

Патогенные микроорганизмы в аэрозолях, выделенные при самолетном зондировании атмосферы над морями российской Арктики

И. С. Андреева^{1}, А. С. Сафатов¹, Л. И. Пучкова¹, О. В. Охлопкова¹, М. Е. Ребус¹, Г. А. Буряк¹*

¹ Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, р. п. Кольцово, Новосибирская область, Российская Федерация

*e-mail: andreeva_is@vector.nsc.ru

Аннотация. Исследованы концентрация, вертикальное распределение и разнообразие культивируемых бактерий и грибов, изолированных из образцов атмосферных аэрозолей, отобранных при самолетном зондировании атмосферы на высотах от 200 до 10000 м над акваториями морей Российского сектора Арктики: Баренцевым, Карским, Лаптевых, Восточно-Сибирским, Чукотским и Беринговым. В большинстве проанализированных проб показано наличие патогенных и условно-патогенных бактерий и грибов, способных вызвать инфекционные и аллергические заболевания.

Ключевые слова: арктические моря, атмосферные аэрозоли, самолетное зондирование, концентрация, разнообразие микроорганизмов, патогенные грибы, бактерии

Pathogenic microorganisms of aerosols isolated by airborne atmospheric sounding over the seas of the Russian Arctic

I. S. Andreeva^{1}, A. S. Safatov¹, L. I. Puchkova¹, O. V. Ohlopkova¹, M. E. Rebus¹, G. A. Buryak¹*

¹ Federal Budgetary Research Institution “State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector», Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Well-being, Koltsovo, Novosibirsk region, Russian Federation

* e-mail: andreeva_is@vector.nsc.ru

Abstract. The concentration and diversity of cultivated bacteria and fungi isolated from samples of atmospheric aerosols taken during airborne sounding of the atmosphere at altitudes from 200 to 10,000 m above the seas of the Russian sector of the Arctic: the Barents Sea, the Kara Sea, the Laptev Sea, the East Siberian Sea, the Chukchi Sea, and the Bering Sea. Most of the samples analyzed showed the presence of pathogenic and opportunistic bacteria and fungi that can cause infectious and allergic diseases.

Keywords: Arctic seas, atmospheric aerosols, airborne sounding, concentration, diversity of microorganisms, pathogenic fungi, bacteria

Введение

Арктика - важная составляющая климатической системы Северного полушария. За последние десятилетия именно на ее территории наблюдаются значительные изменения морского льда, снежного покрова, вечной мерзлоты и циркуляции атмосферы, что в свою очередь оказывает существенное влияние на Арктическую биоту, включая микроорганизмы [1]. Высокоширотной экспедицией арктического, антарктического научно-исследовательского института и группы мониторинга полярных регионов проводятся многолетние исследования микро-

биологических сообществ арктических станций. Выявленная микробиота характеризовалась доминированием грибов, связанных с антропогенными местообитаниями. В качестве преобладающих видов выделены грибы *Aureobasidium pullulans*, *Chaetomium globosum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium spp.* и ряд других с численностью до $2,54 \times 10^2$ КОЕ/м³ воздуха, включая условные патогены человека. Известные сведения о составе микробиоты арктических аэрозолей в основном касаются концентрации и состава грибов в приземной атмосфере поселений [2-4], сведения о бактериях в арктических аэрозолях практически отсутствуют.

Цель настоящего исследования - изучение концентрации и разнообразия культивируемых бактерий и грибов в аэрозолях атмосферного воздуха над акваториями морей Российской Арктики на высотах от 200 и до 10000 м, определение признаков патогенности у выделяемых микробных изолятов.

Методы и материалы

В сентябре 2020 г. во время комплексной экспедиции по зондированию атмосферы с применением самолета-лаборатории Ту-134 «Оптик» отобраны пробы атмосферных аэрозолей на высотах от 200 и до 10000 м над акваториями морей Ледовитого океана: Баренцевым, Карским, Лаптевых, Восточно-Сибирским, Чукотским и Беринговым. Схема маршрута всего эксперимента приведена на рис. 1 [5], цветом линии показана высота полета. Отбор образцов для микробиологического анализа выполняли с использованием импинджеров МЦ-50. Время отбора проб составляло на разных высотах от 6 до 17 мин. Частицы аэрозоля осаждали в среду Хенкса «БИОЛОТ» (Россия) объемом 50 мл, закрученную по стенкам прибора входящим потоком с расходом 50 ± 5 л/мин. Полученные таким образом суспензии аэрозолей высевали на набор жидких и агаризованных питательных сред: LB Difco (USA), полную среду ГРМ, крахмало-аммиачный агар, почвенный агар и среду Сабуро производства ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора (Россия) для выделения микроорганизмов разных физиологических групп. Инкубировали емкости с посевами в течение 3-14 суток при температурах 28-30° С и 6-10° С. Полученные изолированные колонии микроорганизмов использовали для определения концентрации и таксономического состава микробиоты атмосферных аэрозолей. Морфо-физиологические, биохимические и патогенные признаки выделенных микроорганизмов изучали стандартными методами [6]. Особенности клеточных структур исследовали при микроскопии живых и окрашенных клеток с помощью микроскопа Axioакор 40 “Carl Zeiss (Германия). Определение отдельных компонентов микробного сообщества аэрозолей проводили при метагеномном анализе полученных проб аэрозолей, идентификацию микроорганизмов до рода проводили хэш-классификатором Kraken.

Расчет числа культивируемых микроорганизмов в пробах (КОЕ/м³) проводили по методу Кербера [7]. Погрешность определения концентрации микроорганизмов составляла $\pm 0,2$ lg. Выделенные штаммы микроорганизмов хранили при низкотемпературном замораживании в коллекции природных изолятов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

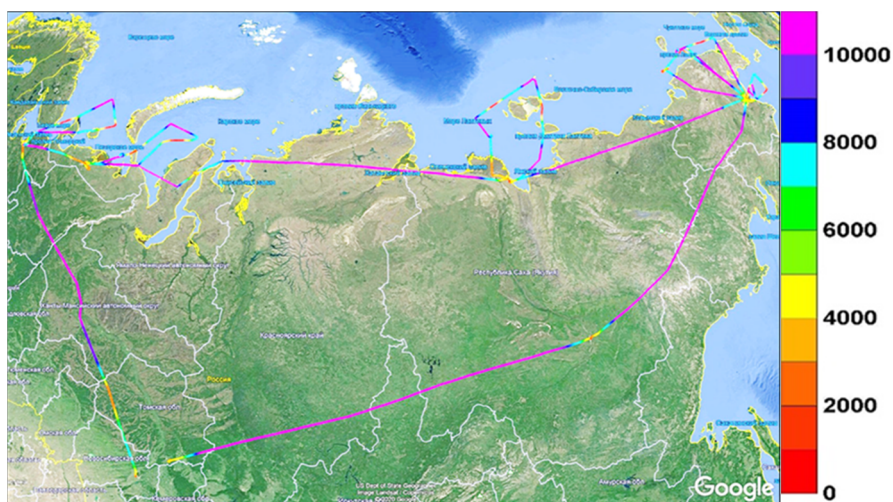


Рис. 1. Схематическая карта траектории движения самолета-лаборатории при отборе проб атмосферных аэрозолей над морями Российской Арктики [5]

Результаты

При выполнении полетов над акваториями морей Российской Арктики и над Анадырским заливом Берингова моря для микробиологических исследований отобраны 24 образца атмосферных аэрозолей. Концентрация культивируемых микроорганизмов, обнаруженных в аэрозолях разной локации, была сходной, в среднем составляя $5,5 \times 10^3$ КОЕ/м³. Зависимость количества выделяемых микроорганизмов от высоты и места отбора аэрозолей не наблюдалась.

Из исследуемых проб атмосферного воздуха выделено 252 культивируемых изолята грибов и бактерий. Грибы, представленные микромицетами, включая представителей широко распространенных родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Aureobasidium*, *Cladosporium* обнаружены в семи пробах, отобранных как на больших высотах до 9000 м, так и на высоте 200-300 м (рис. 2, табл. 1). Наибольшая их концентрация обнаружена над Баренцевым морем на высоте 5000 м, составляя около 30% от общего числа микроорганизмов, изолированных из этого образца (рис. 2). Выделенные грибы способны вызвать как инфекционные заболевания, так и аллергические реакции. Согласно результатам исследований, проведенных в пульмонологических клиниках разных стран, частота сенсibilизации к *Aspergillus* spp. у больных бронхиальной астмой в Китае составила 5,5%, в Новой Зеландии - 18,4%, в Саудовской Аравии - 22,6%, в Индии – 38,5%.

Грамположительные бактерии, образующие эндоспores, родов *Lysinibacillus* и *Bacillus*, были наиболее многочисленны в аэрозолях на высотах 200-300 м, составляя до 97,8% от общего количества изолированных из образца микробных изолятов (рис. 2, табл. 1). Две пробы, отобранные на высотах 9000 и 2000-5000 м над Чукотским морем, были некоторым исключением и также содержали заметное количество спорообразующих бактерий – 33,3 и 89,4%, соответственно, от общего количества выделенных из образцов. В остальных пробах бациллы наблюдались в гораздо меньшем количестве или отсутствовали.

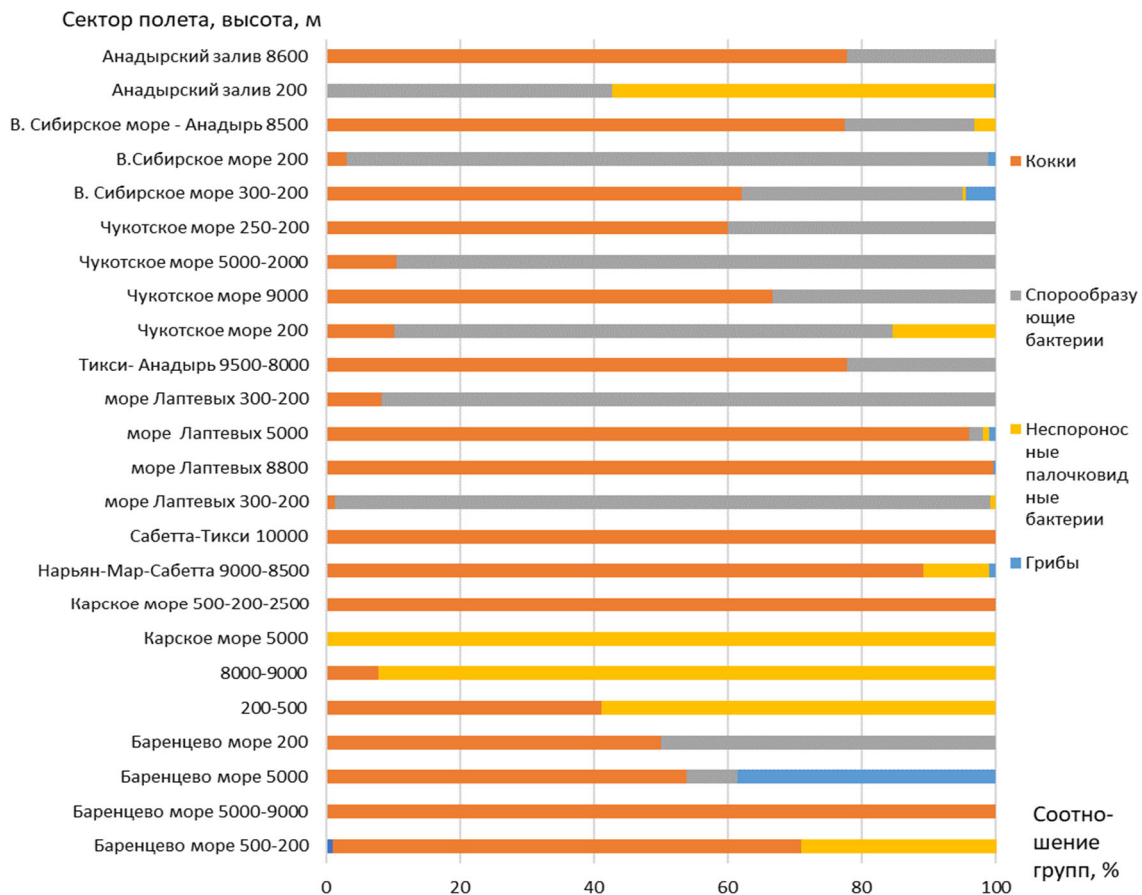


Рис. 2. Соотношение групп выявляемых культивируемых микроорганизмов в образцах аэрозолей Арктики, отобранных при самолетном зондировании атмосферы на разной высоте

Неспороносные грамотрицательные бактерии обнаружены как на низких высотах, так и на высотах до 9000 м. Наибольшее их количество изолировано из трех проб над Карским морем (до 99,78%) и в образце, отобранном на высоте 200 м над Анадырским заливом – 57,06% от выделенных из пробы (рис. 2). Возможно, что эти образцы отобраны в локациях, где влияние наземных источников было невелико, состав и концентрация изолированных микроорганизмов соответствовали сведениям о том, что океанические воздушные массы содержат в основном грамотрицательные бактерии морского происхождения за счет аэроизоляции микровыбросов с поверхности воды, поскольку именно грамотрицательные бактерии составляют до 80-95% от общего количества бактерий в морской воде [8]. Из числа идентифицированных в большей части исследуемых образцов аэрозолей выявлены бактерии, относящихся к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам: грамположительные бактерии родов *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Rothia*, *Kocuria*, грамотрицательные бактерии рода *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и ряд других, (рис. 2, табл.1).

Таблица 1

Разнообразие культивируемых микроорганизмов в пробах атмосферных биоаэрозолей Арктики, идентифицированных по результатам анализа фенотипических и геномных признаков

Сегмент полета	Высота, км / наименование культивируемых микроорганизмов		
	0,5-0,2	5-2	10-8
Баренцево море	<i>Acinetobacter</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Micrococcus</i> spp. <i>Bacillus</i> spp.	<i>Lysinibacillus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Cladosporium</i> spp.
Карское море	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Paracoccus</i> spp., <i>Rothia</i> spp. <i>Jeotgaliococcus</i> spp. <i>Brevundimonas</i> spp. <i>Acinetobacter radioresistens</i> , <i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Staphylococcus hominis</i> <i>Pseudomonas</i> spp. <i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Microbacterium</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Rhizobium</i> spp. <i>Staphylococcus hominis</i>
Нарьян-Мар – Сабетта	-*	-	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Penicillium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Aureobasidium</i> spp.
Сабетта – Тикси	-	-	<i>Staphylococcus hominis</i>
море Лаптевых	<i>Curtobacterium</i> spp. <i>Pseudarthrobacter</i> spp. <i>Bacillus</i> spp., <i>Rothia</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp. <i>Rothia</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp. <i>Penicillium</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Staphylococcus hominis</i> <i>Penicillium</i> spp. <i>Alternaria</i> spp.
Тикси – Анадырь	-	-	<i>Rothia</i> spp., <i>Rothia terrae</i> <i>Micrococcus</i> spp. <i>Bacillus</i> spp.
Чукотское море	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Bacillus</i> spp. <i>Micrococcus</i> spp. <i>Acinetobacter</i> spp. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Comamonas</i> spp. <i>Bacillus</i> spp. <i>Micrococcus</i> spp. <i>Staphylococcus equorum</i>	<i>Bacillus</i> spp.
Восточно-Сибирское море	<i>Staphylococcus</i> spp. <i>Lysinibacillus</i> spp. <i>Staphylococcus warneri</i> <i>Rothia terrae</i> , <i>Bacillus</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Kocuria</i> spp. <i>Aureobasidium</i> spp.	-	-
Восточно-Сибирское море – Анадырь	-	-	<i>Bacillus</i> spp., <i>Kocuria</i> spp. <i>Kocuria sediminis</i> <i>Staphylococcus warneri</i> <i>S. epidermidis</i>
Анадырский залив, от берега	<i>Bacillus</i> spp, <i>Nocardia</i> spp. <i>Bacillus pumilus</i> <i>Penicillium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp.	-	-
Анадырский залив	-	-	<i>Bacillus</i> spp. <i>Staphylococcus hominis</i>

*- Отбор проб не проводился.

Обсуждение

Знание источников и путей переноса биоаэрозолей необходимо для всестороннего понимания роли микроорганизмов в атмосфере и контроля распростра-

нения ими эпидемических заболеваний. Арктическая аэромикробиота формируется за счет поступления микроорганизмов из естественных местных ландшафтов, масштабных заносных явлений, связанных с поступлением биоматериалов из удаленных источников, а также – в результате возросшей антропогенной нагрузки, приводящей к рискам биологического загрязнения, способствующего распространению в Арктике космополитных видов, таких как патогенные грибы *Aspergillus*, *Penicillium* и другие. Трансокеанские и трансконтинентальные пылевые явления играют определенную роль в переносе патогенов, расширении биогеографического ареала организмов путем рассеивания на большие расстояния [9]. Спутниковые наблюдения показали атмосферный перенос пыли из Китая более чем на 10000 км над Тихим океаном, Евразия определена как основной источник антропогенного аэрозольного загрязнения полярных районов Северной Америки [10]. Патогены, перемещаясь по воздуху на большие расстояния, способны распространять болезни через континенты и между ними [11]: с переносом возбудителя с компонентами пыли связан сезонный менингококковый менингит в Африке [12], лихорадка долины, вызываемая спорами *Coccidioides* в засушливых регионах на обоих американских континентах [13]. Распространение микроорганизмов на большие расстояния в неблагоприятных условиях атмосферы обеспечивается разными защитными средствами: за счет производства внеклеточных полимерных веществ и пигментов, образования спор или других покоящихся структур, ассоциации с переносчиками, а также - благодаря осмо- и термопротекторам, антиоксидантам или специфическим ферментам [14]. Представление об атмосферном переносе как нейтральном по отношению к результатам расселения, существовавшее в экологии долгое время, больше не является обоснованным.

В арктических аэрозолях, исследованных в настоящей работе, среди изолированных микроорганизмов обнаружены бактерии родов *Kocuria*, *Rothia*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Acinetobacter*, способные вызвать заболевания у людей с ослабленным иммунитетом, проявляющие толерантность к пониженным температурам [15]. Во многих пробах присутствовали стафилококки, в том числе видов *Staphylococcus epidermidis*, *S. warneri* и *S. hominis* (табл. 1), известных как клинические изоляты [16]. Патогенные микроорганизмы используют ряд генетических стратегий, чтобы вторгнуться в организм хозяина, секреция ферментов агрессии – одна из них. Тестирование на признаки патогенности 145 бактериальных изолятов из разных проб выявило 30 спорообразующих бактерий, 15 кокков и 20 неспороносных бактерий, секретирующих гемолизины, разрушающие эритроциты. Липолитическими ферментами разной активности и специфичности, участвующими в разрушении клеточных мембран, обладали 55 культур. Обнаружены бактерии, относящиеся к родам *Bacillus* и *Staphylococcus*, продуцирующие высокоактивные фосфолипазы, определяющие инвазивность микроорганизмов [17]. Такой признак патогенности, как продукция щелочной фосфатазы, обнаружен у большей части тестированных штаммов, среди них наиболее активны культуры рода *Bacillus*, кокки рода *Staphylococcus* и *Jeotgaliococcus*, неспороносные бактерии родов *Acinetobacter*, *Brevundimonas*, *Microbacterium*.

Заключение

Микробиологический анализ исследуемых образцов атмосферных аэрозолей арктических морей России на высотах от 200 м до 10000 м показал большое разнообразие и численность микробиоты, в среднем составляющую $5,5 \times 10^3$ КОЕ/м³ вне зависимости от высоты и места взятия пробы. В большинстве проанализированных образцов аэрозолей показано наличие бактериальных патогенов родов *Staphylococcus*, *Kocuria*, *Rothia*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Acinetobacter* и др., включая бактерии видов *Staphylococcus epidermidis*, *S. warneri* и *S. hominis*, грибов родов *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aureobasidium*. Для профилактики инфекционных заболеваний необходим регулярный контроль состава микробиоты воздушной среды Арктики. Полученные результаты являются предварительными и нуждаются в продолжении исследований.

Благодарности

- организаторам арктической экспедиции и команде самолета-лаборатория Ту-134 «Оптик» за возможность участия в уникальном эксперименте; Н.А. Соловьяновой, М.Ю. Карташеву, Е.М. Астаховой за активное участие в исследовании бактериальных изолятов.

Финансирование: Работа выполнена при частичной поддержке Грантов ФЦП № 075-15-2019-1630, Министерства науки и высшего образования Российской Федерации соглашение № 075-15-2019-1665 и Государственного задания Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Schmale J., Zieger P., Ekman A. M. L. Aerosols in current and future Arctic climate // Nature Climate Change. – 2021. – Vol. 11, N 2. – P. 95-105.
2. Korneykova M. V., Evdokimova G. A. Microbiota of the ground air layers in natural and industrial zones of the Kola Arctic // J. Environ. Sci. Health. Part A. – 2018. – Vol. 53, N 3. – P. 271-277.
3. Duncan S. M., Farrell R. L., Jordan N., Jurgens J. A., Blanchette R. A. Monitoring and identification of airborne fungi at historic locations on Ross Island Antarctica // Polar Science. – 2010. – Vol. 4, N 2. – P. 275-283.
4. Kirtsideli I. Yu., Vlasov D. Yu., Abakumov E. V., Barantsevich E. P., Novozhilov Yu. K., Krylenkov V. A., Sokolov V. T. Airborne fungi in arctic settlement Tiksi (Russian Arctic, coast of the Laptev Sea) // Czech Polar Reports. – 2017. – Vol. 7, N 2. – P. 300-310.
5. Андреева И.С., Сафатов А.С., Охлопкова О.В., Ребус М.Е., Буряк Г.А. Культивируемые микроорганизмы аэрозолей, выявленные при самолетном зондировании атмосферы над Арктическими морями России // Интерэкспо ГЕО-Сибирь. – 2021. – Т. 4, № 1. – С. 86-94.
6. Методы общей бактериологии. Т. 3. / Под ред. Ф. Герхарда, Р. Мюррэя, Р. Костилоу, Ю. Нестера, В. Вуда, Н. Крига, Г. Филипса. – М. : Мир, 1984. – 264 с.
7. Ашмарин И. П., Воробьев А. А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. – Ленинград : Гос. изд. мед. лит., 1962. – 180 с.

8. Alsante A. N., Thornton D. C. O., Brooks S. D. Ocean Aerobiology // *Front. Microbiol.* – 2021. – Vol. 12. – Paper 764178.
9. Kellogg C. A., Griffin D. W. Aerobiology and the global transport of desert dust // *Trends Ecol. Evol.* – 2006. – Vol. 21, N 11. – P. 638-644.
10. Barrie L. A. Arctic air pollution: An overview of current knowledge // *Atmos. Environ.* – 1986. – Vol. 20, N 4. – P. 643-663.
11. Brown J. K. M., Hovmøller M. S. Aerial dispersal of pathogens on the global and continental scales and its impact on plant disease // *Science.* – 2002. – Vol. 297, N 5591. – P. 537-541.
12. Garcia-Pando C. P., Stanton M. C., Diggle P. J., Trzaska S., Miller R. L., Perlwitz J. P., Baldasano J. M., Cuevas E., Ceccato P., Yaka P., Thompson M. Soil dust aerosols and wind as predictors of seasonal meningitis incidence in Niger // *Environ. Health Perspect.* – 2014. – Vol. 122, N 7. P. 679-686.
13. Kollath D. R., Miller K. J., Barker B. M. The mysterious desert dwellers: *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii*, causative fungal agents of coccidioidomycosis // *Virulence.* – 2019. – Vol. 10, N 1. – P. 222-233.
14. Fahlgren C., Hagström Å., Nilsson D., Zweifel U. L. Annual variations in the diversity, viability, and origin of airborne bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* – 2010. – Vol. 76, N 9. – P. 3015-3025.
15. Steven B., Briggs G., McKay C. P., Pollard W. H., Greer C. W., Whyte L. G. Characterization of the microbial diversity in a permafrost sample from the Canadian high Arctic using culture-dependent and culture-independent methods // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2007. – Vol. 59, N 2. – P. 513–523.
16. Chabi R., Momtaz H. Virulence factors and antibiotic resistance properties of the *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from hospital infections in Ahvaz, Iran // *Trop. Med. Health.* – 2019. – Vol. 47, N 1. – Paper 56.
17. Ghannoum M. A. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis // *Clin. Microbiol. Rev.* – 2000. – Vol. 13, N 1. – P. 122-143.

© И. С. Андреева, А. С. Сафатов, Л. И. Пучкова,
О. В. Охлопкова, М. Е. Ребус, Г. А. Буряк, 2022