техногенному воздействию [Лисицкая, 2008].

Цель работы — проведение бактериологических исследований среды обитания каспийского тюленя и выявление циркуляции в его органах и тканях патогенных микроорганизмов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Сбор бактериологического материала для санитарно-микробиологического анализа осуществляли в осенние периоды 2010–2015 гг. в Северном Каспии в местах предзимних концентраций ластоногих. Животных отлавливали крупноячеистыми ставными сетями (ячейка 100–200 мм) в местах массовых концентраций в районах Северного Каспия [Инструкции по сбору..., 2011]. Исследовали пробы внутренних органов и тканей: печени, тонкого и толстого кишечника и крови. За период исследования было проанализировано 24 животных. Масса тела обследованных млекопитающих соответствовала в среднем — $41,8 \pm 2,5$ кг, длина — $124,3 \pm 1,8$ см. Возраст варьировал от 1 года до 29 лет, в среднем составляя $10,6 \pm 5,8$ лет. Летом и осенью в северной части Каспийского моря отбирали пробы воды. Всего за период исследования было отобрано 60 проб воды и 120 проб материала от каспийского тюленя. Для видовой идентификации проводили рассевы на МПА с целью получения чистых культур бактерий, монотипность которых контролировали путём микроскопирования окрашенных по Граму мазков

и тестирования цитохромоксидазы. Изучение качественного состава выделенной микрофлоры осуществляли по морфологическим и тинкториальным свойствам по общепринятым методам [Нетрусов и др., 2005]. У каждого выделенного штамма учитывали факторы патогенности (протеолитическую, лецитиназную, гемолитическую активность; у аэромонад — ДНК-азную активность) [Карпов, 1985; Антонов и др., 1986; Бойко, 2000]. Чувствительность выделенных культур к антибиотикам определяли по методике и критериям Национального клинического стандарта лабораторных исследований США [NCCLS, 1999].

В ходе микробиологических исследований учитывали следующие показатели: состав условно-патогенной микрофлоры, выделенной из вышеперечисленных органов животных, и среды его обитания (поверхностных и приглубых слоев воды северной части Каспийского моря), количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ). Видовую идентификацию выделенной микрофлоры проводили по анализу результатов фенотипических признаков согласно определителю Берджи [Определитель..., 1997] и определителю нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий Вейанта Р. и др. [Вейант, Мосс, 1999]. При обработке полученного материала использовали статистические показатели [Лакин, 1990].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общая численность бактерий в воде Каспийского моря варьировала от сотен тысяч до миллионов клеток в 1 мл. Исследования по определению количества микроорганизмов в воде северной части Каспийского моря свидетельствуют, что их концентрации по районам моря распространены неравномерно. Распределение общей численности бактериопланктона характерно для всех морских водоемов, когда общее количество бактериопланктона постепенно уменьшается по мере удаления от берегов и с возрастанием глубин, что очевидно связано с антропогенным эвтрофированием водоема, что согласуется с литературными данными [Умербаева, 2003].

Проведённые бактериологические исследования среды каспийского тюленя показали,

что в летний период КМАФАнМ составило в среднем $2,89 \pm 0,52 \times 10^4$ КОЕ/мл, осенью в 1,5 раза ниже — $1,87 \pm 0,83 \times 10^4$ КОЕ/мл.

Численность микроорганизмов в водоёме, в первую очередь, зависит от температуры, которая влияет на скорость протекания физико-химических реакций в клетках, что отражается на росте, развитии, размножении и поведении бактерий. Так, летом 2010 г. температура воды была близка к экстремальному значению и составляла в среднем $31,2$ °С, что являлось оптимальным для жизненной активности мезофильно-ферментирующих бактерий, увеличение количества которых происходило также за счёт активного распада органического вещества. Общее сокращение численности бактериопланктона осенью свидетельствует о снижении интенсивности минерализации органического вещества, что приводит к ухудшению процесса самоочищения моря и, как следствие, уязвимости акватории к воздействию антропогенных нагрузок. В целом, показатели обсеменённости водной среды по горизонтам были сходными, поскольку разница между температурой воды поверхностного и придонного горизонтов для развития доминирующих групп микроорганизмов была незначительной (табл. 1).

Состав гидромикрофлоры северной части Каспийского моря был представлен бактериями следующих видов: *Pseudomonas* sp. (10,2%), *Ps. fluorescens* (7,5%), *Flavobacterium aquatile* (7,5%), *Vibrio* sp. (7,1%), *Moraxella*

phenylpyruvica (5,6%), *Moraxella* sp. (5,3%), *Pseudomonas alcaligenes* (4,7%), *Acinetobacter* sp. (4,3%), *Pseudomonas cepacia* (3,6%), *Aeromonas salmonicida* (3,4%), *Acinetobacter calcoaceticus* (3,3%), *Bacillus* sp. (3,2%), *Citrobacter freundii* (3,0%), *Vibrio proteolyticus* (2,9%), *Plesiomonas shigilloides* (2,5%), *Photobacterium* sp. (2,5%), *Alcaligenes faecalis* (1,9%), *Acinetobacter haemolyticus* (1,7%), *Proteus mirabilis* (1,5%), *Enterobacter agglomerans* (1,4%), *Citrobacter* sp. (1,3%), *Acinetobacter johnsonii* (1,2%), *Pseudomonas diminuta* (1,1%), *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (1,1%), *Pseudomonas putida* (1,1%), *Aeromonas* sp. (1,1%), *Aeromonas media* (1,1%), *Edwardsiella tarda* (1,0%), *Pseudomonas syringae* (1,0%), *Flavobacterium halmephilum* (0,9%), *Flavobacterium multivorum* (0,7%), *Vibrio compbellii* (0,6%), *Vibrio costicola* (0,5%), *Candida* sp. (0,5%), *Flavobacterium lutescens* (0,5%), *Flavobacterium tirrenicum* (0,4%), *Aeromonas hydrophila* (0,4%), *Vibrio hollisae* (0,4%), *Micrococcus* sp. (0,3%), *Vibrio pelagius* (0,3%), *Aeromonas caviae* (0,3%), *Shigella* sp. (0,2%), *Pseudomonas aeruginosa* (0,2%), *Flavobacterium odoratum* (0,2%), *Vibrio nereis* (0,2%), *Vibrio fischeri* (0,2%), *Pseudomonas* sp. (0,1%).

По видовому разнообразию доминировали представители сем. Vibrionaceae (16 штаммов) и сем. Pseudomonadaceae (9 штаммов), со-

Таблица 1. Количественный состав бактериопланктона в северной части Каспийского моря в 2010–2014 гг., КОЕ/г, мл

Год	Сезон	Вода	
		Поверхностный горизонт	Придонный горизонт
2010	лето	$4,84 \times 10^4$	$4,55 \times 10^4$
	осень	$1,25 \times 10^4$	$8,50 \times 10^3$
2011	лето	$3,89 \times 10^4$	$3,25 \times 10^4$
	осень	$1,13 \times 10^4$	$4,25 \times 10^4$
2012	лето	$3,44 \times 10^4$	$2,30 \times 10^4$
	осень	$8,25 \times 10^3$	$1,83 \times 10^3$
2013	лето	$2,41 \times 10^4$	$3,90 \times 10^4$
	осень	$7,72 \times 10^3$	$2,13 \times 10^3$
2014	лето	$1,50 \times 10^3$	$1,71 \times 10^3$
	осень	$7,57 \times 10^3$	$3,89 \times 10^3$

ставляя 23,6% и 30,5% от числа выделенных культур. Минимальными показателями характеризовалась грамположительная флора (3,5% выделенных культур).

Особенности формирования режима солёности в Северном Каспии, наряду с термическими условиями, обусловили интенсивное развитие бактерий сем. *Vibrionaceae* в морских биотопах. Удельный вес представителей р. *Vibrio* составил более 50,0% от числа вибрионов, вторыми по распространённости в этой группе были представители р. *Aeromonas* (27,6%).

Вибрионы в большинстве своём являются галофильными микроорганизмами, и этот фактор определил разнообразие вибрионов в среде обитания морских млекопитающих.

В группе псевдомонад доминирующее положение занимали виды *Pseudomonas sp.*, *Ps. fluorescens* и *Ps. alcaligenes* (33,4±2,4; 24,5±1,8; 15,4±1,3% штаммов от культур этого семейства). В пробах морской воды были обнаружены единичные штаммы *Ps. aeruginosa* (синегнойная палочка), являющейся патогеном как для человека, так и для животных.

По районам исследований нами были выявлены различия в частоте встречаемости псевдомонад, которая увеличивалась по мере удаления станций сбора материала от мелководной прибрежной зоны Северного Каспия к центральной его части. Данный факт свидетельствует об ослаблении техногенного пресса, обусловленного речным стоком, на глубоководную часть Северного Каспия, а также о высокой экологической валентности бактерий р. *Pseudomonas*. Следует отметить, что в восточной части Северного Каспия псевдомонадный комплекс был более разнообразным по сравнению с западной. Вероятно, это определено разными значениями гидрохимического режима в западной и восточной частях Северного Каспия (рН среды, биологическое потребление кислорода и т. д.).

Между тем, псевдомонады и ацинетобактерии, удельный вес которых в гидромикрофлоре ежегодно превышал 50,0% от числа выделенных культур, относятся к углеводородокисляющим микроорганизмам, они способны использовать различные составляющие нефти и нефтепродукты в качестве одного из основ-

ных источников углерода и энергии. Поэтому в случае загрязнения моря нефтяными углеводородами может произойти усиление бактериального прессинга на акваторию за счёт увеличения числа вышеназванных бактерий.

Загрязнение морской среды, наряду с прочими негативными последствиями, увеличивает вероятность учащения инфекционных заболеваний морских животных, иногда приобретающих характер эпизоотий [Ларцева и др., 2001]. При неблагоприятных условиях существования животных, таких как голодание, стрессовые ситуации, неблагоприятная экологическая обстановка среды обитания, могут произойти изменения в составе нормальной микрофлоры организма.

Уровень бактериальной контаминации внутренних органов и тканей изученных каспийских тюленей в большинстве случаев зависел от их физиологического состояния, в частности степени протекания патологических процессов при инвазионных заболеваниях: псевдамфистомозе, коринозомозе и др. [Володина и др., 2015]. Так, в норме печёночная ткань у млекопитающих стерильна. Результаты наших исследований показали, что у 15,0% обследованных животных на начальных стадиях инвазионного процесса бактериальная контаминация печени варьировала от $1,85 \times 10^3$ до $3,54 \times 10^3$ КОЕ/г, у 7,5% нерп на последних стадиях псевдамфистомоза обсеменённость достигала $1,89 \times 10^6$ КОЕ/г. В среднем общее микробное число микроорганизмов в печёночной ткани соответствовало $5,23 \times 10^5 \pm 3,65 \times 10^5$ КОЕ/г.

Анализ качественного состава микрофлоры, выделенной из воды и внутренних органов и тканей каспийского тюленя показал, что в 2010–2014 гг. спектр их условно-патогенных бактерий был представлен следующими родами: *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Morganella*, *Pasteurella*, *Photobacterium*, *Proteus*, *Providencia*, *Pseudomonas*, *Plesiomonas*, *Salmonella*, *Shigella*, *Streptobacillus*, *Vibrio*, грампозитивные бактерии — представителями рр. *Micrococcus*, *Staphylococcus* и *Bacillus*. Выявленные бактерии были отнесены к 84 видам и принадлежали

к семействам: *Enterobacteriaceae*, *Neisseriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Vibrionaceae*, а также грамположительной флоре и группе изолятов с неясным систематическим положением.

В микробиоценозах каспийского тюленя энтеробактерии преобладали среди грамотрицательных бактерий, составляя от $46,2 \pm 3,1\%$ до $50,9 \pm 2,8\%$ изолятов от всей выделенной микрофлоры. Энтеробактерии являются составляющей нормальной микрофлоры полости и слизистой желудочно-кишечного тракта позвоночных, они, благодаря продуцированию разнообразных антибиотических соединений и выраженной антагонистической активности, предохраняют органы от внедрения и безграничного размножения в них условно-патогенных микроорганизмов. Следует отметить, что комплексное взаимодействие между хозяином и кишечной микрофлорой позволяет одним штаммам бактерий колонизировать кишечник, в то время как другие способны инициировать патологические процессы [Бухарин, 2013].

В группе энтеробактерий лидирующее положение занимали представители родов *Citrobacter* ($52,2 \pm 0,8\%$), *Edwardsiella* ($17,1 \pm 0,6\%$) и *Proteus* ($15,7 \pm 0,5\%$), относящиеся к санитарно-значимым микроорганизмам, способным в стрессовых ситуациях, массово размножаясь в кишечнике, гематогенным и лимфогенным путями разноситься в другие внутренние органы и вновь там размножаться, иницируя инфекции, приводящие к образованию септических очагов. Такой дисбаланс может привести к смене внутримикробных сообществ в организме хозяина, дальнейшему его ослаблению (снижение иммунорезистентности) и, как следствие, к заболеванию бактериальной природы. Кроме того, при функционировании этих бактерий высвобождаются эндотоксины и экзотоксины, которые отравляют организм хозяина.

Следует отметить, что взаимоотношения в системе «паразит-хозяин» — базисная основа персистенции патогена при бактерионосительстве, когда проявляется многообразие высоких адаптационных возможностей обоих участников инфекции, и, в первую очередь, микробной клетки. Это явление наиболее приемлемо для большой группы условно-патогенных бактерий, легко меняющих свои экологи-

ческие ниши, что создаёт предпосылки для их выживаемости [Бухарин и др., 2007].

Поэтому закономерно выделение обычных обитателей кишечного тракта представителей р. *Alcaligenes* из крови. В крови и/или печени больных инвазионными заболеваниями тюленей регистрировали условно-патогенные бактерии рр. *Proteus*, *Aeromonas*, *Vibrio*, которые, как возбудители сапронозов, весьма адаптивны к постоянно меняющимся факторам окружающей среды, и их массовое развитие может провоцировать заболевания различной локализации, но преимущественно кишечной, однако они чаще опасны для организма с ослабленным иммунитетом, что согласуется с литературными данными [Бухарин и др., 2007; Бухарин, 2013]. Результаты микробиологического анализа показали, что уровень контаминации печени обследованных нерп указывал на воспаление и протекание патологических процессов в тканях инвазированных органов, а также на активное размножение в них разнообразной микрофлоры, что свидетельствовало о высокой степени инвазивности и инфекционности последней. Следует отметить, что у отдельных особей без каких-либо патологических изменений во внутренних органах регистрировали бактерии сем. *Pasteurellaceae* ($3,5 \pm 0,8\%$). Вероятно это неспецифическая бактеримия, когда циркуляция бактерий в крови происходит без их размножения.

Вторыми по частоте встречаемости в микробиоценозе каспийской нерпы были бактерии сем. *Vibrionaceae* (от 15,1 до 20,4% выделенных изолятов). Представители сем. *Neisseriaceae* составляли от 7,1 до 19,4% выявленных культур (табл. 2). Массовая доля остальной выделенной микрофлоры не превышала 25,0%.

В целом, уровень контаминации внутренних органов и тканей обследованных каспийских тюленей был определён их физиологическим состоянием, интенсивностью заражения патогенными гельминтами (*Pseudamphistomum truncatum*, *Anisakis schupakovi*, *Corynosoma strumosum*), а также техногенными процессами, сопряжёнными с прогрессирующим бактериальным загрязнением водоёма. В водах Северного Каспия зарегистрированы бактерии — индикаторы загрязнения антропогенно-

Таблица 2. Качественный состав условно-патогенной микрофлоры, выделенной из воды и внутренних органов каспийского тюленя

Выделенная микрофлора	Каспийский тюлень				Вода
	Исследованный орган				
	Кровь	Печень	Тонкий кишечник	Толстый кишечник	
Сем. Enterobacteriaceae	11/50,9	20/46,8	27/46,2	32/57,4	6/8,5
Сем. Neisseriaceae	14/15,3	7/19,4	8/15,2	11/7,1	6/21,4
Сем. Pseudomonadaceae	2/2,9	7/5,8	5/5,9	9/6,1	9/30,5
Сем. Vibrionaceae	10/20,4	11/16,9	17/15,2	19/15,1	16/23,6
Виды с неясным систематическим положением	4/6,7	4/5,5	5/7,3	8/8,2	7/12,4
Грамположительная флора	2/3,8	2/5,6	5/10,2	5/6,1	3/3,5

Примечание: в числителе — количество видов, в знаменателе — % от количества выделенных культур

го происхождения. Большая часть выделенных бактерий принадлежала к условно-патогенным, то есть потенциально опасным для теплокровных животных.

Известно, что микроорганизмы, обитающие в объектах окружающей среды и ведущие сапрофитический образ жизни, обладают набором факторов, обеспечивающих их сохранение во внешней среде в условиях сосуществования с различными сочленами биоценозов. Роль адаптивных факторов бактерий часто выполняют их патогенные и/или персистентные свойства [Обухова, Ларцева, 2015]. Вследствие чего все выделенные культуры тестировали на наличие маркеров патогенности.

Анализ материала по выявлению факторов патогенности показал, что в течение всего периода исследований большая часть бактерий (в среднем в 59,8% случаев), выделенных из каспийского тюленя и среды его обитания, обладала патогенными свойствами (протеолитическая, гемолитическая, лецитиназная и ДНК-азная активности у аэромонад). Псевдомонады, вибрионы и аэромонады в большинстве случаев обладали способностью синтезировать протеазу и лецитиназу (49,0—75,0% всех выявленных бактерий). Максимальную гемолитическую активность проявляли вибрионы (63,0%) и псевдомонады (78,0%), аэромонады проявляли ДНК-азную активность в 100% случаев.

Условно-патогенная микрофлора, выделенная из органов и тканей каспийского тюленя, обладала ярко выраженной гемолитической ак-

тивностью на кровяном агаре с эритроцитами человека, образуя зоны просветления на МПА в среднем $2,6 \pm 0,4$ мм. Необходимо отметить, что количество и степень ферментативной активности микроорганизмов, выделенных из каспийских ластоногих, превышало таковые, выделенные из воды. Очевидно, что факторы патогенности позволяют микроорганизму проникать, сохраняться, размножаться и распространяться в тканях и органах хозяина и активно изменять его функции.

Антибиотикорезистентность бактерий характеризует специфичность адаптационных механизмов, провоцируемых изменениями окружающей среды, подчёркивая индивидуальность показателей степени изменчивости микроорганизмов. Микрофлора, контаминировавшая внутренние органы и ткани обследованных животных, обладала множественной антибиотикорезистентностью, проявляя наибольшую устойчивость к фузидину (96,7% устойчивых штаммов), наименьшую к ципрофлоксацину (4,0% устойчивых штаммов) (табл. 3). Необходимо отметить, что у четверти всех выделенных бактерий наблюдали полирезистентность.

Таким образом, повышенная микробная обсеменённость внутренних органов и тканей каспийских ластоногих была сопряжена с паразитарными инвазиями и свидетельствовала о наличии воспалительных процессов в организме животных вследствие остро протекающих инвазионных заболеваний. Из внутренних органов и тканей тюленей были изолированы типичные культуры

Таблица 3. Чувствительность к антибиотикам микрофлоры каспийского тюленя в 2010–2014 гг.

Антибиотик	Процент положительных штаммов		
	устойчивость	средняя (умеренная) чувствительность	чувствительность
Ципрофлоксацин	4,0	4,6	91,4
Гентамицин	11,3	3,4	85,3
Меропенем	14,3	5,5	80,2
Имипенем	15,7	7,8	76,5
Стрептомицин	17,7	10,6	71,7
Левомецетин	20,5	15,8	63,7
Фурагин	19,3	18,4	62,3
Тетрациклин	24,5	16,0	59,5
Цефтриаксон	26,2	16,9	56,9
Цефокситин	56,4	15,0	28,6
Фурадонин	61,0	18,8	20,2
Бензилпенициллин	74,3	15,1	10,6
Цефазолин	87,9	6,3	5,3
Эритромицин	92,1	5,8	2,1
Фузидин	96,7	2,7	0,6

условно-патогенных микроорганизмов, идентифицированные как цитробактеры, эдвардсиеллы, аэромонады, вибрионы и др.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Гидромикрофлора северной части Каспийского моря в 2010–2014 гг. объединяла 47 культур, из внутренних органов и тканей морских млекопитающих было выделено 84 культуры. Присутствие в водоёме санитарно-показательных условно-патогенных микроорганизмов, представленных семействами Enterobacteriaceae, Vibrionaceae, Pseudomonadaceae, Neisseriaceae, видами с неясным систематическим положением и грампозитивной флорой, в большинстве своём указывало на загрязнение антропогенного происхождения. В водной системе по видовому разнообразию доминировали представители сем. Vibrionaceae и сем. Pseudomonadaceae, минимальными показателями характеризовалась грамположительная флора. Среди ферментирующих бактерий особую значимость представляет *Ps. aeruginosa*, санитарно-значимый микроорганизм, свидетельствующий об общем загрязнении среды органическими

остатками, обладающий высокой патогенной активностью, в связи с чем персистирование её в окружающей среде создаёт неблагоприятный эпизоотический фон для гидробионтов.

Максимальное разнообразие микроорганизмов отмечено в кишечнике животных, что закономерно и обусловлено процессами пищеварения. Основная масса бактерий, выделенная из внутренних органов и тканей каспийских нерп, была отнесена к сем. Enterobacteriaceae, среди которых доминировали представители рр. *Citrobacter*, *Edwardsiella* и *Proteus*, относящиеся к санитарно-показательным микроорганизмам, способным как самостоятельно инициировать инфекции, так и отягощать уже имеющийся воспалительный процесс.

Микроорганизмы, обитающие во внутренних органах и тканях каспийского тюленя, а также в среде его обитания, характеризовались низкой чувствительностью к антибиотикам, а также проявляли протеолитическую, гемолитическую, лецитиназную и ДНК-азную активности, что свидетельствует о высокой мутационной изменчивости микроорганизмов и способности выживать даже при самых неблагоприятных воздействиях.

В целом, заболеваний бактериальной природы у обследованных тюленей за период исследования не зарегистрировано и большая часть микрофлоры является резидентной, однако при ухудшении условий окружающей среды ассоциации микробных организмов способны провоцировать эпизоотию.

ЛИТЕРАТУРА

- Антонов Б.И., Борисова В.В., Волкова П.М. 1986. Лабораторные исследования в ветеринарии // Бактериальные инфекции: Справочник. М.: Агропромиздат. 352 с.
- Бойко А.В. 2000. Факторы патогенности некоторых вибрионов и аэромонад // Микробиология, эпидемиология и иммунология. № 6. С. 104–107.
- Бухарин О.В. 2013. Симбиотические взаимоотношения микроорганизмов при инфекциях // Микробиология. № 1. С. 93–97.
- Бухарин О.В., Валышев А.В., Черкасов С.В. 2007. Персистенция микроорганизмов // Микробиология, эпидемиология и иммунология. № 2. С. 120–121.
- Вейант Р., Мосс У. 1999. Определитель нетривиальных патогенных грамотрицательных бактерий (аэробных и факультативно анаэробных). М.: Мир. 791 с. (Weyant R.S., Moss C.W. Identification of Unusual Pathogenic Gram-Negative Aerobic and Facultatively Anaerobic Bacteria, Baltimore: Williams and Wilkins, 1996.)
- Володина В.В., Грушко М.П., Фёдорова Н.Н. 2015. Морфофункциональное состояние органов и тканей каспийского тюленя (*Phoca caspica* Gmelin, 1788) на фоне паразитарных инвазии: монография. Астрахань: АГТУ. 144 с.
- Захарова Н.А. 2007. Причины снижения численности каспийского тюленя // Проблемы изучения, сохранения и восстановления водных биологических ресурсов в XXI веке. Материалы Междунар. науч. — практич. конф. Астрахань, октябрь 2007 г. Астрахань: КаспНИРХ. С. 49–51.
- Инструкции по сбору и первичной обработке материалов водных биоресурсов Каспийского бассейна и среды их обитания. 2011. Астрахань: КаспНИРХ. 193 с.
- Карпов В.Н. 1985. Метод определения ДНК-азной активности // Ветеринария. № 11. С. 79–80.
- Катунин Д.Н. 2014. Гидроэкологические основы формирования экосистемных процессов в Каспийском море и дельте р. Волги: монография. Астрахань: КаспНИРХ. 478 с.
- Лакин Г.Ф. 1968. Биометрия. М.: Высшая школа. 287 с.
- Ларцева Л.В., Болдырева Я.М., Евдокимова М.П. 2001. О гибели каспийского тюленя // Рыбохозяйственная наука в XXI веке. Тезисы докл. Всероссий. конф. мол. ученых (Владивосток, 21–23 мая 2001 г.). Владивосток: ТИПРО-Центр. С. 8–9.
- Лисицкая И.А. 2008. Бактериальные сообщества воды и рыбы дельты Волги и шельфа Северного Каспия. Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Астрахань: АГТУ. 23 с.
- Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. 2005. Практикум по микробиологии. М.: Академия. 608 с.
- Обухова О.В., Ларцева Л.В. 2015. Микробиоценоз воды и судака (*Sander lucioperca*) в дельте р. Волги. СПб.: Проспект Науки. 224 с.
- Определитель бактерий Берджи 1997. Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, Дж.Стейли, С.Уильямса. М.: Мир. 799 с. (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 1994. Ed. By John G. Holt, Noel R. Kreig, Peter H.A. Sneath, James T. Staley and Stanley T. Williams. Philadelphia, Baltimore et al.: Lippincott Williams & Wilkins. 787 p.)
- Тимирханов С.Р. 2012. Создание ООТ по сохранению каспийского тюленя в Казахстане // Астраханский Вестник Экологического Образования. № 1 (19). С. 117–124.
- Умербаева Р.И. 2003. Современное состояние биопродуктивности Северного Каспия и оценка воздействия разведочного бурения на микрофлору моря. Дисс. ... канд. биол. наук: Астрахань: АГТУ. 124 с.
- Ходоревская Р.П., Асейнова А.А. 2013. Состояние запасов морских рыб Каспийского моря (по результатам исследований в 2011 г.) // Вестник АГТУ. № 1. С. 106–117.
- Performance Standarts for antimicrobial susceptibility testing. Ninth informational supplement. 1999. National Commite for clinical laboratory standarts. NCCLS. Vol. 19. N. 1. P. 1–103.

References

- Antonov B.I., Borisova V.V., Volkova P.M. 1986. Laboratornye issledovaniya v veterinarii [Laboratory studies in veterinary medicine] // Bakterial'nye infekcii: Spravochnik. M.: Agropromizdat. 352 s.
- Bojko A.V. 2000. Faktory patogenosti nekotorykh vibriov i a'eromonad [Factors of pathogenicity of some vibrios and aeromonads] // Mikrobiologiya, e'pidemiologiya i immunologiya. № 6. S. 104–107.
- Bukharin O.V. 2013. Simbioticheskie vzaimootnosheniya mikroorganizmov pri infekciyakh [Symbiotic relationship of microorganisms with infections] // Mikrobiologiya. № 1. S. 93–97.
- Bukharin O.V., Valyshev A.V., Cherkasov S.V. 2007. Persistenciya mikroorganizmov [Persistence of

- microorganisms] // Mikrobiologiya, e'pidemiologiya i immunologiya. № 2. S. 120–121.
- Volodina V.V., Grushko M.P., Fedorova N.N.* 2015. Morfofunkcional'noe sostoyanie organov i tkanej kaspijskogo tyulena (*Phoca caspica* Gmelin, 1788) na fone parazitarnykh invazii: monografiya [Morphofunctional state of organs and tissues of the Caspian seal (*Phoca caspica* Gmelin, 1788) in the background of parasitic invasion]. Astrakhan': AGTU. 144 s.
- Zakharova N.A.* 2007. Prichiny snizheniya chislennosti kaspijskogo tyulena [The reasons for the decline in the number of Caspian seals] // Problemy izucheniya, sokhraneniya i vosstanovleniya vodnykh biologicheskikh resursov v XXI veke. Materialy Mezhdunar. nauch. — praktich. konf. Astrakhan', oktyabr' 2007 g. Astrakhan': KaspNIRKH. S. 49–51.
- Instrukcii po sboru i pervichnoj obrabotke materialov vodnykh bioresursov Kaspijskogo bassejna i sredi ikh obitaniya [Instructions for the collection and primary processing of the materials of aquatic bioresources of the Caspian basin and their habitat]. 2011. Astrakhan': KaspNIRKH. 193 s.
- Karpov V.N.* 1985. Metod opredeleniya DNK-aznoj aktivnosti [Method of determining DNA aznoe activity] // Veterinariya. № 11. S. 79–80.
- Katunin D.N.* 2014. Gidroe'kologicheskie osnovy formirovaniya e'kosistemnykh processov v Kaspijskom more i del'te r. Volgi [Hydroecological bases of formation of ecosystem processes in the Caspian sea and the Volga river Delta]. Astrakhan': KaspNIRKH. 478 s.
- Lakin G.F.* 1968. Biometriya [Biometrics]. M.: Vysshaya shkola. 287 s.
- Larceva L.V., Boldyreva Ya.M., Evdokimova M.P.* 2001. O gibeli kaspijskogo tyulena [On the death of Caspian seals] // Rybokhozyajstvennaya nauka v XXI veke. Tezisy dokl. Vseros. konf. mol. uchenykh (Vladivostok, 21–23 maya 2001 g.). Vladivostok: TINRO-Centr. S. 8–9.
- Lisickaya I.A.* 2008. Bakterial'nye soobshhestva vody i ryby del'ty Volgi i shel'fa Severnogo Kaspiya [Bacterial community in water and fish in of delta Volga and Northern Caspian shelf]. Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Astrakhan': AGTU. 23 s.
- Netrusov A.I., Egorova M.A., Zakharchuk L.M.* 2005. Praktikum po mikrobiologii [Workshop on Microbiology]. M.: Akademiya. 608 s.
- Obukhova O.V., Larceva L.V.* 2015. Mikrobiocenoz vody i sudaka (*Sander lucioperca*) v del'te r. Volgi [Microbiocenosis of the water and the Zander (*Sander lucioperca*) in the Volga river Delta]. SPb.: Prospekt Nauki. 224 s.
- Timirkhanov S.R.* 2012. Sozdanie OOT po sokhraneniyu kaspijskogo tyulena v Kazakhstane [The creation of spas for the conservation of Caspian seals in Kazakhstan] // Astrakhanskij Vestnik E'kologicheskogo Obrazovaniya. № 1 (19). S. 117–124.
- Umerbaeva R.I.* 2003. Sovremennoe sostoyanie bioproduktivnosti Severnogo Kaspiya i ozenka vozdeystviya razvedochnogo bureniya na mikrofloru moray [Current status of bioproductivity of the Northern Caspian and impact assessment of exploration drilling on the miroflora of the sea]. Diss. ... kand. biol. nauk: Astrakhan': AGTU. 124 s.
- Khodorevskaya R.P., Asejnova A.A.* 2013. Sostoyanie zapasov morskikh ryb Kaspijskogo morya (po rezul'tatam issledovanij v 2011 g.) [The status of marine fish stocks of the Caspian sea (by results of researches in 2011)] // Vestnik AGTU. № 1. S. 106–117.

Поступила в редакцию 22.03.16 г.
Принята после рецензии 20.07.16 г.

Conditional-pathogenic microflora of the caspian seal (*Phoca caspica*) and its habitat under the anthropogenic pressing

V.V.Volodina, S.A. D'yakova

Caspian research institute of fishery (FSBSI «KaspNIRKH», Astrakhan)

The sanitary-microbiological researches (2010–2014) have shown that the composition of the hydro-micro-flora of the Northern Caspian Sea consist of the 47-th cultures. The number of the bacterium in the water of the Northern Caspian Sea in autumn period was lower than in summer period. In the specific diversity the representatives of the Vibrionaceae and Pseudomonadaceae were dominated. The presence in the water reservoir of a large diversity of the sanitary-indicative and conditional-pathogenic microorganisms indicated on the pollution of the anthropogenic origin. 84-th cultures were allocated from the internal organs of the Caspian seal. The level of the bacterial contamination of internal organs and tissues of the studied Caspian seals in most cases depended on their physiological state. The maximum diversity of microorganisms was marked in the bowels. The main mass of bacterium, contaminating internal organs and tissues of Caspian seals was related to the family. Enterobacteriaceae, the leading position was occupied by the representatives of the genera Citrobacter, Edwardsiella and Proteus, referring to the sanitary-indicative microorganisms capable independently to initiate infection, and weigh down the already existing inflammatory processes. The microorganisms isolated from the internal organs and tissues of marine mammals and their habitats were characterized by low sensitivity to antibiotics, and also showed proteolytic, hemolytic, lecithin and DNA-depended activity, indicating a high mutative variability of microorganisms and the ability to survive even under the most adverse influences. Diseases of bacterial origin in examined seals over the study period were not registered, and most part of the micro-flora was resident, however, with the deterioration of environmental conditions the associations of microbial organisms can provoke epizootics.

Key words: Caspian seal, pathogenic micro-flora, ecosystem, pollution, physiological state, negative impact, the Caspian Sea.