Բիոլոգիական գիտ.

XVI, № 7, 1963 Биологические науки

### С. С. АЛЕКСАНДРЯН

# О ВЫЖИВАЕМОСТИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ И ПАТОГЕННЫХ БАКТЕРИЙ В НЕКОТОРЫХ ТОРФАХ АРМЕНИИ

Вопрос о сохранении жизнеспособности патогенных микробов в иловых и торфяных грязях очень важен для курортного дела как с точки зрения санитарной охраны грязевых водоемов и торфяных болот, так и для установления сроков повторного употребления отработанной грязи или торфа с лечебной целью. Поэтому контроль за санитарным состоянием лечебных грязей издавна интересовал микробиологов. Первые исследования по выявлению бактерицидных свойств лечебных грязей и минеральных вод курорта Старая Русса и наблюдения над продолжительностью выживания некоторых болезнетворных микроорганизмов в них проведены П. Г. Ивановым в 1912 г. [3]. Автор установил длительную выживаемость гноеродных кокков, синегнойной, брюшнотифозной палочек и холерного вибриона в старорусских грязях от 200 до 409 дней.

В работе И. А. Свешниковой [7] было установлено длительное сохранение жизнеспособности некоторыми патогенными бактериями в рапе и грязи Тамбуканского озера. Л. И. Рубенчук, Д. Г. Гойхерман и Б. Я. Райх [6] изучали выживаемость патогенных бактерий, внесенных в рапу н грязь Одесских лиманов. Сроки выживаемости были также большими и для всех видов бактерий колебались от 43 до 48 суток.

В. Н. Азбелев, З. А. Игнатович, В. И. Богатая [1], проводившие наблюдения над виживаемостью патогенных микробов в грязи и рапе Сакского озера, установили, что патогенные бактерии могут длительное время в них сохраняться. Все эти исследователи отрицали наличие бактерицидных свойств у лечебных грязей.

Исследованиями О. Ю. Волковой [2], проводившимися с 1943—44 гг по изучению бактерицидных свойств грязей, впервые было доказано наличие антимикробных свойств у лечебных грязей вообще и у Тамбу канской грязи в частности.

В 1949 г. О. Ю.Волкова ставит опыты по выживаемости патогенных микроорганизмов в Тамбуканской грязи с учетом ряда факторов, от которых может зависеть продолжительность их жизни в грязи, как-то: влияние различных температур, добавление органического вещества, внесение различных количеств в грязь микробов.

В результате проведенной работы, установлено, что решающую роль в сроках отмирания патогенных бактерий в грязи играет температурный фактор.

Литература о бактерицидных свойствах торфов и торфяных грязеи. очень мала и противоречива.

В 1938 г. Л. И. Рубенчик и Д. Г. Гойхерман [5], изучая сроки выживаемости золотистого стафилококка и синегнойной палочки в свежем и стерилизованном Миргородском торфе установили, что как в нестерильном, так и в стерилизованном торфе Bact. руосуапецт выживает от 40 до 60 сутск, а Staph. pyogenes aureus от 45 до 49 суток. Авторы отрицают наличие бактерицидных свойств у Миргородского торфа.

Л. И. Мац, А. В. Ромакина и др. [4], исследовавшие гнилостную и патогенную микрофлору торфа пресноводных болот, установили, что все

виды изучаемых торфов бедны гнилостными микробами.

Л. Н. Таровердов [8] ставил опыты со свежим и автоклавированным торфами (20 мин. при 1,5 ат.). Им установлено, что после экспозиции в течение пяти суток микробов кишечной палочки и паратифа Гертнера на свежем естественном торфе происходило понижение их вирулентных свойств. На десятый день микробы паратифа перестали расти, а кишечная палочка стала совсем не вирулентной. В автоклавированном торфе жизнеспособность паратифозной палочки полностью сохранилась и на десятый день несколько ослабла ее вирулентность, а кишечная палочка утеряла свою вирулентность на 13 день.

Таким образом одни авторы признают наличие у торфов бактери цидных свойств, другие же отрицают бактерицилные свойства у торфа.

Целью нашей работы было изучение сроков выживаемости патогенных и условно-патогенных бактерий в некоторых торфах Армении.

Объектами исследования являлись свежий Гамзачиманский торф и Гамзачиманский торф из штабеля, подвергнутый выветриванию, хранившийся на территории санатория «Армения» в гор. Кировакане, а также Басаргечарский свежий торф и простерилизованный в автоклаве при 1.5 ат., 30 мин.

В качестве тест-микробов были взяты кишечная палочка, синегнойная палочка, золотистый стафилококк, стрептококк, палочка брюшного тифа, паратифа А и В, дизентерийная палочка.

Изучение сроков выживаемости патогенных бактерий проводилось при различных температурах выдерживания зараженного горфа: 30—37°C, 12—15° и 2—5°C с учетом внесения различных количеств бактерий на 1 г торфа—5 млн., 50 и 100 млн. микробных тел.

Исследовалось также влияние добавления органических веществ в торф в виде пептона, добавляемого в количестве 1%, глюкозы—0.5% и 2% травы на сроки выживаемости в нем патогенных бактерий.

Исследования проводились путем внесения з торф испытуемых культур и последовательных высевов.

Для опытов терфяная грязь отвешивалась по 300 г и помещалась в стерильные банки.

Тест-культуры выращивались на обычном косом МПА. Суточные агаровые их культуры смывались стерильным физиологическим раствором и по стандарту приготовлялась взвесь с содержанием 1 мрд. бактерий в 1 мл. На каждые 100 г торфа вносились 10 мл такой взвеси, так что на 1 г торфа приходилось 100 млн бактериальных тел. При внесении

на 100 г торфа 5 мл этой взвеси на 1 г торфа приходилось 50 млн. микробных клеток. Затем приготовлялась взвесь, содержащая по стандарту 100 млн. бактерий в 1 мл и вносилась в торф, также из расчета 5 мл на 100 г торфа. В этом случае на 1 г торфа приходилось 5 млн. бактериальных клеток.

Зараженный торф тщательно перемешивался, поверхность его хорошо выравнивалась и заливалась слоем отжима из лорфа в 5 см высотой. После внесения микробов в торфяную грязь сейчас же производился высев для определения содержания их в 1 г торфа.

Для этого бралась навеска торфа в 1 г, разводили ее в 10 раз стерильной водопроводной водой, 15 мин. взбалтывали в баночке с бусами, после чего из первого разведения (1:10) приготовлялось разведение 1:100 и 1:1000 и высевалось на подсушенный агар в чашках Петри по одной капле, т. е. 0,05 мл суспензии и на среду Эндо для микробов кишечно-тифозной группы. Подсчет развившихся на агаре колоний производился через 24 ч., иногда через 48 ч. Последующие высевы делались через 1—2—3—4 суток, затем 5—10—15—20 суток и т. д., в зависимости от получаемых результатов. После трехкратного отрицательного результата можно считать, что произошло отмирание внесеннего в торфяную грязь того или иного вида микроба.

Опыты с Гамзачиманским торфом. В качестве свежего торфа служил ило-торф, взятый с глубины 1,5—1,6 м Гамзачиманского торфяного месторождения, имеющий черный цвет, тестообразную консистенцию и влажность 76,66%. Параллельно ставились опыты с пробами того же Гамзачиманского ило-торфа из штабеля с глубины 0,5 м, который один год пролежал на открытом воздухе.

В первой серии опытов изучалось влияние различной температуры на выживаемость патогенных бактерий в отмеченных выше двух пробах торфов, при внесении во все опыгные банки 100 млн. бактерий на 1 г торфа.

Как показывают данные табл. 1, температура имела несомненное влияние на выживаемость бактерий. Так, при +2-+5°C последние выживали от 32 до 64 суток в свежем торфе, а при +30-+37°C от 12 до 32 суток.

В торфе из штабеля при +2-+5°С патогенные бактерии выживали от 25 до 63 суток, а при +30-37°С их жизнеспособность ограничивалась 9-26 днями.

Наиболее быстрое отмирание всех видов исследуемых микробов отмечалось при выдерживании торфа при высоких температурах в 30—37°C.

Во второй серии опытов изучалось влияние различного количества посевного материала, вносимого в торф. Данные этих исследований приведены в табл. 2. Все опыты ставились при температуре 30—37°С.

При внесении в свежий торф 5 млн. клеток-бактєрий различные видк сохранялись в нем от 5 до 20 суток, при—50 млн. клеток—от 9 до 25 суток, а при—100 млн. клеток—от 12 до 32 суток.

Таблица 1 Выживаемость патогенных бактерий в свежем Гамзачиманском торфе и в торфе из штабеля при различных температурах (в сутках)

	CF	вежий тор	ф	Торф из штабеля			
Бактерин	-	+15°	+37	+20	+15°	+37°	
	2	+12	+30-	+ 2-	+12-	+30-	
B. coli commune  B. pyocyaneum  Staph. pyogenes aureus  B. dysenteriae  B. typhi  B. paratyphi A.  B. paratyphi B  Streptococcus	50	40 51 15 48 42 40 41 20	25 30 12 32 30 28 28	46 63 30 46 39 43 48	35 45 10 40 36 43 45	18 25 9 26 23 22 24 10	

Таблица 2
Выживаемость патогенных бактерий в свежем Гамзачиманском торфе и в торфе из штабеля при внесении различных количеств посевного материала (в сутках)

	C	вежий тор	ф	Торф из штабеля			
Бактерии	100 млн	50 млн	5 млн	100 млн	50 млн	5 млн	
B. coli commune · · · ·	. 25	18	15	18	! 15	12	
B. pyocyancum · · · ·		24	16	25	20	13	
Staph. pyogenes aureus .	- 12	9	5	9	6	2	
B. dysenteriae · · · ·	. 32	25	20	26	19	15	
B. typhi · · · · · ·	. 30	24	15	23	18	12	
B. paratyphi A . · · ·	- 28	20	17	22	16	12	
B. paratyphi B	_	22	18	24	17	13	
Streptococcus · · · · ·		10	6	10	8	4	

Таким образом, чем больше вносилось в торф бактерий, тем дольше они высевались из торфа.

Сравнивая полученные данные у этих двух торфов мы видим, что выживаемость в торфе из штабеля, при внесении, например, 100 млн. клеток, на 3—6 дней короче, чем в свежем торфе.

В третьей серии опытов выяснялось влияние добавления органического вещества на выживаемость патогенных бактерий в торфе при 30—37°С и внесении 100 млн. бактерийных клеток (табл. 3).

Как видно из этой таблицы, сроки выживаемости взятых в опыт бактерий как в свежем торфе, так и в торфе из штабеля уменьшаются при прибавлении органических веществ. При добавлении легко усвояемых органических веществ, как пептон, глюкоза отмирание бактерий происходит быстрее, чем при прибавлении трудно усвояемых органических веществ—например, травы.

Далее, для выяснения вопроса об антагонистическом влиянии сапрофитной микрофлоры торфа на жизнеспособность патогенных бактерий,

Таблица 3 Выживаемость патогенных бактерии в свежем Гамзачиманском торфе и в торфе из штабеля при прибавлении органического вещества (в сутках)

	Свежий торф				Торф из штабеля				
Бактерин	без орган.	1°/ <sub>о</sub> пепто на	0,5°/0 глю-	20/0 травы	без орган.	1°/о пепто-	0,5°/, глю-	2°/о травы	
B. coli commune · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	32 30 28 28	19 25 5 25 20 19 21 6	19 22 4 26 20 18 20 5	22 26 8 29 24 21 23 9	18 25 9 26 23 22 24 10	14 18 3 17 15 13 14 4	15 17 3 20 16 13 15 3	17 20 4 22 20 18 19 5	

нами были поставлены опыты со свежим и простерилизованным (при 1,5 ат., 30 мин.). Басаргечарским торфом при тех же условиях. Результаты этих опытов приведены в табл. 4—6.

Данные табл. 4 показывают, что продолжительность жизни патогенных бактерий и в свежем и в простерилизованном торфе с повышением температуры уменьшается. Так, в свежем торфе при  $+2-+5^{\circ}$  они выживали от 40 до 68 суток, а при  $+30-+37^{\circ}$ С—от 14 до 34 суток; в стерильном торфе при  $+2-+5^{\circ}$ С выживаемость изучаемых бактерий колебалась от 48 до 78 суток, а при  $+30-+37^{\circ}$ С—от 23 до 50 дней.

Таблица 4
Выживаемость патогенных бактерий в свежем и простерилизованном
Басаргечарском торфе при различных температурах (в сутках)

	Свежий торф			Простерилизован-		
Бактерии	50	+ 155	+37°	2	+15°	+37°
	- 2	+12-	+30-	+2-	+ 12	+30-
B. coli commune  B. pyocyaneum  Staph. pyogenes aureus  B. dysenteriae  B. typhi  B. paratyphi A  B. paratyphi B  Streptococcus  Streptococcus	47 50	42 54 18 50 45 40 43 19	27 33 13 34 32 30 32 14	69 78 48 57 51 58 60 50	54 65 30 63 58 54 55 27	40 47 28 50 46 42 45 23

Сравнивая эти данные, мы видим, что продолжительность жизни патогенных бактерий в стерильном торфе намного большая, чем в свежем торфе (23—50 суток против 14—34 дней) при 30—37°С и внесении 100 млн. бактерий на 1 г торфа.

. Таблица 5

Выживаемость патогенных бактерий в свежем и простерилизованном Басаргечарском торфе при впесении различных количеств посевного материала (в сутках)

Бактерии	Cı	зежий тор	ф	Простерилизованный торф			
Daktephn	100 млн.	50 млн.	5 млн.	100 млн.	50 млн.	5 млн.	
B. coil commune B. pyocyaneum Staph. pyogenes aureus B. dysenteriae B. typhi B. paratyphi A B. paratyphi B Streptococcus	33 13 34 32 30 32	20 26 10 28 25 21 23 10	17 18 6 21 16 18 20 7	40 47 28 50 46 42 45 23	33 39 21 40 40 34 37 19	30 22 18 38 32 33 39 20	

При инокуляции различных количеств бактерий на 1 г торфа и добавлении органических веществ в Басаргечарский торф мы имели те же закономерности, что и в Гамзачиманском торфе с той лишь разницей, что здесь сроки выживаемости при низких температурах были на 3—9 дней длинее, а при высоких на 1—4 дня.

Подводя итоги данной работы, можно сделать следующие выводы:

1. Грамотрицательные болезнетворные микробы (кишечная палочка, синегнойная палочка, дизентерийная, брюшнотифозная и паратифозная А и В палочки) сохраняются в изученных торфах довольно длительное время от 28—38 до 64—68 суток. Значительно быстрее отмирают стрептостафилококки от 12—15 до 32—41 суток.

Таблица б Выживаемость патогенных бактерии в свежем и простерилизованном Басаргечарском торфе при внесении дополнительного органического вещества (в сутках)

	Свежий торф				Простерилизованный торф			
Бактерни	Без орган.	10/0 пепто-	0,5 глюко-	20/0 TPABЫ	Без орган.	1°/, пепто- на	0.5 глюко-	20/0 травы
B. coll commune  B. pyocyaneum  Staph. pyogenes aureus  B. dysenteriae  B. typhi  B. paratyphi A  B. paratyphi B  Streptococcus	27 33 13 34 32 30 32 14	21 27 7 26 22 20 23 8	20 25 6 27 22 19 23 6	23 30 8 31 26 23 25 10	40 47 28 50 46 42 45 23	34 40 19 39 36 39 37 21	35 40 18 42 35 32 36 20	38 45 21 35 40 38 39 22

2. В торфе из штабеля, подвертнувшемся выветриванию, отмирание всех видов внесенных бактерий происходит значительно быстрее, чем в свежей торфяной грязи.

- 3. Температура хранения зараженного торфа в 30°—37°С является главным фактором, ускоряющим отмирание в нем патогенных бактерий При этой температуре стрепто-стафилококки отмирают через 12—15 дней при внесении больших количеств посевного материала и через 5—6 дней при заражении торфа малыми количествами бактерий. Микробы кишечно-тифозной группы и синегнойная палочка, при соответствующих количествах внесенного посевого материала, отмирают через 25—32 дня и 15—18 дней.
- 4. Добавление органического вещества к зараженному торфу также способствует сокращению сроков выживаемости в нем патогенных бактерий на 4—12—19 дней.
- 5. Продолжительность жизни патогенных микробов в стерилизованном торфе намного большая, чем в свежем. При температуре в 30—37°С, в свежем Басаргечарском торфе внесенные патогенные микробы выживали от 14 до 34 суток, а в стерилизованном от 23 до 50 дней. Это доказывает, что основной причиной освобождения торфа от патогенных форм, является антагонизм сапрофитной торфяной микрофлоры и антибиотическое действие биохимических продуктов ее жизнедеятельности.
- 6. Исходя из полученных сроков выживаемости в изученных торфах бактерий кишечно-тифозной группы, последние должны при регенерации выдерживаться два, два с половиной месяца, чтобы освободиться от попавших в них патогенных бактерий этой группы, а в целях сокращения сроков регенерации должны соблюдаться определенные условия (оптимальная температура в 30—37°С, добавление органического вещества), ускоряющие гибель патогенных бактерий в торфе.

Научно-исследовательский институт курортологии и физ. методов лечения

Поступило 27.VI 1962 г.

#### Ս. Ս. ԱԼԵՔՍԱՆԴՐՅԱՆ

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՄԻ ՔԱՆԻ ՏՈՐՖԵՐԻ ՄԵՋ ՊԱՅՄԱՆԱԿԱՆ-ԱԽՏԱԾԻՆ ԵՎ ԱԽՏԱԾԻՆ ՔԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԿԵՆՍՈՒՆԱԿՈՒԹՅԱՆ ՄԱՍԻՆ

## Ulupnyniu

Քննարկվող հարցի անբավարար ուսումնասիրվածությունը և դրա պրակտիկ կարևորությունը՝ կապված տորֆի բուժական օգտագործման, ինչպես և մշակված, ռեղեներացիայի ենթարկված տորֆային ցեխի գործածման ժամանակ բիոլոգիական ինքնամաքրման անհրաժեշտության հետ, մեզ ստիպեցին ղբաղվել տորֆերի մնջ եղած ախտածին և պայմանական-ախտածին բակտերիաների կենսունակության ժամկետների ուսումնասիրությամբ։

Հետաղոտության օբյեկտներ հանդիսացան Համզաչիմանի թարմ տորֆը և Համզաչիմանի հողմահարության ենթարկված տորֆի կիտվածքը, որը պահ-պանվել է Կիրովական քաղաքի «Արմենիա» սանատորիայի տարածության վրա, ինչպես նաև Բասարգելարի թարմ և ավտոկլավում 1,5 մթնոլորտային ճնշման տակ 30 րոպեում ախտահանված տորֆը։

Известия XVI. № 7—3

Իրրև տեստ-մանրեներ վերցվել են՝ աղիքային, կապույտ թարախի, դիզեն տերիային, ինչպես նաև որովայնային տիֆի, «A» և «B» պարատիֆի ցուպիկները, ոսկեգույն ստաֆիլոկոկը, ստրեպտոկոկը։

Ուսումնասիրվել է արտաքին միջավայրի տարբեր պայմանների ազդեցունը տորֆի մեջ այդ բակտերիաների մահացման արագության վրա, ինչպես օրինակ, ջերմաստիճանի ազդեցությունը (2—5°C, 12—15°C և 30—37°C), որի ժամանակ դիմացել է վարակված տորֆը, տորֆի մեջ մուծված միկրունի քանակի ազդեցությունը (1գ տորֆի մեջ մուծվել է 5, 50, 100 միլիոն բակտերիաների բջիջներ) և օրդանական նյութերի ավելացման ազդեցությունը (պեպտոն՝ 1%, գլյուկողա՝ 0,5% և խոտ՝ 2%)։ Հետազոտության արդյունքները պահերը ցույց են տալիս, որ գրամբացասական հիվանդաբեր մանրեները պահպանվում են տորֆի մեջ 20-30-ից մինչև 64—68 օր։ Տորֆի մեջ ավելի արագ մահանում են ստրեպտո-ստաֆիլոկոկերը՝ 12—15-ից մինչև 32—41 օր, և գրամդրական մանրեները։

Հողմահարության ենթարկված տորֆի կիտվածքի մեջ մուծված բոլոր տիպի բակտերիաների մահացումը կատարվում է զգալիորեն ավելի արագ, քան թարմ տորֆային ցեխի մեջ։

Վարակված տորֆի պահպանման ջերմաստիճանը (30—37°C) նրանում ախտածին բակտերիաների մահացումն արագացնող գլխավոր գործոնն է։ Այդ ջերմաստիճանում մեծ քանակությամբ ցանքանյութ մուծելու դեպքում ստրեպտուս-ստաֆիլոկոկերը մահանում են 12—15, իսկ տորֆը փոքր քանակությամբ բակտերիաներով վարակելու ղեպքում՝ 5—6 օր հետու Համապատասխան քանակությամբ ցանքանյութ մուծելու դեպքում աղե-տիֆային խմբի մանրեները և կապույտ թարախի ցուպիկը մահանում են 25—32 և 15—18 օր հետու

Վարակված տորֆին օրգանական նյութեր ավելացնելը նույնպես նպաստում է նրանում ախտածին բակտերիաների կենսունակության ժամկետները 4—12—19 օրով կրճատելուն։

Ելնելով ուսումնասիրված տորֆի մեջ ստացված աղետիֆային խմբի բակտերիաների կենսոմնակության ժամկետներից, ռեգեներացիայի դեպքում նրանք պետք է դիմանան 2,5 ամիս, որպեսզի աղատադրվեն նրանց մեջ ընկած այդ խմբի ախտածին բակտերիաներից, իսկ ռեղեներացիայի ժամկետների կրճատման համար պետք է պահպանվեն որոշակի պայմաններ (օպտիմալ ջերմաստիճան՝ 30—37°C, օրգանական նյութի ավելացում), որոնք արագացնում են ախտածին բակտերիաների ոչնչացումը տորֆի մեջ։

### ЛИТЕРАТУРА

- 1. Азбелев В. Н., Игнатович З. А., Богатая В. И. О сохран. жизнеспособ. пат. бактерий в рапе и грязи Сакского озера. Саки-Курорт, вып. 1, стр. 309, 1935.
- 2. Волкова О. Ю. Антимикробные свойства лечебных грязей и их биологическое происхождение. Докторская диссертация, Пятигорск, 1951.
- 3. Иванов П. Г. Врачебная газета, № 25, 1912.
- 4. Мац Л. И., Ромакина А. В., Тюремнов С. Н., Ягубов Н. А. Тр. Московской областной клиники физ. методов лечения. IV, стр. 514, 1940.
- 5. Рубенчик Л. И., Гойхерман Д. Г. Вопросы курортологии, 1—2, 1933.
- С. Рубенчик Л.И., Гойхерман Д.Г., Райх Б. Я. Тр. Всеукраин. бальнеофизинститута, вып. 1, стр. 12—24, Харьков—Одесса, 1932.
- 7. Свешникова И. А. Тр. Г.Б.И. на КМВ, т. V. 1927.
- 8. Таравердов Л. Н. Журн. Ветеринария, 10, стр. 40, 1950.