



Libraries – University of Tennessee

UT Libraries Electronic Document Delivery Service

Thank you for using ILLiad and UT's electronic document delivery service. Attached, please find a portable document format (PDF) version of an item you requested through Interlibrary Services.

- This item will remain in your ILLiad account for thirty (30) days. After 30 days, ILLiad will automatically delete the file, removing it from your account. You may delete and/or reinstate this file at any time prior to the end of the 30 day expiry period
- Interlibrary Services may not see this file before it's sent to your account, so they are delivered "as is." ILS cannot control the quality of the initial imaging performed by the lending library, we pass along what was provided to us. If the quality of this document fails to meet your needs please contact us and we'll try to find a solution.
- Refer questions and comments concerning electronic delivery and ILLiad to ILS at ilsmail@utk.edu or 865-974-4240.

-Warning Concerning Copyright Restrictions-

The copyright law of the United States (Title 17, United States Code) governs the making of photocopies or other reproductions of copyrighted material.

Under certain conditions specified in the law, libraries and archives are authorized to furnish a photocopy or other reproduction. One of these specified conditions is that the photocopy or reproduction is not to be "used for any purpose other than private study, scholarship or research." If a user makes a request for, or later uses, a photocopy or reproduction for purposes in excess of "fair use," that user may be liable for copyright infringement.

This institution reserves the right to refuse to accept a copying order if, in its judgment, fulfillment of the order would involve violation of copyright law.

ILL# -10251200



Processed: 02/18/16

HSRS
Mikrobiologiia.

Journal Title: Mikrobiologiia

Volume: 1

Issue: unknown

Month/Year: 1932

Pages: 131-146

Article Author: AS Razumov

Article Title: The direct method of
calculation of bacteria in water:
comparison with the Koch method

Imprint:

ISSN: 0026-3656

Lender String:

Notes

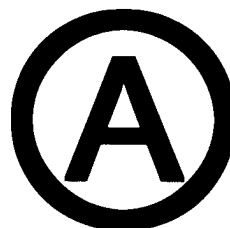
Special Instructions:

Note to Scanner: SCAN THIS SHEET!!

Trans. # 2458728



LENDING ARTICLE

**RAPID**

Copy To:

RAPID:TKN (1) - NEW: TKN-Library

Borrowed From: EYM / MIUG

Interlibrary Loan
University of Michigan
Phone: 734-764-0295
Email: ill-lending@umich.edu

Courier Reply

1st Searched 2nd Searched

<input type="checkbox"/> NOS <input type="checkbox"/> Volume <input type="checkbox"/> Call #		
<input type="checkbox"/> NFC <input type="checkbox"/> Vol/Year don't agree <input type="checkbox"/> Other		
<input type="checkbox"/> Tightly Bound		
<input type="checkbox"/> Missing Pages		
<input type="checkbox"/> Bound w/o issue		
<input type="checkbox"/> Non-circ		
<input type="checkbox"/> Other		

ПРЯМОЙ МЕТОД УЧЕТА БАКТЕРИЙ В ВОДЕ. СРАВНЕНИЕ ЕГО С МЕТОДОМ КОХА

А. С. Разумов

Введение

Попытки применить „прямой метод“ (непосредственный подсчет) для изучения микрофлоры воды в количественном отношении делались давно, однако, не получили сколько-нибудь широкого распространения вследствие несовершенства предлагавшихся модификаций его.

Удачное разрешение Виноградским (1 и 2) затруднений, встречающихся в применении „прямого метода“ для изучения микрофлоры почвы, повысило интерес к таким исследованиям и в настоящее время почвенные микробиологи широко используют „метод Виноградского“. В некоторых же отраслях микробиологи, например, при изучении микрофлоры молока и молочных продуктов (3), „прямой метод“ стал общепризнанным и применяется наравне или вместо подсчетов по методу Коха.

В микробиологии воды „прямой метод“ был применен для количественных подсчетов Кузнецовым (4) и Холодным (5 и 6). В случаях большого содержания бактерий в воде (например сточные, фекальные воды) применение „прямого метода“ не встречает методических затруднений. Для таких вод достаточно определенный объем воды (например точно измеренную каплю), нанести на определенную площадь предметного стекла, зафиксировать, покрасить и произвести требуемые подсчеты, пользуясь окулярным сетчатым микрометром.

В применении к большинству естественных вод, основным затруднением является необходимость сконцентрировать находящихся в них микробов в меньшем объеме, чтобы иметь возможность приготовить препараты вышеизложенным способом и их просчитать.

По этой причине у обоих вышеназванных авторов изготовление препаратов и проведение подсчетов излагается в общих чертах сходно.

Концентрирование же исследуемой пробы воды Кузнецов предлагает производить выпариванием взятого объема (50 см³ для чистой озерной воды) до небольшого объема при отрицательном давлении (температура 30—50° С и давление 15—20 мм ртутного столба).

Холодный это концентрирование производит фильтрованием воды через мембранные фильтры, пользуясь прибором Кольквитца.

В настоящее время, в связи с проводящимися по пятилетнему плану большими работами по строительству новых производственных предприятий с крупными поселками и соцгородами при них, при проведении предварительных изучений источников промышленного и питьевого водоснабжений, бактериологу, занятому анализами воды, приходится искать новые методы бактериологических исследований.

Основные определения, производящиеся для получения санитарной характеристики воды, учет „общего числа“ бактерий по методу Коха и фекального загрязнения—коли-титра по существующим методам (7) требуют довольно большого времени (48 час. для учета „общего числа“ и около 5 дней для учета титра коли). Кроме того, для проведения работ по этим методам необходима довольно сложная лабораторная обстановка, которую при большинстве проводимых в настоящее время работ, подчас в малонаселенных и удаленных от культурных центров районах нашей страны, трудно и иногда невозможно найти.

Из этих соображений Институтом водоснабжения предпринят ряд работ по изысканию ускоренных и легко осуществимых в таких условиях бактериологических методов.

В первую очередь поставлена задача усовершенствовать метод учета „общего числа“ бактерий, как определения, дающего первую, хотя и ориентировочную характеристику санитарного состояния изучаемого вод источника.

В начале работ на эту тему казалось, что „прямой метод“ вполне легко может быть осуществлен в экспедиционных условиях и требовалось лишь установить—можно ли, пользуясь им, получить санитарную характеристику воды и, если можно, то установить переводные коэффициенты, которые позволили бы связать получаемые этим способом результаты с обычно применяемым для этой цели методом Коха.

Методика

Оба ранее упомянутых метода (Кузнецова и Холодного) трудно осуществимы в экспедиционной обстановке, особенно первый. Поэтому для решения поставленной задачи пришлось сначала выработать упрощенную и более быструю методику. За основу был принят метод Холодного, наиболее неудобными сторонами которого являются: отмеривание малых объемов сконцентрированной пробы и способ изготовления препарата.

Применявшийся в проведенной работе метод заключался в следующем.

Порядок работ. Определенный объем воды профильтровывается до конца в приборе Кольквитца (рис. 1) через мембранный фильтр при отрицательном давлении; мембранный фильтр с осевшими на нем бактериями окрашивается, после чего производятся подсчеты под микроскопом. Прибор Кольквитца можно заменить более простыми приборами, описанными Schmidt (9) и Gimesi (8).

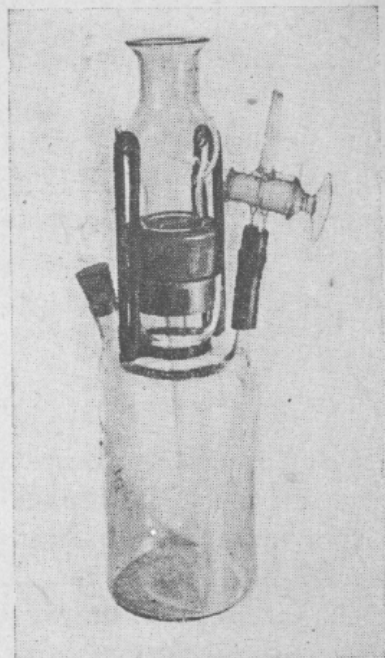
Объем воды для анализа. Для вод, содержащих очень малые количества бактерий (артезианские колодцы), берется 50—100 см³; для

чистых озер—около 25—50 см³; для чистых районов рек 10—20 см³; для сточных вод приходится применять разведение свежеперегнанной дистиллированной водой или профильтрованной через тот же прибор—водопроводной водой. В этом случае представляется все же более удобным проводить работу тем же порядком, как и для чистых вод, чем готовить мазки на предметных стеклах, так как на фильтре микробы распределяются весьма равномерно и исключается кропотливая процедура обезжиривания предметных стекол.

Мембранные фильтры изготовлялись по следующему рецепту, рекомендованному Бахманном (8) для изучения наннопланктона. Приготавливается 5—6%-ный раствор киноплёнки, очищенной от желатинового слоя в химически чистом безводном ацетоне. Далее, добавляется этиловый спирт (98%) в количестве 50—32 см³ на каждые 100 см³ ацетонного раствора киноплёнки. Смесь тщательно взбалтывается, фильтруется (через ткань или вату) и после отстаивания, до исчезновения пузырьков воздуха, выливается на строго горизонтальную гладкую поверхность (зеркальное стекло), на которой она растекается слоем ровной толщины. Сначала испаряется ацетон, затем спирт, место которого занимает в получающейся плёнке воздух. Чем менее спирта содержит ацетоновый раствор целлюлоида, тем мельче получатся его поры. По высыхании плёнка разрезается на диски по размеру прибора Кольквитца.

Фильтрация. Испытуемый объем воды отфильтровывается до конца, причем вакуум, требуемый для фильтрации, достигается высасыванием воздуха из прибора ртом. Затем мембранный фильтр с осевшими на нем микроорганизмами и взвешенными веществами, высушивается. В удаленных поездках фильтры с надписью на свободных краях (дата, место взятия пробы и объема профильтрованной воды) сохранялись до возвращения в лабораторию, хотя могут быть и немедленно использованы для изготовления препарата. При длительном хранении и особенно при перевозках надо охранять их от повреждения слоя, на котором зафиксирован осадок от фильтрации воды.

Изготовление препарата. Вся плёнка, или ее часть, окрашивается погружением в 1%-ный раствор эритрозина в 5%-ной карболовой воде в течение 20—30 мин. После окраски плёнка промывается путем перенесения ее пинцетом из одной чашки с дистиллированной водой в другую, пока обратная сторона фильтра не потеряет почти всю окраску. Далее, окрашенная плёнка высушивается, покрывается каплей кедрового масла или заключается в канадский бальзам и просчитывается.



Прибор Кольквитца ($\frac{1}{4}$ нат. величины).

Подсчет микроорганизмов. Мембранный фильтр настолько хорошо просветляется при такой обработке, что нисколько не затрудняет рассматривания осевших на нем микробов. Все подсчеты были проведены с микроскопом Рейхерта при окуляре IV и иммерзионном объективе 1/12" с окулярным сетчатым микрометром. Обычно достаточно просчитывать 20—40 маленьких квадратиков сетки с площадью около 300 кв. микронов каждый¹. Коэффициент (K), представляющий собою общий для всех подсчетов множитель, определялся по формуле (1):

$$K = \frac{S}{s}, \quad (1)$$

количество бактерий (X) в 1 см³ воды получается по формуле (2):

$$X = \frac{S \cdot N}{s \cdot n} = \frac{K \cdot N}{n}, \quad (2)$$

где S — фильтрующая площадь прибора Кольквитца, s — площадь одного просчитываемого квадратика, N — число микроорганизмов, приходящееся в среднем на просчитываемую площадь, n — объем профильтрованной воды.

Экспериментальная часть

1. Испытание фильтрующей способности пленок

Для выбора оптимальной рецептуры фильтров, обладающих удовлетворительной, при заданных условиях, способностью задерживать бактерии, были поставлены опыты, результаты которых сведены в табл. 1. В конечном итоге выбор состава фильтра сводится к выяснению количества спирта, добавляемого к ацетоновому раствору целлюлоида.

Во 2-й графе табл. 1 состав мембранных фильтров дан в виде суммы трех чисел, из коих 1-е показывает количество киноплёнки в граммах, 2-е и 3-е — соответственные количества ацетона и спирта в смеси. 3-я графа показывает скорость фильтрования 10 см³ воды; 4-я — количество бактерий в 1 см³, прошедших через фильтр, 5-я — то же в процентах от исходного количества бактерий.

В опытах производилось фильтрование взвеси *B. prodigiosum*, содержащей 20,7 млн. бактерий в 1 см³. Все подсчеты проводились по методу Коха на агаре, со счетом колоний через 5 дней, до полного выявления пигментообразования.

Из приведенной таблицы видно, что растворы киноплёнки в ацетоне, с содержанием спирта в количестве 36—30 см³, дают вполне удовлетворительные результаты в смысле задерживания бактерий. Причем на фильтрование 100 см³ идет немного времени (10—25 мин.) и не требуется

¹ Подробное изучение количества необходимых просчетов в таких препаратах были мною проделаны в неопубликованной работе по количественным определениям бактерий в почве прямым методом. Причем и в этом, более затруднительном, случае оказалось возможным ограничиться 40 квадратиками.

ТАБЛИЦА 1

№ фильтра	Состав пленки	Скорость фильтрования в сек.	Прошло бактерий в 1 см	В %
I	5+100+50	5	4420.0	2,1
II	5+100+40	40	290	0,0014
III	5+100+36	70	2700	0,013
IV	5+100+34	45	160	0,0008
V	6+100+30	150	80	0,0004

создавать большого вакуума. Фильтры, применявшиеся Холодным имели производительность 100 см^3 в 1 час. Иногда фильтры и с довольно низким содержанием спирта дают пониженный эффект фильтрования, что объясняется трудностями получить вполне однородный материал при изготовлении малых партий фильтров. На качество фильтров (тонину пор, однородность и т. п.), кроме соотношения указанных ингредиентов, влияют: оводненность спирта и ацетона (образование дыр), малое содержание целлюлоида (хрупкость), температура высыхания смеси, влажность воздуха при испарении растворителей (первая повышает, второй снижает плотность фильтра) и т. п.

ТАБЛИЦА 2

№ фильтра	Количество бактерий в 1 см^3
1	$5,9 \cdot 10^6$
2	$11,5 \cdot 10^6$
3	$13,3 \cdot 10^6$
4	$10,9 \cdot 10^6$
5	$11,1 \cdot 10^6$

В дальнейших опытах применялись фильтры по рецептам III, IV и V, причем качество их контролировалось внешним осмотром (однородность толщины и структуры, отсутствие явных дефектов) и скоростью фильтрования ($10-25$ мин. для 100 см^3 воды). Более плотные фильтры дали бы большее задержание бактерий, однако необходимость создавать более сильное эвакуирование в экспедиционных условиях заставило бы дополнить прибор Кольквитца насосом, позволяющим проводить фильтрование при более сильном положительном или отрицательном давлении.

2. Другие опыты, характеризующие надежность подсчетов

а) Фильтрование одной и той же воды через фильтры различного состава.

В опытах фильтровалась вода аквариума в количестве 5 см^3 . Результаты сведены в табл. 2, состав фильтров обозначен теми же номерами, что и в предыдущих опытах (см. табл. 1).

Из этих опытов видно, что содержание спирта в отношении 1 : 2 в ацетоновом растворе киноплёнки, которое рекомендуется Бахманном (8) для изучения наннопланктона, для бактериологических целей не пригодно.

б) Фильтрация одной и той же воды через фильтры одинакового состава дают очень хорошие совпадения чисел, получающихся при подсчетах микробов.

Например: при фильтрации 25 см³ воды оз. Мауэлы получилось в 1 см³ 233 000 бактерий и 238 000 из других 25 см³ той же пробы.

в) Фильтрация различных объемов одной и той же воды (влияние концентрирования). Фильтровалась вода аквариума в количестве 25 см³, 10 см³, и 5 см³ (см. табл. 3).

Из приведенных данных видно, что результаты параллельных подсчетов получаются вполне удовлетворительные, что всегда бывает, когда мембранный фильтр имеет равномерное строение и когда в нем нет (или слабо выражена) сетчатой структуры, которая может вызвать неравномерное распределение на фильтре микробов и взвешенных в воде веществ. Выяснить условия получения пленок без этой структуры не удалось. Парализовать же ее влияние можно, делая верхней стороной фильтра ту, которая при его изготовлении прилежала к стеклу.

Фильтрация одновременно через 2 фильтра показало, что на нижележащем фильтре остаются почти неучитываемые количества микробов.

г) Учитываются ли мертвые бактерии прямым методом? Этот вопрос всегда ставится, когда идет речь о применении прямого метода.

Для этой цели был поставлен такой опыт: для анализов 3/IX 1931 г. была взята вода из пруда в г. Магнитогорске, которая использовалась местным временным водопроводом, а также из водоема на берегу пруда (котлована), также иногда используемом водопроводом и, наконец, из водопроводного крана около 0,5 км от насосной станции по сети. Вода во время этого опыта хлорировалась, с контактом в сети и никакой другой очистке не подвергалась. Параллельно с прямыми подсчетами, проводились подсчеты на агаре согласно стандартным методам (7) (сост. питательной среды, счет через 48 час. при 20–22° С). Такая же методика проводилась и во всех далее изложенных опытах.

ТАБЛИЦА 3

Объем в см ³	Количество бактерий в 1 см ³
25	1867 · 10 ³
10	1627 · 10 ³
5	1776 · 10 ³

ТАБЛИЦА 4

Место взятия пробы	Количество бактерий в 1 см ³ прямой счет	Количество бактерий в 1 см ³ метод Коха	Отношение
Вода пруда	1018 · 10 ³	3100	330
„ котлована	1242 · 10 ³	2630	470
„ из водоп. кр.	969 · 10 ³	345	2800

ТАБЛИЦА 5

	Прямой метод в 1 см ³	Метод Коха в 1 см ³	Отношение
Биофильтр 11/X 1930 г.			
Поступающая вода	288 · 10 ⁶	1800 · 10 ³	160
III ступень	213 · 10 ⁶	440 · 10 ³	480
V ступень (выходящая) . . .	140 · 10 ⁶	280 · 10 ³	500
Биоканал 19/X 1930 г.			
Поступающая вода	307 · 10 ⁶	3400 · 10 ³	93
III ступень	215 · 10 ⁶	1600 · 10 ³	130
IV ступень (выходящая) . . .	93 · 10 ⁶	195 · 10 ³	480

Результаты сведены в табл. 4 (см. стр. 123), где в последней графе (так же, как и во всех последующих таблицах) показано отношение между числами микробов, полученных сравниваемыми методами.

Из этих подсчетов можно видеть, что число микробов, определенных прямым методом, после хлорирования почти не изменилось в то время, как метод Коха в этом случае показал снижение их почти в 10 раз.

Отличить в полученных препаратах мертвых бактерий от живых не представляется возможным. Таким образом в случае попадания в воду антисептиков, каких-либо отравляющих веществ, прямые подсчеты могут дать неверное представление о количестве микробов в испытуемой воде.

3. Применение прямого метода к контролю очистных установок

Подсчеты микробов обоими методами проводились на лабораторных моделях „биофильтра“ и „биоканала“ системы инж. Д. И. Шпилева, на которых производилась очистка фекальной сточной воды.

Биофильтр представляет собою ряд ящиков (в 5 этажей), загруженных шлаком, через которые последовательно проходит сточная жидкость. Биоканал состоит из 6 наклонных лотков, также загруженных шлаком. Результаты подсчетов сведены в табл. 5.

Как можно видеть из этой таблицы, оба метода показывают уменьшение числа микробов с продвижением сточной жидкости по очистной установке, причем это уменьшение гораздо резче отмечается методом Коха, нежели прямым. Величина расхождения подсчетов по сравниваемым методам показывает, что объяснение этому явлению надо искать в том, что по мере хода минерализации сточной жидкости качественный состав микро-

флоры существенно изменяется, что, однако, не находит отражения в изменении общего числа имеющихся в ней микробов.

В микрофлоре фекальной сточной жидкости большая часть бактерий растет на чашках с обычными средами (прямой метод в этих подсчетах дал величины у нас в 90—150 раз бóльшие, Winslow (10) для сточных вод получил расхождение соответственно в 20—70 раз; по мере очистки воды, фекальная микрофлора замещается организмами, не растущими на обычных питательных средах, применяемых для подсчетов (таковы нитрифицирующие, окисляющие серу и другие бактерии).

Частично, конечно, на расхождение таких параллельных подсчетов влияет и учитываемые прямым методом мертвые бактерии, которых, при резко изменяющихся физико-химических условиях на разных ступенях установки, должно быть заметное количество.

4. Подсчеты прямым методом в естественных водоемах

Все далее приведенные подсчеты производились на материале, собранном в экспедиционных условиях.

А. Реки. Подсчеты проводились из проб воды р. Урала, в районе г. Магнитогорска. Подсчеты по обоим методам производились из одних и тех же проб и одновременно (для прямого метода собирались на месте фильтры с фиксированными на них микроорганизмами, самые подсчеты с микроскопом велись в Москве). Результаты показаны в табл. 6.

Проделанные сравнительные подсчеты показывают, что:

1. Оба метода дают наиболее сходные результаты в загрязненных участках реки и, наоборот, наибольшее расхождение наблюдается в чистых ее частях.

2. Загрязнения, вносимые в реку (в это время небольшие) мало, а в иных случаях и совсем не отразились на повышении числа подсчитываемых прямым методом микроорганизмов.

3. Повышение числа учтенных прямым методом микробов более характерно для мест с замедленным течением (например пункты у „Камня“, выше пос. Средне-Уральского, у 2-й и 1-й горы).

4. Зимой (1930 г.) и осенью (1931 г.), прямой метод дал по абсолютным величинам сходные результаты для р. Урала.

5. Труднее объяснить малое расхождение между методами для Урзова, Наврузова и Спасского пунктов в самых верхних частях р. Урала. Возможно, что здесь сказалось влияние загрязнения близ лежащими поселками, которое вследствие малых размеров реки в этом месте, отразилось на учете по методу Коха, но не смогло повлиять на результат непосредственных подсчетов.

Б. Озера. Подсчеты по озерам (см. табл. 7, на стр. 127) производились на оз. Селигере и ряде озер в районе г. Магнитогорска зимой 1930 и осенью 1931 г.

ТАБЛИЦА 6

Дата	Место взятия пробы	Прямой метод в 1 см ³	Метод Коха в 1 см ³	Отношение
	р. Урал			
26/XI 1930 г.	Выше пос. Средне-Уральского . .	368 000	220	1800
"	Ниже " " " . .	217 000	260	830
"	" плотины в г. Магнитогорске	197 000	1100	180
"	" станицы Магнитной	231 000	1150	200
"	" всех поселений	315 100	1060	300
"	У "Камня"	400 000	280	1400
"	Выше ст. Агаповской	299 000	190	1600
9/X 1931 г.	" аула Уразова	229 000	2000	114
"	" Наврузова	199 000	2700	74
"	" с. Спасского	286 000	2400	120
16/IX 1931 г.	" пос. Верхне-Кизильского . .	209 000	290	720
"	Ниже " " " . .	547 000	550	990
"	У горы "Мохнатой"	230 000	240	960
"	" 2-й горы	590 000	190	3100
"	" 1-й горы	422 000	200	2100
"	р. Верхний Кизил у устья	323 000	240	1300

Географически озера в районе г. Магнитогорска делятся на 3 группы: 1) оз. Маузлы, Сабакты, Карабалык, 2) Б. и М. Багодаки и 3) Ургун, Учалы Юшаликуль, Карагайды (Карабайкуль).

Рассмотрение табл. 7 приводит к следующим выводам:

1. Наименьшее расхождение между сравниваемыми методами найдено для береговых проб и наибольшее для проб, взятых на середине этих водоемов. Таким образом коэффициент, выражающий расхождение между этими методами, может дать дополнительную к определениям по методу Коха санитарную характеристику, так же, как это было показано и для р. Урала.

2. Прямой метод показывает в воде озер летом значительно больше микроорганизмов, чем зимою, что возможно, стоит в связи с цветением их, на что указывают пробы планктона.

3. С этим в связи, очевидно, стоит и то, что наиболее глубокое и крупное озеро Маузлы, имевшее более слабо, чем у других, выраженное

цветение, имеет и наименьшее количество микробов при определении их числа прямым методом.

4. Величина расхождения между обоими методами получилась наибольшая для лета, причем судить по величине этого отношения о санитарном состоянии различных озер невозможно. Эта величина имеет для каждого водоема свое значение летом и зимой, свое значение для отдельных типов водоемов (река, озеро, ключ и т. п.) и даже для отдельных водоемов.

В. Вертикальное распределение микроорганизмов в озере. Пробы были собраны в пункте наибольших глубин оз. Маузлы,

ТАБЛИЦА 7

Дата	Место взятия пробы	Прямой метод в 1 см ³	Метод Коха в 1 см ³	Отношение
10/XII 1930 г.	Оз. Маузлы (Банное) серед. поверхн.	63 000	14	4 500
8/IX 1931 г.	„ „ „ „ „	256 000	13	18 200
10/IX 1931 г.	„ „ „ у дна 24 м . .	51 000	11	4 600
„	„ „ у северного берега . .	236 000	310	760
„	„ Сабакты, серед. поверхн. . . .	58 000	33	1 800
9/IX 1931 г.	„ „ „ „	801 000	25	32 000
10/XII 1930 г.	„ „ южн. берег	83 000	109	760
„	„ Карабалык, серед. поверхн. . . .	63 000	27	2 300
9/IX 1931 г.	„ „ „ „	1 018 000	45	22 600
10/XII 1930 г.	„ „ у берега (д. Таш-Булатово)	150 000	368	410
26/IX 1931 г.	„ Б. Багодак, серед. пов.	2 240 000	125	17 900
25/IX 1931 г.	„ М. Багодак, серед. пов.	2 099 000	176	11 900
7/X 1931 г.	„ Ургун, серед. поверхн.	1 577 000	76	20 750
9/X 1931 г.	„ Учалы, „ „	695 500	248	2 800
„	„ Карагайды, серед. поверхн. . . .	658 000	181	3 600
„	„ Юшаликуль, „ „	341 000	232	1 500
13/VIII 1931 г.	„ Селигер			
„	У д. Непри, серед. плеса поверхн.	2 385 000	116	20 600
„	У д. Краватыни, „ „	1 162 000	193	6 000
„	Между с. Покровск. и г. Осташковом	1 123 000	290	3 500
„	Против с. Ронского	1 242 000	120	10 350

одновременно определялась температура воды. К сожалению не представилось возможности сопроводить эту часть работы определениями растворенного в воде кислорода. В табл. 8, где сведены результаты подсчетов, нет анализа поверхностной пробы. Примерное представление об этой величине дает соответствующий анализ воды с поверхности на середине оз. Маузлы от 8/IX 1931 г. (см. табл. 8), взятой в том же пункте озера.

В зоне температурного скачка, расположенного на глубине 13—14 м, найдено резкое снижение числа микроорганизмов, подсчитанных прямым

ТАБЛИЦА 8
Оз. Маузлы 10/IX 1931 г.

Глубина	Температура в гр. С	Прямой метод
0	17,9	—
2	17,4	—
3	—	221 000
4	17,3	—
6	17,3	253 000
8	17,0	—
9	—	191 000
10	16,6	—
12	16,1	151 000
14	13,4	—
15	—	60 000
16	11,9	—
18	11,6	122 000
20	11,1	—
21	11,1	112 000
24	11,1	—

методом. Ниже температурного минимума количество микроорганизмов повышается, но остается до самого дна, примерно, вдвое более низким, чем выше него.

Кузнецов (4) на „Глубоком озере“ тем же методом нашел увеличение числа микроорганизмов в зоне температурного скачка и кислородного минимума.

Различие в географическом положении озер Глубокого и Маузлы, в характере их и богатстве микрофлорой (в оз. Маузлы количество микробов не превышает 300 000 в 1 см³, в оз. Глубоком они исчисляются от 1 до 6 млн. в том же объеме) не позволяют сделать вывода о причинах понижения числа микробов в зоне температурного скачка, с одной стороны, и применить объяснение Кузнецова, связывающего кислородный минимум с по-

треблением этого газа микроорганизмами, с другой.

Г. Артезианские воды, ключи и колодцы. По этим водос источникам сравнительные подсчеты были проведены на следующих объектах:

1. Артезианская скважина № 4, фонтанирующая, расположенная на левом берегу р. Урала, около пос. Средне-Уральского, вода поступает из 2-го горизонта и далее попадает в колодезь № 4, где смешивается с водой этого колодца, представляющей собою воду р. Урала.

2. Скважина в г. Осташкове (кожевенный завод), поступающая с глубины 65,8 м.

Средний ключ американского поселка и ключ в поселке „Ежовка“ расположены в районе г. Магнитогорска. Ключ 2-й с расходом воды 40 л/сек и 3-й (Матвеев) с расходом — 60 л/сек расположены в нижней части течения р. Верхний Кизил, в который и впадают недалеко от устья этой реки, притока Урала. Пробы из грунтовых колодцев собраны были в дер. Б. Багодак, расположенной на берегу одноименного озера.

ТАБЛИЦА 9

Дата	Пункт взятия проб	Количество бактерий в 1.см ³ методом		Отношение
		прямым	Коха	
13/XII 1930 г.	Скважина № 4	6 400	9	718
„	Колодезь при ней	24 100	2040	12
12/VIII 1931 г.	Скважина в г. Осташкове	8 200	1	8200
18/XII 1930 г.	Средн. ключ Амер. пос.	46 600	197	240
„	Ключ в пос. Ежовка	155 000	893	180
30/IX 1931 г.	Ключ 2-й	31 000	26	1190
„	Ключ 3-й (Матвеев)	6 200	46	112
27/IX 1931 г.	Колодцы д. Багодак	от 46 500 до 149 000	—	—

Водоисточники, анализы которых помещены в табл. 9, имеют наименьшее количество микроорганизмов по сравнению с другими естественными водоемами. Здесь же можно видеть, что расхождение между сравниваемыми методами выражается очень различными величинами. Низкие величины расхождения (меньшие таких, что встречались в сточной воде) не могут считаться признаком сильного загрязнения. На примере 3-го ключа можно видеть, что вследствие бедности его микрофлоры небольшое загрязнение от рядом расположенного временного рабочего поселка сильно снизило величину расхождения методов. С другой стороны, в ключе 2 трудно было взять пробу чистой ключевой воды без значительной примеси воды озера при нем, с обильной специфической микрофлорой пурпурных и бесцветных серобактерий, развивающейся в нем за счет подтоков болотных вод с берегов. Это сказалось на полученных результатах. Из ключа 3-го, также расположенного в торфяном болоте, более легко было взять бьющую со дна у берега ключевую воду.

Иначе обстоит дело в ключах, анализированных в 1930 г. Из обоих шел усиленный разбор воды ведрами и бочками, вода заметно взмучена. Благодаря этому примесь почвы сказалась на обогащении воды микрофлорой, учитываемой обоими методами. Холодный (6) приводит результат

анализа артезианской скважины киевского водопровода, показавший содержание в ней 12 320 микробов в 1 см³, т. е. число такого же порядка, как и полученные нами в таких водах.

Общие выводы

Прямой метод счета бактерий в тех случаях, когда он применяется к анализам материалов, имеющих однородную в физиологическом отношении микрофлору, дает результаты, совпадающие с методом Коха; это можно видеть из соответствующих параллельных подсчетов Королева (3) в молоке и молочных продуктах. Микрофлора естественных вод обычно чрезвычайно разнообразна и поэтому весьма, и при том различно, расходятся оба метода подсчетов. В самом деле, метод Коха не дает возможности определить „общее число“ бактерий, как обычно называют такие определения. Это название с большим основанием может быть присвоено прямому методу.

Метод же Коха, представляющий собою, по существу, подсчет числа колоний, вырастающих на чашках определяемого физическими и химическими условиями таких опытов (температура, состав питательной среды, реакции, кислородных условий, срока выращивания и т. п.), есть метод учета физиологической группы организмов, которая в известной мере является показательной для суждения о степени загрязнения изучаемой воды. Соответственно такой характеристике метода Коха, его следует считать методом учета некоторой физиологической группы бактерий, подобно учету группы *Coli aerogenes* американских бактериологов (7) и подсчетам микробов почвы по физиологическим группам, введенным в практику почвенной микробиологии Гильтнером (11 и 12).

Недостатком подсчетов колоний на чашках, согласно приведенной характеристике их, является не то, что по методу Коха растут не все находящиеся в воде бактерии, а то, что вырастающие в колонии организмы не могут быть точно охарактеризованы с физиологической стороны.

Отсюда же следует, что стремление подобрать состав питательной среды и условий, при которых выросло бы больше колоний, не могут усовершенствовать этого метода, так как в идеале (несомненно недостижимом) он дал бы те же числа, что и прямой метод, который перед методом Коха имеет несомненное преимущество в скорости, в простоте и легкости выполнения.

В состав плотных питательных сред, применяемых при подсчетах на чашках Петри, входит пептон, который используется большинством гнилостных бактерий кишечной микрофлоры, причем на этой среде подсчеты ведутся при 20—22° С через 48 час., хотя новые колонии появляются и позже. Учет этих бактерий, очевидно, снижает ценность метода, так как их позднее появление указывает на то, что образовавшие эти колонии бактерии находятся на границе учитываемой группы микробов или даже принадлежат к другой группе. На этом основании более точную характеристику воды в санитарном отношении должны дать подсчеты на чашках

при 37° С через 24 час., на что указывают результаты многочисленных параллельных подсчетов при указанных температурах и сроках инкубации. Обычно загрязненные воды дают в этих условиях сходные результаты, чистые же воды при 37° дают более сниженные числа.

Обращаясь к прямому методу можно видеть, что в случае более или менее однородной в физиологическом отношении микрофлоры оба метода (прямой и метод Коха) более всего сходятся. Таковы анализы сточных вод, где, очевидно, растущая на чашках микрофлора имеет большой удельный вес. Совсем иные отношения наблюдаются в чистых водах, где оба метода сильнее всего расходятся.

Никакого общего для всех подсчетов на чашках и прямым методом переводного коэффициента не может быть. Такие коэффициенты, как уже достаточно было показано, очень различны не только для отдельных водоемов, но и для одного и того же — в различные сроки (например для озер в разные времена года).

Абсолютная величина коэффициента не может быть мерилom санитарного состояния воды, так как в сильной мере зависит от богатства ее микрофлорой (т. е. низкие коэффициенты могут быть встречены для чистых вод и высокие — для загрязненных). При изучении же работы очистных установок, контроле фильтрования при исследовании рек, отдельных озер и других однотипных водоемов величина коэффициента может дать дополнительную, к определению по методам Коха, характеристику воды в санитарном отношении.

Большим недостатком прямого метода является невозможность пользуясь им исключить из подсчетов мертвых бактерий. В таких материалах, как молочные продукты, это обстоятельство тоже отмечено (3).

Поставленная в начале работы задача отыскания быстрого и легко выполнимого в экспедиционных условиях метода для санитарной характеристики воды может считаться разрешенной лишь в первой своей части — приспособления прямого метода к работе в таких условиях. Что же касается второй части, то приходится притти к выводу, что для санитарной оценки надо усовершенствовать старые или искать новые, основывающиеся на учете не всей микрофлоры воды, а некоторой узкой и наиболее показательной физиологической группы ее (например подсчетов по методу Коха с усовершенствованием его в смысле изложенных выше соображений или подсчетов организмов из группы кишечной палочки и т. п.).

В заключение выражаю благодарность проф. Я. Я. Никитинскому за общее руководство произведенной работой и Г. И. Долгову за ряд ценных указаний и непосредственную помощь при работах на различных водоемах в районе г. Магнитогорска.

Биологическая лаборатория Всесоюзного научно-исследовательского института водоснабжения и сантехники.

DIE DIREKTE METHODE DER ZÄHLUNG DER BAKTERIEN IM WASSER UND IHRE VERGLEICHUNG MIT DER KOCH'SCHEN PLATTENKULTUR METHODE.

(Aus dem Biologischen Laboratorium des Wissenschaftlichen Staats-Instituts für Wasserversorgung und Sanitärtechnik)

A. S. Rasumow

In der Arbeit wird die Methodik der Aufzählung der Mikroorganismen im Wasser mittels direkte Methode unter Expeditions-Bedingungen beschrieben.

Die parallele Durchführung der Aufzählungen mit der direkten Methode und mit der Koch'schen Methode zeigt folgendes:

1. Die Anzahl der Bakterien, die nach der direkten Methode aufgezählt werden, ist größer, als nach der Koch'schen Methode.

2. Der Unterschied zwischen beiden Methoden kann mit einem bestimmten Koeffizient nicht bezeichnet werden.

3. Die Grösse dieses Unterschieds hat für verschiedene Typen der Wasserbecken (Flüsse, Seen, Quellen usw.) und sogar für dasselbe Wasserbecken zu verschiedenen Jahreszeiten (zum Beispiel Seen im Sommer und Winter) verschiedene Bedeutung.

4. In einigen Fällen kann die Grösse des Unterschieds zwischen den vergleichenden Methoden den Sanitätszustand des Wassers charakterisieren (Kontrolle der Reinigungsanlagen, gleichzeitige Erforschung der Flüsse, Seen usw.) denn der grösste Unterschied ist für die reine und der kleinste für die schmutzigen Gewässer charakteristisch.

5. Nach der direkten Methode ist es nicht möglich die toten Bakterien von den lebenden zu unterscheiden und daher ist sie in den Fällen der Sterilisation des Wassers oder wenn giftige Stoffe ins Wasser geraten nicht zu benutzen.

ЛИТЕРАТУРА

1. Winogradsky, S. Annales de l'Institut. Pasteur, t. XXXIX, 1925.
2. Он же, Compt. Rend. d. l'Acad. d. Sc., Paris 1923, t. 177.
3. Королев, С. А. проф., Новый метод непосредственного счета клеток под микроскопом в общем плане микробиологического подсчета, Вологодск. молочно-хозяйств. инст. Бюлл. № 76—77, Вологда, 1929.
4. Kusnetzow, S. I. and Karzinkin, G. S., Direct method for the quantit. study of bacteria in water and some considerat. on the causes which produce a zone of oxygen-minimum in Lake Glubokoje, Zentrbl. für. Bakt., Abt. II, Bd. 83, 1931, S. 169.
5. Холодный, Н., До методики кількісних досліджень бактерійного планктону. „Збірник праць Дніпровської біолог. станц.“ № 3, Киев, 1928.
6. Cholodny, N., Zur Methode der quantitativen Erforschung des Bakteriellen Plankton, Zentrbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 77, S. 179, 1929.
7. Стандартные методы исследования питьевых и сточных вод, изд. Пост. бюро Всес. водопр. и сан.-техн. съездов, М. 1927.

8. Bachmann, H., Der Mikrofiltrierapparat von Gimesi, Zeitschr. f. Hydrolog., Jahrg. I I, H. 3—4, S. 271—276.
 9. Schmidt, E. W., Über die Anwendung von Membranfiltern in der Mikrobiologie, Zentrbl. f. Bakt., Abt. II, Bd. 58, S. 464—469, 1923.
 10. Winslow, Journ. of Infect. Dis., Suppl. I, 209, 1905, цитировано по Singer, E. Zentrbl. f. Bakt., Abt. I, Bd. 118, S. 81, 1930.
 11. Разумов, А., Методика учета бактерий в почве по физиологическим группам Тр. Н. Инс. по Удобр., в. 28, 1925.
 12. Hiltner u. Störmer, Arb. a. d. Biol., Abt. f. Landw. u. Forstw., B. III, 1903.
-