

5. Учёт сезонности и эпидемиологической обстановки, постоянное совершенствование технологического процесса производства пищевых продуктов в цехе бортового питания ГУП «Аэропорт Якутск» ППК «Аэроторгсер-

вис», а также чётко организованный санитарно-микробиологический контроль за ними позволят в дальнейшем улучшить компонентное качество и безопасность питания лётного состава и авиапассажиров.

Литература

1. Петров В.А. // Основные направления оптимизации судового питания в свете концепции питания XXI века. - Владивосток, 2000. - С.43.

Л.А. Ерофеевская, В.Ф. Чернявский, Н.А. Антонов,
Л.Н. Литвинова

МЕТОДОЛОГИЧЕСКИЙ И МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОДЫ ПРИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ СНЕЖНЫХ ПОКРОВОВ В СЕВЕРНЫХ ШИРОТАХ

Исследование биоразнообразия в экстремальных условиях окружающей среды представляет как теоретический, так и практический интерес. По сложившимся обстоятельствам (общественное мнение и проявление интереса средств массовой информации) проведены отбор и бактериологическое исследование проб снежного покрова г. Якутска и его окрестностей.

Задачи данной работы состояли в выделении штаммов зубактерий из снега антропогенной зоны с последующей идентификацией микроорганизмов на основании биохимических тестов с целью определения безопасности (или опасности) среды обитания городской экосистемы.

В результате в условиях многофакторного антропогенного загрязнения окружающей среды на территории северного мегаполиса впервые диагностирован факт обсеменённости снежного покрова потенциально-патогенными микроорганизмами [3]. Аналогов в современной литературе нет.

Материалы и методы

29.01.07г. специалистами ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РС (Якутия)» и корреспондентом газеты «Якутск вечерний» для микробиологических испытаний были отобраны образцы снежного покрова из 7 экспериментальных точек: тайга Вилюйского тракта, территория городского полигона ТБО, городской парк, пло-

щадь Дворца детства, площадь им. В. И. Ленина, автобусная остановка автовокзала, дворовая площадка сбора ТБО и ЖБО «17 квартал» г. Якутска. С каждой точки исследовано по 3 пробы: верхний слой снега, средний и околочечный.

Отбор проб проводили по ГОСТ 17.1.5.05-85 «Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков».

Бактериологические исследования снежного покрова проведены по схеме системы СГМ объектов окружающей среды, предложенной МНИИГ и утверждённой пр.01-019/143-17,1999 (табл.1).

Перед испытанием пробы снега переводили в талую воду при комнатной температуре в сборных ёмкостях.

Количество мезофильных аэробных и факультативных анаэробных микроорганизмов определяли на микробиологическом экспресс-анализаторе «Вас Трас 4100» австрийской фирмы «SY-LAB», для чего 1 мл исследуемой пробы талого снега вносили в измерительную ячейку с 9 мл среды BiMedia 001A. Для контроля использовали среду без инокулята в количестве 10 мл. Рост микроорганизмов, время определения импеданса и результат определения КОЕ (колониеобразующих единиц) выдавались автоматически в виде количества микроорганизмов в 1 мл талого снега через 24 ч.

Для выделения чистых культур микроорганизмов использовали метод мембранно-вакуумной фильтрации. Для этого пробы талого снега в количестве 10 и 100,0 мл пропускали через мембранные фильтры (0,45 мкм) типа МФ АС – ОС-2 фирмы «Владипор» при помощи вакуумного насоса МВН-0,3х2, ПКФ «Техномастер», г.Владимир. После чего фильтры размещали на повер-

хность подсушенных агаризированных диагностических сред с последующей инкубацией в термостатах при температуре 24, 37 и 42° С в течение 24-48 ч (табл.2). Для испытаний использовали энтерококкагар (ЭКА), кровяной агар (КА), железо-сульфитную среду (ЖСС), молочно-желточно-солевой агар (МЖСА), мясо-пептонный агар (МПА), среду Сабура, ГРМ агар №1, среды Эндо и Плоскирева, висмут-сульфит агар (ВСА).

Психрофильные микроорганизмы выделяли, используя метод накопительных культур. Полученную культуральную жидкость рассеивали истощением на агаризированную питательную среду для получения отдельных колоний. Инкубировали засеянные чашки при температуре 4-6°С в камере бытового холодильника.

Помимо этого пробы талого снега в количестве 1,0 и 0,1 мл засеивали нативно, втирая инокулят стерильными стеклянными шпателями в поверхность перечисленных выше питательных сред.

Колонии, появившиеся на поверхности агаризированных сред, исследовали на ферментативную активность (табл.3) и устойчивость к антибиотикам стандартными методами [1,2].

Результаты и обсуждение

Титр жизнеспособных микробных клеток методом импеданса составил от 1,4 до 123,2 КОЕ/мл талого снега. При высеве проб на агаризированные питательные среды этот же показатель составлял значительно меньшие значения 0-45,0 КОЕ/мл.

Доминирующими видами в испытуемых образцах снежного покрова антропогенной зоны г. Якутска являются психрофильные микроорганизмы рода *Pseudomonas* и *Acinetobacter* (50%), а также энтеробактерии рода *Klebsiella*

ЕРОФЕЕВСКАЯ Лариса Анатольевна – врач-бактериолог 2-й квалиф. категории ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РС(Я)»; **ЧЕРНЯВСКИЙ Виктор Федорович** – к.м.н., врач-эпидемиолог высшей квалиф. категории; **АНТОНОВ Нюргун Анатольевич** – студент-стажер ЯГУ; **ЛИТВИНОВА Людмила Николаевна** – врач-бактериолог высшей квалиф. категории ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РС(Я)».

Таблица 1

Схема исследования снежного покрова г.Якутска, 2007г.

Проба – 0,1; 1,0; 10,0; 100,0 г.

1) ЛПС - 37°С - 24-48 ч (титрационный метод)		МПБ - 37°С - 24-48 ч		Сах.б-н - 37°С - 24ч		
2) Эндо - 37°С - 24 ч,		Эндо 42°С - 24 ч	Эндо 37°С - 24 ч	МЖСА 37°С - 24-48 ч	КА 37°С - 24 ч	
КА - 37°С - 24 ч (метод мембранной фильтрации)		Бактерии вида Pseudomonas aeruginosa	Бактерии рода Klebsiella	37°С - 24-48 ч Стафилококки	Стафилококки Стрептококки Бактерии рода Aeromonas и др., не дающих роста на средах Эндо и МЖСА	
ЛКП (лактозоположительные кишечные палочки) Оксидазный тест, микроскопия ЛПС 37° С 24 ч				Идентификация согласно действующим инструкциям при сопоставлении резуль- татов роста бактерий на других средах. Повторная идентификация согласно действующим инструкциям.		
Газообразованный рост ЛКП ФКП						
МПБ-37°С - 48 ч		Среда Кесслер-37°С - 24ч				
ЭКА-37°С - 24-48 ч		Висмут-сульфит агар, среда Плоскирева 37°С - 24-48 ч		МЖСА 37°С - 24-48 ч		
Каталазный тест, микроскопия Бактерии видов: Streptococcus fecalis. Str. fecalis Var. liquefaciens Str faecium var durans		Бактерии родов Salmonella, Shigella Бактерии родов Acinetobacter , Moraxella и др., неферментирующие грамотрицательные бактерии. Тесты идентификации, согласно действующим инструкциям (табл.4).		Бактерии родов Staphylococcus		

(40,6%). Микроскопия колоний показала, что ни в одной культуре клебсиелл капсулы не обнаружены.

Кроме того, в незначительных количествах, выделены энтеробактерии рода *Citrobacter* и *E.coli* (4,5%), гемолизирующий энтерококк вида *E.faecalis* (4,8%) и микроскопические грибы рода *Aspergillus* (0,1%). Всего выделено 32 штамма.

Патогенная и спорообразующая микрофлора во всех исследуемых пробах не выделены (табл.3).

В снежном покрове тайги Вилюйского тракта бактерии не обнаружены.

Самой неблагоприятной территорией города, с микробиологических позиций, является 17-й квартал. Здесь на 1г снежного покрова приходится 123 бактериальных клетки. На полигоне этот же показатель равен 12. Следовательно, в жилой зоне уровень загрязнения снега в 10 раз выше, чем на свалке с отходами.

Неблагополучие указанного микрорайона связано со слаборазвитой коммуникационной системой квартала. Во дворах, вблизи жилых домов, находятся выгребные ямы и уличные туалеты. Отсутствие канализационной системы приводит к тому, что жители домов выносят жидкие отходы, в том числе и фекальные, к мусоросборникам, либо выливают их вблизи выгребных ям, что приводит к растека-

Таблица 2

Условия культивирования микроорганизмов при бактериологическом исследовании снежного покрова. г.Якутск, 2007

Группа микроорганизмов	Питательная среда	Инкубация
ОМЧ	МПА	30°C – 72 ч
КМАФАн М	BiMedia 001A	30°C – 24 ч
БГКП	Эндо, Плоскирева	37°C – 24 ч
Сальмонеллы	БСА	37°C – 48 ч
Стафилококки	МЖСА, КА	37°C – 24-48 ч
Термофильные бактерии	Кит-Тароци	55°C – 48 ч
Энтерококки	ЭКА, КА	37°C – 24-72 ч
Дрожжи, плесени	Сабуро	24°C – 5 сут
Клостридии	ЖСС	37°C – 72 ч
Бациллы	ГРМ №1	30°C – 48 ч
Психрофиллы	МПА	4-6°C – 1-2 нед.

нию отходов на большие площади, в результате дворы затоплены фекалиями по вине самих же жителей. Фактом нарушения уличной санитарии служит обнаружение в исследуемых пробах энтерококков и лактозоположительных эшерихий, говорящих о фекальном загрязнении экспериментальных точек.

Выводы:

1. В условиях многофакторного антропогенного загрязнения окружающей среды на территории северного мегаполиса впервые (прецедент-результат) диагностирован факт обсеменённости снежного покрова потенциально-патогенными микроорганизмами.

2. В ходе выполнения работы обозначились точки, характеризующие со-

стояние загрязнения окружающей среды и источники загрязнения.

3. Результаты экспериментального исследования показали, что в снежном покрове северного мегаполиса присутствуют по крайней мере 3 группы микроорганизмов.

I - неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ) рода *Pseudomonas* и *Acinetobacter*.

II - энтеробактерии рода *Klebsiella*, *Citrobacter* и *E.coli*.

III – гемолизирующие энтерококки вида *E.faecalis*.

4. Длительный низкотемпературный стресс не оказывает фатального воздействия на природные микробные сообщества, но способствует их адаптации и выживанию.

Таблица 3

Результаты бактериологического исследования снежного покрова г.Якутска, 2007

№ пробы	Точка отбора	Слой снежного покрова	ОМЧ КОЕ/ мл талого снега	Выделенная микрофлора в 100 г снежного покрова
I-1	Вилуйский тракт (тайга) 1,5 км выше полигона ТБО	Поверхностный	0	Микрофлора не выделена
2		Средний	0	Микрофлора не выделена
3		Приземный	0	Микрофлора не выделена
II-1	Территория полигона ТБО	Поверхностный	12,7	Klebsiella rhinoscleromatis, Citrobacter diversus, НГ ОБ
2		Средний	11,4	Klebsiella rhinoscleromatis, НГ ОБ
3		Приземный	3,8	Klebsiella rhinoscleromatis, Citrobacter diversus, НГ ОБ
III-1	Городской парк	Поверхностный	49,3	Klebsiella rhinoscleromatis, НГ ОБ
2		Средний	5,4	Klebsiella rhinoscleromatis, НГ ОБ
3		Приземный	4	НГ ОБ
IV-1	Площадь Дворца детства, ул.Кирова	Поверхностный	0	Klebsiella rhinoscleromatis
2		Средний	0	Микрофлора не выделена
3		Приземный	0	Микрофлора не выделена
V-1	Площадь им. В.И. Ленина	Поверхностный	0	Klebsiella pneumoniae
2		Средний	0	Микрофлора не выделена
3		Приземный	0	Микрофлора не выделена
VI-1	Автовокзал, автобусная остановка	Поверхностный	25,6	Klebsiella rhinoscleromatis
2		Средний	6,6	НГ ОБ
3		Приземный	1,4	НГ ОБ
VII-1	Дворовая (квартальная) площадка сбора ТБО и ЖБО (17 квартал)	Поверхностный	123,2	Klebsiella pneumoniae, Streptococcus faecalis, ЛКП
2		Средний	120,0	Klebsiella pneumoniae, Streptococcus faecalis
3		Приземный	104,1	Klebsiella pneumoniae, Streptococcus faecalis, Микроскопические грибы

Таблица 4

Идентификация выделенных культур при микробиологическом исследовании снежного покрова, г. Якутск, 2007

Ферментативные свойства выделенных культур микроорганизмов.	Citrobacter diversus	Escherichia coli	Klebsiella pneumoniae Sp. Pn.	Klebsiella Pn.Sp.Rhino scleromatis	Enterococcus faecalis	Pseudomonas alcaligenes	Pseudomonas aeruginosa	Acinetobacter calcoaceticum
Цитрат натрия	+	-	+	-	-	-	-	-
Малонат натрия	+	-	+	+	-	-	-	+
Лизин	-	+	+	-	-	-	-	-
Аргинин	-	-	-	-	-	-	-	-
Орнитин	+	+	-	-	-	-	-	-
Фенилаланин	-	-	-	-	-	-	-	-
Индол	+	+	-	-	-	-	-	-
Ацетилметил	-	-	+	-	-	-	-	-
Уреаза	+	-	+	-	-	+	+	-
Сероводород	-	-	-	-	-	-	-	-
Глюкоза	+	+	+	+	+	-	-	-
β-галактоза	+	+	+	-	-	-	-	-
Лактоза	+	+	+	-	-	-	-	-
Манит	+	+	+	+	+	-	-	-
Сахароза	-	+	+	+	+	-	-	-
Инозит	-	-	+	+	+	-	-	-
Сорбит	+	+	+	+	-	-	-	-
Рост при 42°C	-	+	-	-	+	-	+	+
Арабиноза	+	+	+	+	-	+	+	-
Мальтоза	+	+	+	+	-	-	-	-
Подвижность	+	+	-	-	-	+	+	-
Оксидаза	-	-	-	-	+	+	+	-
OF- окисление	+	+	+	+	-	+	+	-
Желатиназа	-	-	-	-	+	+	+	+
Каталаза	-	-	-	-	-	+	+	+
Гемолиз эритроцитов	-	-	-	-	+	+	+	+
Окраска по граму	Грам « - » палочки	Грам « - » палочки	Грам « - » палочки	Грам « - » палочки	Грам « + » парные кокки	Грам « - » палочки	Грам « - » палочки	Грам « - » утолщённые палочки

5. С научно-практических подходов, необходимы дальнейшее изучение и оценка фактологического потенциала санитарно-гигиенической значимости и эпидемиологической опасности снежных покровов в антропогенных северных широтах с разнообразным микробиологическим пейзажем.

В случае продолжения работ по микробиологическому мониторингу снежного покрова необходимо обеспечить:

- более широкий охват отдалённых районов с использованием специальных транспортных средств;
- равномерную сетку отбора с учётом известных и неизвестных источников загрязнения;
- утверждение перечня определяемых микробиологических показателей;
- разработку МР по микробиологическому исследованию снежных покровов в северных широтах.

Литература

1. Герхард Ф. Методы общей бактериологии / Ф. Герхард и [др.]. - М.: Мир, 1983.
2. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / О.К. Поздеев. - М.: ГЭОТАР-МЕД, 2001.
3. Чернявский В.Ф. Микробная контаминация снежного покрова северного мегаполиса как возможная эпидемиологическая компонента воды открытых водоёмов / В.Ф. Чернявский [и др.] // Тез. докл. III всероссийского форума «Здоровье нации – основа процветания России». - М., 2007. - Т.2, ч.1.