

УДК 628.312.57

СООБЩЕСТВО УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ СЕМ. *ENTEROBACTERIACEAE* В ЖИВОТНОВОДЧЕСКИХ СТОЧНЫХ ВОДАХ

О.Е. Чезлова, А.А. Волчек

Полесский аграрно-экологический институт НАН Беларуси, г. Брест, Беларусь

Сточные воды ОАО «СГЦ «Западный» содержат от 2×10^7 до $3,34 \times 10^8$ КОЕ/мл бактерий сем. *Enterobacteriaceae*. Доля лактозонегативных энтеробактерий составляет от 47 до 95 %. Выделено 8 видов энтеробактерий – *Citrobacter freundii*, *E. coli*, *Providencia*, *Pr. mirabilis*, *Prov. rettgeri*, *Prov. alcalifaciens*, *Morganella morganii*, *Pant. agglomerans*.

Введение

Сточные воды (СВ) свиноводческих комплексов содержат значительное количество патогенных и условно-патогенных микроорганизмов и могут быть основным источником бактериологического загрязнения объектов окружающей среды. В качестве одного из основных критериев эпидемической опасности подобных объектов принято учитывать количество лактозоположительных общих колиформных бактерий (ОКБ). Однако известно, что лактозоотрицательные, глюкозоположительные бактерии составляют около 40 % семейства кишечных. Среди них могут быть и условно-патогенные виды, и кишечные палочки, утратившие способность сбраживать лактозу под влиянием различных негативных факторов [1, с. 630]. В связи с высокой этиологической значимостью энтеробактерий выявление мест их резервации представляется особенно актуальным.

Целью нашей работы явилась оценка состава условно-патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* осветленных СВ свиноводческого комплекса ОАО «СГЦ «Западный».

Методика и объекты исследования

Объектами исследования являлись осветленные СВ ОАО «СГЦ «Западный», бактерии СВ.

В данной работе представлены результаты микробиологических исследований 5 лет – с 2013 по 2017 гг.

Определение проводили традиционными методами бактериологического анализа. Отбирали 500 мл представительной пробы СВ из РОС. В дальнейшем из отобранного материала готовились серии десятичных разведений по стандартной методике для посева на питательные среды. Из разведений СВ производили посев по 0,1 мл суспензии на поверхность плотной элективной среды Эндо и селективной среды Плоскирева. Посевы инкубировались при 37 ± 1 °C в течение 24 часов. Следующий этап – отсев выросших колоний энтеробактерий на комбинированную среду Клигелер (по 3–5 однотипных колоний) для первичной дифференциации и накопления культуры. На заключительном этапе производили окончательную дифференциацию по комплексу биохимических признаков [2].

Результаты и их обсуждение

Общее количество энтеробактерий в осветленных стоках по годам исследований изменялось от 2×10^7 до $3,34 \times 10^8$ КОЕ/мл. Всего было выделено 8 видов, принадлежащих 6 родам сем. *Enterobacteriaceae* – *Citrobacter*, *Escherichia*, *Proteus*, *Providencia*, *Morganella*, *Pantoea*. Встречаемость ви-

дов энтеробактерий в пробах СВ из РОС показана на рисунке 1.

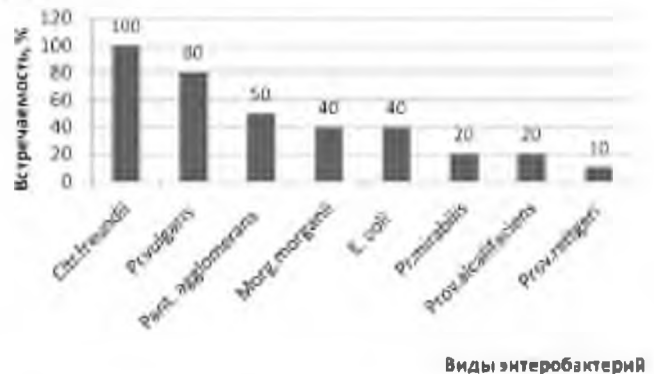


Рисунок 1. – Встречаемость видов бактерий сем. *Enterobacteriaceae* в пробах осветленных стоков ОАО «СГЦ «Западный»

Большинство видов, обнаруженных в СВ из РОС, принадлежали роду *Proteus* (*Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis*) и близким к нему родам *Providencia* (*Prov. rettgeri*, *Prov. alcalifaciens*) и *Morganella* (*Morg. morganii*). Это грамотрицательные микроорганизмы, способные окислять белки до α -кетокислот и аммиака. Являясь условно-патогенными бактериями, они могут вызывать гнойно-воспалительные заболевания различных локализаций.

В группу ОКБ входят энтеробактерии, способные расти на дифференциальных лактозных средах, ферментирующих лактозу до кислоты и газа при температуре (37 ± 1) °C в течение 24–48 часов. Из числа ОКБ выделяют также термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ), которые обладают всеми свойствами ОКБ, и, кроме того, способны ферментировать лактозу до кислоты и газа при температуре $(44 \pm 0,5)$ °C в течение 24 ч. Данный показатель используется в качестве одного из основных критериев эпидемической опасности СВ.

К ОКБ в стоках ОАО «СГЦ «Западный» относились 2 вида энтеробактерий: *E. coli* и *Cit. freundii*. Вид *Cit. freundii* был обнаружен в стоках во все года исследований. При этом термотолерантностью обладало от 1 до 16 % культур *Cit. freundii*, а выделенные культуры *E. coli*, как правило, все были термотолерантными. Соотношение ОКБ и ТКБ по годам исследований представлены в таблице 1.

Вид *Pant. agglomerans* в стоках, преимущественно не проявлял лактазной активности.

Видовой состав условно-патогенных энтеробактерий представлен в таблице 2.

Таблица 1. – Состав колиформных бактерий СВ из РОС (2013–2017 гг.)

Показатель	Сточные воды из РОС					Гиг. норма для поверхн. вод
	2013	2014	2015	2016	2017	
ОКБ, КОЕ в 100 мл	4,5×10 ⁴	6,2 10 ²	2,3×10 ²	2,19×10 ⁴	6,2×10 ²	Не более 1000
ТКБ, КОЕ в 100 мл	50	100	<50	8,45×10 ²	6,2×10 ²	Не более 100

Таблица 2. – Видовой состав, количество и характеристика условно-патогенных бактерий сем. *Enterobacteriaceae* в СВ СГЦ «Западный», КОЕ/мл

Год	Бактерии сем. <i>Enterobacteriaceae</i>	Титр, мл	Соотношение количества лактозоположительных и лактозоотрицательных форм, %
2013	<i>Pr. vulgaris</i>	0,1 – 0,001	 53% (лактозоположительные) / 47% (лактозоотрицательные)
	<i>Citr. freundii</i>	0,01	
	<i>Prov. alcalifaciens</i>	0,1	
	<i>Morg. morganii</i>	10	
	<i>Pant. agglomerans</i>	1	
	<i>Prov. ratigen</i>	1	
2014	<i>Citr. freundii</i>	0,01	 50% (лактозоположительные) / 50% (лактозоотрицательные)
	<i>Pr. mirabilis</i>	0,01	
2015	<i>Citr. freundii</i>	0,1 – 0,01	 95% (лактозоотрицательные) / 5% (лактозоположительные)
	<i>Pr. mirabilis</i>	0,001	
	<i>Pr. vulgaris</i>	0,1 – 0,01	
	<i>Pant. agglomerans</i>	0,01–10	
	<i>Morg. morganii</i>	0,01–10	
2016	<i>E. coli</i>	0,01 – 0,001	 48% (лактозоположительные) / 52% (лактозоотрицательные)
	<i>Citr. freundii</i>	0,1	
	<i>Pr. vulgaris</i>	0,01	
	<i>Pant. agglomerans</i>	1 – 0,1	
	<i>Prov. alcalifaciens</i>	0,1	
2017	<i>E. coli</i>	0,01	 47% (лактозоположительные) / 53% (лактозоотрицательные)
	<i>Citr. freundii</i>	0,1	
	<i>Pr. vulgaris</i>	0,01	

Оценивая изменение видового пейзажа сем. *Enterobacteriaceae* в пробах СВ из РОС по годам исследований необходимо отметить его относительное постоянство – соотношение лактозопозитивных и лактозонегативных форм было близко к 1:1. Исключение составил 2015 г., когда значительно (до 95 %) преобладали лактозонегативные формы энтеробактерий. В 2016 и 2017 гг. в осветленных стоках появляется *E. coli*, причем значительная часть представлена термотолерантными формами, что является свидетельством ухудшения эпидемиологического состояния СВ. В 2015 год, наиболее благоприятный по санитарно-гигиеническим показателям (ОКБ 2,3×10² КОЕ/100 мл, ТКБ <50 КОЕ/100 мл), стоки содержали максимальное по годам исследований количество лактозонегативных энтеробактерий, в основном рода *Proteus* и близких к нему родов. Учитывая тот факт, что основным способом утилизации животноводческих СВ на территории Республики Беларусь является внесение их на земледельческих полях орошения (ЗПО), при организации мониторинга бактериологического загрязнения в зоне влияния ЗПО следует учитывать не только ОКБ,

но и лактозонегативные энтеробактерии, в частности, группы протеев.

Эпидемическую опасность СВ можно оценить по отношению количества ОКБ и *E. coli*. Считается, что чем ниже это соотношение, тем эпидемически более опасна вода [3]. Оценивая данный показатель по годам исследований можно констатировать, что в 2013–2017 годах происходило ухудшение качества СВ – соотношение ОКБ / *E. coli* снизилось на два порядка и в 2016–2017 гг. стало близким к 1, что говорит о том, что практически все группа колиформных бактерий представлена *E. coli* (при расчете данного критерия в годы отсутствия в пробах *E. coli* ее количество принималось равным 1 КОЕ/мл) (рисунок 2).



Рисунок 2. – Соотношение ОКБ и *E. coli* в осветленных стоках ОАО «СГЦ Западный»

Причина данной ситуации вызвана, по-видимому, смешением отстоянных стоков и свежих, имеющих высокий индекс кишечной палочки, и обусловлена, в конечном итоге, нехваткой навозохранилищ.

Однако использовать данный показатель для исследуемых стоков не совсем правильно. В годы отсутствия *E. coli* (2013–2015 гг) показатель снижается, свидетельствуя о якобы ухудшении качества СВ, однако вызвано это снижение уменьшением общей обсемененности стока колиформами. Объективно использовать данный показатель для СВ, имеющих один уровень обсемененности ОКБ,

Выводы

1. Общее количество бактерий сем. *Enterobacteriaceae* в осветленных стоках свиноводческого комплекса ОАО «СГЦ «Западный» варьирует от 2×10^5 до $3,34 \times 10^7$ КОЕ/мл. В общем количестве доля лактозонегативных энтеробактерий составляет от 47 до 95 %.

2. Выделено 8 видов, принадлежащих 6 родам сем. *Enterobacteriaceae* – *Citrobacter* (*Citr. freundii*), *Escherichia* (*E. coli*), *Proteus* (*Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis*), *Providencia* (*Prov. rettgeri*, *Prov. alcalifaciens*), *Morganella*

(*Morg. morganii*), *Pantoea* (*Pant. agglomerans*)

3. Происходит возрастание эпидемиологической опасности сточных вод (соотношение ОКБ/ *E. coli* близко к 1), что вызвано смешением отстоянных и свежих стоков.

4. При организации мониторинга бактериологического загрязнения в зоне влияния земледельческих полей орошения следует учитывать лактозонегативные энтеробактерии, в частности, группы протеев.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Сазонова, О.В. Достоверность санитарно-бактериологической оценки почвы населенных мест в условиях антропогенной нагрузки на окружающую среду / О.В. Сазонова [и др.] // Известия Самарского научного центра Российской академии наук – 2012 – Т. 14, № 5 (3) – С. 629 – 632
- 2 Микробиологическая диагностика заболеваний, вызываемых энтеробактериями. Инструкция по применению № 028–0309 утв. Гл. гос санитар врачам Респ. Беларусь 08.05.09 – Минск, 2009 – 103 с.
- 3 Чурбанова, И.Н. Микробиология учеб. для вузов по спец. «Рациональное использование водных ресурсов и обеззараживание пром. стоков» / И.Н. Чурбанова – М. Вышш. шк., 1987 – 238 с.

COMMUNITY OF OPPORTUNISTIC BACTERIA OF *ENTEROBACTERIACEAE* FAMILY IN LIVESTOCK SEWAGE

CHEZLOVA O.E., VOLCHAK A.A.

Sewage of breeding complex «Western» contains from 2×10^5 to $3,34 \times 10^7$ CFU / ml of bacteria *Enterobacteriaceae* family. The share of lactose-negative enterobacteria is 47 to 95 %. There are 8 species of enterobacteria – *Citr. freundii*, *E. coli*, *Pr. vulgaris*, *Pr. mirabilis*, *Prov. rettgeri*, *Prov. alcalifaciens*, *Morg. morganii*, *Pant. agglomerans*.