

Д.Д. Бархутова <sup>1</sup>, Б.В. Дармаева <sup>2</sup>, Б.Б. Намсараев <sup>1</sup>**САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ХОЛОДНЫХ АРШАНОВ И ГОРЯЧИХ МИНЕРАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ ПРИБАЙКАЛЬЯ**<sup>1</sup> ФГБУН Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)<sup>2</sup> ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия (Улан-Удэ)

Изучение распространения и численности индикаторных микроорганизмов позволило дать оценку качества воды источников по микробиологическим показателям. Общие колиформные бактерии были обнаружены в воде и донных осадках горячих и холодных источников. Выделены условно-патогенные микроорганизмы *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus* (биогруппа 2), *Citrobacter Freundi*.

**Ключевые слова:** холодные и горячие источники, индикаторные микроорганизмы

**SANITARY AND MICROBIOLOGICAL ASSESSMENT OF COLD AND HOT MINERAL SPRINGS OF PRIBAIKALYE**D.D. Barkhutova <sup>1</sup>, B.V. Darmayeva <sup>2</sup>, B.B. Namsarayev <sup>1</sup><sup>1</sup> Institute of General and Experimental Biology, Ulan-Ude<sup>2</sup> Center of Hygiene and Epidemiology, Ulan-Ude

Studying of distribution and number of indicator microorganisms has allowed to estimate springs water quality by microbiological indicators. The koliformal bacteria have been found in water and ground precipitation of hot and cold springs. Opportunistic microorganisms have been allocated – *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella oxytoca*, *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus* (biogroup 2), *Citrobacter Freundi*.

**Key words:** cold and hot springs, indicator microorganisms

Минеральные источники являются местами активной деятельности микроорганизмов, которые участвуют в продукции и деструкции органического вещества, трансформации газов, образовании биологически активных веществ. Огромно их значение в создании лечебного фактора минеральных вод и в процессах самоочищения. Микроорганизмы различных физиологических групп выступают в роли индикаторов состояния окружающей среды.

Возрастающее антропогенное воздействие на минеральные источники в связи с их широким использованием местным населением для лечения и отдыха и создающаяся особая зона туристско-рекреационного типа в Байкальском регионе делает актуальной оценку качества воды и донных осадков в минеральных источниках.

**Целью** данной работы было выявление и учет индикаторных микроорганизмов для санитарно-микробиологической оценки холодных и термальных минеральных источников Прибайкалья.

**МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Определение общих колиформных (ОКБ) и термотолерантных колиформных бактерий (ТКБ) в воде проводилось мембранным и титрационным методами согласно ГОСТ 18963-73. В качестве накопительной универсальной среды для определения колиформных бактерий использовалась лактозо-пептонная среда.

Исследование общих колиформных бактерий в донных осадках и микробных матах проводилось согласно МУ МЗ СССР № 143-9/316-17-1985. В целях идентификации и дифференциации микробных культур изучали биохимические свойства с применением систем индикаторных бумажек (СИБ). Видовое разнообразие энтеробактерий определяли по определителям бактерий Берджи (1997).

Определение титра *Clostridium perfringens* в донных осадках и микробных матах производили методом посева в среду Вильсон-Блера согласно МУ МЗ СССР № 143-9/316-11985.

Определение колифагов проводили титрационным методом с предварительным их накоплением в среде обогащения на культуре *E. coli*.

Определение *Pseudomonas aeruginosa* проводили на плотной селективно-дифференциальной среде Эндо с предварительным накоплением их в жидкой лактозо-пептонной среде согласно МУ № 96/225-1997-1985 и МР 1986 «Обнаружение и идентификация *Pseudomonas aeruginosa* в объектах окружающей среды (пищевых продуктах, воде, сточных жидкостях».

Определение патогенных стафилококков проводили методом высева в чашки Петри 0,2 мл основного разведения (донных осадков и микробных матов) на желточно-солевой агар и кровяной агар и 1 мл – в сахарный бульон с дальнейшей инкубацией при температуре 37 °С в течение 48 ч.

Определение патогенных энтеробактерий проводили методом предварительного обогащения на селенитовой и магниевой средах с последующим высевом на висмут-сульфит агар и плотные среды Плоскирева и Левина (МУК 4.2.1884-04).

Определение цист патогенных кишечных простейших проводили методом фильтрации 50 л воды через мембранный фильтр и с дальнейшей идентификацией согласно МУК 4.2.964-00.

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ**

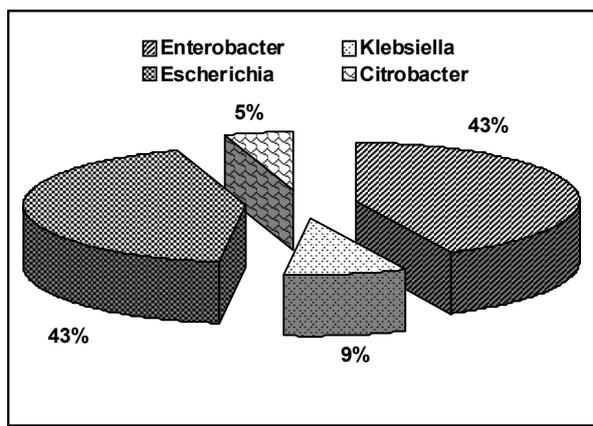
*Условно-патогенные*

*бактерии семейства Enterobacteriaceae*

Общие колиформные бактерии были обнаружены в воде горячих и холодных источников. В гидротерме Горячинск из исследованных 37 проб воды не соответствовали нормативным показателям 13 проб, что составило 35 %, а в 8 пробах обнаружены термотолерантные колиформные бактерии. Из 39 проб донных осадков и микробных матов нормативным показателям не соответствовали 12, что составило 31 %. Из них в 4 пробах были выявлены термотолерантные колиформные бактерии. Обнаружение клостридий в донных осадках и микробных матах подтверждает фекальное загрязнение.

В холодных аршанах в Кумыске и Серебряном из исследованных 68 проб превышали нормативные показатели 12, что составило 7 %, из них в 4 обнаружены термотолерантные бактерии. Следует отметить, что в холодном источнике Серебряном, который находится в лесу и меньше подвергается антропогенной нагрузке, не были выявлены термотолерантные колиформные бактерии. В сезонной динамике наиболее часто колиформные бактерии в источниках обнаруживались в осенне-весенний период.

Из гидротермы Горячинск и холодных источников Кумыска и Серебряный (Прибайкалье) были выделены и идентифицированы условно-патогенные бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, которые относились к родам *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia* и *Citrobacter* (рис. 1).



**Рис. 1.** Выделенные культуры бактерий семейства *Enterobacteriaceae* в холодных и горячих источниках, %.

Среди выделенных культур из проб воды, донных осадков и микробных матов бактерии рода *Escherichia* составили 43 %, *Enterobacter* — 43 %, *Klebsiella* — 9 %, *Citrobacter* — 5 %.

Следует отметить, что в воде, донных осадках и микробных матах гидротермы Горячинск не встречались бактерии рода *Citrobacter*, а в воде холодных аршанов — бактерии рода *Klebsiella*. Был определен видовой состав выделенных энтеробактерий (табл. 1).

Наиболее широко представлены условно-патогенные бактерии рода *Enterobacter* в источнике Горячинск. В воде гидротермы Горячинск встречались все виды выделенных бактерий кроме *Citrobacter Freundi*. В то же время в микробных матах и донных осадках гидротермы не обнаружены микроорганизмы *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter amnigenus* (*буорпынна 2*), *Citrobacter Freundi*. Кроме того, в матах источника не обнаружены бактерии *E. coli*, а в осадках — *K. oxytoca*.

В холодном источнике Серебряном был выявлен только *E. agglomerans* (табл. 2). В воде аршана Кумыска обнаружены 3 вида — *Escherichia coli*, *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter* и *Citrobacter Freundi*.

**Таблица 1**

**Энтеробактерии в термальных и холодных источниках Прибайкалья**

Источники	<i>E. aerogenes</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. amnigenus</i> <i>буогруппа 2</i>	<i>C. freundii</i>
Кумыска (колодец)	-	-	+	-	+	-	+
Кумыска (ручей)	-	-	-	-	-	-	+
Серебряный (озерко)	-	-	-	+	-	-	-
Серебряный (ручей)	-	-	-	-	-	-	-
Горячинск (вода)	+	+	+	+	+	+	-
Горячинск (донные осадки)	+	-	+	+	-	-	-
Горячинск (микробные маты)	+	+	-	-	-	-	-

Таблица 2

Биохимическая характеристика выделенных культур семейства *Enterobacteriaceae*

Тест	<i>E. aerogenes</i>	<i>K. oxytoca</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. agglomerans</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. amnigenus</i> биограмма 2	<i>C. freundii</i>
Окраска по Граму	–	–	–	–	–	–	–
Оксидаза (24 ч)	–	–	–	–	–	–	–
Образование индола	–	+	+	–	–	–	–
Проба с метиленовым красным	–	–	+	–	–	–	+
Реакция Фогеса – Проскауэра	+	+	–	+	+	+	–
Цитрат (среда Симмонса)	+	+	–	+	–	+	+
Образование H <sub>2</sub> S	–	–	–	–	–	–	–
Гидролиз мочевины	–	+	–	–	–	–	+
Фенилаланиндезаминаза	–	–	–	–	–	–	–
Лизиндекарбоксилаза	+	+	+	–	–	–	–
Орнитиндекарбоксилаза	+	–	–	–	+	+	–
Подвижность	+	–	+	+	+	+	+
Лактоза	+	+	+	+	+	+	+
Использование ацетата	–	+	+	–	+	–	+
Восстановление нитрата	+	+	+	+	+	+	+
Окисление-брожение	F	F	F	F	F	F	F
Образование газа из D-глюкозы	+	+	+	+	+	+	+
Образование кислоты из D-глюкозы	+	+	+	+	+	+	+

Примечание: «–» – отрицательный, «+» – положительный, «F» – ферментация

**ДРУГИЕ ИНДИКАТОРНЫЕ  
МИКРООРГАНИЗМЫ**

*Pseudomonas aeruginosa*. В последние годы возрастает значение *Pseudomonas aeruginosa* в патологии человека. Обнаружение *Ps. aeruginosa* в объектах окружающей среды сигнализирует одновременно об эпидемическом (как патоген) и санитарном (как индикатор биологического загрязнения) неблагополучии. В исследованных пробах воды горячих и холодных источников не были обнаружены *Pseudomonas aeruginosa*.

*Clostridium perfringens*. В донных осадках и микробных матах гидротермы Горячинск обнаружены бактерии *Clostridium perfringens*, титр которых варьировал от 0,1 до 0,0001 г (табл. 3). В зимний период на всех обследованных станциях титр *Clostridium perfringens* был равен 0 – 0,1 г, что не превышало допустимые нормы. В другие сезоны отмечено увеличение количества сульфитредуцирующих клостридий (титр составлял 0,1 – 0,0001 г). Наиболее загрязненными были пробы осадков (ст. 5а, 5б и 6а) в июне, августе и октябре 2005 г.

Одновременное обнаружение общих колиформных бактерий и *Clostridium perfringens* свидетельствует о том, что загрязнение имеет фекальный характер.

В пробах донных осадков и микробных матов ручья (станции 3 – 6) одновременно присутствовали колиформные бактерии и *Clostridium perfringens* (июнь, август, октябрь 2005 г, май 2006 г.). В зимний период (февраль) вода в пруду (не полностью) и в ручье после него замерзает. В этот период тоже

обнаружено совместное присутствие ОКБ и клостридий в одной пробе.

На других станциях в ручье, где были обнаружены клостридии, но не выявлены колиформные бактерии, имеются также загрязнения антропогенного происхождения, но более отдаленного характера.

*Колифаги*. Бактериофаги по своим биологическим свойствам, устойчивости к химическим и физическим факторам, особенностям жизнедеятельности в условиях окружающей среды приближаются к энтеровирусам. На основании многолетних исследований водоемов рекомендовано использовать фаги кишечных бактерий в качестве санитарно-показательных организмов в отношении энтеровирусов.

На наличие колифагов были исследованы пробы воды гидротермы Горячинск (весной, летом, осенью и зимой) и холодных источников Серебряный и Кумыска (ежемесячно). В исследуемых источниках колифаги не были обнаружены.

*Патогенные энтеробактерии*. Контроль минеральных вод на присутствие в них патогенных энтеробактерий осуществляют по обнаружению бактерий рода *Salmonella*, как наиболее устойчивых из патогенных представителей этого семейства, и учитывают их отсутствие в 1000 мл воды. В исследованных пробах воды источников патогенные энтеробактерии не были обнаружены.

*Патогенная кокковая микрофлора*. Стафилококки определяли в донных осадках и микробных матах как показатель загрязнения микрофлорой

Таблица 3

Численность общих колиформных бактерий и клостридий в донных осадках и микробных матах гидротермы Горячинск, коли-титр (г)

Станции	Тип пробы	Дата отбора 06.2005		Дата отбора 08.2005		Дата отбора 10.2005		Дата отбора 02.2006		Дата отбора 05.2006	
		<i>S. perfringens</i>	ОКБ	<i>S. perfringens</i>	ОКБ	<i>S. perfringens</i>	ОКБ	<i>S. perfringens</i>	ОКБ	<i>S. perfringens</i>	ОКБ
Ст. 1аС	осадки	–	–	–	0	–	0	0	0	0,1	0
	маты	–	–	0	0,0001	0,01	0	0	0	0,1	0
Ст. 3а	осадки	0	0	0,1	10	–	–	–	–	–	–
	маты	0	0	0,1	10	–	–	–	–	–	–
Ст. 3б	осадки	–	–	0,1	0,001	0,1	0	0,1	0	0,01	0
	маты	–	–	–	–	0,1	0	0	0,01	0,1	1,0
Ст. 4	осадки	0,1	–	0,01	0,1	0,1	0	0,1	0,01	0,1	–
Ст. 5а	осадки	0,0001	0	0,001	0,001	0,001	10	–	–	0,01	0,001
Ст. 5б	осадки	0,001	0,01	0,0001	0	0,0001	10	–	–	0,01	0,001
Ст. 6а	осадки	0,001	0,01	0,0001	0	0,01	0	–	–	0,1	1,0
Ст. 6б	осадки	0,1	0	0	0	–	0	–	–	0,1	10

верхних дыхательных путей и кожных покровов человека. В донных осадках и микробных матах не были обнаружены *Staphylococcus aureus*.

Цисты патогенных кишечных простейших. В исследованных пробах воды гидротермы Горячинска и холодных источников Серебряный и Кумыска не обнаружены цисты патогенных кишечных простейших (цисты лямблий, амебы дизентерийной и цисты балантидия кишечного).

**ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Таким образом, изученные минеральные источники подвержены антропогенному воздействию, о чем свидетельствует выявление колиформных бактерий в воде источников, донных осадках и микробных матах гидротерм.

В исследуемых источниках распространены условно-патогенные бактерии, относящиеся к родам *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia* и *Citrobacter*. В горячих источниках не обнаружены бактерии рода *Citrobacter*, а в холодных аршанах – *Klebsiella*. В воде источников не выявлены патогенные энтеробактерии, *Pseudomonas aeruginosa* и колифаги. В донных осадках источника Горячинск обнаружены бактерии *Clostridium perfringens*, которые являются показателем антропогенного загрязнения.

**Сведения об авторах**

**Бархутова Дарима Дондоковна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии ФГБУН Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6, ИОЭБ СО РАН; тел. (3012) 434902; e-mail: darima\_bar@mail.ru)

**Дармаева Бальжима Витальевна** – кандидат биологических наук, зав. отделением регистрации, учета и кодирования ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Бурятия

**Намсараев Баир Бадмабазарович** – доктор биологических наук, зав. лабораторией ФГБУН Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6, ИОЭБ СО РАН; тел. (3012) 434902)

Работа выполнена при финансовой поддержке Интеграционных грантов СО РАН № 94, № 5 и гранта РФФИ\_сибирь 12-04-98079.

**ЛИТЕРАТУРА**

- ГОСТ 18963-73. Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа. – М.: Изд-во стандартов, 1993. – 24 с.
- МУ МЗ СССР № 143-9/316-17-1985. Оценка санитарно-бактериологического состояния лечебных грязей различных типов. – М.: Тип.м-ва здравоохранения СССР, 1985. – 23 с.
- МУ № 96/225-1997-1985 и МР 1986. Обнаружение и идентификация *Pseudomonas aeruginosa* в объектах окружающей среды (пищевых продуктах, воде, сточных жидкостях. 1986. – 22 с.
- МУК 4.2.1884-04. Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2005. – 5 с.
- МУК 4.2.964-00. Санитарно-паразитологическое исследование воды хозяйственного и питьевого использования. – М.: Федеральный центр государственного санитарного эпидемиологического надзора Министерства здравоохранения России, 2000. – 19 с.