

ВСЕРОССИЙСКИЙ КОНКУРС ЮНЫХ ИССЛЕДОВАТЕЛЕЙ  
ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ  
«ОТКРЫТИЯ 2030»

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ВОДЫ ОЗЕР  
ГОРОДА ЧЕЛЯБИНСКА**

**(номинация «Микология, лихенология, альгология, микробиология и  
вирусология»)**

Автор:

**Кинжабаева Эмилия Рустамовна,**  
Челябинская область, г. Челябинск  
МАОУ «Лицей №102 г. Челябинска»,  
МБУДО «ЦДЭ г. Челябинска»,  
11 класс

**Педагог - руководитель:**

Баркан Ольга Юрьевна,  
учитель биологии высшей категории  
МАОУ «Лицей №102 г. Челябинска»,  
преподаватель дополнительного  
образования МБУДО «ЦДЭ  
г. Челябинска»

**Научный консультант:**

Андреева Светлана Владимировна,  
ассистент кафедры микробиологии,  
иммунологии и общей биологии  
Биологического факультета ФГБОУ ВО  
«ЧелГУ», к.б.н.

Челябинск, 2020 г.

## Оглавление:

Введение	3
1. Значение микробиологического анализа воды поверхностных водоёмов	4
2. Микробиологические показатели качества воды открытых водоёмов	4
2.1. Определение числа сапрофитных микроорганизмов	5
2.2. Определение числа общих колиформных бактерий	5
2.3. Определение количества сульфитредуцирующих клостридий	5
2.4. Ротавирусы и энтеровирусы	6
3. Особенности исследованных водоёмов	6
4. Собственные исследования	7
4.1. Материалы и методы исследования	7
4.2. Результаты исследования	8
Выводы	9
Заключение	9
Список литературы	10
Приложения	11

## Введение

Большинство открытых водоёмов, находящихся вблизи города Челябинска, подвергается сильнейшему антропогенно-промышленному воздействию. Деятельность предприятий, размещенных в прибрежной зоне, и сброс сточных канализационных отходов приводит к химическому и микробиологическому загрязнению озёр.

Патогенные микроорганизмы, попадающие в водоём, могут быть причиной роста заболеваемости кишечными инфекциями, причём эпидемические вспышки могут возникать не только при непосредственном использовании для питья загрязненной воды, но и при косвенном ее участии, то есть при мытье ею посуды и рук, а также в летний период во время купания при заглатывании воды. Как правило, в летний сезон, купание в озере приводит к подъему заболеваемости кишечными инфекциями, так как жаркая погода способствует созданию благоприятных условий для сохранения и размножения возбудителей кишечных инфекций в окружающей среде [4]. Исходя из вышесказанного, весьма актуальным является проведение комплексного микробиологического исследования воды озера г. Челябинска для разработки эффективных мер борьбы с антропогенно-промышленным загрязнением.

Целью данной работы является проведение комплексного микробиологического исследования воды озёр Смолино и Первое, Шершнёвское водохранилище и Большой Кисегач.

Задачи исследования:

1. Определить общее количество микроорганизмов в воде указанных водоёмов.
2. Выявить наличие микробиологических показателей свежего и давнего фекального загрязнения озёрной воды и наличие в воде патогенов человека и животных.
3. Сравнить микробиологические показатели качества воды озёр, расположенных вблизи Челябинска и озера Большой Кисегач, находящегося в 90 км от Челябинска.

Гипотеза исследования – микробиологический состав воды открытых водоёмов, расположенных в непосредственной близости от города может не соответствовать санитарным нормам и представлять эпидемическую опасность в летний период.

Предмет исследования — микробиологические показатели качества воды с пляжей озёр Смолино и Первое, Шершнёвского водохранилища и озера Большой Кисегач.

Объект исследования — вода с пляжей озёр.

Методы исследования: глубинный бактериологический метод посева на питательные среды; метод мембранных фильтров; иммерсионная микроскопия препаратов, окрашенных методом Грама, иммунохроматографический анализ для определения ротавирусов и энтеровирусов.

## **1. Значение микробиологического анализа воды поверхностных водоёмов**

В воде различных водоёмов всегда содержится значительное количество микроорганизмов. Наряду с постоянными обитателями – микроорганизмами-сапрофитами – в загрязненной воде могут длительно выживать и размножаться различные патогенные микроорганизмы, особенно возбудители кишечных заболеваний – тифа, паратифа, дизентерии, холеры и других. Роль водного фактора в распространении инфекций огромна, поскольку вода используется человеком для самых различных целей. Для водных эпидемий характерен быстрый рост заболеваемости среди населения, использующего воду из одного водоема.

Попадание возбудителей инфекции в воду возможно различными путями: при спуске в поверхностные водоёмы неочищенных сточных вод; при осуществлении хозяйственной деятельности человека; при различных аварийных ситуациях на водопроводных и канализационных сетях; при паводках, наводнениях; с выделениями теплокровных животных, при водопое скота, смывании нечистот с поверхности почвы атмосферными осадками. В связи с этим вода хозяйственно-питьевого назначения подлежит строгому санитарно-микробиологическому контролю. Для предупреждения передачи инфекции среди людей и во избежание эпидемий важно знать уровень микробиологического загрязнения водоёма [2, 4].

В Челябинской области в летний период зарегистрировано 1237 случаев заболеваний острыми кишечными инфекциями. Как сообщили в пресс-службе Роспотребнадзора по Челябинской области, при исследованиях воды из озера Смолино в створе переулка Дачный в поселке Смолино обнаружено вирусное загрязнение, что могло служить причиной заболеваний острой кишечной инфекцией при купании в водоеме. В результате летом 2016 г. были официально закрыты многие пляжи озера Смолино.

## **2. Микробиологические показатели качества воды открытых водоёмов**

О безопасности воды в эпидемиологическом отношении судят по результатам ее санитарно-бактериологического исследования. Непосредственное обнаружение в воде возбудителей инфекционных заболеваний является затруднительным, потому что методы выделения патогенных микроорганизмов, сложны и не позволяют в короткий срок дать заключение об эпидемиологической характеристике воды. Поэтому санитарно-бактериологическая оценка производится по косвенным показателям, которыми являются общее микробное число (ОМЧ), общие колиформные бактерии (ОКБ), термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ), споры сульфитредуцирующих клостридий [2, 3, 4].

## **2.1. Определение числа сапрофитных микроорганизмов**

К сапрофитным микроорганизмам, населяющим водоёмы, относятся мезофильные аэробные и факультативно анаэробные микроорганизмы, способные на мясопептонном агаре образовывать видимые колонии. Количество таких колоний соответствует степени загрязнения воды органическими веществами и в санитарной микробиологии этот показатель обозначают как общее микробное число (ОМЧ) или количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ).

При температуре 20 °С вырастает большое количество сапрофитов, являющихся наиболее активными участниками процесса самоочищения водоёма. Высокое ОМЧ (КМАФАнМ) при 37 °С служит индикатором возможного присутствия патогенных микроорганизмов. В местах большого загрязнения сточными водами численное значение обеих групп сапрофитов близко. Таким образом, ОМЧ (КМАФАнМ) позволяет оценить общую микробную обсемененность водного объекта и является существенным косвенным показателем санитарного состояния воды, следовательно, увеличение этого показателя свидетельствует о загрязнении водоёма органическими веществами и о возможном присутствии в воде патогенов [3].

## **2.2. Определение числа общих колиформных бактерий**

Общие колиформные бактерии (ОКБ) в том числе бактерии группы кишечной палочки (БГКП) — это грамотрицательные, не образующие спор палочки. Представители данной группы являются микроорганизмами нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека и животных, поэтому превышение количества этих микроорганизмов в воде может говорить о свежем фекальном загрязнении воды и эпидемической опасности в отношении кишечных инфекций.

Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) входят в число общих колиформных бактерий, обладают всеми их признаками но, кроме того, способны ферментировать лактозу до кислоты и газа при температуре 44° С в течение 24 часов. ТКБ, как и ОКБ являются индикаторной группой, однако более устойчивые в окружающей среде: вот почему обнаружение данной группы микроорганизмов в воде может говорить об однозначном ее загрязнении продуктами жизнедеятельности человека [2, 3].

## **2.3. Определение количества сульфитредуцирующих клостридий**

Клостридии – грамположительных спорообразующих анаэробных палочковидных бактерий. Эти микроорганизмы обладают свойством восстанавливать сульфиты до сульфидов, что используется при их идентификации. Считается, что способностью редуцировать сульфиты обладают только споровые анаэробы кишечного происхождения. Клостридии широко распространены в природе и являются нормальными обитателями

желудочно-кишечного тракта человека и млекопитающих. Наряду с кишечной палочкой их рассматривают как санитарно-показательные бактерии но, они более устойчивы, чем не образующие спор бактерии типа кишечной палочки, поэтому служат показателями давнего фекального загрязнения объектов внешней среды [3].

#### **2.4. Ротавирусы и энтеровирусы**

Ротавирусы являются РНК-содержащими вирусами и вызывают у человека ротавирусный гастроэнтерит. Источник инфекции - больные или вирусоносители, выделяющие ротавирусы с калом. Основной путь передачи инфекции – водный, возможны пищевой и контактно-бытовой. В воду ротавирусы, как правило, попадают при фекальном загрязнении водоёма. Ротавирусы вызывают гастроэнтериты, главным образом у детей, являются причиной смерти около 1 млн людей. Размножаются в эпителиоцитах двенадцатиперстной кишки, вызывая их гибель.

Энтеровирусы — род вирусов из семейства пикорнавирусов. Название связано с их репродукцией в желудочно-кишечном тракте, однако энтерит они вызывают редко. В воду попадают из кала больных или носителей. Более 90 % инфекций, вызванных вирусом полиомиелита, и более 50 % остальных энтеровирусных инфекций протекают скрытно: чаще всего в виде лихорадки, воспаления верхних дыхательных путей, энтеритов [4].

### **3. Особенности исследованных водоёмов**

Озеро Смолино – это естественный водоем, расположенный на территории Ленинского и Советского районов Челябинска, который обладал высокой природной соленостью (минерализация составляла 9,1 г/л). В настоящее время, несмотря на то, что на озере располагается несколько официальных городских пляжей, оно подвергается сильнейшему антропогенно-промышленному воздействию. Под влиянием многолетнего сброса сточных вод различных производств и стока с асфальтированных территорий озеро распреснилось до 1,7 — 1,8 г/л. С 30-х годов XX века площадь озера увеличилась в 2 раза. Со сточными водами в озеро попадают различные загрязнители: органические вещества, нефтепродукты, тяжёлые металлы, содержание которых в воде превышает предельно-допустимые концентрации в 3—8 раз.

Первое — озеро на восточной окраине Челябинска. В естественном состоянии озеро имело незначительные размеры, было солёным, в засушливые годы высыхало до дна. В 1930-е годы в Первое начали сбрасывать промышленные стоки. Сейчас озеро принимает стоки ЧТЗ, челябинской ТЭЦ-2, завода ЖБИ и завода шлифовальных изделий; оно используется как доразбавитель недостаточно очищенных стоков. Доля сточных вод в водном балансе достигает 86% [1]. Однако, несмотря на такой высокий уровень загрязнения многие жители Челябинска купаются в этом

водоёме. Так в 2006 году порядка 80 челябинцев обратились в кожно-венерологический диспансер с симптомами аллергического дерматита после купания в озере Первое.

Шершнёвское водохранилище (кр. Шершни) — искусственный водоём, созданный в 1963—1969 годах на реке Миасс. Шершнёвское водохранилище используется как основной источник водоснабжения города Челябинска, а также его городов-спутников: Копейска, Коркино, Еманжелинска. Восточный берег (в особенности, его северная часть, граничащая с Городским бором) используется как место массового отдыха горожан. Вдоль берегов водохранилища расположено в общей сложности 8 коллективных садов. Вокруг водохранилища на расстоянии от 50 до 200 м проложена местами асфальтированная, но, в основном, грунтовая дорога. На берегах водохранилища ведётся застройка индивидуальных жилых домов, зачастую без центральной канализации и индивидуальной системы очистки (кроме реки Серазак обнаружено 15 несанкционированных мест сбросов стоков различного происхождения) [5].

Большой Кисегач — озеро в Чебаркульском районе Челябинской области России, расположено в 90 км от Челябинска. Озеро является памятником природы, а его западный берег — границей Ильменского заповедника. Возраст озера оценивается не менее 13 тысяч лет. В настоящее время озеро претерпевает сильнейшую экологическую катастрофу! В связи с застройкой между озерами, связанными с Кисегачом, была разрушена система перетоков – каналов, которыми была связана вся местная водная система. Кисегач обмелел более чем значительно: глубина озера уменьшилась на 2 метра, а вода отступила от берегов на 100 метров.

## **4. Собственные исследования**

### **4.1. Материалы и методы исследования**

Исследование проводилось в учебной лаборатории микробиологии и иммунологии биологического факультета Челябинского государственного университета на базе бактериологической лаборатории ГКБ № 6 с 2016 по 2019 годы. Эксперименты по определению патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в воде проводили совместно со студентами биологического факультета под контролем научного руководителя.

Был проведен микробиологический анализ образцов воды с трёх пляжей озера Смолино: «Солнечный берег», «Путинский пляж» и «Дикий пляж»; с пляжа на озере Первое, с городского пляжа Шершнёвского водохранилища и с пляжа профилактория Утёс на озере Большой Кисегач. С каждого пляжа забирали по 3 образца воды с разных глубин. Отбор проб и пробоподготовка осуществлялась согласно нормативным документам [3,6,7]. Отбор проб проводили с соблюдением правил асептики, доставку проб в лабораторию осуществляли не позднее 3 часов с момента забора в сумках – холодильниках. В ходе микробиологического анализа определяли общее микробное число (ОМЧ); показатели свежего фекального загрязнения –

бактерии группы кишечной палочки (БГКП): общие колиформные бактерии (ОКБ) и термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ); показатели давнего фекального загрязнения – сульфитредуцирующие клостридии (СРК); патогенные бактерии, в том числе сальмонеллы, шигеллы, золотистый стафилококк, вибрионы, ротавирусы и энтеровирусы. Схема исследования воды представлена в приложении А, рис. 1.

Концентрацию проб воды для определения ОКБ и ТКБ проводили методом мембранных фильтров (приложение А, рис.2). Для определения ОМЧ, патогенных бактерий, золотистого стафилококка и СРК образцы воды засеивали на питательные среды методом глубинного посева. Определение наличия ротавирусов и энтеровирусов проводили методом иммунохроматографического анализа (приложение А, рис.3). Работу проводили в асептических условиях: работали в стерильном боксе, в стерильном одноразовом халате, маске, шапочке, перчатках; в учебной комнате предварительно была проведена обработка рабочих поверхностей, включена бактерицидная лампа [3]. Перечень нормативных документов, использованных для комплексного микробиологического исследования воды озера Смолино, представлен в приложении Б, таблице 1. Статистическая обработка: определяли средние значения количества микроорганизмов на каждой точке отбора и 95% доверительные интервалы (ДИ). Если ДИ не перекрывались – различия между группами считали достоверными. Расчёты и графические построения выполнены в программных пакетах PAST и Microsoft Excel. Полученные данные сравнивали с нормативами [8, 9].

## **4.2. Результаты исследования**

Результаты микробиологического исследования воды исследованных водоёмов представлены в приложении В (рис. 1-3). Во всех исследованных пробах из озёр, находящихся вблизи Челябинска (Смолино, Первое, Шершни) было выявлено превышение ОМЧ. Наибольшее отклонение от нормы было выявлено в пробах воды на озере Смолино. Значительное превышение ОМЧ свидетельствует о сильном загрязнении водоёмов органическими веществами и о возможном присутствии в воде патогенов. В озере Большой Кисегач показатель ОМЧ был в пределах нормы.

На всех точках отбора проб в озёрах, находящихся вблизи Челябинска, было выявлено высокое количество ОКБ и ТКБ. Представители данной группы являются микроорганизмами нормальной микробиоты желудочно-кишечного тракта человека и животных, поэтому превышение этих микроорганизмов в воде может говорить о свежем фекальном загрязнении воды и эпидемической опасности в отношении кишечных инфекций. Наибольшее количество БГКП было выявлено в воде озера Смолино. В воде Большого Кисегача ОКБ и ТКБ не обнаружены.

В воде всех исследованных пляжей озёр, находящихся вблизи Челябинска, были выявлены споры СРК, обнаружение которых в воде

свидетельствует о давнем фекальном загрязнении водоемов. В воде озера Большой Кисегач СРК не обнаружены.

Патогенные микроорганизмы (в том числе сальмонеллы, шигеллы, золотистый стафилококк, вибрионы, рота - и энтеровирусы) в исследованных пробах воды всех исследованных водоёмов не выявлены, однако высокая контаминация водоёмов, находящихся вблизи Челябинска, фекалиями потенциально может привести к появлению в воде и патогенных микроорганизмов, что особенно опасно в летний период.

### **Выводы**

1. В пробах воды из озёр Смолино, Первое и Шершнёвского водохранилища было превышено общее количество микроорганизмов, а в воде озера Большой Кисегач этот показатель в пределах нормы.

2. В воде водоёмов, находящихся вблизи Челябинска, выявлено превышение количества показателей свежего и давнего фекального загрязнения. Патогенных микроорганизмов во всех исследованных пробах воды не выявлено.

3. Микробиологические показатели качества озёрной воды соответствуют норме только в озере Большой Кисегач, находящемся в 90 км от Челябинска.

### **Заключение**

Нами было проведено комплексное микробиологическое исследование воды с разных глубин озёр, находящихся в непосредственной близости от Челябинска (Смолино, Первое, Шершни) и озера Большой Кисегач, расположенного в 90 км от Челябинска. В результате проведенного исследования оказалось, что все исследованные пробы воды озёр, находящихся вблизи Челябинска с 2016 по 2019 год не соответствовали микробиологическим нормам. На всех исследованных точках отбора проб стабильно выявляли высокое ОМЧ, что свидетельствует о большом количестве органических веществ в воде. Во всех исследованных пробах воды из озёр Смолино, Первое, Шершни было обнаружено большое количество показателей свежего и давнего фекального загрязнения. Патогенных микроорганизмов и ротавирусов в озёрной воде мы не выявили, но высокая контаминация водоёмов фекалиями потенциально может привести к появлению в воде и патогенных микроорганизмов. Самым «чистым» по микробиологическим показателям было озеро Большой Кисегач, не смотря на то, что в настоящее время это озеро стремительно пересыхает.

## Список литературы

1. Боже, В.С. Челябинск: Энциклопедия / В.С. Боже, В. А. Черноземцев. Челябинск: Каменный пояс, 2001. — 1112 с.
2. Емцев, В.Т. Микробиология: учебник для вузов / В.Т. Емцев, Е.Н. Мишустин. – М.: Юрайт, 2014. – 368 с.
3. Инешина, Е.Г. Методические указания к лабораторному практикуму по санитарной микробиологии / Инешина Е.Г., Гомбоева С.В. – Улан-Удэ: Изд. ВСГТУ, 2006. – 88 с.
4. Покровский, В.И. Инфекционные болезни и эпидемиология: учебник для вузов / В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин – М.: ГЭОТАР медиа, 2013. – 816 с.
5. Ходоровская, Н.И. Роль водоохранной зоны в защите поверхностных водоемов от загрязнения и истощения / Н.И. Ходоровская, С.Г. Ницкая, И.В. Машкова. – ЮУрГУ, г. Челябинск, Россия. – 70 с.
6. ГОСТ 18963-73 Вода питьевая. Методы санитарно-бактериологического анализа [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://gostexpert.ru/gost/gost-18963-73>
7. МУК 4.2.1884-04 Санитарно-микробиологический и санитарно-паразитологический анализ воды поверхностных водных объектов [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200039680>
8. СанПиН 2.1.4.544-96. Питьевая вода и водоснабжение населенных мест требования к качеству воды нецентрализованного водоснабжения. Санитарная охрана источников санитарные правила и нормы [Электронный ресурс] – Режим доступа: [https://dnaop.com/html/30064/doc%D0%A1%D0%B0%D0%BD%D0%9F%D0%B8%D0%9D\\_2.1.4.544-96](https://dnaop.com/html/30064/doc%D0%A1%D0%B0%D0%BD%D0%9F%D0%B8%D0%9D_2.1.4.544-96)
9. СанПиН 2.1.5.980-00 Гигиенические требования к охране поверхностных вод [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200006938>

## ПРИЛОЖЕНИЕ А



Рисунок 1. Схема микробиологического исследования воды

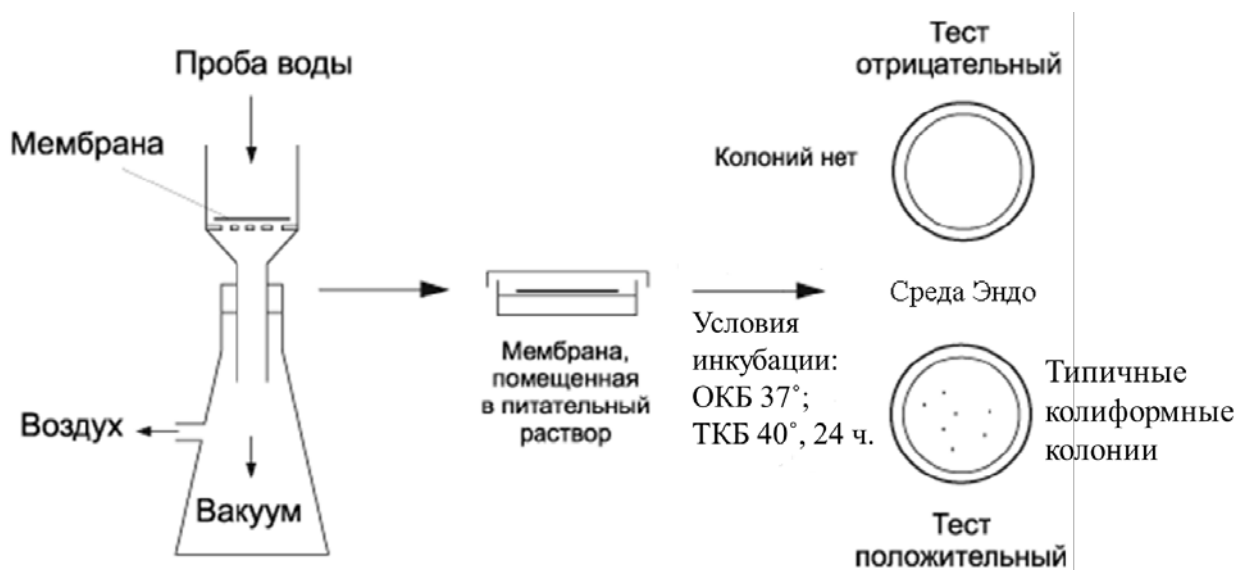


Рисунок 2. Схема метода мембранной фильтрации

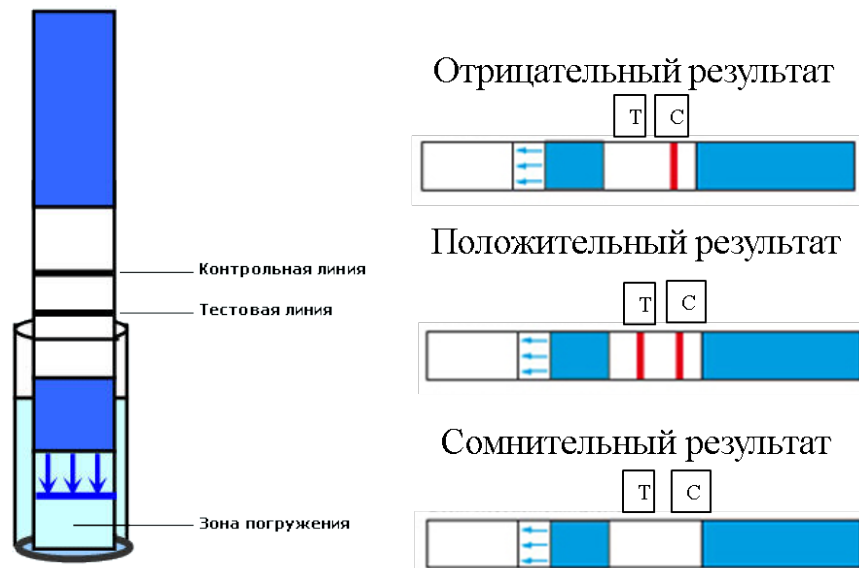


Рисунок 3. Техника выполнения ИХА

Перечень нормативных документов, использованных для комплексного  
микробиологического исследования воды озёр

Определяемые микробиологические показатели	Нормативный документ, регламентирующий исследование
Количество мезофильных аэробных и факультативно – аэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)	ГОСТ 10444.15 – 94
Бактерии группы кишечной палочки (БГКП)	ГОСТ Р 52816 – 2007; МУК 4.2.1884-04
Сульфитредуцирующие клостридии	ГОСТ 29185-91
Парагемолитические вибрионы	МУК 4.2.2046 – 06
Бактерии рода <i>Salmonella</i>	ГОСТ Р 52814 – 2007; МУК 4.2.1884-04
Бактерии рода <i>Proteus</i>	ГОСТ 28560 – 90
<i>Staphylococcus aureus</i>	ГОСТ 10444.2 – 94
Вирусы	МУК 4.2.2029-05

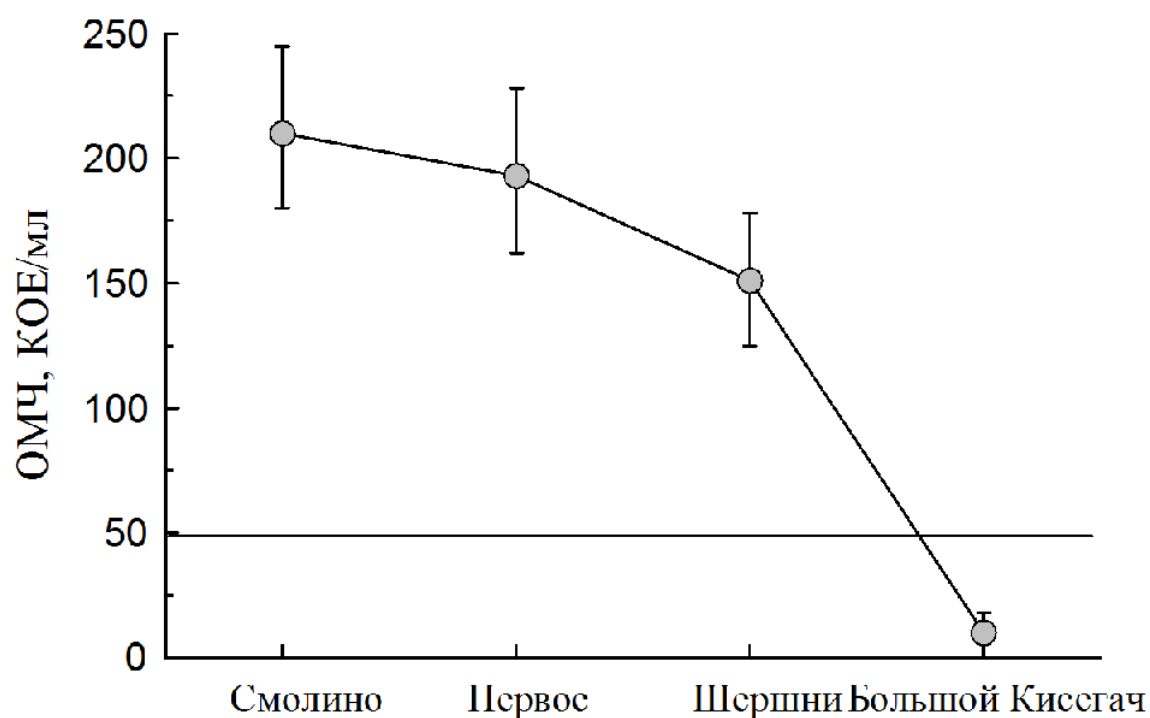


Рисунок 1 Общее количество микроорганизмов в воде озёр

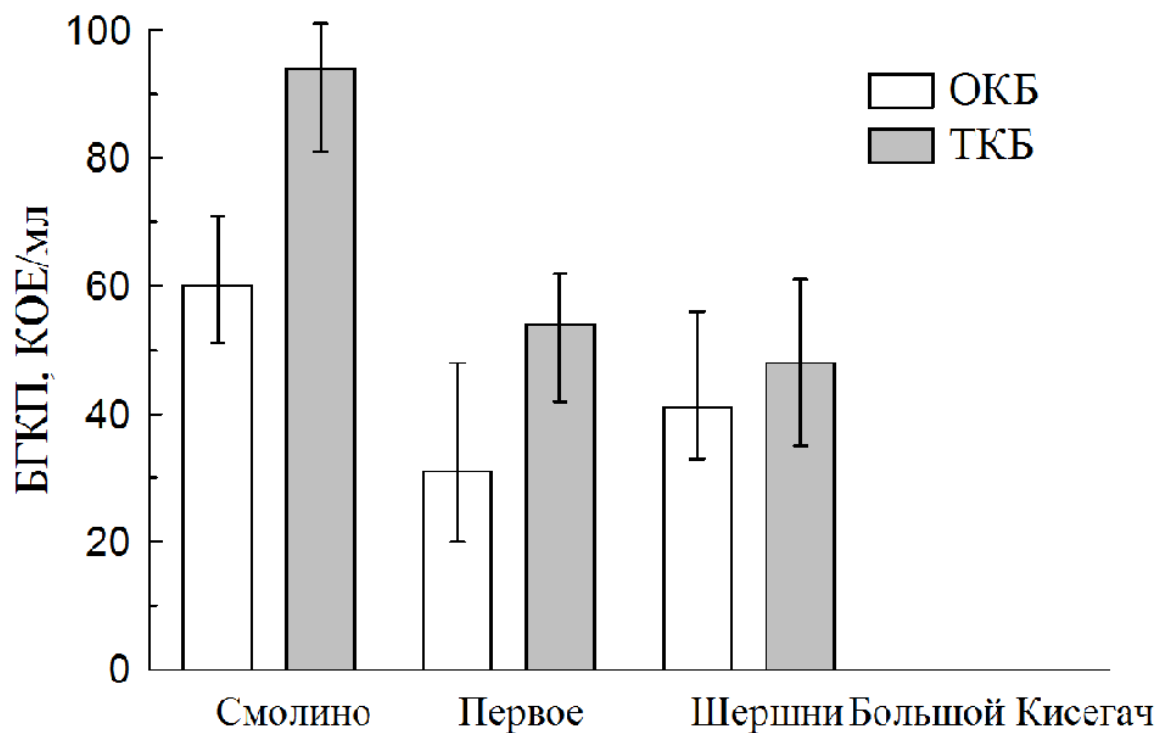


Рисунок 2. Количество бактерий группы кишечной палочки (БГКП) в воде озёр

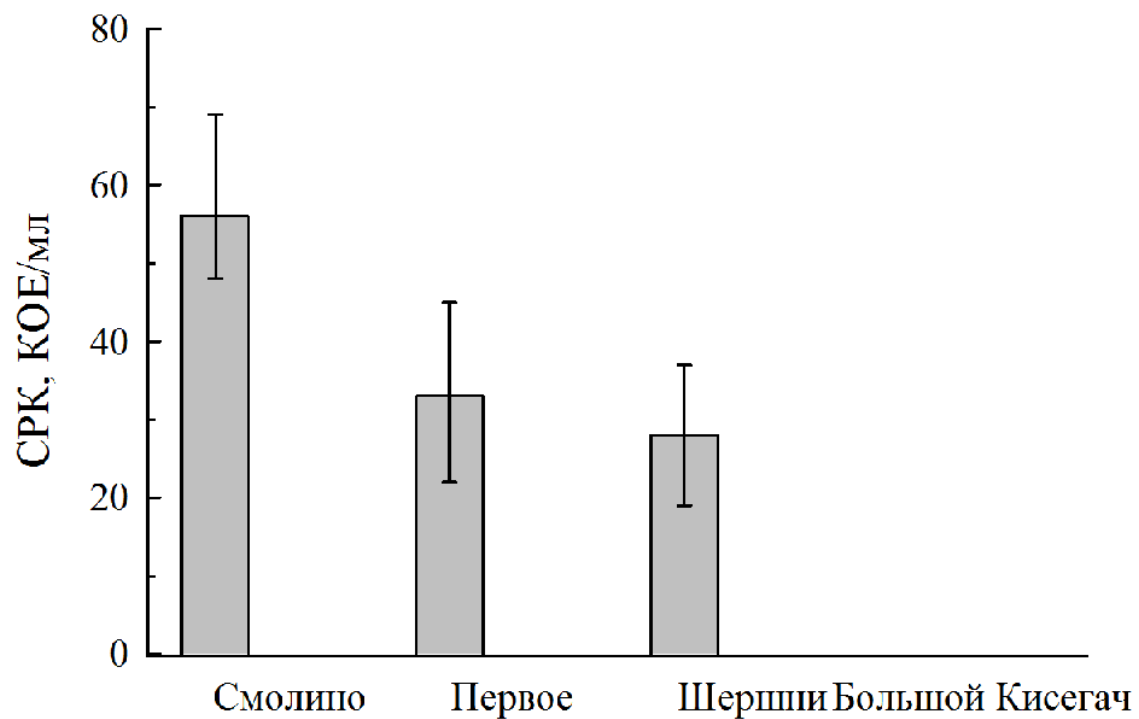


Рисунок 3. Количество сульфитредуцирующих клостридий (СРК) в воде озёр