

ПРОБЛЕМЫ

ПРОВ 2010

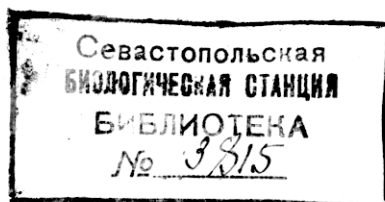
АКАДЕМИЯ НАУК
СОЮЗА СОВЕТСКИХ СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ РЕСПУБЛИК

ТРУДЫ СЕВАСТОПОЛЬСКОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ

ИМЕНИ А. О. КОВАЛЕВСКОГО

Том VI

1872 — 1947



ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА 1948 ЛЕНИНГРАД

Ф. И. КОПН

**МАТЕРИАЛЫ К МЕТОДИКЕ САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ В МОРЕ**

Суждение о загрязнении тех или иных участков моря сточными водами обычно основывается на наличии фекального загрязнения, показателем которого на практике является присутствие кишечной палочки (*B. coli*) и родственных ей форм бактерий.

Следует ли, действительно, считать, что обнаружение в данном участке моря кишечной палочки говорит о загрязнении этого участка сточными водами?

Нам кажется, что дать категорический ответ на этот вопрос трудно. Миллер (1935) в главе о бактериологическом исследовании воды говорит: «В итоге можно сказать, что вопрос о бактериологическом испытании воды не может считаться разработанным», и далее указывает на необходимость установления норм содержания в воде показателей загрязнения. Некоторые авторы (Бонжан и др.) считают, что наличие кишечной палочки может служить признаком загрязнения лишь при отсутствии расхождения с данными химического анализа. По данным Потеряева (1936), распространение сточных вод в море, определяемое химическими методами, может быть установлено на очень ограниченном участке, радиусом 100—150 м. Работая в море, нам неоднократно удавалось обнаружить кишечную палочку в местах, где химическим путем загрязнения констатировано не было. Отто и Нейман (Otto und Neumann, 1904) обнаружили близкие к кишечной палочке формы в воде Атлантического океана. Очевидно, что в море, где разведение сточных вод очень быстро достигает почти астрономических величин, расхождение данных бактериологического и химического анализов неизбежно.

Следует считать доказанным, что кишечная палочка теплокровных не размножается в морской воде. Все авторы, занимавшиеся этим вопросом, находили, что при посеве кишечной палочки на морскую воду число бактерий изо дня в день уменьшается (Zobell, 1946).

Однако продолжительность выживания кишечной палочки в морской воде довольно велика. В опытах, проведенных нами совместно с Басиной, выяснилось, что хотя количество засеянных на морскую воду кишечных палочек постепенно падает, но жизнеспособных бактерий можно было обнаружить в нестерильной морской воде до 17 суток, а в стерильной свыше 33 суток. Конечно, условия лабораторного опыта полностью не соответствуют естественным условиям жизни кишечной палочки в море. Тем не менее данные опыта позволяют предполагать, что и в море кишечная палочка остается жизнеспособной много дней. За такой период времени бактерии могут быть отнесены течением на весьма значительное расстояние. Следует ли считать таких занесенных течением бактерий кишечника пока-

зателями загрязнения? Вопрос осложняется тем, что кишечная палочка как показатель фекального загрязнения «представляет собою понятие, не имеющее строго определенных границ с точки зрения методики анализа» (Барсов и Разумов, 1937).

Как совершенно справедливо отмечают эти авторы, неопределенность в вопросе о том, каким минимальным набором признаков должна обладать кишечная палочка, чтобы считаться показателем фекального загрязнения, породила чрезвычайно громоздкую схему анализа при помощи так называемого «пестрого ряда». Эта схема особенно неудобна при работах в море, когда приходится одновременно исследовать большое количество проб. Отнимая много времени, эта методика часто не дает ответа на вопрос о наличии кишечной палочки, так как в море, повидимому, разновидностей и вариантов кишечной палочки еще больше, чем в пресных водах. С методической точки зрения исследование на присутствие кишечной палочки в морской воде желательно вести на среде Эйкмана с заменой глюкозы лактозой. Это имеет значение, как показала Горовиц (1918), в том отношении, что количество водных бактерий, ферментирующих лактозу, незначительно. По американскому стандартному методу также рекомендуется лактоза, а не глюкоза. Из 29 штаммов морских бактерий, выделенных нами из воды и илов Черного моря, ни один не ферментировал лактозы, поэтому замена глюкозы лактозой при проведении работ с морской водой вполне рациональна.

Кроме методики «пестрого ряда», принятой в Германии, американские бактериологи выдвинули другую методику, основанную на констатировании группы *B. coli-aerogenes*, в противовес немецкой методике, делающей ставку на вид *B. coli commune* (Станд. методы..., 1927; Simmons a. Gentzkow, 1944). Как известно, группа *B. coli-aerogenes* состоит из двух физиологических подгрупп: *B. coli*, источником происхождения которой является кишечник животных, и *aerogenes*, происходящих из почвы. Таким образом, обнаружение микробов первой подгруппы (*coli*) говорит о санитарном неблагополучии, нахождение же представителей подгруппы *aerogenes* не показательно.

Однако такая точка зрения не получила признания. Минкевич (1936), в работе которого имеется подробная сводка по этому вопросу, на основании собственных исследований приходит к выводу, что «нефекальных» *B. coli*, повидимому, вовсе не существует и что «нефекальные» расы являются «не чем иным, как продуктом эволюции «фекального» *B. coli commune* в условиях его существования во внешней среде». Далее Минкевич приходит к выводу, что измененные таким образом «фекальные» штаммы свидетельствуют о не имеющем эпидемиологической актуальности, несвежем фекальном загрязнении.

В нашей работе мы встретили в морской воде громадное количество разновидностей *B. coli*, точная идентификация которых представляла большие затруднения.

Следует обратить внимание на то, что *B. coli* легко меняет свои биохимические свойства под влиянием различных экологических условий (Горовиц, 1918; Минкевич, 1936). В специально поставленных нами опытах кишечная палочка после 23 суток пребывания в морской воде значительно изменила свои биохимические свойства: она перестала ферментировать глюкозу и очень слабо ферментировала лактозу.

Пребывание в морской воде сказывается и на способности к ферментативной деятельности при 46°. Этот факт необходимо принимать в расчет при установлении наличия *B. coli* в морской воде.

Мы видим, таким образом, что суждение о *B. coli* как о показателе фекального загрязнения в морской воде наталкивается на ряд затруднений.

В качестве метода, могущего дать более удовлетворительные результаты, чем метод учета микробов кишечной группы, нам кажется рациональным использовать учет выросших колоний. При этом методика должна, по возможности, затруднить рост обычных микробов моря и способствовать росту микробов загрязненных вод. Таким методом является подсчет общего числа колоний, выросших на чашках с мясопептонным агаром при некоторых специальных условиях. Условия эти заключаются в следующем:

1. Слабощелочной мясопептонный агар должен быть приготовлен на дистиллированной воде. Этот момент очень важен, так как большинство морских микробов плохо растут на средах, не содержащих достаточного количества солей (Benescke, 1933). Цобелл и Фильтем (Zobell a. Feltham, 1933) показали, что при посеве морских бактерий на среды с дистиллированной водой число выросших колоний значительно уменьшается. Эти авторы полагают, что почти в 90% случаев можно отделить морских бактерий от неморских, пользуясь способностью первых развиваться только на средах с морской водой. Кишечная же палочка остается очень долго жизнеспособной на дистиллированной воде (Bussan, 1929).

Надо заметить, что Цобелл и Фильтем работали с бактериями, выделенными из вод океана, соленость которого достигает 33‰. Можно было предполагать, что бактерии, выделенные из менее соленых вод (например, вод Черного моря), будут толерантнее по отношению к средам, не содержащим морских солей.

Действительно, произведенные нами опыты показали, что из 18 выделенных из воды и ила Черного моря культур гнилостных микробов пять культур дали рост на средах, не содержащих морской воды.

Таким образом, уже один состав среды значительно ограничивает возможность роста морских микробов. Два других вводимых в подсчет условия сводят эту возможность к минимуму.

2. Вторым важным условием, дающим возможность в известной степени отделить морских микробов от неморских, является выращивание при 37° С. В наших опытах при такой температуре только у 30% морских микробов наблюдался рост, при этом значительно менее обильный, чем у культур, росших при 18° С.

3. Наконец, третьим условием, помогающим дифференцировать морские формы, является подсчет колоний, выросших на мясопептонном агаре к 24 часам. К этому времени подавляющее большинство микробов неморского происхождения уже образует более или менее ясные колонии, в то время как морские микробы еще не дают заметных колоний. Уже к 48 часам число колоний, образованных морскими микробами, значительно увеличивается.

Опасение, что при подсчете чашек через 24 часа мы получим значительно уменьшенное число колоний, нам кажется несущественным. Для суждения о загрязнении сточными водами важны не абсолютные, а относительные показатели.

Таким образом, при соблюдении указанных выше трех условий мы получаем в методе подсчета выросших колоний хороший критерий для суждения о загрязнении моря посторонними, неморскими бактериями.

Проведенные нами работы позволяют сделать некоторые выводы и в отношении методики взятия бактериологических проб воды для санитарно-бактериологических исследований.

При взятии проб следует считаться с некоторыми особенностями, возникающими при спуске сточных вод в море. Сточные воды, будучи обычно по удельному весу более легкими, чем морская вода, поднимаются от устья коллектора к поверхности моря. При этом бурном поднятии происходит энергичное разбавление сточных вод морской водой. По нашим данным, основанным на подсчете общего числа колоний и учете титра кишечной палочки, разбавление во время передвижения сточных вод в вертикальном направлении может быть весьма значительным, выражаясь в некоторых случаях отношением 1 : 100 на 1 м поднятия.

От конца выпускной трубы сточные воды поднимаются вверх в виде конуса, обращенного своей вершиной к отверстию трубы. При этом ось конуса загрязненной воды не перпендикулярна к дну, а наклонена в сторону действующего в данный момент течения.

Это необходимо принимать во внимание при взятии проб. Если брать пробы по вертикали из центра конуса, то они, естественно, не дадут правильного представления о распределении сточных вод.

Поднявшись на поверхность, сточные воды текут уже значительно медленнее, и разведение их морской водой становится значительно меньшим. Степень разведения в основном зависит от количества сточных вод, их состава, температуры и силы течения.

При исследовании распространения сточных вод в горизонтальном направлении необходимо точно учитывать толщину слоя загрязненной воды и вести исследование послойно от поверхности в глубину. Так как слой вышедшей на поверхность сточной воды часто не обладает большой толщиной, то здесь необходима особая техника, позволяющая брать пробы через каждые 10—20 см от поверхности. Для этой цели нами (совместно с Воскресенским) был применен простой прибор, вполне оправдавший себя.

Прибор состоит из заборной стеклянной трубки, пропущенной через деревянную доску. Трубка при помощи винта может быть установлена на желаемую глубину. Доска опускается на поверхность воды, и выкачивание ведется через две двугорлые склянки, соединенные между собою и с заборной трубкой резиновыми шлангами. Выкачивание производится путем отсасывания насосом воздуха из второй склянки, а вода поступает в первую. Перед каждым новым взятием пробы первая склянка сменяется, а резиновая и заборная трубки промываются спиртом и стерильной дистиллированной водой. Двугорлые склянки могут быть заменены соответствующих размеров бутылками, в пробки которых вставлены две стеклянные Г-образные трубки.

Решение вопроса о том, в какую сторону идет загрязнение в условиях спуска нечистот в реку, не представляет затруднения. Совершенно иначе обстоит дело в море, где загрязнение может распространяться в любом направлении от точки спуска сточных вод в море.

Известные данные для суждения о направлении загрязнения в море дает учет господствующих ветров и течений. Однако окончательное решение, как нам кажется, остается за биологическим исследованием бентоса и перифитона. Только этот метод, выводы которого основываются на присутствии организмов, типичных для загрязненных участков моря, говорит о *п о с т о я н н о м* загрязнении. Бактериологические же и химические исследования в море констатируют только существующее в *д а н н ы й* *м о м е н т* загрязнение, что, как мы постарались показать этой работой, не может быть решающим в санитарно-гигиенической оценке тех или иных участков моря.

Вопрос о морских организмах — показателях загрязнения — освещен

щен работами Севастопольской и Новороссийской биологических станций в частности работами Морозовой-Водяницкой (1930, 1936), Воробьева, Потеряева (1936), Михайловской и Чернова (1937, 1929).

Наша небольшая работа не ставит себе целью исчерпать вопрос о методике санитарно-гигиенических исследований в море. Нам хотелось только обратить внимание на полное отсутствие разработанной методики и санитарных норм морской воды и сообщить некоторые выводы, к которым мы пришли на основании наших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Несоответствие данных химического и бактериологического анализов при исследовании загрязнения моря сточными водами создает затруднения для решения этого вопроса обычными методами. Установление фекального загрязнения, показателем которого, как это доказано рядом работ советских микробиологов во главе с Минкевичем и Мишустинным, является кишечная палочка, осложняется тем, что в море встречается много разновидностей кишечной палочки. Они представляют собой, видимо, адаптацию кишечной палочки к условиям жизни в морской воде. Санитарное значение таких нетипичных штаммов не ясно. В известной степени здесь может помочь выяснение титра, однако, как мы это пытались показать, при работе с морской водой установление титра представляется нелегкой задачей.

Курортное строительство и быстрый рост приморских городов нередко сопровождаются загрязнением пляжей и участков моря, имеющих промысловое значение. В связи с этим выработка методики санитарно-бактериологических исследований в море и санитарных норм морской воды является настоятельной необходимостью.

ЛИТЕРАТУРА

- Барсов и Разумов. Проект стандартного метода анализа воды на фекальное загрязнение. Микробиология, 1937, т. VI.
- Горюхиц. Кишечная палочка. Глава в «Учении о микроорганизмах» Златогорова, 1918, т. III, вып. 4.
- Миллер. Санитарная бактериология. Биомедгиз, 1935.
- Минкевич. Учение о *B. coli commune* как санитарно-показательном микроорганизме. Л., 1936.
- Михайловская. Определитель сине-зеленых водорослей северо-восточной части Черного моря. Тр. Новоросс. биол. ст. им. В. М. Арнольди, 1937, т. I, вып. 6.
- Морозова-Водяницкая. Материалы к санитарно-биологическому анализу морских вод. Тр. Новоросс. биол. ст. 1930, вып. 4.
- Морозова-Водяницкая. Опыт количественного учета донной растительности в Черном море. Тр. Севаст. биол. ст. АН 1936, СССР, т. V.
- Потеряев. Санитарно-биологические исследования на Черном море. Тр. Новоросс. биол. ст., 1936, т. II, вып. 4.
- Стандартные методы исследования питьевых и сточных вод. Изд. Пост. бюро, М., 1927, № 75.
- Чернов. К биологии водорослей у южного берега Крыма. Русск. гидробиол. журн., 1929, т. VIII, № 8—9. Саратов.
- Бенеке. Bakteriologie des Meeres. Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden 1933, Bd. 5, H. 6.
- Bussan (цит. по Lutman. Microbiology, N. Y., 1929).
- Otto und Neumann. Ueber einige bakteriologische Wasseruntersuchungen im Atlantischen Ozean. Bakt. Zbl., 1904, II, 13 (цит. по Benecke, 1933).
- Simmons a. Gentzkow. Laboratory methodes of the United States Army. Philadelphia, 1944.
- Zobell. Marine microbiology, 1946.
- Zobell and Feltham. Are there specific marine bacteria? Proc. of fifth. Pacific sci. Congress, 1933, vol. 3. Vancouver (отд. оттиск).