

Формулы Фармации. 2022. Т. 4, № 3. С. 44–49

БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Обзорная статья

УДК 579.63

DOI: <https://doi.org/10.17816/phf117636>

Микробиологический анализ воды родников Ленинградской области

©2022. О. Ю. Богданова¹, Т. Ф. Черных¹

¹Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Богданова Ольга Юрьевна, olga.bogdanova@pharminnotech.com

АННОТАЦИЯ. В статье приведены результаты исследований микробиологического качества родниковой воды источников Приозерского района Ленинградской, проведенные по нормативам нового СанПиН. Отмечен высокий интерес населения к использованию родниковой воды как источника питьевой воды, представлен анализ современных исследований зарубежных коллег родниковых вод с применением новых молекулярно-генетических методов. Показана ценность применения современных высокотехнологичных методов и традиционных методов санитарно-микробиологического анализа родниковой воды. На основании проведенных исследований в 2021–2022 годах по двум сезонным периодам, отмечено закономерное увеличение количества мезофильных микроорганизмов при переходе от зимнего сезона к весенне-летнему, обусловленное повышением температуры и активизацией биоты почвенных и водных экосистем. Родник пос. Ромашки признан неблагополучным в санитарно-микробиологическом отношении, на основании превышения норматива для общего количества бактерий и наличия в пробе обобщенных колиформных бактерий. Отмечено, что рекомендации СанПиН по качеству питьевой воды и микробиологическому контролю ее качества могут быть применены для родниковой и других видов подземной воды.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: родниковая; питьевая вода; микробиологическая оценка; общее микробное число; колиформные бактерии

СОКРАЩЕНИЯ:

КОЕ – колониеобразующие единицы; МАФАНМ – мезофильные аэробные и факультативно-анаэробные микроорганизмы; ОМЧ – общее микробное число воды; СанПиН – санитарные правила и нормы; ОКБ – общие колиформные бактерии.

ВВЕДЕНИЕ

Микробиом естественных источников питьевой воды вызывает у населения традиционно большой интерес, особенно с учетом региональных особенностей тех областей, которые богаты родниками и подземными резервуарами воды. В качестве источников питьевой воды в городских и промышленных масштабах родниковую воду обычно не используют в силу определенного лимитированного объема воды, поставляемого из подземного резервуара. Кроме того, родниковую воду также необходимо очищать и обеззараживать, как и сборную воду поверхностных водоемов для городского водоснабжения.

Обыватели придерживаются традиционной точки зрения о том, что водопроводная вода более загрязнена химическими и биологическими примесями, чем бутилированная или родниковая вода. В городской среде потребители все чаще используют бутилированную воду, надеясь на ее более высокое качество и безопасность. В настоящее время в продаже имеется несколько видов бутилированной воды: родниковая вода, собранная путем бурения подземных родниковых источников; очищенная вода, полученная путем дистилляции, обратного осмоса или других процессов; минеральная вода, содержащая более 250 частей на миллион растворенных твердых веществ; газированная вода в бутылках, содержащая такое же количество углекислого газа, как и в источнике; артезианская вода или вода из артезианской скважины из замкнутого водоносного горизонта, колодезная вода из отверстий в почве. Жители сельских мест традиционно используют питьевую воду родникового или колодезного происхождения. Родниковая вода относится к подземным водам, к числу которых также относят колодезную воду, воду артезианских источников. По устоявшемуся мнению, родниковые воды представляют собой живые воды, содержащие в своем составе не только определенный состав химических элементов, но и определенные живые связи, способствующие жизнедеятельности человеческого организма. Однако лабораторные методы, применяемые для исследования качества родниковой воды, часто убеждают нас в обратном.

Знания о крупномасштабных закономерностях микробиома родников еще неполны. Присутствие бактерий в источниках воды, используемых для потребления человеком, является серьезной проблемой для органов здравоохранения; тем не менее стандартные микробиологические проверки качества сосредоточены только на патогенных видах и общей микробной нагрузке. В настоящее время родниковую воду можно подвергать санитарно-микробиологическому контролю по нормативам обновленного в 2021 году СанПиН 1.2.3685-21 «Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания» (введены в действие с 01.03.2021) [1]. Также для оценки микробного разнообразия родниковой воды можно использовать традиционные микробиологические методы определения общего обилия микроорганизмов, кластерный анализ выделенных сапрофитных и санитарно-показательных микроорганизмов, подсчет индексов биоразнообразия. Кроме того, некоторые зарубежные исследователи для изучения микробиома

родниковой воды используют высокопроизводительное секвенирование 16S рРНК, в результате чего получают карту микробиома источников воды. Однако данные исследования с применением новейшего оборудования по итогу демонстрируют сходные результаты биоразнообразия микроорганизмов, что и традиционные методы. Так, с помощью секвенирования 16S рРНК воды родников в итальянском исследовании 2022 года [2] было показано, что весной биоразнообразие микробного состава родниковой воды выше, чем зимой. Однако подобные результаты не новы и были получены традиционными методами [3]. В этом аспекте, для определения санитарного благополучия воды, необходимость в сложных генетических исследованиях надуманна, а важность традиционных методов оценки микробного состава воды родников может быть недооценена. Генетические исследования, тем не менее, представляют ценность как источники понимания богатого разнообразия микробных типов, обитающих в подземных водных резервуарах и попадающих в воду из почвенных частиц и организмов. Так, современные источники свидетельствуют о присутствии в воде таких таксонов бактерий и грибов как *Planctomycetes*, *Verrucomicrobia*, последний более богат таксонами, принадлежащими к типам *Caldiserica*, *Lentisphaera*. Традиционными организмами родниковых вод являются *Desulfobacterota*, члены таксонов *Oligoflexia* и *Muxococcota*. Довольно широко представлены бактерии рода *Leptospirillum*, окисляющего железа, бактерии линии *Elusimicrobia*, широко распространенные в окружающей среде и не связаны с хозяином, хемотрофные бактерии порядков *Thiotrichales*, *Desulfobulbales*, рода *Gallionella*, приспособленные к условиям с низким содержанием кислорода и другие хемолитотрофные виды. Эти таксоны демонстрируют значительную корреляцию с параметрами окружающей среды.

В санитарно-микробиологическом аспекте наибольший интерес представляют *Proteobacteria*. Обнаружение в воде родников генома бактерий *Campylobacteriales* – представители кишечных трактов животных свидетельствуют о значительном загрязнении природных почв выделениями животных, что связано с расширением сельскохозяйственных ферм по разведению крупного и мелкого рогатого скота. Бактерии *Flavobacteria* часто обнаруживаются в природных водах, как правило, их численность коррелирует с количеством органического вещества в воде. Неожиданная находка итальянских авторов касалась генома порядка *Chlamydiales*, бактерии которого являются облигатными внутриклеточными паразитами. Их обнаружение скорее всего связано с обитанием в почве и воде родников их симбионтов из числа представителей простейших [2]. Это же присутствие генома порядка *Chlamydiales* обнаружено в глубоководных отложениях океана [4], что предполагает аналогичную ситуацию и в подземных водах. Таким образом, генетические методы обогащают наши знания об особых видах микроорганизмов, находящихся в составе родниковой воды.

Бесспорным фактом является то, что мониторинг родниковой воды должен включать комплекс физико-химических исследований и санитарно-микробиологической анализ качества воды. Физико-химический анализ

водных источников проводили на основании литературных источников.

Цель работы: исследование состояния воды подземных источников Ленинградской области на основе микробиологических показателей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование водопроводной питьевой воды на соответствие СанПиН, проводили согласно нормативному документу – Методические указания 4.2.1018-01.4.2. «Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды».

Объекты исследования: родники Приозерского района Ленинградской области. 1 – родник пос. Починок; 2 – родник пос. Ромашки; 3 – родник пос. Мельничный ручей. Родники № 1 и 2 обустроены, расположены на небольшой возвышенности. Растительность – ивняк, ольха, березняк, подстилка – брусничник, черничник, другие травы. Родник № 2 расположен на территории фермы в непосредственной близости от федеральной трассы. Родник № 3 – обустроен колонкой, расположен в низине, в лесной полосе. Санитарный контроль родников отсутствует. Обслуживается местными жителями.

Отбор проб воды для микробиологических исследований осуществляли в соответствии с Методическими указаниями (МУК), МУК 4.2.1018-01 в стерильную тару. Перед забором проб фламбировали выход из трубы или колонки. Воду доставляли в микробиологическую лабораторию, с момента отбора проб до проведения анализа проходило не более 2,5 часов.

Определяли в воде общее число мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в 1 мл воды – общее микробное число (ОМЧ), способных образовывать колонии на питательном агаре при температуре 37 °С в течение 24 ч, видимые с увеличением в 2 раза; определяли наличие обобщенных колиформных бактерий в 100 мл воды, наличие сульфитредуцирующих кластридий, определяли наличие бактериофагов. Анализ проводили в двух повторностях, результаты посевов учитывали, суммировали и делили на 2, выражали результат в КОЕ/мл. При обнаружении характерных для санитарно-показательных микроорганизмов, проводили высев на дифференциально-диагностические питательные среды, культивировали при температуре 37 °С в течение 24 ч, микроскопировали выросшие колонии. При необходимости получали чистую культуру и проводили идентификацию до рода.

Анализ проводили в осенне-зимний и весенне-летний периоды 2021–2022 годов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены результаты исследования общего количества микроорганизмов в воде подземных источников, определенного в воде за период 2021–2022 годов по сезонам года.

Наглядное представление результатов на рис. 1. Общее микробное число воды показывает, насколько благоприятны или неблагоприятны условия для жизни микробов. Высокое микробное число свидетельствует об общей бактериологической загрязненности воды и о высокой вероятности наличия патогенных организмов. Внезапное увеличение числа колоний при анализе воды из подземного водоисточника может служить ранним сигналом загрязнения водоносного горизонта и о его неблагоприятном санитарном состоянии, которое способствует размножению микроорганизмов из-за накопления органических веществ или негерметичности, влекущей за собой подсос загрязненных грунтовых вод.

Следует отметить сопоставимость результатов, полученных при анализе родниковой и водопроводной воды г. Санкт-Петербурга, где численность бактерий в зависимости от района исследований варьировала в пределах от 17 ± 4 до 39 ± 4 КОЕ/мл, однако не превышала установленных СанПиНом пределов [5].

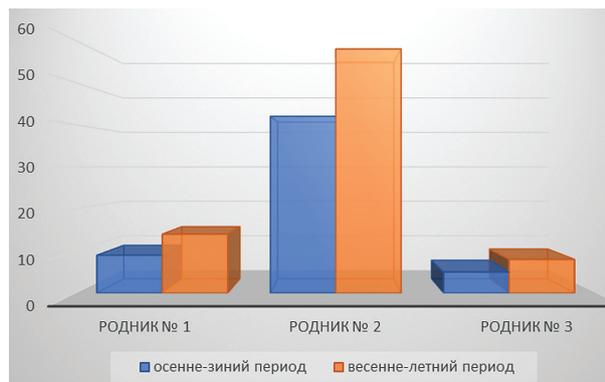


Рис. 1. Сравнение количества микроорганизмов в воде родников Ленинградской области

Fig. 1. Comparison of the number of microorganisms in the water of springs in the Leningrad region

Количество МАФАНМ в воде подземных источников за период 2021–2022 годов

Табл. 1.

The number of MAFAnM in the water of underground sources for the period 2021–2022

Table 1.

Родник	Норматив по СанПиН, не более КОЕ/мл	Сезон отбора проб	МАФАНМ, КОЕ/мл
Родник № 1	Не более 50	Осенне-зимний	9 ± 2
		Весенне-летний	14 ± 3
Родник № 2		Осенне-зимний	42 ± 8
		Весенне-летний	58 ± 14
Родник № 3		Осенне-зимний	5 ± 1
		Весенне-летний	8 ± 1

Наличие ОКБ в воде подземных источников за период 2021–2022 годов

Табл. 2.

The presence of OKB in the water of underground sources for the period 2021–2022

Table 2.

Родник	Норматив по СанПиН	Сезон отбора проб	ОКБ
Родник № 1	отсутствие в 100 мл	Осенне-зимний	Не обн.
		Весенне-летний	Не обн.
Родник № 2		Осенне-зимний	Не обн.
		Весенне-летний	Обнаружено
Родник № 3		Осенне-зимний	Не обн.
		Весенне-летний	Не обн.

Микробиологический состав родниковой воды

Табл. 3.

Microbiological composition of spring water

Table 3.

Название родника	Состав бактерий
Родник № 1	Грам ± палочки
Родник № 2	Грам+-кокки, грам ± палочки
Родник № 3	Грам ± палочки

В наших исследованиях был зафиксирован закономерный рост численности микроорганизмов при переходе от зимнего к весеннему сезону, что связано с увеличением активности всего почвенно-водного сообщества при повышении температуры окружающей среды. Количество микроорганизмов в родниках № 1 и 3 было в пределах нормы, регламентируемой СанПиНом, что свидетельствует о санитарном благополучии родниковой воды и пригодности ее для питьевых нужд. Однако в воде родника № 2 было обнаружено превышение численности микроорганизмов, что связано с расположением родника – он расположен на территории, где содержатся сельскохозяйственные животные и расположен близко к федеральной трассе. Общее загрязнение, сопутствующее федеральной дороге и животноводческим фермам, отражается на качестве родниковой воды.

Анализ воды по показателю обобщенных колиформных бактерий (ОКБ) представлен в табл. 2.

Появление бактерий группы ОКБ свидетельствует о фекальном загрязнении. Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* являются условно-патогенными или патогенными бактериями и могут вызывать серьезные инфекции и пищевые отравления. Обнаружение в родниках обобщенных колиформных бактерий говорит о неблагоприятном состоянии родников в санитарно-эпидемиологическом отношении. В этом случае, на основании обнаружения ОКБ в воде родника № 2 свидетельствует о нарушении фильтрующей способности почвы и попадании опасных микроорганизмов в воду. Пить такую воду без термообработки опасно.

Ни в одном из исследованных родников не были обнаружены сульфитредуцирующие клостридии и бактериофаги. Этот факт, в свою очередь, свидетельствует о том, что загрязнение, выявленное в воде родника № 2, являлось недавним.

В воде исследуемых родников были обнаружены и другие формы микроорганизмов (табл. 3).

Таким образом, в составе морфологических форм были обнаружены грамположительные кокки и грамположительные палочки. Представители данных бактерий могут быть сапротрофными представителями родов *Micrococcus* sp., *Bacillus* sp. – типичными обитателями почв – естественной фильтрующей системы подземных вод.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В современных условиях урбанизации одной из самых актуальных проблем, от решения которой зависит жизнедеятельность человека и других живых организмов, является проблема антропогенного загрязнения. Оценка качества родниковой воды на основе микробиологических показателей – важная задача, поскольку общественный интерес населения к использованию родниковых вод для питьевых нужд по-прежнему высок. При этом качество пресной и подземной воды с каждым годом ухудшается, во многих регионах водопродовная вода обладает неприятным запахом, чаще хлорным или технического происхождения, имеет желтый оттенок, вкусовые качества также оставляют желать лучшего, да и микробное содержание свидетельствует о неблагоприятном состоянии родниковой воды, поэтому население начинает использовать воду подземных источников, зачастую даже не зная, соответствует ли такая вода требованиям, определенным для питьевой воды. Именно поэтому проведенные исследования необходимы и могут лечь в основу для сохранения здоровья населения, а также послужить основой для подбора новых критериев экологического нормирования. В работе были исследованы три популярных среди населения подземных источника Приозерского района Ленинградской области, один родник (пос. Ромашки) не соответствует санитарно-микробиологическим нормативам.

В связи с актуальностью проблемы качества вод подземных источников области и отсутствием региональных мониторинговых мероприятий за состоянием питьевых

вод нецентрализованного водоснабжения, представляется необходимым проведение санитарно-микробиологического, гидрохимического и паразитологического анализа большего числа подземных источников.

Как видно из исследований, показатели СанПиН микробиологического контроля питьевой воды применимы в исследованиях качества подземных, в том числе родниковой воды.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2021 г. №3 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» (с изменениями и дополнениями): «ГАРАНТ»: сайт. – URL: <https://base.garant.ru/400289764/> (дата обращения 11.02.2022)

2. Pedro R. Microbiome characterization of alpine water springs for human consumption reveals site – and usage-specific microbial signatures/ R. Pedro, A. Esposito, W. Cozza [et al] // *Microbial*. – 2020. – 11. – <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.946460>

3. Богданова О. Ю. Оценка качества родниковой воды города Мурманска и его окрестностей на основе химических и микробиологических показателей / О. Ю. Богданова. – Текст: непосредственный // Материалы Международной научно-технической конференции «Наука и образование-2007». – Мурманск: Издательство МГТУ, 2007: сайт. – URL: <https://www.mstu.edu.ru/press/news/18395-mezhdunarodnaya-nauchno-tehnicheskaya-konferentsiya-nauka-i-obrazovanie-2007> (дата обращения: 14.12.2022).

4. Dharamshi J. E. Marine sediments illuminate Chlamydia diversity and evolution. / J. E. Dharamshi, D. Tamarit, L. Eme [et al] // *Curr. Biol*. – 2020. – 30. – P. 1032–1048. – <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.02.016>.

5. Богданова О. Ю. Микробиологический анализ качества водопроводной и фильтрованной воды г. Санкт-Петербурга с учетом современных требований / О. Ю. Богданова, Т. Ф. Черных // *Формулы фармации*. – 2022. – Т. 4, № 1. – С. 70–75. – DOI 10.17816/phf108741.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Богданова Ольга Юрьевна – канд. биол. наук, доцент, доцент кафедры микробиологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета, Санкт-Петербург, Россия, olga.bogdanova@pharminnotech.com

Черных Татьяна Федоровна – д-р фармацевт. наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета, Санкт-Петербург, Россия, odeggova.t@yandex.ru

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 07.12.2022 г., одобрена после рецензирования 16.12.2022 г., принята к публикации 30.12.2022 г.

Microbiological analysis of spring water in the Leningrad region

©2022. Olga Yu. Bogdanova¹, Tatiana F. Chernykh¹

¹Saint Petersburg Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia

Corresponding author: Olga Yu. Bogdanova, olga.bogdanova@pharminnotech.com

ABSTRACT. The article presents the results of microbiological studies of spring water sources of the Priozersky district of the Leningrad region, conducted according to the standards of the new SanPiN. The high interest of the population in the use of spring water as a source of drinking water is noted, an analysis of the modern research of foreign colleagues of spring waters using new molecular-genetic methods is presented. The value of using modern high-tech methods and traditional methods of sanitary-microbiological analysis of spring water is shown. Based on the studies conducted in 2021-2022 in two seasonal periods, a regular increase in the number of mesophilic microorganisms was noted when transitioning from winter to spring-summer, due to an increase in temperature and activation of the biota of soil and water ecosystems. The spring of the village of Romashki was recognized as unsatisfactory in terms of sanitary-microbiological, based on the excess of the norm for the total number of bacteria and the presence in the sample of generalized coliform bacteria. It is noted that the SanPiN recommendations on the quality of drinking water and microbiological control of its quality can be applied to spring and other types of underground water.

KEYWORDS: spring water; drinking water; microbiological assessment; total microbial number; coliform bacteria

REFERENCES

1. Postanovlenie Glavnogo gosudarstvennogo sanitarnogo vracha RF ot 28 janvarja 2021 g. N 3 "Ob utverzhdenii sanitarnyh pravil i norm SanPiN 2.1.3684-21 "Sanitarno-jepidemiologicheskie trebovanija k sodержaniju territorij gorodskih i sel'skih poselenij, k vodnym ob#ektam, pit'evoj vode i pit'evomu vodosnabzheniju, atmosfernomu vozduhu, pochvam, zhilym pomeshhenijam, jekspluatcii proizvodstvennyh, obshhestvennyh pomeshhenij, organizacii i provedeniju sanitarno-protivojepidemicheskikh (profilakticheskikh) meroprijatij" (s izmenenijami i dopolnenijami): "GARANT"; sajt. – URL: <https://base.garant.ru/400289764/> (In Russ.).
2. Pedro R. Microbiome characterization of alpine water springs for human consumption reveals site- and usage-specific microbial signatures/ R. Pedro, A. Esposito, W. Cozza [et al] // *Microbial*. – 2020. – 11. – <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.946460>.
3. Bogdanova O. Ju. Ocenka kachestva rodnikovy vody goroda Murmanska i ego okrestnostej na osnove himicheskikh i mikrobiologicheskikh pokazatelej / O. Ju. Bogdanova. – Tekst: neposredstvennyj//Materialy Mezhdunarodnoj nauchno-tehnicheskoy konferencii "Nauka i obrazovanie-2007". – Murmansk: Izdatel'stvo MGTU, 2007: sajt. – URL: <https://www.mstu.edu.ru/press/news/18395-mezhdunarodnaya-nauchno-tehnicheskaya-konferentsiya-nauka-i-obrazovanie-2007> (In Russ.).
4. Dharamshi J. E. Marine sediments illuminate Chlamydia diversity and evolution. / J. E. Dharamshi, D. Tamarit, L. Eme [et al] // *Curr. Biol*. – 2020. – 30. – P. 1032–1048. – <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.02.016>.
5. Bogdanova O. Yu. Microbiological analysis of the quality of tap and filtered water in St. Petersburg, taking into account modern requirements / O. Yu. Bogdanova, T. F. Chernykh // *Formulas of Pharmacy*. – 2022. – V. 4, No. 1. – S. 70–75. – DOI 10.17816/phf108741. (In Russ.).

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Olga Yu. Bogdanova – Ph.D. in Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, olga.bogdanova@pharminnotech.com

Tatiana F. Chernykh – D.Sc. in Pharmaceutical Sciences, Professor, Professor of the Department of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russia, odegova.t@yandex.ru

The authors declare no conflicts of interests.

The article was submitted December 07, 2022; approved after reviewing December 16, 2022; accepted for publication December 30, 2022.