

ENTEROBACTERIACEAE ORAZ INNE GRAM-UJEMNE BAKTERIE W WODZIE Z WODOCIĄGÓW ZAGRODOWYCH

ENTEROBACTERIACEAE AND OTHER GRAM-NEGATIVE BACTERIA IN WATER FROM FARM WATER PIPES

Nimfa Maria Stojek

Instytut Medycyny Wsi w Lublinie.

Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. n. med. L. Wdowiak

Zakład Biologicznych Szkodliwości Zawodowych.

Kierownik Zakładu: dr n. przyr. N. Stojek

Streszczenie

Celem badań była bakteriologiczna ocena wody studziennej dostarczanej przez wodociągi zagrodowe, w zakresie wybranych bakterii Gram-ujemnych ze szczególnym uwzględnieniem Enterobacteriaceae oraz głębokości studni i obecności w gospodarstwach zwierząt hodowlanych. Badaniom poddano 71 próbek wody z 71 wodociągów z trzech wsi. Studnie różniła głębokość (4–40 m) oraz lokalizacja w gospodarstwach z różną intensywnością hodowli zwierząt (brak – wielkostadna). Badania przeprowadzono metodą filtracji membranowej, z wykorzystaniem podłoży agarowych. Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* wyizolowano w sumie z 40 (56,3%) badanych próbek wody, bakterie określone jako „inne” z 70 (98,6%).

Przy uwzględnieniu głębokości studni i hodowli zwierząt okazuje się, że studnie płytkie z gospodarstw z hodowlą zwierząt były skażone w 82,3%, podczas gdy bez hodowli w 57,1%, studnie głębokie odpowiednio w 57,1% i 31,6%, w obu przypadkach skażenie wody było wyższe w gospodarstwach z hodowlą zwierząt średni o 25,0%. Uzyskane wyniki potwierdzają, że intensywna hodowla zwierząt ma wpływ na zanieczyszczenie zasobów wody, nawet przy prawidłowej gospodarce gnojem i gnojowicą.

Słowa kluczowe: Gram-ujemne bakterie, *Enterobacteriaceae*, woda, studnie, wodociągi zagrodowe, zwierzęta.

Abstract

Samples from water pipes were examined for the presence Gram-negative bacteria belonging (GNB) and not belonging (GNB-NE) to family Enterobacteriaceae. A total 71 samples were collected from various wells differentiation deep and intensity rearing animals. Samples were examination by filtering and culture on agar media. GNB was recovered from total samples 56,3%, and GNB-NE 98,6%. GNB was recovered from shallow wells from animal farms 82,3% and from farm without animals 57,1%, from deep wells respectively 57,1 % and 31,6%. These result confirm influence rearing animals on contamination sources water, even management correct proceeding with dung and liquid manure.

Key words: Gram negative bacteria, *Enterobacteriaceae*, water, wells, water pipes, animals.

Nadesłano: 12.10.2009

Zatwierdzono do druku: 03.08.2010

Wstęp

W przyszłości woda pitna stanie się towarem deficytowym, a przez to strategicznym, gdyż bez niej nie ma życia.

Jakość wody, w tym bakteriologiczna, jest wypadkową wielu nakładających się czynników naturalnych jak i generowanych przez działalność człowieka. Jednym z ważniejszych elementów jest stan wody surowej, który w dużym stopniu zależy od głębokości jej pokładów. Im pokłady wody są głębsze tym woda jest lepszej jakości i jest mniej narażona na wtórne zanieczyszczenia. Źródeł zanieczyszczenia zasobów wody jest wiele. Mogą nimi być np. zły jakości i niewłaściwie usytuowane zbiorniki na odpady hodowlane (gnój, gnojowica), szamba, ubikacje ziemne, niewłaściwa gospodarka ściekami komunalnymi i przemysłowymi, a także powietrze, gleba i in. Ścieki mają duży wpływ na zanieczyszczenie wody, gdyż w wielu przypadkach przed wprowadzeniem do środowiska nie są oczyszczane. Jednak również po oczyszczaniu nie są całkowicie bezpieczne, gdyż nawet nowoczesne oczyszczalnie nie są w stanie całkowicie wyeliminować z nich drobnoustrojów. Wykazano, że tradycyjne oczyszczalnie ścieków redukują liczbę bakterii kałowych zaledwie o 1 do 3 rzędów wielkości [1, 2]. Niektóre kraje np. Niemcy, Francja czy Hiszpania wprowadziły obowiązek dezynfekcji ścieków oczyszczonych, zwłaszcza tych, które będą wykorzystywane np. w rolnictwie, hodowli mięczaków czy w kąpieliskach [cyt. wg 3]. Do zanieczyszczenia źródeł wody mogą przyczynić się też ulewne deszcze i powodzie [4].

Czerpanie wody za pomocą pomp i przesyłanie jej wodociągiem tworzy kolejne punkty krytyczne w których może dochodzić do jej kontaminacji, zwłaszcza w małych lokalnych wodociągach. Znaczenie może mieć np. rodzaj pompy, hydroforu, kranu, tworzywa z jakiego są zbudowane rury, długość wodociągu a nawet intensywność poboru wody itd. W rurach tworzą się biofilmy i obrosty w skład których wchodzi żywe organizmy, takie jak bakterie, glony, grzyby i produkty ich metabolizmu, co ułatwia przeżywanie bakterii w tym chorobotwórczych np. z rodziny *Enterobacteriaceae*. Drobnoustroje żelazowe obecne w wodzie wspomagają korozję mechaniczną rur metalowych, a bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, *Flavobacterium* *Micrococcus*, czy grzyby *Aspergillus*, *Penicillium* niszczą rury z tworzyw sztucznych [5]. Urządzenia do napowietrzania wody (perlatory) montowane w kranach, które mają zmniejszyć pobór wody przez optyczne zwiększenie jej objętości. wspomagają wzrost bakterii tlenowych [6].

W porównaniu z innymi regionami Polski Lubelszczyzna ma wciąż mało wiejskich wodociągów

publicznych [7, 8]. Wsie, w których w tej pracy badano wodę nie mają wodociągu publicznego i w najbliższej przyszłości nie jest planowana jego budowa. W wodę mieszkańcy zaopatrują się za pomocą prywatnych wodociągów zagrodowych.

Cel badań: Celem badań była bakteriologiczna ocena wody studziennej dostarczanej przez wodociągi zagrodowe, w zakresie wybranych bakterii Gram-ujemnych ze szczególnym uwzględnieniem *Enterobacteriaceae* oraz głębokości studni i obecności w gospodarstwach zwierząt hodowlanych

Materiał

Badaniom poddano 71 próbek wody przeznaczonej do picia z 71 wodociągów zagrodowych usytuowanych w trzech wsiach. próbki wody pobierano z kranów po jednej próbce z jednego stanowiska. Wszystkie studnie, na których zbudowano badane wodociągi były w dobrym stanie technicznym ocembrowane i przykryte. Mimo, że wsie leżały na terenie jednej gminy i miały podobne warunki hydrogeologiczne, głębokość studni była różna. Ogólnie zawierała się w granicach od 4 do 40 m.

We wsi nr I zbadano 32 próbki wody, 17 (53,1%) pochodziło ze studni głębinowych (20 do 40 m), 10 (32,2%) z głębokich (12–18 m) i 5 (15,6%) ze studni płytkich (4–10 m). Spośród badanych studni jedna (3,1%) była usytuowana na terenie gospodarstwa w którym hodowano trzodę na skalę przemysłową, (około 300 sztuk), w 5 (15,6%) w ilości 10–20 sztuk, w 17 (53,1%) hodowano pojedyncze sztuki bydła, trzody kóz, drobiu, na terenie 8 (25%) gospodarstw przebywały jedynie zwierzęta domowe.

We wsi nr II zbadano 20 próbek wody, 5 (25%) ze studni głębokich (15 do 20 m) i 15 (75%) ze studni płytkich (8–10m). We wsi nr II w jednym gospodarstwie (5%) prowadzono hodowlę trzody do 20 sztuk w 10 (31,2%) gospodarstwach hodowano pojedyncze sztuki bydła i trzody oraz niewielkie stada drobiu. Na terenie 9 (45%) gospodarstw przebywały tylko zwierzęta domowe.

We wsi nr III zbadano 19 próbek wody, 8 (42,1%) ze studni głębokich (15–20 m) i 11 (57,9%) z płytkich (poniżej 10 m), w tym 5 (26,3%) ze studni 4–5 m. We wsi nr III w 15 (78,9%) gospodarstwach prowadzono wielkostatną hodowlę zwierząt, w tym trzody w 13 (68,4%) gospodarstwach i bydła w dwu (10,5%). W 4 gospodarstwach (21,0%) przebywały tylko zwierzęta domowe.

We wszystkich gospodarstwach z wielkostatną hodowlą gnojówka była składowana w szczelnych zbiornikach, a gnój na przystosowanych do tego celu płytach, skąd po pewnym okresie były rozłożone na pola w postaci nawozu.

Metody

Badania przeprowadzono metodą filtracji membranowej z wykorzystaniem podłoża agarowych: agar sojowy, EMB (selektywny do oznaczania i izolacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*) CIN (wybiórczo-różnicujący dla bakterii z rodzaju *Yersinia*). Hodowle inkubowano w 37° C, przez 24–48 godz. Ocenie poddawano barwę i morfologię kolonii, preparaty barwione metodą Grama. Identyfikację wyizolowanych szczepów przeprowadzono używając systemów API 20 E i API 20 NE (bioMérieux).

Wyniki

Zbiórcze wyniki badań podano w tabelach I i II. Woda w badanych studniach pochodziła z płytkich zasobów (do 10 m) do jakich należało 31 (43,6%) badanych studni, oraz z głębokich i głębinowych powyżej 10 m do których należało pozostałych 40 (56,3%) studni. W 14 (19,7%) gospodarstwach prowadzono wielkostadną hodowlę (powyżej 100 sztuk) zwierząt, w 6 (8,5%) średnią (10–20 sztuk) w 20 (38%) hodowano pojedyncze sztuki, a na terenie 31 (43,7%) nie przebywały zwierzęta hodowlane.

Tabela I. Charakterystyka studni: głębokość i lokalizacja na fermach hodowlanych
Table I. The depth of wells and the presence of farm animals

Nr wsi	Liczba próbek	Głębokość studni w metrach				Hodowla zwierząt (w sztukach)							
		10–40		< 10		powyżej 100		10–20		pojedyncze		brak	
		liczba	%	liczba	%	liczba	%	liczba	%	liczba	%	liczba	%
Wieś I	32	27	84,4	5	15,6	1	3,1	5	15,6	10	31,2	16	50,0
Wieś II	20	5	25	15	75			1	5,0	10	50,0	9	45,0
Wieś III	19	8	42,1	11	57,9	13	68,4					6	31,6
razem	71	40	56,3	31	43,6	14	19,7	6	8,5	20	38,0	31	43,7

Tabela II. Zbiórcze wyniki bakteriologicznych badań próbek wody
Table II. Total results of bacteriologic culture obtained from water samples

Pochodzenie próbek	Liczba zbadanych próbek	Izolacja			
		<i>Enterobacteriaceae</i>		„inne”	
		liczba	%	liczba	%
Wieś I	32	16	50	32	100
Wieś II	20	10	50	20	100
Wieś III	19	14	73,7	18	94,7
Ogólna liczba	71	40	56,3	70	98,6

Bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* wyizolowano w sumie z 40 (56,3%) badanych próbek wody a bakterie określone jako „inne” z 70 (98,6%).

Spośród *Enterobacteriaceae* do najczęściej izolowanych należały bakterie z rodzaju *Klebsiella spp.*, wyizolowano je z 20 (28,1%) próbek. W kolejności izolowane szczepy bakterii należały do rodzaju *Enterobacter* (19 – 26,4%), *Serratia* (10 – 14,0%), *Pantoea* (5 – 7,0%), *Salmonella* (4 – 5,6%), *Citrobacter* (2 – 2,8%), *Escherichia* i *Hafnia* (1,4%). Do najczę-

ściej izolowanych bakterii „innych” należały pałeczki z rodzaju *Pseudomonas*, obecne w 45 (63,3%) próbkach. W kolejności izolowano bakterie z rodzajów: *Aeromonas* (19 – 26,7%), *Vibrio* (15 – 21,1%), *Chryseomonas* (10 – 14,9%) *Alkaligenes*, *Acinetobacter* (po 2 – 2,8%), oraz *Stenotrophomonas* (1 – 1,4%).

Sumaryczne wyniki izolacji bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae* z uwzględnieniem hodowli zwierząt i głębokości studni przedstawiono w tabeli III.

Tabela III. Wyniki izolacji *Enterobacteriaceae* z próbek wody z uwzględnieniem głębokości studni i hodowli zwierząt

Table III. *Enterobacteriaceae* due to the depth of wells and the presence of farm animals

Rodzaj studni	Gospodarstwa z hodowlą zwierząt			Gospodarstwa bez hodowli zwierząt			Ogólna liczba studni		
	liczba studni			liczba studni					
	zbadanych	dodatnich		zbadanych	dodatnich		zbadanych	dodatnich	
Studnie płytkie	17	14	82,3%	14	8	57,1 %	31	22	71%
Studnie głębokie	21	12	57,1%	19	6	31,6%	40	18	45%
Ogólna liczba	38	26	68,4%	33	14	42,4%	71	40	56,3%

Na terenie 38 (53,5%) gospodarstw w których prowadzono hodowlę zwierząt było 21 (29,5%) studni głębinowych oraz głębokich i 17 (23,9%) płytkich. *Enterobacteriaceae* wyizolowano z 12 (57,1%) studni głębokich i 14 (82,3%) płytkich, w sumie z 26 (68,4%) studni.

Na terenie 33 (46,4%) gospodarstw w których nie hodowano zwierząt, było 19 (26,7%) studni głębinowych i 14 (19,7%) płytkich. *Enterobacteriaceae* wyizolowano z 6 (31,6%) studni głębokich i 8 (57,1%) płytkich, w sumie z 14 (42,4%) studni.

We wsi nr I (tabela IV) 16 (50,0%) próbek wody było skażonych bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae*, w czterech próbkach stwierdzono współwystępowanie kilku rodzajów bakterii. W sumie wyizolowano 21 szczepów, które należały do 6 rodzajów: *Enterobacter* (obecny w 7 próbkach), *Escherichia* (w 1 próbce), *Citrobacter* (w 2 próbkach), *Serratia* (w 6 próbkach), *Klebsiella* (w 2) i *Salmonella* (w 2 próbkach). Koncentracja bakterii w 100 ml próbki zawierała się w granicach od 3 do 50 komórek. Z 28 badanych studni głębinowych i głębokich, 9 było usytuowanych w gospodarstwach z hodowlą zwierząt, 18 bez zwierząt hodowlanych, bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, wyizolowano odpowiednio z 5 i 6 studni. Wszystkie (4) badane studnie płytkie były zlokalizowane w gospodarstwach z hodowlą zwierząt i z wszystkich wyizolowano *Enterobacteriaceae*.

Z wszystkich próbek wody pobranych ze studni ze wsi nr I, bez względu na ich głębokość i lokalizację wyizolowano bakterie „inne”, które należały do 5 rodzajów: *Aeromonas*, (obecny w 9 próbkach) *Alcaligenes* (2), *Chryseomonas* (4) *Pseudomonas* (14) i *Vibrio* (14). W 10 próbkach stwierdzono współwystępowanie dwu rodzajów bakterii. Koncentracja bakterii zawierała się w granicach od 10 do ponad 200 komórek w 100 ml, w 18 (56,2%) próbkach była wyższa niż 100 kolonii.

We wsi nr II (tabela V) w 10 (50,0%) próbkach stwierdzono obecność bakterii z rodziny *Enterobac-*

teriaceae, w 6 stwierdzono współwystępowanie kilku rodzajów bakterii. Wyizolowane szczepy w liczbie 20 zaliczono do 5 rodzajów: *Enterobacter* (5 próbek), *Klebsiella* (6), *Salmonella* (2), *Serratia* (1) i *Pantoea* (6). Koncentracja bakterii wahała się od 8 do 50 komórek w 100 ml.

Z 5 zbadanych studni głębokich, 4 znajdowały się w gospodarstwach ze zwierzętami, w 3 z nich stwierdzono obecność *Enterobacteriaceae*. Z 15 badanych studni płytkich 7 znajdowało się w gospodarstwach ze zwierzętami, 8 bez zwierząt, *Enterobacteriaceae* wyizolowano odpowiednio z próbek wody z 4 i 3 studni.

Z wszystkich badanych próbek wody ze wsi nr II wyizolowano bakterie „inne” zaliczone do 3 rodzajów: *Aeromonas* (obecny w 6 próbkach), *Pseudomonas* (15) i *Stenotrophomonas* (1). W dwu próbkach współwystępowały bakterie *Pseudomonas* i *Aeromonas*, w pozostałych 18 stwierdzono obecność wyłącznie monokultur. Koncentracja bakterii zawierała się w granicach 12 do 200 komórek, w 9 (45,0 %) próbkach był więcej niż 100 kolonii w 100 ml.

We wsi nr III (tabela VI) z 14 (73,7%) próbek wyizolowano w sumie 26 szczepów bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, w tym w 9 próbkach stwierdzono współwystępowanie kilku rodzajów. Wyizolowane szczepy zaliczono do 5 rodzajów: *Enterobacter* (izolowany z 9 próbek), *Hafnia* (1), *Klebsiella* (12), *Serratia* (2), *Pantoea* (1). Koncentracja bakterii zawierała się w granicach od 5 do 180 komórek w 100 ml wody.

Wszystkie (8) badane w tej wsi studnie głębokie i 6 płytkich (na 11) znajdowały się na terenie ferm hodowlanych, bakterie wyizolowano z wody z 4 studni głębokich i z 6 płytkich i dodatkowo z 5 studni płytkich z gospodarstw bez ferm.

Ze wsi nr III z jednej próbki wody (ze studni głębinowej z gospodarstwa z wielkostadną hodowlą bydła) nie wyizolowano bakterii „innych”. Z pozostałych próbek wyizolowano bakterie należące do 5

Tabela IV. Wyniki bakteriologicznych badań próbek wody ze wsi nr I
Table IV. Results of bacteriology examinations in water samples in village no. I

Nr studni	Hodowla zwierząt	Głębokość studni w m	Izolacja			
			<i>Enterobacteriaceae</i>		„inne”	
			jtk ³	rodzaj gatunek	jtk	rodzaj gatunek
1	średnia ¹	5	3	<i>K. planticola</i>	200	<i>Ps. alkaligenes</i>
2	średnia	20	5	<i>Ser. odorifera</i>	200	<i>Ps. alkaligenes</i> <i>Chrys. luteola</i>
			8	<i>K. planticola</i>		
3	pojedyncze	40	50	<i>Ser. plymuthica</i>	20	<i>Ps. putida</i>
			5	<i>Ser. odorifera</i>		
4	brak	12	5	<i>Ser. odorifera</i>	50	<i>Aer. salmonicida</i>
5	wielkostatna ²	36	10	<i>Ent. cloacea</i>	100	<i>Aer. hydrophila</i>
6	średnia	8	50	<i>Ent. cloacea</i>	10	<i>Pseudomonas spp.</i>
7	brak	24	10	<i>E. coli</i>	20	<i>Pseudomonas spp.</i>
			20	<i>Ent. cloacea</i>		
			6	<i>Salmonella spp.</i>		
8	pojedyncze	33	8	<i>Ent. cloacea</i>	150	<i>Aer. salmonicida</i>
			4	<i>Salmonella spp.</i>		
9	pojedyncze	30	15	<i>Ent. cloacea</i>	50	<i>Ps. mesophilica</i>
10	brak	18	30	<i>Ser. plymuthica</i>	30	<i>Ps. mesophilica</i>
11	brak	30			100	<i>V. vulnificus</i>
12	pojedyncze	9	14	<i>Ser. plymuthica</i>	200	<i>Ps. putida</i>
13	średnia	5	15	<i>Ser. plymuthica</i>	200	<i>Ps. putida</i>
14	pojedyncze	34	30	<i>Ser. fonticola</i>	200	<i>Ps. putida</i>
15	brak	15			20	<i>Chrys. luteola</i>
16	brak	15	4	<i>Citro. freundii</i>	50	<i>V. vulnificus</i>
					150	<i>V. vulnificus</i>
18	brak	20	20	<i>Ent. cloacea</i>	50	<i>Aer. hydrophila</i>
					40	<i>b. vulnificus</i>
19	średnia	20			80	<i>Ps. diminuta</i>
20	brak	20			10	<i>Alc. faecalis</i>
					50	<i>Ps. diminuta</i>
21	pojedyncze	15	8	<i>Ent. cloacea</i>	50	<i>Ps. diminuta</i>
22	pojedyncze	20			80	<i>Aer. hydrophila</i>
					50	<i>V. fluwialis</i>
23	pojedyncze	20			100	<i>Aer. hydrophila</i>
					60	<i>V. fluwialis</i>
24	brak	18			100	<i>Vibrio fluwialis</i>
25	brak	20			150	<i>V. fluwialis</i>
26	pojedyncze	18			200	<i>Chrys. luteola</i>
27	pojedyncze	20			100	<i>Chrys. luteola</i>
					50	<i>V. fluwialis</i>
28	brak	15			100	<i>V. fluwialis</i>
29	brak	20			10	<i>Aer. hydrophila</i>
					80	<i>Vibrio fluwialis</i>
30	brak	10			20	<i>Alkali. faecalis</i>
					50	<i>Ps. diminuta</i>
					50	<i>V. vulnificus</i>
31	brak	15			50	<i>Aer. hydrophila</i>
					40	<i>V. vulnificus</i>
32	brak	15	50	<i>Citro. freundii</i>	100	<i>Aer. hydrophila</i>
					50	<i>V. fluwialis</i>

¹ 10–20 sztuk

² > 100 sztuk

³ jednostki tworzące kolonie (w 100 ml)

rodzajów *Pseudomonas* (obecny w 16 próbkach), *Chryseomonas* (6), *Acinetobacter* (2), *Aeromonas* (2) *Vibrio* (2) i *Stenotrophomonas* (1). W 9 próbkach stwierdzono współwystępowanie kilku rodzajów bakterii, w 9 monokultury, głównie *Pseudomonas* (8) i w jednej próbce *Vibrio*. Liczba bakterii zawie-

rała się w granicach od 50 do ponad 200 kolonii, w 14 próbkach (73,7%) była równa lub wyższa niż 100 kolonii w 100 ml.

W wodzie z żadnej z badanych studni nie stwierdzono obecności bakterii z rodzaju *Shigella* ani *Yersinia*.

Tabela V. Wyniki bakteriologicznych badań próbek wody ze wsi nr II
Table V. Results of bacteriology examinations in water samples in village no. II

Nr studni	Hodowla zwierząt	Głębokość studni w m	Izolacja			
			<i>Enterobacteriaceae</i>		„inne”	
			jtk ²	rodzaj gatunek	jtk	rodzaj gatunek
1	pojedyncze	10	20	<i>Ent. cloaceae</i>	200	<i>Ps. alkaligenes</i>
2	brak	20	8	<i>K. planticola</i>	4 200	<i>Aer. salmonicida</i> <i>Ps. alkaligenes</i>
3	pojedyncze	10			10 80	<i>Aer. salmonicida</i> <i>Ps. putida</i>
4	średnia ¹	10	20	<i>Salmonella spp.</i>	50	<i>Ps. alkaligenes</i>
5	pojedyncze	20	40	<i>K. pneumoniae</i> <i>Pantoea spp.</i>	100	<i>Aer. hydrophila</i>
6	pojedyncze	20	8 10	<i>Kl pneumoniae</i> <i>Ser. Fonticola</i>	100	<i>Aer. hydrophila</i>
7	pojedyncze	8	20 10 20	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. oxytoca</i> <i>Pantoea spp.</i>	100	<i>Ps. fluorescens</i>
8	pojedyncze	10	20 20 30 20	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. oxytoca</i> <i>Pantoea spp.</i> <i>Salmonella spp.</i>	100	<i>Ps. fluorescens</i>
9	pojedyncze	6			100	<i>Ps. aureofaciens</i>
10	pojedyncze	5			100	<i>Ps. aureofaciens</i>
11	brak	8			50	<i>Ps. vesicularis</i>
12	brak	8			50	<i>Ps. vesicularis</i>
13	brak	9			30	<i>Steno. maltophilia</i>
14	brak	9			12	<i>Ps. fluorescens</i>
15	brak	10	20	<i>Pantoea spp.</i>	50	<i>Ps. putida</i>
16	brak	10	50	<i>Pantoea spp.</i>	50	<i>Ps. putida</i>
17	pojedyncze	15			30	<i>Aer. hydrophila</i> <i>Salmonella spp.</i>
18	pojedyncze	15	10 20	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. oxytoca</i>	100	<i>Ps. putida</i>
19	brak	9			20	<i>Aer. hydrophila</i>
20	brak	10	10 10 10	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. pneumoniae</i> <i>Pantoea</i>	50	<i>Aer. hydrophila</i>

¹ 10–20 sztuk

² jednostki tworzące kolonie (w 100 ml)

Tabela IV. Wyniki badań próbek wody ze wsi nr III

Table IV. Results of bacteriology examinations in water samples in village no. III

Nr studni	Hodowla zwierząt	Głębokość studni w m	Izolacja			
			<i>Enterobacteriaceae</i>		„inne”	
			jtk ³	rodzaj gatunek	jtk	rodzaj gatunek
1	wielkostadna ¹	4	20 30	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. planticola</i>	200	<i>Aer. hydrophila</i> <i>Aci. lwofii</i> <i>Ps. diminuta</i>
2	wielkostadna	5	5	<i>Ent. cloaceae</i>	30 50	<i>Chrys. luteola</i> <i>Ps. diminuta</i>
3	wielkostadna	15	20 10 10	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. terrigena</i> <i>Ser. odorifera</i>	100	<i>Ps. alkaligenes.</i>
4	wielkostadna	15			100	<i>Ps. alkaligenes</i>
5	wielkostadna	20	150 30	<i>K. oxytoca</i> <i>Ser. odorifera</i>	100 20 100	<i>Aci. lwofii</i> <i>Chrys. luteola</i> <i>Ps. alkaligenes</i>
6	wielkostadna	20			100 1 100	<i>Aer. hydrophila</i> <i>Chrys. luteola</i> <i>Ps. alkaligenes</i>
7	wielkostadna krowy	20				
8	wielkostadna	20			200	<i>Ps. alkaligenes</i>
9	wielkostadna krowy	20	10 50	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. planticola</i>	100	<i>Ps. alkaligenes</i>
10	wielkostadna	20	20	<i>K. planticola</i>	100	<i>Ps. alkaligenes</i> <i>Steno.maltophla</i>
11	brak	10	20 100	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. oxytoca</i>	50	<i>V. fluvialis</i>
12	wiekostadna	10	30 100	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. oxytoca</i>	50	<i>Ps. vesicularis</i>
13	wiekostadna	8	100	<i>K. oxytoca</i>	30 100	<i>Chrys. luteola</i> <i>Ps. alkaligenes</i>
14	wiekostadna	9	10 20	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. oxytoca</i>	20 80	<i>Chrys. luteola</i> <i>Ps. alkaligenes</i>
15	brak	4	100 50	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. oxytoca</i>	200	<i>Ps. diminuta</i>
16	brak	5	50 80	<i>Ent. cloaceae</i> <i>K. planticola</i>	50	<i>Ps. putida</i>
17	brak	5	10 20	<i>Haf. alvei</i> <i>Ser. liquefaciens</i>	30 100	<i>Chrys. luteola</i> <i>Vibrio vulnificus</i>
18	brak	10			200	<i>Ps. alkaligenes</i>
19	brak	8	100 10	<i>K. terrigena</i> <i>Pantoea spp.</i>	50 100	<i>Aer. hydrophila</i> <i>Ps. alkaligenes</i>

¹ > 100 sztuk

² jednostki tworzące kolonie (w 100 ml)

Dyskusja

Woda z wiejskich studni zaopatrujących w wodę jedno gospodarstwo w większości przypadków nie jest badana pod względem przydatności do spożycia. Jednak kiedy jest źródłem wody dla dużej grupy osób lub dostarcza wodę do specjalistycznych gospodarstw hodowlanych badanie takie jest obowiązkowe i jest okresowo wykonywane (informacje z wywiadu).

Normy krajowe [9] i europejskie [10] zobowiązują do badania wody przeznaczonej do picia w zakresie określonych parametrów biologicznych, fizykochemicznych i organoleptycznych. W badaniu mikrobiologicznym wykrywa się m.in. bakterie grupy coli, które świadczą o świeżym zanieczyszczeniu wody odchodami. Obecność tych bakterii sygnalizuje też, że wodzie poza bakteriami wskaźnikowymi, mogą znajdować się również inne drobnoustroje pochodzenia jelitowego, groźne dla zdrowia. W prezentowanych badaniach w 56,3% próbek stwierdzono obecność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, w tym z grupy coli w 43,7%. W 3 próbkach wody bakteriom tym towarzyszyły *Salmonella*. *Salmonella* w towarzystwie bakterii grupy coli wykryto również we wcześniejszych badaniach własnych próbek wody ze studni ze innych wsi z Lubelszczyzny. Badane studnie były w większości płytkie (85,5%) 5 do 2 m, były zlokalizowane na terenach bez wielkostadnej hodowli zwierząt. Skażenie wody w nich przez *Enterobacteriaceae* było znacznie wyższe niż w prezentowanych badaniach, odsetek próbek wody skażonej wynosił średnio 75% [11]. Inni autorzy w kraju i za granicą również wykazywali wysoki odsetek (nawet do 90%) studni zawierających wodę skażoną bakteriami grupy coli, oraz innymi drobnoustrojami jak np. *Shigella*, *V. cholerae*, *Yersinia*, pierwotniakami *Giardia*, *Cryptosporidium* [11–16]. Przecinkowca *Vibrio* w aktualnych badaniach wyizolowano w sumie z 21,1% próbek wody, jednak poza dwoma przypadkami były one obecne głównie w studniach jednej wsi, gdzie wykryto je w 43,8% badanych próbek.

Pałeczek *Shigella* ani *Yersin* nie wykryto w żadnej próbce wody badanej w tej pracy, nawet w próbkach wody pobranych ze studni z wsi z intensywną hodowlą trzody, która uchodzi za jeden z ważniejszych rezerwuarów *Yersinia*. We wcześniejszych badaniach własnych pałeczki *Yersinia* wykryto w 20,8% próbek wody ze studni z jednej ze wsi na terenie Lubelszczyzny [14]. Maleszewska i wsp. wykazała ich obecność w 46,0% badanych próbek wody studziennej, nawet przy braku obecności bakterii wskaźnikowych [15]. Pałeczki *Yersinia* oraz inne z rodziny *Enterobacteriaceae* wykryła Gołaś i wsp. w wodzie ze studni głębinowych usytuowanych na terenach na których prowadzona była intensywna hodowla

zwierząt [16]. Dane epidemiologiczne wskazują, że liczba zachorowań w kraju na jersiniozę z roku na rok rośnie. W 2006 r. zarejestrowano 185 zachorowań, w 2007 – 238 i w 2008 – 241. Jednocześnie epidemiolodzy donoszą o „alarmującym wzroście zakażeń ludzi w Polsce amerykańskim szczepem pałeczek *Yersinia enterocolitica* O8. [17].

W analizie uzyskanych wyników z uwzględnieniem tylko hodowli zwierząt, dwa razy częściej stwierdzano obecność *Enterobacteriaceae* w próbkach wody ze studni z gospodarstw w których prowadzono hodowlę zwierząt niż w próbkach wody ze studni z gospodarstw na terenie których nie hodowano zwierząt, odpowiednio 36,6% i 18,3%. Uwzględniając tylko głębokość studni, stwierdzono niewielką różnicę w skażeniu wody, w sumie bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* wyizolowano z 25,4% studni głębokich i z 31% studni płytkich co sugeruje, że w tym przypadku głębokość studni nie miała zasadniczego wpływu na bakteriologiczną jakość wody. Przy uwzględnieniu obu parametrów równocześnie okazuje się, że studnie płytkie z gospodarstw z hodowlą zwierząt były skażone w 82,3%, podczas gdy bez hodowli w 57,1%, studnie głębokie odpowiednio w 57,1% i 31,6%, czyli w obu przypadkach skażenie wody było wyższe w gospodarstwach z hodowlą zwierząt średnio o 25%. Potwierdza to, że obecność zwierząt hodowlanych wpływa na jakość wody w obu rodzajach studni.

Analizując stopień zanieczyszczenia wody przez *Enterobacteriaceae* w każdej z trzech wsi osobno, okazało się, że są różnice. Wsie te różniła zarówno głębokość studni jak i intensywność hodowli zwierząt. Najwięcej studni (73,3%) z najbardziej zanieczyszczoną wodą przez *Enterobacteriaceae* dostarczały studnie ze wsi nr III, natomiast jakość wody ze wsi nr I i II była porównywalna, po 50% studni zawierało wodę skażoną. Z próbek wody ze wsi nr III wyizolowano najwięcej szczepów (26) *Enterobacteriaceae* (we wsiach I i II 21 i 20 szczepów), najwięcej (47,3%) próbek zawierało po dwa i więcej rodzajów bakterii równocześnie (pozostałe wsie 11,8% i 30%). Również w próbkach wody z tej wsi koncentracja bakterii była najwyższa, dochodziła do 180 komórek w 100 ml, w pozostałych do 50. Jednak w żadnej z próbek wody ze wsi nr III nie wyizolowano pałeczek *Salmonella* ani *E. coli*, które były izolowane z wody dwu pozostałych wsiach.

Z uwagi na fakt, że głównie we wsi nr III były zlokalizowane duże fermy hodowlane, 78,9% studni było usytuowanych na ich terenie, w tym 57,9% studni było płytkich, to właśnie w niej istniało największe ryzyko zanieczyszczenia wody przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*. Jednak w tej wsi gospodarka gnojem i gnojowicą (według deklaracji ustnej właścicieli) była prawidłowa, co – jak wska-

zują wyniki badań – nie zabezpieczyło skutecznie wody przed zanieczyszczeniem. W gospodarstwach tradycyjnych z pojedynczymi sztukami zwierząt traktowanie produktów ubocznych hodowli w większości przypadków było również tradycyjne. Uzyskane wyniki badań wskazują na duży wpływ wielkostadnej hodowli zwierząt na czystość zasobów wody.

Spektrum wyizolowanych *Enterobacteriaceae* w trakcie tych badań i własnych wcześniejszych, dotyczących wody z wodociągów zagrodowych, było podobne (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Pantoea*) z dominacją gatunku *Klebsiella* [11, 16]. W odniesieniu do bakterii „innych” skład jakościowy i ilościowy bakterii różni się. W aktualnie badanych próbkach wody ze wszystkich wsi dominował rodzaj *Pseudomonas*, tylko we wsi nr I równie często jak *Pseudomonas* izolowano *Vibrio* (43,7%). W studniach badanych wcześniej stwierdzono niższy odsetek próbek wody zawierających bakterie inne (77,8%) aktualnie (98,6%), jednak były reprezentowane przez większą (9) liczbę gatunków w tym potencjalnie chorobotwórczych, np. *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Chromobacterium violaceum*) nie izolowanych aktualnie. Dominującymi rodzajami bakterii wykrywanych we wcześniejszych badaniach były *Flavimonas* i *Chryseomonas* (po 27,7%), natomiast *Aeromonas* i *Vibrio* aktualnie izolowane stosunkowo często (26,7%, 21,1%), we wcześniejszych badaniach były obecne w pojedynczych próbkach [11]. Wyniki uzyskane przez Gołaś i wsp. w zakresie obecności bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i *Aeromonas* bardziej korespondują z wynikami uzyskanymi we wcześniejszych badaniach niż z aktualnie prezentowanymi [11, 16].

Bakterie *Aeromonas* w wodzie przeżywają długi okres, co wykazały czteroletnie badania wody studziennej, w których stwierdzono, obecność tych samych klonów *Aeromonas hydrophila* przez cały okres badań, natomiast bakterie grupy coli były chwilowymi mieszkańcami wody studziennej [18]. *Aeromonas hydrophila* może być przyczyną gastroenteritis szczególnie u małych dzieci, osób starszych a także u innych osób z obniżoną odpornością [18–20]. Dodatkowo, podobnie jak bakterie z rodzajów *Pseudomonas* i *Acinetobacter* może wchodzić w skład biofilmu tworzącego się w rurach wodociagowych przyczyniając się do ich niszczenia [5, 19].

Woda jest uważana głównie za nośnika bakterii wnikających do organizmu przez układ pokarmowy, mniej uwagi poświęca się innym drogom, np. oddechowym. Wdychanie aerozolu zawierającego np. *Acinetobacter calcoceticus*, *Aeromonas hydrophila*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella oxytoca*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pantoea agglomerans* i in.

może być przyczyną chorób zakaźnych jak i o podłożu immunotoksycznym [20–23]. Obecność bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, jest monitorowana przez obowiązkowe badania. Wykrycie bakterii grupy coli w wodzie przeznaczonej do picia skutkuje wprowadzeniem działań naprawczych. Obecność bakterii innych jest monitorowana jedynie jako ogólna liczba bakterii. Nie ma obowiązku badania jakości tych bakterii. Woda studzienna dostarczana przez wodociągi zagrodowe może występować, podobnie jak woda z wodociągów publicznych w postaci aerozolu tworzonego np. przez prysznice, co niesie ryzyko wystąpienia chorób takich jak np. legionelloza, *alveolitis alergica* czy *toxic alveolitis*, które często pozostają nierozpoznane [23, 24]

Woda studzienna nie poddawana chlorowaniu czy innym zabiegom rewitalizacji jest w dużym stopniu skażona przez Gram-ujemne bakterie należące jak i nie należące do rodziny *Enterobacteraceae*. Jednak, jakość wody pitnej w Polsce w 2007 dostarczanej przez wodociągi publiczne o dużej jak i małej wydajności również pozostawia wiele do życzenia. W analizie 6 wybranych parametrów (w tym *E. coli* i *enterococci*) wykazano, że najwyższy odsetek analiz przekraczających wartości ponadnormatywne dotyczył enterokoków. Skażenie wody wodociągowej występowało na terenie całego kraju jednak największe odnotowano w województwach małopolskim i świętokrzyskim. W skali kraju przy uwzględnieniu 100 parametrów zakwestionowano co 5. próbkę z wodociągów publicznych [8].

Wnioski

1. Przyjmując, że czynniki wpływające na jakość wody studziennej dostarczanej przez wodociągi zagrodowe takie jak np.: stan techniczny studni, jakość rur, długość wodociągu w badanych obiektach nie różniły się zasadniczo, można przypuszczać, że głównym źródłem zanieczyszczenia wody przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae* była intensywna hodowla zwierząt,
2. W badanych studniach zastosowane zabezpieczenia do ochrony zasobów wody nie były w pełni skuteczne.

Wykaz piśmiennictwa

1. George I., Crop.P, Servai P. Faecal removal in wastewater treatment plants studied by plate counts and enzymatic methods. *Water Res.* 2002. 36..
2. Szumilas T., Michalska M., Bartoszewicz M.: Charakterystyka bakteriologicznego zanieczyszczenia ścieków komunalnych z dużej aglomeracji miejskiej i ocena stopnia redukcji tego zanieczyszczenia w procesie biologicznego oczyszczania ścieków. *Roczn. PZH* 2001, 52, 155-165.
3. Ołańczuk Neyman K.: Mikrobiologiczne aspekty odprowadzania ścieków do przybrzeżnych wód morskich. *Inżynieria Morska I Geotechnika* 2003 2, 55-62.

4. Tymczyna L, Gołuszka J, Chmielowiec Korzeniowska A., Drabik A.: Jakość wody pitnej wykorzystywanej na potrzeby gospodarce w rejonach zagrożeń powodziowych. *Acta Agrophysica*, 2003, 1, 191-196
5. Wąsowski J, Grabińska-Łaniewska A.: Wtórne zanieczyszczenia wody w warszawskiej sieci wodociągowej, *Ochrona Środowiska*, 1995, 58, 62- 65
6. Stojek N.M.,: Bakteriologiczne badania wody z wodociągów wiejskich w aspekcie potencjalnego zagrożenia dla zdrowia ludzi bakterie Gram-ujemne. *Med. Ogólna*, 2003, 9, 218-226.
7. Kołodzyńska Gawrysiuk R.: Charakterystyka zaopatrzenia wsi w wodę w województwie lubelskim. *Annales UMCS Lublin- Polonia* 2002, LVII, 13. 235- 256.
8. Skotak K., Świątczak J., Bratkowski J.: Jakość wody przeznaczonej do spożycia w Polsce w roku 2007., *Med. Środowiska*, 2008, 2, 9-15
9. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 29 marca 2007 r. w sprawie jakości wody przeznaczonej do spożycia przez ludzi. *Dz. U. Nr 61 poz 417*
10. Council Directive 98/83/EC of 3 November 1998 on the quality of water intended for human consumption. *O J Eur Comm L 05/12/1998*, 330 32-54
11. Stojek N.M. :Gram-ujemne pałeczki w wodzie źródłanej i studziennej przeznaczonej do picia. *Med Środowiskowa*; 2008: 11. 35- 42
12. Nogueria G, Nakamura C.V, Tognim M.C., Abreu Filho B.A., Filho B.P.: Microbiological quality of drinking water of urban and rural communities, Brasil, *Rev Saude Pulica*, 2003, 37., 232-236.
13. Leclerc H, Schwartzbrod L., Dei-Cas E.: Microbiol agents associated with waterborne diseases. *Crit rev Microbiol* 2002, 28, 371-409.
14. Stojek N.M., Sroczyńska-Sikorska M., Kłapeć T.: Badania wody studziennej w kierunku bakterii z rodzaju *Yersinia* (w:) *Zaopatrzenie w wodę miast i wsi* (ed:) *Polskie Zrzeszenie Inżynierów i Techników Sanitarnych*. Poznań, 1994, 757-762.
15. Maleszewska J., Krogulska B., Bielecka Z.: Występowanie bakterii z rodzaju *Yersinia* w wodzie studni przydomowych. *Roczn PZH* 1988, 5, 396-403
16. Meldunki o zachorowaniach na choroby zakaźne i zatruciach związkami chemicznymi Państwowego Zakładu Higieny i Głównego Inspektora Sanitarnego 2006, 2007, 2008 , 5/B/06
17. Gołaś I., Filipkowska Z., Lewandowska D.: Potentially pathogenic bacteria from the family Enterobacteriaceae, *Pseudomonas* and *Aeromonas* sp. in waters designated for drinking and household purposes. *Polish J Environ Studies* 2002, 11, 325-330.
18. Kuhn I., Huys G., Coopman R., Kersters K., Janssen P. A 4-year study of the diversity and persistence of coliforms and *Aeromonas* in the water of Swedish drinking water well. *Can.J Microbiol*, 1997, 43 9-16
19. Kręgiel D., Rygała A.: Bakterie z rodzajów *Aeromonas* i *Pseudomonas* jako wskaźniki kolonizacji systemów dystrybucji wody pitnej. *Ochrona przed korozją. Rozkład i korozja mikrobiologiczna materiałów technicznych. Materiały konferencyjne VI Konferencja Naukowa*. Łódź, 2006, 197 –200.
20. Zaremba L.M., Borowski J.: *Podstawy mikrobiologii lekarskiej*, PZWL, Warszawa 1994.
21. Pavlov D., de Wet C.M., Grabow W.O., Ehlers M.M.: Potentialy pathogenic features of heterotrophic plate count bacteria isolatet from treated and untreated drinking water. *Int J Fod-microbiol*. 2004, 1, 275-287
22. Rusian P.A, Rose J.B, Haas C.N., Geba C.P.: Risk assessment of opportunistic bacterial pathogens in drinking water. *Rev Environ Contam Toxicol* 1997, 152, 57
23. Stojek N.M., Dutkiewicz J. *Legionella* and other Gram-negative bacteria in potable water from various rural and urban sources *Ann Agric Environ Med*. 2006, 13, 323-335
24. Koschel D., Stark W., Karmann F., Sennekamp J., Mueller-Wenig D.: Extyrinisic allergic alveolitis caused by misting fountains. *Respir Med*. 2005, 99, 943-947

Adres do korespondencji:
Nimfa Maria Stojek
Zakład Biologicznych Szkodliwości Zawodowych
Instytutu Medycyny Wsi
20-090 Lublin, Jaczewskiego 2
e-mail: Nisto@poczta.fm