УДК 614.777-078(470.53)

РЕЗУЛЬТАТЫ ДИНАМИЧЕСКОГО НАБЛЮДЕНИЯ ЗА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ ВОДЫ ВОДОЕМОВ ПЕРМСКОГО КРАЯ

Чепкасова Н.И., Боталов Н.С., Некрасова Ю.Э.

ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера»
Минздрава России, Пермь, e-mail: ekaterina-suldina@rambler.ru

Проведен сравнительный анализ результатов микробиологических исследований воды водоемов Пермского края, сравнительная оценка разных методов исследования, используемых в практике бактериологических лабораторий, в процессе санитарного надзора. Основной целью санитарно-микробиологического исследования воды является обеспечение населения доброкачественной водой. Возбудители кишечных инфекций могут сохраняться в воде длительное время. В этом случае вода становится источником инфекционных заболеваний. Особенно опасно попадание болезнетворных микроорганизмов в водопроводную сеть. Поэтому за состоянием водоемов и подаваемой из них водопроводной воды установлен санитарно-бактериологический контроль. При исследовании воды поверхностных водоемов были использованы два метода: метод мембранной фильтрации и титрационный метод. Комплексное использование различных методов позволяет получить полноценные данные о микробиологической безопасности воды открытых водоемов.

Ключевые слова: санитарно-микробиологические показатели, анализ воды, метод мембранной фильтрации, титрационный метод

RESULTS OF DYNAMIC OBSERVATION FOR MICROBIOLOGICAL INDICATORS OF WATER OF WATERS OF PERM EDGE

Chepkasova N.I., Botalov N.S., Nekrasova J.E.

Acad. E.A. Wagner Perm State Medical University, Perm, e-mail: ekaterina-suldina@rambler.ru

The comparative analysis of the results of microbiological studies of water in reservoirs of the Perm Territory, a comparative evaluation of different research methods used in the practice of bacteriological laboratories, in the process of sanitary supervision. The main goal of the sanitary-microbiological study of water is to provide the population with benign water. Pathogens of intestinal infections can persist in water for a long time. In this case, water becomes information diseases. Especially dangerous is the entry of pathogens into the water supply network. Therefore, sanitary-bacteriological control is established for the condition of reservoirs and the supply of tap water from them. In the study of surface water, two methods were used: the membrane filtration method and the titration method. Complex use of various methods for obtaining qualitative data on the microbiological safety of water in open reservoirs.

Keywords: sanitary-microbiological indicators, water analysis, membrane filtration method, titration method

Санитарно-микробиологический анализ воды действующих источников в черте населенных мест, зонах рекреации осуществляют по утвержденному документу – СанПиН 2.1.5.980–00 «Гигиенические требования к охране поверхностных вод». Санитарными правилами установлены гигиенические нормативы состава и свойств воды в водных объектах для двух категорий водопользования [5]. К первой категории водопользования относится использование водных объектов в качестве источника питьевого и хозяйственно-бытового водопользования, а также для водоснабжения предприятий пищевой промышленности, а ко второй – относится использование водных объектов для рекреационного водопользования [1].

При исследовании санитарно-микробиологических показателей качества воды в каждой пробе проводится определение общих колиформных бактерий (ОКБ), термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ), колифагов, спор сульфитредуцирующих

клубочков, возбудителей кишечных инфекций (сальмонелл, энтеровирусов) и др. [2, 3]. Отбор проб осуществляли в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51592–2000 «Вода. Общие требования к отбору проб». При исследовании воды поверхностных водоемов использовали метод мембранной фильтрации и титрационный метод.

ОКБ – интегральный показатель степени фекального загрязнения, который включает ТКБ, *E. coli* и обладает индикаторной надежностью в отношении возбудителей бактериальных кишечных инфекций [4].

Определение ОКБ методом мембранной фильтрации. Объем воды для посева выбирают в зависимости от степени ее предполагаемого загрязнения, фильтруют через мембранные фильтры, чтобы на них выросли изолированные колонии. Фильтр переносят (не переворачивая) на среду Эндо. Чашки с посевами инкубируют при температуре 37°C в течение 18–24 ч. Для учета выбирают фильтры, на которых выросли изолирован-

ные типичные для лактозоположительных бактерий колонии. Далее по 2 – 3 оксидазоотрицательных колонии каждого типа пересевают в одну из подтверждающих сред с лактозой. Посевы инкубируют при температуре 37°C в течение 48 ч. При обнаружении кислоты и газа дают положительный ответ на наличие ОКБ. Определение ТКБ осуществляют с тех же фильтров с изолированными колониями, которые были выбраны для учета ОКБ. Посевы переносят в термостат и инкубируют при температуре 44°C в течение 24 ч. Подсчитывают число подтвержденных колоний ОКБ, ТКБ каждой группы отдельно [3].

Определение ОКБ и ТКБ титрационным методом. Объем воды для посева выбирают, чтобы получить один или несколько отрицательных результатов. Выбирают схему посева в 2 или 3 параллельных рядах. Каждый объем воды или ее разбавления засевают в лактозопептонную среду. Посевы инкубируют при температуре 37°C в течение 24 ч. Из посевов в среду накопления, где отмечено помутнение, образование кислоты и газа производят высев петлей на сектора среды Эндо, чтобы получить изолированные колонии. После определения положительных и отрицательных результатов на наличие ОКБ, ТКБ вычисляют наиболее вероятное число (НВЧ) КОЕ в 100 мл [1, 2].

Бактерии рода *Salmonella* и энтерококки определяют: при выборе новых источников водоснабжения и зон рекреации, при установлении влияния выбросов сточных вод на водоем, при превышении нормативов по ОКБ и ТКБ и в повторно отобранных пробах. Для определения сальмонелл исследуют 1000 мл воды, засевая в среды накопления: селенитовый бульон, магниевая среда и др. Посевы воды инкубируют при $t=37^\circ\text{C}$ в течение 18 – 20 ч. Затем производят высев на чашки с висмут-сульфитным агаром, инкубируют при $t=37^\circ\text{C}$ в течение 18 – 20 ч. При обнаружении подозрительных колоний, с каждой чашки снимают 4 – 5 изолированных колоний для посева в пробирки с комбинированными средами для определения биохимических свойств, подтверждающих принадлежность к роду *Salmonella*.

Определение энтерококков методом мембранной фильтрации. Объем воды для посева выбирают так, чтобы не менее чем на 2-х фильтрах выросли изолированные колонии в количестве от 5 до 50. Отмеренный объем воды фильтруют через мембранные фильтры. Фильтры помещают на питательную среду и инкубируют при тем-

пературе 37°C 48 ч. Подсчитывают колонии, характерные для энтерококков [1].

Определение энтерококков титрационным методом. Объем воды выбирают в минимальных разбавлениях, чтобы получить один или несколько отрицательных результатов. Каждый объем помещают параллельно в 2 или 3 порции щелочно-полимиксинной среды (ЩЭС). Посевы инкубируют при температуре 37°C 24 ч. Из посевов, где отмечены признаки роста (помутнение или изменение цвета среды), высевают на 4 – 6 секторов одной из плотных питательных сред – молочно-ингибиторной, энтерококк-агар. Через 24 – 48 ч инкубации посевов отмечают наличие аспидно-черных или сероватых мелких колоний. После определения положительных и отрицательных результатов определяют НВЧ энтерококков в 100 мл воды [4].

Колифаги предназначены для проведения текущего контроля качества воды поверхностных водоемов, служащих источником для питьевого и хозяйственно-бытового водоснабжения, при их определении используют прямой метод. Объем воды для посева выбирают в зависимости от степени ее загрязнения, чтобы на чашках выросло до 300 бляшкообразующих единиц. На всех этапах исследования используют бактериальную взвесь *E.coli* K F12 Str-g. После инкубации через 18 ч. при $t=37^\circ\text{C}$ подсчитывают и суммируют все зоны лизиса. Результаты выражают в БОЕ на 100 мл воды [3].

Стафилококки определяют в воде водоемов, используемых для купания, как показатель загрязнения воды микрофлорой верхних дыхательных путей и кожных покровов человека [6]. Определение числа стафилококков методом мембранной фильтрации. Пробу в объеме 50 мл фильтруют через 2 – 3 фильтра, чтобы получить изолированные колонии. Фильтры помещают на желточно-солевой агар (ЖСА) и инкубируют при температуре 37 °C в течение 24 ч. Подсчитывают колонии, из них 96 – 98 % образованы *Staphylococcus aureus*.

Определение стафилококков титрационным методом. Делают посевы 10 мл, 1 мл и 0,1 мл исследуемой воды в 2 – 3 повторениях в стерильную пептонную воду с хлоридом натрия. Посевы инкубируют при температуре 37°C в течение 48 ч. Затем производят высев на ЖСА. При наличии характерных колоний их микроскопируют, определяют плазмокоагулазную активность и дают ответ [3].

Цель работы: сравнительный анализ результатов исследований воды водоемов Пермского края, сравнительная оценка разных методов исследования, используемых в практике бактериологических лабораторий, в процессе санитарного надзора.

Ход исследования и результаты. Все исследования проводились в микробиологической лаборатории Центрального филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Пермском крае» в ходе санитарного надзора 2012–2014 гг. Исследованию подвергались пробы воды из водоемов Пермского и Кунгурского районов Пермского края.

Отбор проб из водоемов 1 категории осуществлялся в следующих точках: река Кама в районе п. Усть-Качка, река Северка в п. Юго-Камский, река Сылва в районе г. Кунгур, река Бабка в п. Шадейка, река Бабка в п. Ергач. Для анализа водоемов 2 категории отбирались пробы из открытых водоемов в местах массового отдыха и купания людей.

Относительное число проб воды водоемов 1 категории, которые не отвечали гигиеническим требованиям, все годы наблюдения составляло около пятой части и имело тенденцию к незначительному снижению – с 22% в 2012–2013 гг. до 19% в 2014 г. В то же время, доля нестандартных проб из водоемов 2 категории была стабильно высокой и увеличивалась ежегодно в течение всего периода наблюдения: с трети (34%) в 2012 году до практически половины (49%) в 2014 г. (табл. 1).

При исследовании воды на санитарно-показательные микроорганизмы проводится групповая дифференциация, однако определение родов и видов имеет значение при расшифровке происхождения и характера загрязнений, поскольку различные виды санитарно-показательных микроорганизмов имеют неодинаковое индикаторное значение. Микробиологические исследования проводились в отношении всех рекомендованных санитарно-показательных микроорганизмов (табл. 2).

Таблица 1

Данные о состоянии водных объектов за 2012–2014 гг. абс. – абсолютные числа, отн. – относительные, выраженные в процентах

	2012 г.		2013 г.		2014 г.	
	абс.	отн. %	абс.	отн. %	абс.	отн. %
Количество проб, отобранных из водоемов 1 категории	115	100	176	100	178	100
из них не отвечают гигиеническим требованиям	26	22,6	40	22,7	34	19,1
Количество проб, отобранных из водоемов 2 категории	101	100	224	100	126	100
из них не отвечают гигиеническим требованиям	35	34	102	45,5	62	49

Таблица 2

Структура исследований воды поверхностных водоемов за 2012–2014 гг.

Определяемые показатели	2012 г.	2013 г.	2014 г.
	Абс/%	Абс/%	Абс/%
Всего исследований	623	1170	894
Количество исследований на ОКБ	108/100	200/100	152/100
из них с выделением	40/37,0	100/50,0	70/46,1
Количество исследований на ТКБ	108/100	200/100	152/100
из них с выделением	45/41,7	90/45,0	75/49,3
Количество исследований на сальмонеллы	200/100	358/100	295/100
из них с выделением	1/0,5	0/0	1/0,003
Количество исследований на колифаги	207/100	392/100	295/100
из них с выделением	51/24,6	64/16,3	61/20,7
Количество исследований на энтерококки	9/100	20/100	0/100
из них с выделением	1/11,1	3/1,5	0/0
Количество исследований на стафилококки	2/100	0/0	0/0
из них с выделением	0/0	0/0	0/0

Наиболее значительная доля нестандартных проб была выявлена по показателю ОКБ, в 2012 г. – 37%, 2013 г. – 50%, 2014 г. – 46,1%; ТКБ – в 2012 г. – 41,7%, 2013 г. – 45%, 2014 г. – 49,3% что свидетельствует о недостаточных мерах по предотвращению фекального загрязнения водных объектов, вследствие этого – о потенциальной возможности увеличения доли острых кишечных инфекций.

При исследовании на ОКБ, ТКБ, энтерококки, стафилококки были проведены параллельные посевы проб воды методом мембранной фильтрации и титрационным методом. Метод мембранных фильтров, позволяющий определять число бактерий в первичном посеве, превосходит по точности титрационные методы с использованием сред накопления. Полученные результаты показали незначительные расхождения (табл. 3).

ключает применение жидких питательных сред. При методе мембранных фильтров используют приборы вакуумного фильтрования, что позволяет исключить субъективное влияние на исследование. Недостаток метода – случаи затягивания поверхности фильтра подвижными формами бактерий или споровыми микроорганизмами, а также взвешенными веществами.

Титрационный метод широко используется в практике бактериологических лабораторий. Он прост в исполнении, не требует применения специального оборудования и может быть использован при анализе воды с большим содержанием взвешенных веществ. В случае преобладания в воде посторонней микрофлоры, препятствующей получению на фильтрах изолированных колоний ОКБ. Этот метод требует большого количества стерильной лабораторной посуды, жидких питательных сред накопления.

Таблица 3

Сравнительный анализ исследований воды методами мембранной и фильтрации и титрационным

	Метод мембранной фильтрации	Титрационный метод
Всего исследований	116	99
из них не отвечают нормативам/%	28/24,1	24/24,2
Количество исследований на ОКБ	44	35
из них с обнаружением/%	12/27,3	10/28,6
Количество исследований на ТКБ	44	35
из них с обнаружением/%	14/31,8	11/31,4
Количество исследований на энтерококки	6	5
из них с обнаружением/%	1/16,7	1/20,0
Количество исследований на стафилококки	22	24
из них с обнаружением/%	1/4,5	2/8,3

Проведенная сравнительная оценка методов с использованием мембранных фильтров и титрационного показала, что получаемые результаты близки между собой, различия несущественны. Отдельные отклонения были связаны с недостаточной точностью и достоверностью результатов титрационного метода

Выводы. Метод мембранных фильтров весьма экономичен, сокращает потребность лабораторий в посуде, питательных средах, реактивах, число и рабочую емкость термостатов и уменьшает время работы. Достоинством метода является возможность концентрирования бактерий из значительных объемов воды, возможен при использовании воды любой степени загрязнения, ис-

Увеличение количества нестандартных проб воды зон рекреаций (отдыха и купания) жителей Пермского края может неблагоприятно сказаться на структуре и количестве инфекционных заболеваний в регионе.

Список литературы

1. Громова В.А., Захарова Ю.В. Руководство по санитарной микробиологии воды, почвы, лечебно-профилактических организаций. – КемГМА, 2010.
2. Горовиц Э.С., Поспелова С.В. Санитарная микробиология: метод. рекомендации / ГОУ ВПО ПГМА им. ак. Е.А. Вагнера Росздрава. – Пермь, 2007. – 78 с.
3. Копылова Г.Е., Кравченко Г.А. Санитарная микробиология. Учебно-методическое пособие. – ННГУ, 2014.
4. Методические указания МУК 4.2.1884–04. Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов.
5. СанПиН 2.1.5.980–00. Гигиенические требования к охране поверхностных вод.
6. Поспелова С.В., Горовиц Э.С. Еще раз о бактерионосительстве стафилококков // Медицинский альманах. – 2009. – № 2. – С. 75–77.