

Из кафедры микробиологии ВМА РККА (начальник кафедры проф. В. М. Аристовский).

К вопросу о санитарно-показательном значении присутствия бактериофага в воде.

Прикомандированный врач **Н. И. Александров.**

Отв. руководитель работы **И. Е. Минкевич.**

На основании классических исследований Д'Эрелля и огромной литературы по бактериофагу, накопившейся к настоящему времени, можно считать установленным, что главнейшим местом возникновения бактериофага является кишечный канал людей и животных.

Вполне естественно, поэтому, что и те среды, в частности вода, которые подвержены загрязнению фекальными массами, обогащаясь специфической кишечной флорой, обогащаются одновременно и сопутствующим ей бактериофагом.

При этом можно предполагать, что чем интенсивнее фекальное загрязнение среды, тем более обильным должно быть в ней и содержание бактериофага.

И действительно, исследованиями Зданского, Накаси́ма, Буяновского, Феррети и друг. установлено частое нахождение бактериофага в сточных водах, тогда как в питьевых водах, где загрязнение было с безусловностью исключено, Д'Эрелль, Бифулько и другие не могли обнаружить бактериофага.

В водах мало загрязненных эти же авторы обнаруживали бактериофаг с меньшей регулярностью, чем в сильно загрязненной воде.

Гильдемейстер и Ватанабе установили, что содержание бактериофага в открытых водоемах увеличивается после дождей и оттепелей.

Дроботько нашел, что вода колодцев весной, являясь более загрязненной, содержит и большее количество бактериофага, чем в зимнее время.

Ряд авторов (Д'Эрелль, Одюруа, Казарновская и др.) склонны придавать бактериофагу значение фактора, способствующего естественному самоочищению рек.

Описанная взаимозависимость между нахождением бактериофага в воде и степенью загрязненности ее фекалиями натолкнула некоторых исследователей на мысль о возможности использования бактериофага при санитарной оценке воды.

Наиболее близко к разрешению этого вопроса стоят исследования нашего советского автора д-ра Н. И. Славина¹⁾ из Института инфекционных болезней им. Мечникова (Москва).

Последний исследовал на присутствие бактериофага 11 образцов воды, взятых из р. Сходни на территории трикотажной фабрики в разное время года и в разных пунктах.

¹⁾ „Бактериофаг, как показатель загрязнения воды“, Журнал эпидемиологии и микробиологии № 3—4, 1933 г.

Пробы воды подвергались обычному санитарно-бактериологическому анализу (подсчет колоний в одном $см^3$ и определение coli-титра) и исследованию на наличие бактериофага.

Для определения бактериофага к 500 $см^3$ исследуемой воды добавлялось 50 $см^3$ 10% пептонного раствора, после чего смесь, соответствующая 10% пептонной воде, помещалась на 48 часов в термостат при 37°. Затем обогащенный микробами воды и фагом раствор фильтровался сначала через двойной бумажный фильтр, а затем через свечу Шамберляна.

Полученный фильтрат испытывался на его литическое действие по отношению к 15—28 различным штаммам *V. coli* и *paracoli*, выделенным из этих же проб воды, а также по отношению к ряду лабораторных штаммов *V. typhi abdom*, *V. paratyphi B*, и *V. dysenteriae*. Испытания на наличие фага производились как на жидких, так и на твердых средах. В последнем случае капля суточной бульонной культуры каждого из подопытных штаммов наносилась на поверхность слабо-щелочного агара в чашках Петри и распределялась шпателью для получения сплошного роста. Засеянные т. о. чашки оставлялись на 1/2 часа при комнатной температуре, после чего на каждую из них наносилось по капле испытуемого фильтрата и его десятичных разведений. Посевы помещались затем в термостат при 37° на 24 часа. Кроме того, автор пассировал бактериофаги с соответствующими культурами для определения их предельных титров.

Результаты опытов регистрировались следующим образом: наступавший полный лизис на чашках по следу нанесенной капли фильтрата отмечался + + + +, наличие на стерильном участке отдельных колоний — + + +, наличие большого количества выросших колоний в зоне действия бактериофага — + +, наличие только отдельных стерильных пятен и изменение вида колоний (изъеденность, слизистость) — +.

Славин и отметил, что в ряде случаев, при отсутствии следов лизиса на жидких средах, последний достаточно ясно мог быть обнаруживаем при испытании на агаре.

Выводы, к которым пришел автор в результате своих исследований, могут быть сформулированы в следующих положениях: 1) Наличие в воде бактериофага против *V. coli* и его сила не находятся в соответствии с coli-титром воды и числом бактерий в 1 $см^3$ воды. В отдельных случаях (в 2 из 11) антибактериофаг вовсе не был обнаружен, несмотря на наличие в воде *V. coli* в титрах 0,1 и 0,01 $см^3$. Поэтому, по мнению автора, определение анти-coли бактериофага в воде не может заменить определение ее coli-титра. 2) Нарастание бактериофага по отношению к патогенным микробам coli-тифозной группы, по мнению Славина, отражает в некоторой степени зависимость между его присутствием в воде и степенью свежего фекального загрязнения ее.

Хотя в методе определения coli-титра воды мы и располагаем достаточно простым и хорошо разработанным способом выявления степени ее фекального загрязнения, однако в эпидемиологическом отношении гораздо более ценным являлось бы установление фактической зараженности воды патогенными возбудителями кишечного-тифозной группы.

Но несовершенство и ненадежность современных приемов обнаружения в воде патогенных микробов не позволяет нам ограничиться только прямыми поисками возбудителей и заставляет искать новых путей доказательства присутствия патогенных микробов coli-тифозной группы в воде, хотя бы по некоторым косвенным признакам.

С этой точки зрения обнаружение в воде специфических бактериофагов является весьма заманчивым.

В виду относительной новизны и значительного интереса вопроса кафедра микробиологии ВМА предприняла ряд собственных исследований в этом направлении, описание результатов которых ниже излагается.

Мы начали свои исследования с ориентировочного выяснения вопроса о том, насколько постоянным, обильным и специфичным является наличие бактериофага в самом первоисточнике его распространения—в фекасах больных и реконвалесцентов. С этой целью мы произвели несколько исследований испражнений брюшнотифозных больных и реконвалесцентов из клиники инфекционных болезней ВМА. Наблюдения были произведены дважды в разные периоды заболевания над тремя больными.

Методика исследований была следующая. Стерильно собранный кал подвергался бактериологическому исследованию и одновременно около 20 г его засеивалось для обогащения на 1 литр пептонной воды, которая через 48 часов пребывания в термостате при 37° фильтровалась сначала через двойной бумажный фильтр, а затем через свечу Шамберляна L₃. Полученные таким образом фильтраты испытывались на наличие в них фага по отношению к ряду музейных штаммов и выделенных от всех трех больных культур брюшного тифа. Испытания велись на поверхности агаровых пластинок в чашках Петри по обычной методике, упомянутой выше при изложении работы Славина.

Мы не ставили себе только задачей определения предельной силы фагов, ограничиваясь лишь констатированием их присутствия и степени производимого ими литического эффекта в неразведенном виде.

Краткие данные протокольной записи опытов и результаты произведенных исследований приводятся на помещаемой ниже таблице 1.

При рассмотрении таблицы могут быть отмечены следующие факты. При заболевании брюшным тифом, находящемся на вершине своего развития (больная Невмеджанова), наличие специфического бактериофага констатируется лишь в незначительной степени. В это же время в фекасах обнаруживается бактериофаг против *V. coli*. В случае затянувшегося, рецидивирующего заболевания (больная Чистович) мы имеем гораздо большее содержание поливалентного бактериофага, действие которого более выражено по отношению к тифозным и паратифозным—*V. microbium* и также заметно выражено, как и в предыдущем случае, против бактерий *coli*.

При повторном исследовании фекасов этой же больной, через 7 дней после первого исследования, обнаруживается лишь незначительное увеличение активности бактериофага к тифозно-паратифозным микробам. Наконец, реконвалесцента (больной Розенберг) на пятый день после падения температуры мы наблюдаем отчетливое действие фильтрата против почти всех исследованных штаммов *V. typhi abdominalis* и *V. paratyphi*. В при чрезвычайно слабом действии на штаммы *V. coli*.

Обращает на себя внимание одновременное действие данного фильтрата и на группу Моргановских бацилл № 1. При повторном исследовании фекасов, на двенадцатый день реконвалесценции, отмечается ясное повышение активности бактериофага к тем же группам микробов.

Ориентировавшись в содержании бактериофага в испражнениях одной из групп кишечных инфекционных больных (брюшнотифозных) и убедившись в значительной поливалентности его действия на испытанные нами разные виды бактерий кишечнотифозной группы, в том числе и на *V. coli*, мы перешли затем к исследованиям воды на присутствие в ней специфических бактериофагов.

С этой целью нами было исследовано в разное время 3 образца воды из реки Невы в черте города Ленинграда и 4 пробы из открытых водоемов мало населенных местностей Карельской АССР. В основном при

Таблица 1.

Испытанные культуры	Б-ной Розенберг.		Б-ная Чистович.		Б-ная Невмеджанова.
	Диагн.—Typhus abdomin.		Диагноз: Typh. abdomin.		Диаг. Т. abd.
	Фильтр. № 1	Фильтр. № 2	Фильтр. № 1	Фильтр. № 2	Фильтр. № 1
	Получ. на 5 день после падения темп. Одновр.: Вп-даль+, из faeces выделена культура В. typhi abd.	Получ. на 12 день после падения температуры.	Получ. на высоте 3 рецидива. Одно-врем.: Видаль+, из faeces выделена культура В. typhi abd.	Получ. через 7 дн. после первого исследов.	Получ. на 13 день болезни, темп. утром 39°. Одно-врем. из стула выделена культу-ра В. typhi abd.
В. paratyphi B 30	++	++	++	++	—
" " 34	++	++	—	—	—
" " 25	+++	+++	+	+	—
" " 38	++	++	+++	+++	—
" " 17	—	+++	+++	+++	—
В. typhi abd. 93	++	++	+	+	—
" " 95	++	++	—	++	—
" " 44	+	+++	++	+++	—
" " 85	+++	+++	+	+	—
" " 26	+	+	+++	+++	++
" от Невмеджановой 1	+	—	+	+	—
" " 2	—	—	—	—	—
" от Розенберга 1	++	+++	+	+	—
" " 2	—	++++	+	+	—
" от Чистович 1	—	++++	+	+	—
" " 2	—	—	++	++	—
В. Morganii 15 ^а (Тихвин)	++	++	—	—	—
" " 1 ^а (Тихвин)	++	++	—	—	—
" " 4 ^а (Тихвин)	+	+	—	—	—
" " 11 ^а (Тихвин)	+++	+++	—	—	—
" " 3 ^а (Тихвин)	++	++	—	—	—
В. paracoli B ОММ 274	+	+	++	++	++
ОММ 1183	—	—	—	—	++
В. dys. Flekn. ОММ 375	+	+	+	+	+
В. coli mutabile	—	—	+	+	++
В. coli Мурманск 29	—	—	—	—	—
" от Невмеджановой	+	+	++	++	+
" от Робенберга	—	—	+++	+++	—
" от Чистович	—	—	++	++	—
" Мурманск 71	—	—	—	—	++
" Кемь 4	+	+	++	++	—

Таблица 2.

Испытанные культуры	Проба № 1. Вода из р. Невы в Ленинграде у берега близ моста Свободы. Время забора—2/IV-34. Соль-титр—0,01 к. с. Число колон. 15.000.	Проба № 2. Вода из р. Невы в Ленинграде у берега близ м. Свободы. Время забора 10/IX-34 г. Соль-титр—0,001 к. с. Число колон. 22.000.	Проба № 3. Вода из р. Невы в Ленингр. близ моста Свободы. Время забора 15/IX-34 г. Соль-титр—0,01 к. с. Число колон. 10.000	Проба № 4. Вода из Олонек, залива Онежск. озера. Время забора 1/XI-34 г. Соль-титр 100 к. с. Число колон. 73.	Проба № 5. Вода из озера близзавая на ст. Масельская. Время забора 2/XI-34 г. Соль-титр 100 к. с. Число колон. 185.	Проба № 6. Вода из р. Унцы выше поселка. Время забора 2/XI-34 г. Соль-титр 100 к. с. Число колон. 37.	Проба № 7. Вода из р. Унцы, ниже поселка. Время забора 2/XI-34 г. Соль-титр 1 к. с. Число колон. 250.
V. parat. В 30	—	—	+	—	—	—	—
» » 37	—	—	—	—	—	—	—
» » 34	—	—	++	—	—	—	—
» » 25	+	+	+	+	—	—	—
» » 38	+	+	+	+	—	—	—
» » 17	+	+	+	+	—	—	—
V. typh. abd. 93	++++	++++	++++	++++	—	—	—
» » 95	++++	++++	++++	++++	—	—	—
» » 44	+	—	+++	+++	—	—	—
» » 85	—	+	+++	+++	—	—	—
» » 26	++	+++	++	++	—	—	—
» от Невмед-жановой 1	++	++	+	—	—	—	—
» » 2	+++	++	++	++	—	—	—
» от Розенберга 1	+	++	+++	++	—	—	—
» » 2	—	—	+++	++	—	—	—
» от Чистович 1	+	+	—	—	—	—	—
» » 2	—	—	++	++	—	—	—
B. Morgani 15 ^a	—	—	+	—	—	—	—
» » 4 ^a	++	+	++	++	—	—	—
» » 1 ^a	—	—	+	—	—	—	—
» » 3 ^a	—	—	—	—	—	—	—
V. paracoli В							
» OMM 274	+++	++	+	—	—	—	—
» OMM 1183	+++	++	+	++	—	—	—
» от Чистович 1	+++	+++	—	—	+	—	—
» » 2	+++	+++	—	—	—	—	—
» из воды № 1	—	—	—	—	—	—	—
» из воды № 2	—	—	++	++	—	—	—
V. dys Flexn. OMM 375	++	+++	++	++	—	—	—
V. coli mutabile	+++	++	+++	+++	—	—	—
V. coli Мурманск 29	—	—	++	++	—	—	—
» от Невмед-жановой	++	+++	++	++	—	—	—
» от Розенберга	++	+	++	++	—	—	—
» от Чистович	+	++	—	—	—	—	—
» от Мурман. 71	—	—	+++	+++	—	—	—
» Кемь 4	+++	+++	—	—	—	—	—

исследовании воды мы воспользовались методикой, применявшейся Славинным, без пассирования выделяемых фагов.

Результаты произведенных исследований представлены на таблице 2.

Рассматривая таблицу, можно ясно видеть резкий контраст между заведомо сильно загрязненной стоками большого города водой реки Невы и практически чистыми водами мало заселенных пространств на территории Карельской АССР.

В то время, как в воде реки Невы открывается присутствие бактериофагов против всех введенных в опыт культур кишечочно-тифозной группы, в мало загрязненных водоемах Карелии бактериофага почти не обнаруживается.

Обращает на себя внимание множественность действия водного невисского бактериофага, направленного как против разных видов патогенных бактерий, так и непатогенных разновидностей (*B. coli* и *ragacoli*).

Сравнивая таблицы 1 и 2, мы имеем заметный параллелизм между литическим действием фильтратов, полученных из посевов испражнений брюшно-тифозных больных и реконвалесцентов и полученных из посевов загрязненной невиской воды.

Сопоставление этих фактов дает основание думать, что наличие в воде бактериофагов против бактерий *coli*-тифозной группы, в особенности против ее патогенных представителей, действительно является косвенным показателем эпидемиологически опасного загрязнения. К сожалению, сложность и длительность процессов определения бактериофага в воде не позволяет пока еще поставить этот метод в разряд обычных способов лабораторного исследования воды. Все же при углубленном санитарно-эпидемиологическом анализе, наряду с определением *coli*-титра, исследование воды на присутствие в ней бактериофага может быть использовано как дополнительный метод для санитарной характеристики воды.

Необходимы дальнейшие исследования по изучению эпидемиологической показательности бактериофага в воде.

Явились бы крайне ценными систематические исследования воды на присутствие бактериофага и его колебаний в воде, произведенные как в период эпидемического благополучия, так и во время какой-либо вспышки кишечных инфекционных заболеваний.

Выводы.

1. При исследованиях воды р. Невы в черте г. Ленинграда обнаружено присутствие активного бактериофага против различных патогенных и непатогенных видов бактерий *coli*-тифозной группы.

2. Исследованные образцы воды из мало загрязненных водоемов Карельской АССР оказались бедны бактериофагом.

3. Обнаружение в воде бактериофага против *B. coli* и патогенных бактерий *coli*-тифозной группы, повидимому, имеет эпидемиологически-показательное значение и может служить дополнительным методом при санитарной оценке воды.
