

На правах рукописи



Мурадов Сергей Васильевич

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
ФОРМИРОВАНИЯ И СОСТОЯНИЯ МЕСТОРОЖДЕНИЙ
ЛЕЧЕБНЫХ ГРЯЗЕЙ**

03.02.08 – Экология (биология)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Томск – 2014

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном учреждении науки Научно-исследовательском геотехнологическом центре Дальневосточного отделения Российской академии наук, в лаборатории биогеохимии и экологии.

Научный консультант:

доктор биологических наук, профессор
Кузякина Тамара Ивановна

Официальные оппоненты:

Ильинских Николай Николаевич, доктор биологических наук, профессор, государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Сибирский государственный медицинский университет Министерства здравоохранения Российской Федерации» (г. Томск), кафедра биологии и генетики, заведующий кафедрой

Намсараев Баир Бадмабазарович, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук (г. Улан-Удэ), лаборатория микробиологии, заведующий лабораторией

Стегний Владимир Николаевич, доктор биологических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» (г. Томск), лаборатория эволюционной цитогенетики Научно-исследовательского института биологии и биофизики, заведующий лабораторией

Ведущая организация:

Владивостокский филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук – научно-исследовательский институт медицинской климатологии и восстановительного лечения

Защита диссертации состоится 04 июля 2014 г. в 10-00 часов на заседании диссертационного совета Д 212.267.10, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36 (корпус НИИ ББ).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на сайте федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» www.tsu.ru.

Автореферат разослан «___» апреля 2014 г.

Материалы по защите диссертации размещены на официальном сайте ТГУ:
http://www.tsu.ru/content/news/announcement_of_the_dissertations_in_the_tsu.php

Ученый секретарь
диссертационного совета

Просекина Елена Юрьевна

Общая характеристика работы

В настоящей работе, наряду с мониторинговым описанием физико-химических, санитарно-микробиологических свойств пелоида за время эксплуатации грязелечебного месторождения, определяется структура специфического микробного сообщества, участвующего в формировании лечебной грязи, и описана биологическая активность грязи, как важнейшее свойство, связанное с ее самоочистительной, регенеративной и лечебной способностью, а также устанавливаются принципы разработки пелоидных препаратов, аналогов лечебной грязи.

Актуальность работы. До настоящего времени недостаточно изучена лечебная грязь единственного на Камчатке разведанного и эксплуатируемого месторождения «Озеро Утиное», обеспечивающего лечебной грязью Паратунскую курортную зону Камчатского края. За период более 50 лет эксплуатации месторождения, здесь проводились грязеразведочные работы, уточняющие ресурсы и определявшие кондиции озерно-ключевой иловой сульфидной грязи. В течение более чем 40 последних лет наблюдений отмечаются негативные изменения параметров лечебной грязи «Озеро Утиное», связанные с загрязнителями. Актуальность настоящей работы заключается в оценке и компенсации изменений лечебной грязи, связанные с экологическим состоянием месторождения, на основе ее активирования и получения пелоидных препаратов с высоким уровнем биологической активности, что обеспечивает эффективность курортного и широкое внекурортного грязелечения.

Цель и задачи исследования. Целью работы является оценка экологического состояния лечебной грязи и покровных вод месторождения «Озеро Утиное» Камчатского края, разработка методов восстановления нарушенных кондиций лечебной грязи и повышения ее биологической активности, разработка и получение пелоидных препаратов, обеспечивающих широкое лечебное применение пелоидов данного месторождения. Достижение цели исследования предполагает решение следующих задач:

1. Осуществить мониторинг экологического состояния месторождения ключевой, иловой, сульфидной лечебной грязи по физическим, физико-химическим, биохимическим, микробиологическим свойствам, содержанию и уровню абиотических и биотических загрязняющих факторов, установленных за время эксплуатации месторождения;
2. Исследовать процесс формирования лечебной грязи, ее кондиционность, биологическую активность и регенеративные свойства по физико-химическим, биохимическим и микробиологическим характеристикам;
3. Разработать мероприятия по экологическому преобразованию лечебной грязи, восстанавливающие нормативные кондиции санитарного состояния на основе стимулирования специфического микробного сообщества грязе-иловых отложений и оценить их эффективность;
4. Установить структурно-функциональную характеристику и направления физиологической активности сообщества бактерий лечебной грязи при ее формировании, в процессе хранения в грязехранилище и при экологической активации пелоида;

5. На основе молекулярно-биологических методов разработать методику для идентификации санитарно-показательных микроорганизмов лечебной грязи *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens*, установить качественный и количественный состав исследуемых микроорганизмов в грязевых растворах;

6. Разработать и получить пелоидные препараты на основе активированной лечебной грязи, провести их физико-химическое и тестологическое исследование по параметрам биологической активности.

Научная новизна исследования. Исследование является существенным дополнением к мониторинговым наблюдениям широкого спектра и уровня загрязнений лечебной грязи озера Утиное. Показана степень бактериального загрязнения грязевых отложений и покровных вод озера в течение более 40 лет наблюдений, из них более 20 лет с участием автора работы. Впервые проведены экспериментальные исследования по бактериально-химическому преобразованию лечебной грязи не только в связи с ее микробным загрязнением, но и повышением биологической активности, определяемой присутствием минеральных и органических компонентов, накапливаемых в результате жизнедеятельности стимулированного условиями инкубирования сообщества специфических микроорганизмов, тесно связанных с формированием лечебной грязи.

На основе классических микробиологических исследований и современных молекулярно-генетических методов выявлено загрязнение покровных вод озера санитарно-показательными микроорганизмами. Отмечается снижение загрязненности покровных вод с содержанием санитарно-показательных бактерий выше нормы и загрязненность грязе-иловых отложений до допустимой величины бактериального загрязнения.

Выявлена исходная регенерационная (очистительная) способность лечебной грязи по отношению к патогенной и условно-патогенной микрофлоре. Установлена регенерационная активность лечебной грязи в процессе ее хранения и экологической активации с разжижением, прогревом, барботированием. Методом биологического тестирования выявлена антибактериальная активность лечебной грязи оз. Утиное по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам.

Значительно дополнено исследование физико-химических свойств лечебной грязи в связи с изучением микроэлементного состава грязевых растворов и питающих вод грязеобразующего водоема, содержания и качества органического вещества лечебной грязи.

Установлен различный уровень бактериостатического и антибактериального действия грязевых экстрактов, полученных в существенно различающихся условиях инкубирования. Инкубирование лечебной грязи в аэробных и анаэробных условиях позволяет получать значительные изменения ее физико-химических и биологических свойств, что свидетельствует о том, что лечебная грязь не только обладает различными направлениями биологической активности, но и возможностью направленного изменения своей биологической активности в условиях инкубирования микробного сообщества. Полученные результаты глубокой экологической активации лечебной грязи яв-

ляются экспериментальными и теоретическими основами получения пелоидных препаратов из растворов и экстрактов лечебной грязи. Разработаны специфические праймеры для идентификации санитарно-показательных микроорганизмов. Установлена динамика изменений численности и соотношения физиологических групп микроорганизмов в процессах экологической активации пелоида.

Теоретическая значимость работы. Разработанная методология комплексной экологической оценки состояния грязелечебного месторождения, включающая длительный мониторинг физических, физико-химических, химических, биохимических, микробиологических параметров покровных вод и донных отложений, а также биологическое тестирование растворов и экстрактов лечебной грязи, формирует большой объем научных данных, позволяющих использовать их для прогнозирования негативных экологических ситуаций на фоне антропогенных и техногенных влияний, минимизации или ликвидации их последствий.

Научные результаты работы позволяют уточнить ПДК тяжелых металлов и других токсикантов, попадающих в водоемы различного хозяйственного значения, а также определяют экологичные пути, улучшающие санитарное состояние водных объектов. Итоги работы позволяют дополнить существующие меры охраны природы методами, восстанавливающими экологические кондиции природных субстратов, обобщают значение природных микробных сообществ в тенденциях изменений и формирования пелоидов.

Практическая значимость и внедрение результатов. На основании проведенных исследований создана методическая разработка по получению активированной лечебной грязи, водного экстракта лечебной грязи, получившая распространение в лечебно-профилактических учреждениях Камчатского края. Пелоидные препараты, полученные нами, использовались в курортных и внекурортных лечебных учреждениях Камчатского края и показали высокую эффективность при лечении заболеваний опорно-двигательного аппарата, гинекологических, стоматологических и других болезней. Курс лечения с применением пелоидных препаратов прошёл более 1000 человек. Установлена лечебная эффективность применения препаратов, превышающая 90%: препараты не вызывали осложнений и других нежелательных последствий. Методы преобразования лечебной грязи, разработка пелоидных препаратов позволяют, наряду с курортным лечением, шире использовать их непосредственно по месту жительства населения – в поликлиниках, профилакториях, фельдшеско-акушерских пунктах, а также в домашних условиях.

Получены акты внедрения пелоидных препаратов в курортные и внекурортные лечебно-профилактические учреждения.

Теоретические положения и практические рекомендации работы включены в лекционный материал для студентов, обучающихся по специальности «Биология» Камчатского государственного университета им. Витуса Беринга по предметам: «Экология микроорганизмов», «Микробиология природных сообществ».

Положения, выносимые на защиту

1. Установлено несоответствие нормативам содержания условно-патогенной флоры (при отсутствии патогенных микроорганизмов в грязевых отложениях и покровных водах месторождения). Специфическая иловая микрофлора лечебной грязи отличается разнообразием и достаточной численностью, но очистительная способность лечебной грязи озера снижена в связи с техногенным влиянием эксплуатации Паратунского гидротермального месторождения.

2. Микробиологические свойства растворов, полученных непосредственно из лечебной грязи озера, в процессе ее хранения в бассейнах грязехранилища и в условиях инкубирования с активированием, показывают различную степень их антибактериальных свойств, санитарной загрязненности и очистительной способности пелоида от условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

3. Экологическая активация лечебной грязи обеспечивает быстрое очищение от привнесенных санитарно-показательных – *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens* и патогенных микроорганизмов различных систематических групп. Химический состав и физико-химические показатели лечебной грязи в процессе активирования изменяются в связи с физиологической активностью специфической автохтонной микрофлоры лечебной грязи, связанной с условиями инкубирования.

4. Препараты активированной лечебной грязи по своим физико-химическим свойствам близки к грязевому раствору нативной грязи: по составу сульфатные, натриево-кальциевые, слабоминерализованные со слабокислой или нейтральной реакцией среды. Обладают ценным комплексом свойств – ранозаживлением от механических и ожоговых повреждений, антибактериальностью по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам различных систематических, морфологических, физиологических и биохимических групп (кокки, бациллы, капсулообразующие, спороносные, грамположительные, грамотрицательные), а также лишены токсичности и раздражающего действия на кожу и слизистые.

Апробация работы. Диссертация апробирована на расширенном заседании Ученого Совета НИГТЦ ДВО РАН и рекомендована к представлению в диссертационный совет. Основные положения работы были представлены на следующих конференциях, семинарах и форумах: международной научной конференции «Вода-порода» (Владивосток, 1994); международной конференции «Камчатка – уникальный геофизический, геохимический, геокосмический регион планеты» (Петропавловск-Камчатский, 1996); научно-практической конференции «Проблемы и направления горнопромышленного освоения Камчатской области» (Петропавловск-Камчатский, 1997); I, II, III и V международных научных конференциях «Вулканизм, биосфера и экологические проблемы» (Туапсе, 1998, 2000, 2003, 2009); II, IX и XI научных конференциях «Сохранение биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей» (Петропавловск-Камчатский, 2001, 2008, 2010); международной междисциплинарной конференции «Человек в прибрежной зоне: опыт веков» (Петропавловск-Камчатский, 2001); межрегиональном научном семинаре «Человек

на Севере: проблемы качества жизни» (Петропавловск-Камчатский, 2002); международной научной конференции «Извлечение минеральных компонентов из геотермальных растворов» (Петропавловск-Камчатский, 2005); международной научно-практической конференции «Дальневосточная весна» (Комсомольск-на-Амуре, 2007); I и II межрегиональных научно-практических конференциях «Камчатка – здравница северо-восточных регионов России» (Петропавловск-Камчатский, 2009, 2011); международном форуме «Экологический туризм: проблемы и перспективы развития на Дальнем Востоке» (Петропавловск-Камчатский, 2013); межлабораторных семинарах и Ученых советах НИГТЦ ДВО РАН в 2000–2013 гг.

Публикации по теме диссертации

По теме диссертации опубликовано 60 работ, в том числе 5 монографий и учебно-методических пособий, 15 статей в журналах из списка ВАК, 4 статьи в других рецензируемых журналах, около 30 статей и тезисов в изданиях и сборниках научных конференций.

Разделы диссертации по активации лечебной грязи и получению пеллоидных препаратов демонстрировались на 3-ем Московском международном салоне инноваций и инвестиций 2003 г. и были удостоены серебряной и бронзовой медали, а также получили отличительный приз выставки ЕХРО-2004 в Берлине. Монография «Экологическое решение проблем современного грязелечения» получила диплом конкурса на лучшую научную книгу 2007 года, проводимого Фондом развития отечественного образования

Личный вклад автора

Диссертационная работа является результатом многолетних (1992–2013 гг.) исследований по изучению лечебной грязи. Все результаты получены лично автором или при его непосредственном участии. Доля личного участия в совместных публикациях пропорциональна числу соавторов.

Личный вклад автора состоял в выборе направлений исследования, постановке конкретных задач, участии в полевых исследованиях, сборе материалов, непосредственном выполнении основных экспериментов, проведении лабораторных исследований по преобразованию лечебной грязи в процессе ее активации, физико-химических, микробиологических, биохимических и биотестологических исследованиях, научном анализе полученных результатов и их обобщении.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, 7 глав, заключения, выводов, списка литературы. Работа изложена на 237 страницах машинописного текста, содержит 35 таблиц, 21 рисунок. Список литературы включает 258 источников, из них 32 на иностранном языке.

Глава 1. Экология формирования лечебных грязей

В главе представлен анализ отечественных и зарубежных литературных источников по проблемам формирования лечебных грязей, их структуры, физико-химических, биохимических, микробиологических свойств и биологической активности.

Глава 2. Объекты и методы исследования

Основой для настоящей работы послужили многолетние наблюдения за экологическим состоянием месторождения лечебной грязи озера Утиное с 1991 по 2013 г., а так же создание средств и методов, компенсирующих нарушенные кондиции пелоидов на основе регенеративных процессов и активации лечебной грязи.

Объектом исследований являлось озеро Утиное как водоем, формирующий месторождение лечебной грязи, расположенный в 1,5 км на север от пос. Паратунка Елизовского района Камчатского края (Рис. 1).

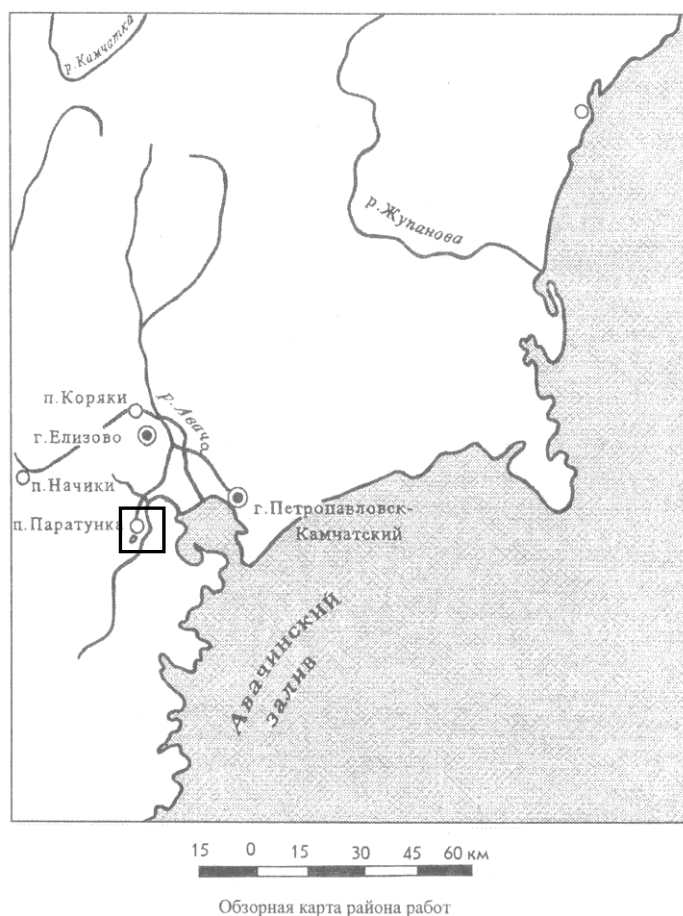


Рисунок 1. Обзорная карта района работ

В районе села Паратунка в руч. Паратунский и руч. Коркин впадают отработанные в теплообменниках воды Паратунских термальных источников с минерализацией 2,0 г/л, хлоридно-сульфатного, натриево-кальциевого состава. Исторически в грязевое месторождение изливались воды Нижне-Паратунских источников с близкими физико-химическими свойствами, но их объем был не сопоставим с объемом питающих поверхностных и ключевых вод.

Паратунское гидротермальное месторождение эксплуатируется с 1967 г. Эксплуатационные запасы месторождения по состоянию на 2003 г.: 24,8 тыс.м³/сут со средневзвешенной температурой 77°C. Воды месторождения по химическому составу азотные, кремнистые, высокотермальные, маломинера-

лизированные ($M = 1,1-2,2 \text{ г/дм}^3$), сульфатные, хлоридно-сульфатные кальциево-натриевые, натриево-кальциевые, щелочные, минеральные. Воды относятся к бальнеологической группе Ж и являются аналогами вод известных курортов: Кульдур, Монт-Дор, Пломбьер (Франция), Ротонда (Новая Зеландия), Висбаден (Германия). Исследования лечебной грязи оз. Утиное выполнены в соответствии с «Критериями оценки качества лечебной грязи, при их разведке использовании и охране, 1987», а также в соответствии с методическим руководством В.И. Бахман и др. (1956). Определение сероводорода проводилось согласно методике, представленной в ПНДФ 14.1:2.109-97 «Методика выполнения измерений массовых концентраций сероводорода и сульфидов в пробах природных и очищенных сточных вод фотометрическим методом с N, N-диметил-п-фенилендиамин». Содержание аммиака определялось согласно методике, представленной в РД 52.24.486-2009 «Массовая концентрация аммиака и ионов аммония в водах. Методика выполнения измерений фотометрическим методом с реактивом Несслера». Принципом получения пелоидного препарата из лечебной грязи оз. Утиное является водное экстрагирование грязе-иловой массы. Физико-химические исследования и биологическое тестирование препарата осуществлялось непосредственно после получения препарата, и далее – в процессе хранения препарата при температуре 3-5°C. Физико-химические свойства препарата и грязевого раствора исследовались по методикам: «Унифицированные методы анализа вод» под ред. Ю.Ю. Лурье (1973); А.Г. Родина (1965); О.А. Алекин и др. (1973). Щелочные, щелочно-земельные металлы, а также микроэлементы определялись при помощи Атомно-абсорбционного спектрофотометра AAS-6300 Shimadzu с пламенной и электротермической атомизацией. Анионный состав жидких сред определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием жидкостного хроматографа Shimadzu LC-20, оборудованного кондуктометрическим детектором. Гидрокарбонат-ионы определяли потенциометрически с использованием «Эксперт-001». Содержание кремниевой кислоты определяли фотоколориметрически с применением КФК-3. Физико-химические параметры лечебной грязи и покровных вод исследовались в сертифицированной химико-технологической лаборатории НИГТЦ ДВО РАН по стандартизированным методам, обеспечивающим достоверность результатов.

При изучении раздражающего влияния водного экстракта лечебной грязи препарат ВЭЛГ наносился на латеральную часть тела животных путем наложения марлевых тампонов размером 3x5 см, смоченных изучаемой субстанцией. Время воздействия 30 минут. В контрольных группах животных для нанесения использовалась дистиллированная вода. Наблюдение осуществлялось в течение трех недель. Критерием оценки изменений являлось проявление реакции раздражения: покраснение, отек, сыпь и другие. Животные были разбиты на 3 группы: в первой группе к ране прикладывался марлевый тампон, смоченный пелоидным препаратом, во второй группе – тампон, смоченный облепиховым маслом, в третьей группе раны накрывались сухим тампоном. Ранозаживляющее действие препарата ВЭЛГ изучалось путем удаления кожного лоскута с подлежащими тканями до мышцы размером

для крыс – 1х1 см, для кроликов – 2х2 см. Операции проводились под наркозом, введение в который достигалось сомбревином и эфиром. При изучении действия препарата ВЭЛГ на ожоговое повреждение кожных покровов, ожог площадью 1-3 см² вызывался металлическим предметом, нагретым до температуры 150°С, с выдерживанием на поверхности тела животных 50 секунд.

С целью оценки ранозаживляющего действия ВЭЛГ при ожоге аналогично были сформированы 3 группы наблюдаемых животных (крыс и кроликов). В первой группе на ожоговую рану накладывался тампон, смоченный пелоидным препаратом, во второй группе на раны животных воздействовали тампоном, смоченным облепиховым маслом, в третьей группе – прикладывался сухой тампон. Наблюдения осуществлялись до полного заживления ран. Эффективность действующих факторов оценивалась по времени уменьшения раневого дефекта, качеству заживания, цитологическим исследованиям экссудата.

Микробиологические исследования проводились по следующему спектру методов: санитарно-бактериологические показатели коли-титра устанавливались бродильным методом с использованием универсальной накопительной лактозно-пептонной среды (ЛПС), среды Эндо и полужидкой среды с глюкозой; титр-перфрингенс, определяемый высевом грязевых разведений на среду Китт-Тароцци и на обезжиренное молоко. Для определения титра синегнойной палочки использовались последовательно среды ЛПС, «Блеск», Кинг-А и СФ. Стафилококк золотистый определялся на пептонной среде с хлоридом натрия и последующим пересевом на желчно-солевой агар.

Общее количество аэробных сапрофитов определялось высевом на мясо-пептонный агар (МПА). В опыте с активацией лечебной грязи прогреванием, перемешиванием, разжижением водой производилось ее искусственное инфицирование без предварительного прогрева в лабораторных условиях при температуре воздуха 20–25°С. Количество бактериального материала, внесенного в опытные грязи, рассчитывалось по оптическому стандарту мутности и проверялось высевом десятичных разведений грязевой суспензии на соответствующие каждому микроорганизму элективные питательные среды (Сорокина, 1938; Whittenbury et al., 1970).

Санитарно-бактериологические анализы грязей выполнялись в день отбора проб, в двойной повторности по следующей схеме: перед инфицированием, через сутки после него, затем через каждые 15 суток до нормализации титров тест-бактерий, а также через 5, 10, 15 часов при активации. Исследование санитарно-микробиологических свойств покровных вод озера осуществлялось в соответствии с СанПиН 2.1.5.980-00. Использовались НТД на методы испытаний МУ 4.2.1884-04, МУ 4.2.2723-10.

Динамика развития физиологических групп микроорганизмов в грязях с инфицированием контролировалась проведением микробиологических анализов в следующие сроки: до инфицирования грязей, через 15, 30, 45, 60 дней и после нормализации их санитарно-бактериологических показателей, а в опыте с активацией грязи – через 5, 10, 15 часов. Исследовалась численность микроорганизмов, осуществляющих круговорот азота, углерода, серы, железа и участвующих в формировании пелоидов. Определялись гнилостные аэро-

бы и анаэробы, нитрифицирующие и динитрифицирующие, маслянокислые, целлюлозоразлагающие аэробы и анаэробы, сульфатредуцирующие и тионовые, железooksисляющие, актиномицеты и плесневые грибы. Для характеристики потенциальных возможностей грязей к самоочищению в обоих опытах определялись их антимикробные свойства по отношению к кишечной палочке, стафилококку золотистому и синегнойной палочке. Анализировались грязи до их инфицирования и по окончании опытов. Микробиологические исследования проводились на базе сертифицированной лаборатории ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в Камчатском крае в Елизовском районе, где достоверность полученных результатов поддерживается системой контроля качества исследований.

Разработка универсальных праймеров для санитарно-показательных бактерий, содержащихся в грязевом растворе, была одним из этапов данной работы, она описана в разделе 4.2. Полимеразную цепную реакцию в реальном времени проводили в детектирующем амплификаторе ДТ-96 (ЗАО «НПФ ДНК-Технология», Россия) по следующей программе: 94° С – 10 с, 70° С – 20 с, 72° С – 10 с в течение 40 циклов, с измерением флуоресценции при 70° С. Универсальные праймеры, использованные в исследовании:

upr2-d (3' TGCATGGCYGTCGTCAG-CTCGT5');

upr3-r (3'TGACGGGCGGTGTG-TRCAAGG5').

Глава 3. Мониторинг состояния месторождения лечебной грязи озера Утиное за время его эксплуатации по физико-химическим характеристикам

3.1. Мониторинг физико-химических характеристик покровных вод и лечебной грязи

Физико-химические свойства лечебной грязи оз. Утиное оценивались по результатам работ (1962, 1991, 1996, 2010, 2012 гг.) и исследований отдельных свойств лечебной грязи (2004, 2007, 2008, 2011, 2013 гг.). Химический состав покровных вод характеризуется как минерализованный, хлоридно-сульфатный, натриево-кальциевый, по минерализации пресный (800–954 мг/дм³), с общей жесткостью 4,6–6,5 мг-экв/дм³, по уровню кислотно-щелочного равновесия слабокислый–слабощелочной (рН 6,0–8,71).

Значительная доля термальной воды в составе покровной воды озера (10–40 %) обуславливает накопление химических элементов: Li, F, B, As, Mn, концентрации которых, не превышающие ПДК, установлены в исследованиях донных отложений в 2012 г. (Рис. 2).

Результаты наших исследований лечебной грязи озера подчеркивают высокое качество пелоида по уровню сероводорода (0,159% на сырую грязь), отрицательному окислительно-восстановительному потенциалу (–146 мВ), содержанию органического углерода (16,31% на абсолютно сухую массу). Отношение C/N равно 12,74. Подводя итог анализу изменений характеристик грязелечебного месторождения озера Утиное с 1962–2012 гг., отмечаем изменение его физических размеров в сторону уменьшения.

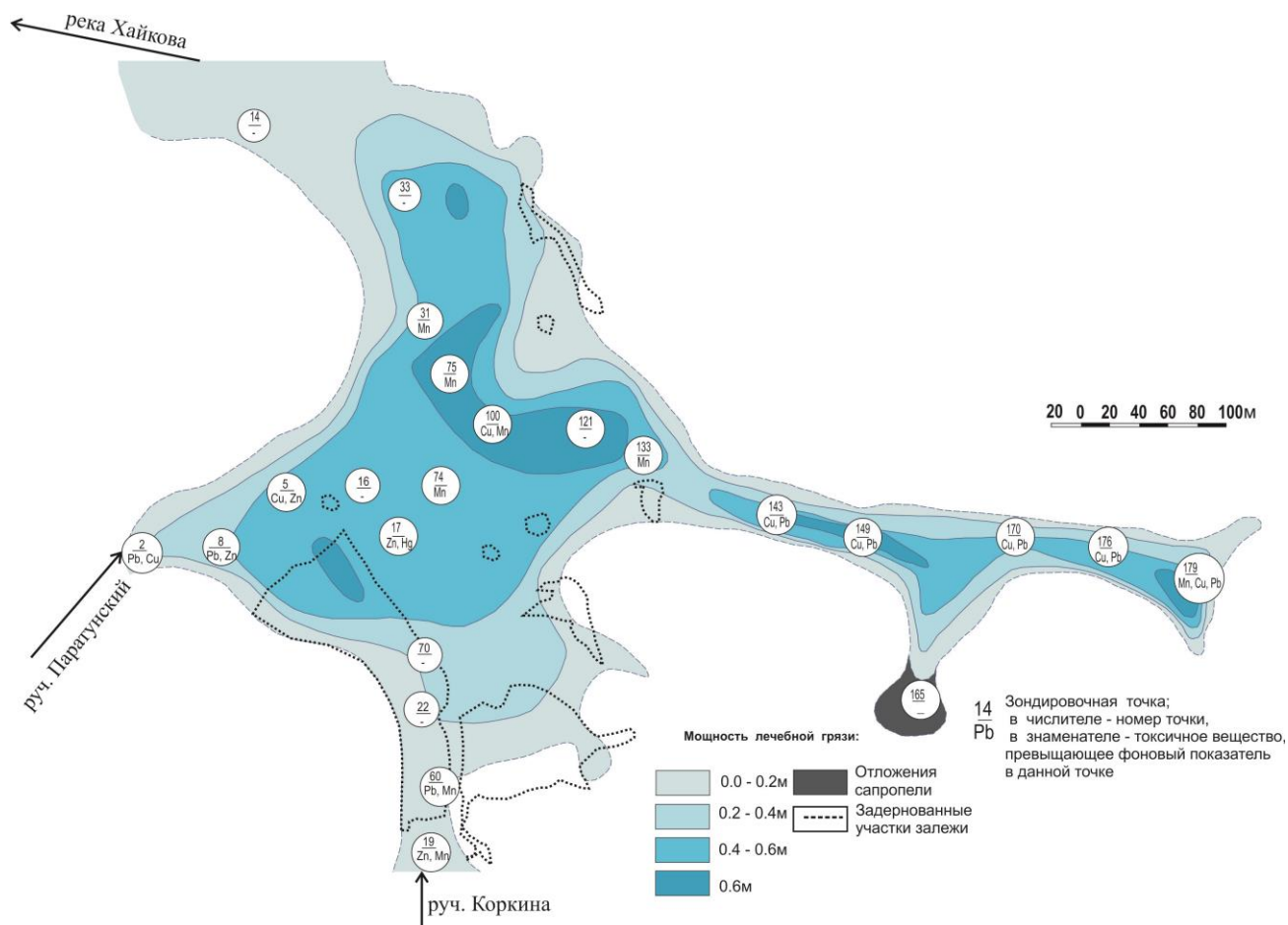


Рисунок 2. Распределение химических элементов на схеме грязевой залежи озера Утиное

Анализируя изменение параметров месторождения и лечебной грязи, отмечается стабильность большинства параметров месторождения и физико-химических свойств добываемого пелоида. Сохраняется и возрастает механическое загрязнение частицами $>0,25$ мм, % (с 2,0 до 3,04). Наблюдается определенная деградация залежей: задернование, осушение (Рис. 2) и питание термальными водами (до 40%), на что указывают возросшие объемы стоков, их минерализация, суммарная добыча термальных вод. Анализ параметров многолетних исследований должен учитывать сезон наблюдений.

С этой точки зрения данные 2010 и 2012 гг. (зимние) по ряду параметров отличаются, хотя по большинству параметров стабильны.

3.2. Физико-химические и биохимические свойства лечебной грязи. Состав экстрактов и грязевых растворов

Биохимические исследования лечебной грязи показали, что содержание органического углерода в пересчете на абсолютно сухую массу составляет 16,31%; азота – 1,28%. Отношение углерода к азоту 12,74, что характерно для органических субстратов. Содержание гуминовых кислот в пересчете на абсолютно сухую массу составляет 8,03%; липидов – 0,99%. В составе липидов определяются каротиноиды в количестве 20,99 мг%. В 100 г абс. сухой грязи найдено 8,43 мкг хлорофилла «а», 0,80 мкг хлорофилла «б», хлорофилл «с»

не обнаружен. Низкий пигментный индекс (1,68) свидетельствует о преобладании каротиноидов и относительно малом разнообразии источников пигментов в грязи. Хлорофиллы в грязи довольно устойчивы, об этом свидетельствует низкое содержание феофитина «а» – 18,01% от содержания хлорофилла.

Гуминовые кислоты характеризуются высоким отношением $E_{465}/E_{665} = 5,48$, что может свидетельствовать об относительной «молодости» и слабой конденсированности ароматического ядра гуминовых кислот. Установлено, что содержание фульвокислот составляет 2,15% от абс. сухой массы грязи. Параллельно в центрифугате определили содержание железа. Обнаружено, что 1 г фульвокислот связывает 4,42 мг железа.

В летне-осеннем сезоне 2013 г. была исследована степень антропогенно-техногенной загрязненности месторождения лечебной грязи озера Утиное токсичными металлами, содержащимися в питающих водах озера. Исследования проводились в 4-х пробах лечебной грязи и в 6-ти пробах воды.

Содержание микроэлементов в пробах лечебной грязи составляет – в центрифугате: Cu (0,006–0,028 мг/л); Ni (<0,001–0,007 мг/л); Zn (0,043–0,087 мг/л); Mn (0,084–0,089 мг/л); Co (<0,005 мг/л); в осадке: Cu (0,15–12,0 мг/кг); Ni (3,7–4,0 мг/кг); Zn (11,0–18,4 мг/л); Mn (32,2–60,0 мг/л); Co (<0,005 мг/л). ПДК этих элементов составляет: Cu – 1,000 мг/кг; Ni – 0,100 мг/л; Zn – 1,000 мг/л; Mn – 0,100 мг/л; Co – 0,100 мг/л.

Концентрации металлов в лечебной грязи характеризуются следующими рядами: точка № 3 – Mn > Zn > Cu > Ni > Co (центрифугат), Mn > Zn > Ni > Cu > Co (твердая фаза); точка № 4 – Zn = Mn > Cu > Ni > Co (центрифугат), Cu > Mn > Zn > Ni > Co (твердая фаза); точка № 5 – Mn > Zn > Cu > Ni > Co (центрифугат), Cu > Mn > Zn > Ni > Co (твердая фаза); точка № 6 – Mn > Zn > Cu > Ni > Co (центрифугат), Mn > Zn > Cu > Ni > Co (твердая фаза). Содержание токсичных металлов во всех пробах лечебной грязи не превышает ПДК.

Содержание токсических элементов в пробах покровной воды озера составляет: Cu (0,002–0,009 мг/л); Ni (<0,002–0,008 мг/л); Zn (0,005–0,084 мг/л); Mn (<0,005–0,036 мг/л); Co (<0,005–0,020 мг/л). ПДК покровных вод аналогична донным отложениям.

Концентрации металлов в пробах покровных вод озера характеризуются следующими рядами: точка № 3: Co > Mn > Ni > Cu > Zn; точка № 6: Zn = Mn > Ni > Cu > Co; точка № 4: Zn > Mn > Cu > Ni > Co; точка № 7: Zn > Co = Mn > Cu = Ni; точка № 5: Zn > Mn > Co > Cu > Ni; точка № 12: Zn > Cu > Mn > Co > Ni.

Анализ этих данных показывает, что воды стоков санатория имеют термальное и сточное происхождение по соотношению исследованных элементов. Сточная вода характеризуется большей минерализацией и содержанием ионов кальция, термальная вода содержит микро- и макрокомпоненты, характерные для Паратунской азотисто-кремниевой термальной воды (Мурадов, 2013б). При достижении доли термальной воды 40% в питающих водах озера Утиное, наблюдаемое в последние годы, концентрация лития, цинка, мышьяка и др. создают антибактериальный фон, тормозящий развитие автох-

тонной микрофлоры, но не превышают ПДК содержания токсичных металлов в лечебной грязи.

Полученные результаты исследований устанавливают, что лечебная грязь озера не содержит вредных веществ и тяжелых металлов в количествах, превышающих ПДК для природных субстратов, и поэтому может использоваться для лечебных процедур при условии санитарно-бактериологического благополучия. Биохимические исследования лечебной грязи озера характеризуют высокое содержание гуминовых и фульвокислот, липидов, каротиноидов, что создает возможность получения пелоидных препаратов, содержащих микроэлементные компоненты, более характерные для сопочных грязей.

На основании исследований, проведенных за время эксплуатации месторождения и современных исследований, установлено, что озеро Утиное Камчатского края стабильно является месторождением высококачественной иловой сульфидной лечебной грязи по физическим, физико-химическим, биохимическим свойствам. Нарастающая доля участия термоминеральных вод Паратунского гидротермального месторождения в питающих водах озера определяет исключительные условия формирования лечебной грязи по содержанию микроэлементов, дополняющих бальнеологические свойства пелоида, но создающих фактор токсического действия на автохтонную микрофлору.

Глава 4. Мониторинг санитарно-микробиологической характеристики лечебной грязи и покровных вод

4.1. Санитарно-бактериологические исследования покровных вод и лечебной грязи

Санитарное состояние грязевого месторождения озеро Утиное по годам (1962, 1990, 1996, 2004, 2007, 2010, 2012, 2013 гг.) оценивалось как неудовлетворительное. Источниками загрязнения водоема являются в основном сброс сточных вод в руч. Паратунский и руч. Коркин (Рис. 3), которые являются основным источником гидроминерального питания озера и оказывают отрицательное воздействие на санитарное состояние озера и его донные отложения. В 2013 г. при исследовании санитарно-микробиологического состояния месторождения лечебной грязи, в период половодья забор донных отложений не производился. По бактериологическим показателям донных отложений и покровной воды всего периода наблюдений было установлено, что пробы лечебной грязи месторождения отобранные 13.09.13 г., оказались некондиционными (75% проб – по титру ЛКП, титру энтерококков и титру клостридий); пробы, отобранные 11.10.13 г., оказались кондиционными на 75% проб (одна проба некондиционна по титру клостридий), что соответствует результатам многолетних наблюдений.

Установлено, что покровная вода во время паводка (2 пробы от 28.06.13 г.) содержит большее количество колиформных бактерий– 3336 и 2572 КОЕ на 100 мл). По требованиям к чистоте водоемов 1 и 2 категории (таково положение озера Утиное), норма содержания санитарно-показательных микробов в воде должна составлять соответственно не более 1000 и 500 (КОЕ на 100

мл). Покровная вода, исследованная в двух пробах от 13.09.13 г., не содержит колиформных бактерий. Покровная вода в двух пробах, полученных 11.10.13 г., содержит колиформные бактерии значительно ниже установленных норм: проба № 1 – 21 КОЕ на 100 мл; проба № 2 – 20 КОЕ на 100 мл.

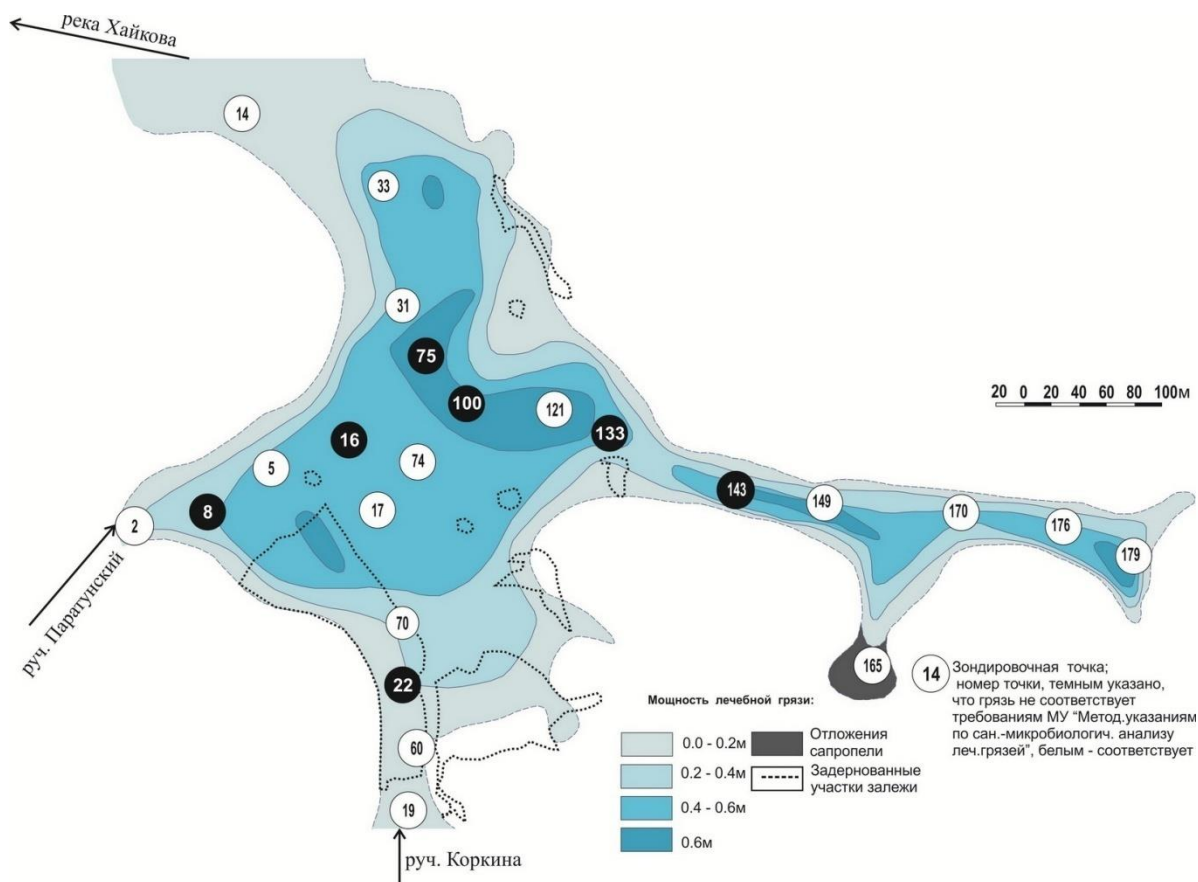


Рисунок 3. План грязевой залежи озера Утиное в изопакхитах

В летне-осенних наблюдениях 2013 г. отмечается санитарная загрязненность вод озера в период паводка по показателю термотолерантных колиформных бактерий (КОЕ в 100 мл). В меженный период наблюдается нормальный уровень санитарно-показательной и отсутствие патогенной микрофлоры, это объясняется тем, что в озеро не привносятся посторонние загрязняющие объекты из-за сохранения его уреза.

Таким образом, за период исследований санитарное состояние покровных вод улучшилось, что может быть связано с водоохранными мероприятиями. Можно отметить повышение титра кишечной палочки по результатам исследований в 2010–2013 гг. и отсутствие в этих пробах лечебной грязи клостридий перфрингенс при полном отсутствии патогенной микрофлоры. Неудовлетворительное санитарное состояние месторождения подтвердилось и результатами санитарно-бактериологических анализов озерной воды и лечебных грязей в 2004 г. и в последующих исследованиях 2007, 2010, 2012, 2013 гг. В результате наблюдений за динамикой изменения санитарно-микробиологических показателей лечебной грязи озера в течение длительного времени было установлено несоответствие нормативам содержания условно-патогенной (*Escherichia coli* и *Clostridium perfringens*) флоры (при отсут-

ствии патогенных микроорганизмов в грязевых отложениях и покровных водах месторождения).

4.2. Молекулярно-генетическая идентификация и анализ присутствия санитарно-показательной микрофлоры в грязевом растворе

Исследовались пробы грязевого раствора в исходной (озерной) грязи и активированной в аэробных и анаэробных условиях. С применением молекулярно-биологических подходов нами разработана модификация метода, позволяющая на уровне ДНК устанавливать загрязненность санитарно-показательными микроорганизмами. Работа проводилась в три этапа.

Этап 1. Создание ПЦР-тест-систем для детекции видоспецифичных фрагментов гена 16S рРНК санитарно-показательных микроорганизмов *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens*. Разработаны последовательности олигонуклеотидов (праймеров) для проведения качественного и количественного анализа микроорганизмов *E. coli* и *Cl. perfringens*. В общей сложности проанализировано 158 референтных последовательностей, в том числе 146 для *E. coli* и 12 для *Cl. perfringens*. С помощью программы Oligo 6.0 подобраны пары праймеров с учетом формирования вторичных структур и димеров. Выбранные пары праймеров, соответствующие гипервариабельным участкам V3 и V4 гена 16S рРНК, были проверены на специфичность относительно 5000 соответствующих последовательностей бактерий и архей. В соответствии с референтной последовательностью *E. coli* (Pruesse, 2007) координаты выбранных фрагментов определены 338-534 и 515-700 позициями нуклеотидной цепи соответственно.

Проверку работоспособности тест-систем осуществляли с использованием плазмид, содержащих специфическую вставку *E. coli* и *Cl. perfringens*. По результатам проверки получены данные, свидетельствующие о работоспособности разработанных тест-систем. Заключение о специфичности разработанных пар праймеров сделано на основании анализа последовательностей, содержащихся в базах GenBank и RDP (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank; Cole, 2009).

Этап 2. Адаптация метода очистки ДНК *E.coli*, *Cl. perfringens*. Метод очистки ДНК должен отвечать двум условиям: эффективно удалять ингибиторы из препарата ДНК и обуславливать максимальную репрезентативность нуклеиновых кислот. Исходя из полученных ранее данных (Рогатых и др., 2011, Gabor, 2003) для сравнения были выбраны два метода очистки ДНК, основанные на лизирующем действии гуанидин изотиоцианата (GuSCN) и гексадецил триметиламмония бромид (СТАВ).

Анализ эффективности методов очистки ДНК проводили на образцах грязевого субстрата оз. Утиное методом ПЦР в реальном времени. При проведении ПЦР использовали пары универсальных праймеров, позволяющих амплифицировать суммарную ДНК в пробе. Визуализацию накопления продукта реакции осуществляли с помощью интеркалирующего красителя SYBR Green (Рис. 4). Оба подхода к очистке ДНК продемонстрировали сходную

эффективность, однако предпочтение было отдано сравнительно более простому методу, основанному на лизирующем действии СТАВ.

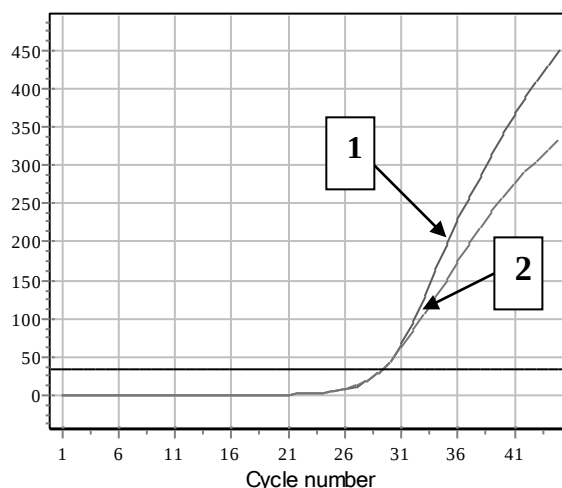


Рисунок 4. Результаты сравнения методов очистки ДНК. 1 – метод, основанный на лизирующей активности GuSCN, 2 – метод, основанный на лизирующей активности СТАВ. Данные получены с использованием универсальных праймеров *upr2-d* и *upr3-r*.

Этап 3. Проведение качественного и относительного количественного анализа образцов лечебной грязи озера Утиное (2 образца). С помощью разработанных методик был проведен анализ двух проб лечебной грязи: исходной (№ 1) и подвергавшейся длительной активации. рН пробы № 1 слабнокислый, рН пробы № 2 выраженнокислый. В результате проведенных исследований в пробе № 1 (исходная лечебная грязь) обнаружены бактерии *E.coli* и *Cl. perfringens*, в пробе № 2 (активированная лечебная грязь) эти санитарно-показательные бактерии не обнаружены. Эти данные подтверждаются микробиологическими исследованиями проб на содержание бактерий *E.coli* и *Cl. perfringens*.

В дальнейшем планируется создание комплекса ПЦР-тест-систем для определения семейств лидирующих микроорганизмов в направлениях физиологической активности, входящих в состав автохтонной микрофлоры специфичной для региона исследования, в том числе: *Bacillaceae*, *Micrococcaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Nitrobacteriaceae*, *Clostridium*, *Chromathiaceae*, *Thiobacillaceae*, *Desulfovibrio desulfuricans*, *Hydrogenbacteriaceae*, *Siderocapsaceae*, *Hyphomicrobiales*, *Spirochaetaceae*, *Mycobacteriaceae*, *Actinomycetales*.

4.3. Микробиологические исследования автохтонной микрофлоры лечебной грязи

Развитие физиологической активности микробов, участвующих в формировании лечебной грязи, приводит к вытеснению привнесенной микрофлоры, очищению пелоида (Мурадов, 2000; Ступникова, Мурадов, 2005).

Естественный состав микрофлоры донных отложений озера Утиное представлен физиологическими группами микроорганизмов, участвующих в

процессе минерализации органических и минеральных соединений озерных осадков и в формировании их лечебных свойств (Рис. 5). На диаграмме показан исходный уровень присутствия физиологических групп и изменение их активности в процессах регенерации и активации. Отмечается доминирование гнилостных аэробов (NH_3), маслянокислых бактерий, денитрифицирующих (N_2O). Активация стимулирует все направления физиологической активности автохтонного микробного сообщества, участвующих в формировании пелоида, его биологической активности, очистительной и лечебной способности. Специфическая иловая микрофлора лечебной грязи отличается разнообразием и достаточной численностью, но очистительная способность лечебной грязи озера снижена в связи с техногенным влиянием эксплуатации Нижне-Паратунского гидротермального месторождения.

Если суммировать все приведенные характеристики лечебных грязей, то можно их свести к единым требованиям (Требухов, 2000), обеспечивающим экологические условия для развития микрофлоры грязи и формирования экологической среды, оказывающей благоприятное воздействие на организм пациента, принимающего грязелечебные процедуры.

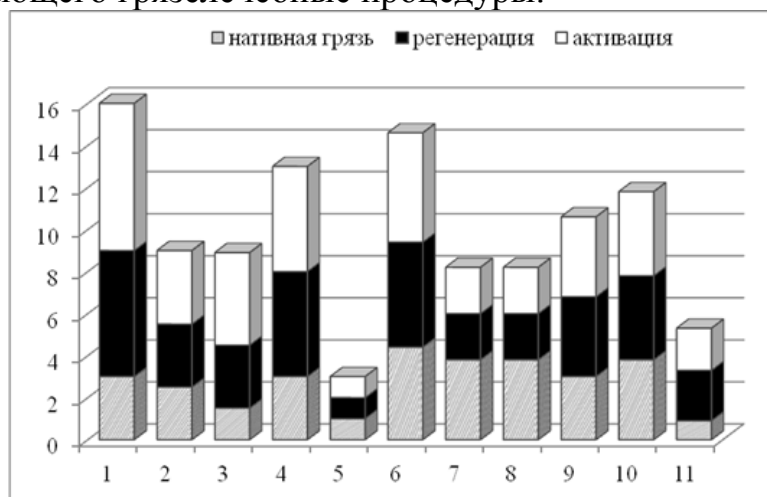


Рисунок 5 – Микробиологические показатели лечебной грязи озера в процессах регенерации и активации. По оси абсцисс – физиологические группы микроорганизмов: 1 – гнилостные аэробы (NH_3); 2 – гнилостные аэробы (H_2S); 3 – гнилостные анаэробы; 4 – денитрифицирующие (N_2O); 5 – денитрифицирующие (N_2); 6 – маслянокислые; 7 – целлюлозоразлагающие аэробы; 8 – целлюлозоразлагающие анаэробы; 9 – сульфатредуцирующие; 10 – тионовые; 11 – плесневые грибы. По оси ординат – $\lg N$ (N – количество микроорганизмов в 1 г лечебной грязи)

Глава 5. Экологическое состояние и установленные кондиции лечебной грязи месторождения

5.1. Требования к параметрам лечебной грязи, критерии их оценки

Оценка пригодности грязи для лечебных процедур производится по физическим, физико-химическим и бактериологическим показателям (Адиллов и др., 1980). Уровень требований к лечебным грязям по физико-химическим,

санитарно-бактериологическим и токсикологическим показателям соответствует усредненным многолетним результатам исследований лечебной грязи озера Утиное и аналогичных месторождений иловых сульфидных грязей. Исключением является механическое загрязнение пелоида оз. Утиное частицами размером 0,25-5 мм, уровень которых нарастает до 3,5%, а также снижающееся бактериальное загрязнение пелоида кишечной палочкой, титр которой соответствует норме в 75% проб (2012 г.), тогда как в 1990 и 1996 году 100% проб не соответствовали нормам санитарного состояния.

Суть основных требований к экологическому состоянию лечебной грязи заключается в обеспечении развития автохтонной микрофлоры пелоида, формирующего его биологическую активность. Параметры лечебной грязи озера Утиное не противоречат этим условиям, за исключением механического (песчаного) загрязнения, изменяющего тепловые свойства пелоида, и уровня санитарно-показательных микроорганизмов *E. coli* и *Cl. perfringens*, состав и количество которых варьирует по сезонам года.

5.2. Оценка экологического состояния лечебной грязи

Экологическое состояние лечебной грязи обуславливается состоянием абиотической составляющей пелоида: грязевым раствором, кристаллическим скелетом и коллоидным комплексом, во многом определяющим условия существования, а, следовательно, состав и биологическую активность микробного комплекса. Перечисленные составные элементы пелоида взаимодействуют с загрязнителями с различным участием в зависимости от природы загрязнителей и меняют суммарное состояние, выражающееся в пригодности пелоида для лечебного применения (Мурадов, 2001, Мурадов и др., 1991).

Типам месторождений по уровням загрязненности соответствуют три вида экологических ситуаций; а) удовлетворительная; б) неудовлетворительная; в) опасная (Адилов и др., 1996).

Основные физико-химические показатели лечебной грязи озера Утиное соответствуют установленным кондициям. Результаты 1963 г., 1990 г. и 1996 г. физико-химических исследований лечебной грязи указывают на стабильность их параметров. Увеличение содержания ионов Ca^{2+} связано с поступлением сточных и, в значительно большей степени за последние годы, термоминеральных вод в систему питания озера. Содержание высокого уровня органических веществ характерно для переходного типа грязи от иловой сульфидной к сапропелю. Сравнительный анализ физико-химических свойств грязи озера Утиное и озера Малый Ширлан (типичного месторождения иловой сульфидной грязи, Кичиерские озера Марий Эл), также обнаруживает высокую степень сходства по всем параметрам (Табл. 1). Среди характерных различий грязей нужно отметить более кислую реакцию грязи озера Утиное и меньшее содержание в них сульфидов железа, а также участие в генезисе грязевых отложений термальных вод, приносящих пелоиду микроэлементы (в пределах ПДК), обогащающие его биологическое действие по аналогии с сопочными грязями.

Таблица 1. Физико-химические показатели лечебных грязей месторождения озера Утиное и его ближайшего аналога озера Малый Ширлан

Месторождение	Влажность %	Объемный вес, г/см ³	Сопр. сдвигу, дин/см ²	Теплоемкость кал/г/град.	Орг. в-во, % на сухое в-во	Сульфиды железа, % на сырую грязь	рН грязи	Грязевой раствор	
								Минерализация, г/л	Формула ионного состава
Оз. Утиное	78,56	1,22	2305	0,89	18,7	0,42	5,3	2,9	$\frac{SO_4}{95} \frac{Ca68(Na+K)35Fe^{2+}}{16}$
Оз. Малый Ширлан	77	1,20	1039	0,80	17-24	0,80	7,7	1,9	$\frac{SO_4}{70} \frac{HCO_3}{23} \frac{Ca}{73} \frac{Mg}{18}$

Различные исследователи (Бурксер, 1932; Бунеев, 1943; Невраев, 1955; Бахман и др., 1956; Адилов и др., 1980) конкретизируют технические требования к лечебным грязям, готовым к лечебным процедурам.

Таблица 2. Соответствие качества лечебных грязей месторождения Озеро Утиное принятым нормативам (по результатам работ 1990–2007 гг.)

Показатель	Размерность	Норма	1990 г.	1996 г.	2007 г.
Влажность	%	25-75	74	78	78,56
Засоренность частицами размером 0,25-0,5 мм	% от естествен. вещества	не более 3	3,4	3,5	2,79
Твердые минеральные включения размером более 0,5 мм	—”—	отсутствие	отсутствие	отсутствие	отсутствие
Сопротивление сдвигу	дин/см ²	1500–4000	2600	2700	2305
Санитарно-бактериологические показатели					
Аэробы	бактерий в 1 г	не более 500 тыс.	менее 500 тыс.	менее 500 тыс.	менее 500 тыс.
Титр-коли	г на 1 бактерию	10 и более	в 40 % проб	в 40 % проб	в 40 % проб
Титр-перфрингенс	г на 1 бактерию	0,1 и более	в 80 % проб	в 80 % проб	в 80 % проб
Патогенная кокковая микрофлора	бактерий в 1 г	отсутствие	отсутствие	отсутствие	отсутствие

Данные таблицы 2 отражают важнейшие физические параметры грязи (влажность, засоренность, сопротивление сдвигу) и их соответствие утвержденным нормативам по результатам исследований (1990–2007 гг.) как наиболее типичных по сезону.

При соответствии этих параметров установленным нормативам отмечается тенденция к увеличению засоренности (песком), повышению сопротивления сдвигу, и более высокому уровню влажности грязи (74–78%), а также к снижению ОМЧ (< 500 тыс./г), коли-титра и титра-перфрингенс в 60% исследованных проб.

Экологическая оценка месторождения «Озеро Утиное» признается как неудовлетворительная – соответствующая загрязненным месторождениям, ресурсы которых могут быть использованы в лечебных целях только после предварительной подготовки (самоочищения, пастеризации или стерилизации грязей), а также разработанной нами активационной переработки пелоида и получения препаратов контролируемых кондиций.

5.3. Обобщенные кондиции лечебной грязи озера Утиное

Кондиции как стабильные свойства лечебной грязи разработаны на основании результатов геологоразведочных работ и аналитических исследований, проведенных в 1962, 1990, 1996, 2008, 2010 гг. Химический состав покровных вод характеризуется как минерализованный, слабокислый-слабощелочной, хлоридно-сульфатный, натриево-кальциевый, по минерализации пресный ($800\text{--}954\text{ мг/дм}^3$), с общей жесткостью $4,6\text{--}6,5\text{ мг-экв/дм}^3$, по уровню кислотно-щелочного равновесия слабокислые-слабощелочные (рН $6,0\text{--}8,71$). Согласно «Критериям оценки качества лечебных грязей при их разведке, использовании и охране» МЗ СССР, 1987 г., грязи месторождения озера Утиное могут быть отнесены к категории лечебных иловых, низкоминерализованных, среднесульфидных.

По классификации минеральных вод и лечебных грязей для целей их сертификации (Разумов и др., 2000), пелоид оз. Утиное признан как сильно-сульфидный, низкоминерализованный, обозначен как Паратунский тип, $1,0\text{--}1,5\text{ г/л}$ минерализация, $>0,500\text{ г/л}$ сульфиды, $> 90\%$ зольность, $7,0\text{--}9,0\text{ рН}$, $500\text{--}0\text{ Ен}$, $45\text{--}75\%$ влажность. В целом, по своим физико-химическим показателям грязи месторождения озера Утиное соответствуют кондициям, разработанным для этого типа пелоидов, за исключением повышенной засоренности (норма не более 3%) и несколько увеличенной влажности (норма не более 75%). Ближайшим аналогом рассматриваемых грязей являются пелоиды озера Малый Ширлан и Луневского озера Псковской области.

Балансовые запасы месторождения озера Утиное составляют 70560 м при средней мощности $0,44\text{ м}$, что позволяет отнести его к категории средних, способных обеспечить нормальное функционирование грязелечебниц всего региона на срок более 50 лет при заявленной потребности $500\text{ м}^3/\text{год}$. Для пелоидов месторождения озера во Всероссийском научном центре медицинской реабилитации и физиотерапии на основе физико-химических свойств и биологической активности разработаны медицинские показания для их применения. Иловая грязь данного месторождения обладает выраженной биологической активностью; лечебный эффект в значительной степени обеспечивается присутствием высокого содержания сероводорода и определенной минерализации (наряду с другими свойствами грязи). Антибактериальные свойства иловой грязи и присутствие сероводорода (влияющего на пролиферативную реакцию и фагоцитоз) позволяют применять указанную лечебную грязь непосредственно на раневую поверхность. К особенностям данного типа лечебной грязи относится его влияние на агрегационные свойства тромбоцитов (Мурадов и др., 2002; Чепур и др., 2006).

Глава 6. Разработка методов восстановления кондиций санитарного состояния лечебной грязи и эффективность их применения

6.1. Регенерация лечебной грязи в грязехранилище

Анализ проб грязей оз. Утиное, отобранных в 1962–2013 гг., показал их несоответствие санитарно-бактериологическим требованиям, предъявляемым к пелоидам. Низкая минерализация пелоида в сочетании с повышенным содержанием в нем органических веществ бытового происхождения создает условия для длительного сохранения в грязевом субстрате попавших в него потенциально патогенных и патогенных микроорганизмов. Выяснение сроков самоочищения грязей от вышеуказанных бактерий осуществлялось инкубированием в грязехранилище и активацией, включающей прогревание, перемешивание, аэрацию, разжижение водой. С этой целью хранящиеся при температуре 20–22°C добытые грязи подвергались анализу через каждые 30 дней до нормализации их санитарно-бактериологических показателей.

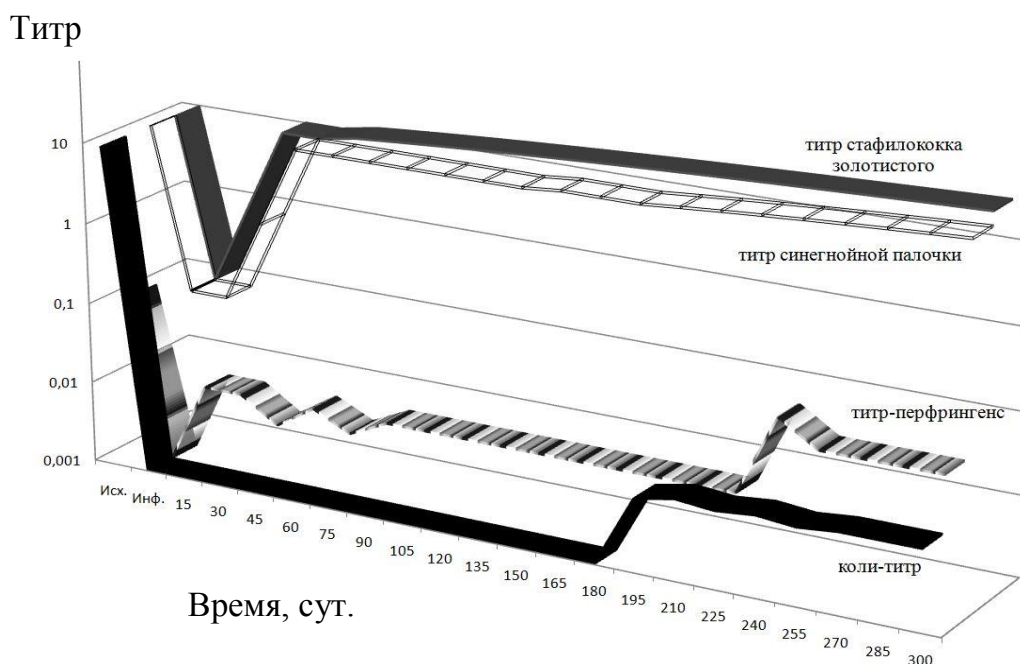


Рисунок 6. Динамика санитарно-бактериологических показателей лечебных грязей в процессе их регенерации после инфицирования

Как свидетельствуют данные, приведенные на рисунке 6, коли-титр и титр-перфрингенс одновременно достигли требуемого уровня через 4 месяца. Такие же результаты были получены при активации грязи прогреванием, перемешиванием, разжижением водой в другом масштабе времени – 5, 10, 15 часов.

После искусственного инфицирования инкубируемых грязей опыта I (пассивная регенерация, Рис. 6) санитарно-показательными микроорганизмами, их коли-титр снизился с 10 до 10^{-3} , титр-перфрингенс – с 10^{-1} до 10^{-3} , величина титров синегнойной палочки и стафилококка золотистого достигла 10^{-1} , общее количество аэробов – сапрофитов возросло в 60 раз. Исходный

уровень *E. coli* и *Cl. perfringens* соответствует нормам. Дальнейшие наблюдения показали постепенное повышение титра стафилококка золотистого и синегнойной палочки и их нормализацию по титру соответственно к 30 и 45 дню опыта. Другая картина наблюдалась в отношении высеваемости кишечной палочки и *Cl. perfringens*. За семь месяцев регенерации грязей их коли-титр возрос лишь на один порядок (с 10^{-3} до 10^{-2}), и в последующие три месяца оставался на том же уровне (Рис. 5). Аналогичные данные были получены и по высеваемости *Cl. perfringens*. К 15 дню опыта титр-перфрингенс увеличился на один порядок (с 10^{-3} до 10^{-2}), а затем до 300 дня наблюдений не изменялся. В отношении динамики выживаемости санитарно-показательных микроорганизмов в опытах по регенерации в непрогретых и прогретых грязях наблюдались совершенно те же закономерности. Так, и прогретые, и непрогретые грязи очистились от стафилококка к 30 дню, а от синегнойной палочки – к 45 дню опытов, тогда как коли-титр и титр-перфрингенс не достигли нормы за 10 месяцев наблюдений.

6.2. Активация лечебной грязи для восстановления ее кондиций

Повышение эффективности процесса самоочищения при внедрении длительного прогрева, механической активации, разжижения водой, создание условий для аэробного или анаэробного инкубирования тесно связаны с биологической активностью лечебной грязи, обусловленной накоплением продуктов жизнедеятельности автохтонной микрофлоры. Наиболее выраженными из них по антибактериальному действию на привнесенные патогенные и условно-патогенные микроорганизмы являются: уровень рН, Eh, содержание аммиака, сероводорода. Общее микробное число в этих процессах тесно связано с количеством и активностью формирующей пеллоид автохтонной микрофлоры. Грязь с естественным инфицированием и с внедрением санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов (кишечной палочки, синегнойной палочки, стафилококка золотистого) гарантированно очищается при длительном прогреве, активации, разжижении грязи водой и смене экстрагента. Минимальная продолжительность этого процесса составляет 10 часов.

В наших опытах длительность процесса активации некондиционной грязи составила 18 часов. Зондирование общей численности микроорганизмов в этом процессе показывает его повышение через 2–3 часа активации (Рис. 6). Закономерности изменения соотношения и количества физиологических групп микроорганизмов соответствуют процессу регенерации при инкубировании грязи, но в другом, ускоренном масштабе времени. Через 18 часов активации общая численность микроорганизмов снижается до уровня кондиций лечебной грязи (Рис. 5, 7). Сравнительная эффективность регенерации инкубированием в грязехранилище и активированием показана в таблице 3. Разработанный нами метод экологической активации лечебной грязи обеспечивает быстрое очищение от привнесенных санитарно-показательных – *E. coli* и *Cl. perfringens* и патогенных микроорганизмов различных систематических групп.

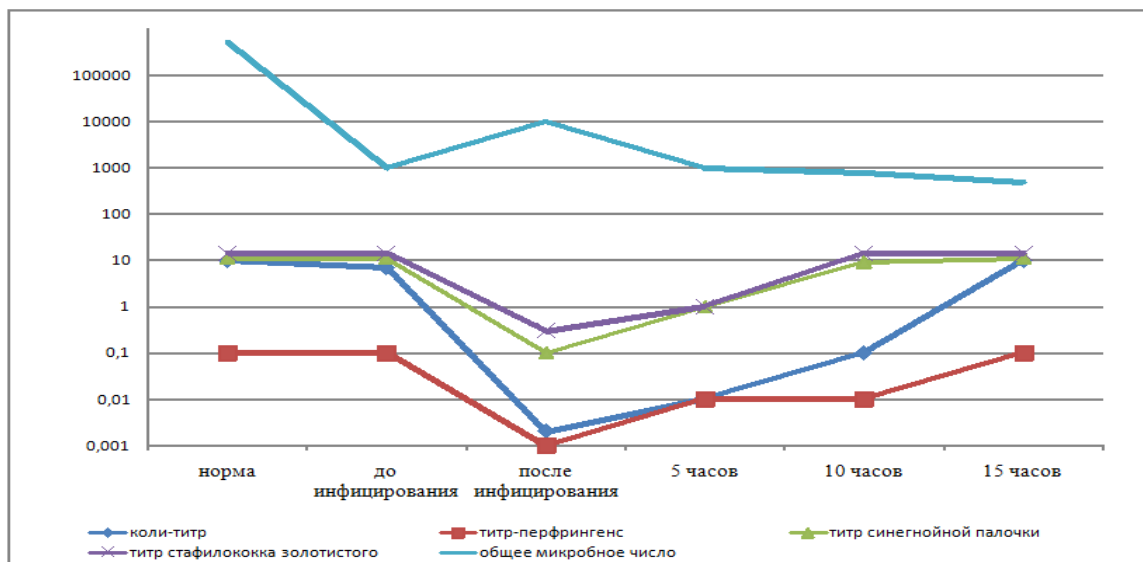


Рисунок 7. Динамика выживаемости *Escherichia coli* и *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* при активации лечебной грязи

Таблица 3. Динамика выживаемости *E. coli* и *Cl. perfringens* в грязях оз. Утиное при инкубации в грязехранилище и активации температурой, перемешиванием и разжижением

Срок отбора грязей	Коли-титр (норма 10 и выше, см ³)	Титр-перфрингенса (норма 10 ⁻¹ и выше, см ³)
Инкубирование в грязехранилище		
1 месяц	10 ⁻²	10 ⁻²
2 месяц	10 ⁻²	10 ⁻²
3 месяц	10 ⁻¹	10 ⁻²
4 месяц	10	10 ⁻¹
Активация		
5 часов	10 ⁻²	10 ⁻²
10 часов	10 ⁻¹	10 ⁻²
15 часов	10	10 ⁻¹

6.3. Роль автохтонной микрофлоры в вытеснении условно патогенных и патогенных бактерий из лечебной грязи

Как установлено в нашем исследовании, активация грязеиловой смеси разжижением, перемешиванием, прогреванием при 45°C через 5 часов длительности процесса активирует микробное сообщество грязи в показателе общей численности до $3 \cdot 10^3$, соответствующем 15-ти суткам инкубирования грязи в грязехранилище. Далее 10-часовая обработка грязи повышает суммарную численность микроорганизмов до $8 \cdot 10^2$, соответствующем почти 300-дневной инкубации в грязехранилище.

Пятнадцатичасовая активация лечебной грязи обеспечивает не только высокую численность микроорганизмов, но и изменение биохимических свойств грязевого раствора и очистки от условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, экспериментально внесенных в грязевую среду (табл. 4).

Таблица 4. Динамика микробиологических показателей лечебных грязей оз. Утиное в процессе их регенерации и активации температурой, перемешиванием и разжижением

Физиологические группы микроорганизмов в 1 г грязи		Нативная грязь озера	Регенерация грязей, опыт I, суток					Активация грязей, часов		
			15	30	45	60	300	5	10	15
Общее кол-во аэробов		$1,5 \cdot 10^3$	$4 \cdot 10^3$	10^3	10^3	10^3	$5 \cdot 10^2$	10^3	$8 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^2$
Гнилостные аэробы	образующие NH_3	10^3	10^6	10^7	10^7	10^7	10^6	10^7	10^7	10^6
	образующие H_2S	10^3	10^5	10^3	10^3	10^3	10^3	10^2	10^3	10^3
Гнилостные анаэробы		10^2	10^2	10^4	10^3	10^3	10^3	10^2	10^3	10^4
Нитрифицирующие		10^2	10^2	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.
Денитрифицирующие		$10^3(\text{NO}_2)$	$10^4(\text{NO}_2)$	$10^4(\text{NO}_2)$	$10^4(\text{NO}_2)$	$10^4(\text{NO}_2)$	$10^5(\text{NO}_2)$	$10^4(\text{NO}_2)$	$10^4(\text{NO}_2)$	$10^5(\text{NO}_2)$
		$10(\text{N}_2)$	$10^3(\text{N}_2)$	$10^2(\text{NH}_3)$	$10^2(\text{N}_2)$	$10^2(\text{N}_2)$	$10(\text{NH}_3)$	$10^2(\text{NH}_3)$	$10(\text{NH}_3)$	$10(\text{NH}_3)$
Маслянокислые		10^5	10^6	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5	10^5
Целлюлозоразлагающие	аэробы	10^4	10^1	10^5	10^3	10^3	10^2	10^5	10^3	10^2
	анаэробы	10^4	10^4	10^3	10^3	10^3	10^2	10^3	10^3	10^2
Сульфатредуцирующие		10^3	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3
Тионовые		10^4	10^3	10^3	10^3	10^4	10^4	10^3	10^3	10^4
Железоокисляющие		Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.
Актиномицеты		Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.
Плесневые грибы		$5 \cdot 10$	$2 \cdot 10$	Не обн.	Не обн.	10	$1,2 \cdot 10^2$	Не обн.	$2 \cdot 10$	10^2

Преобладание в микробном ценозе аммонифицирующих и денитрифицирующих бактерий, значительное количество сульфатов (70–80 мг/экв%) в жидкой фазе грязей оз. Утиное при наличии органических веществ дает возможность в анаэробных условиях интенсивно развиваться другой группе микроорганизмов – сульфатредуцирующим, которые, в сущности, и определяют принадлежность изучаемого пелоида к среднесульфидной разновидности (табл. 4).

Химический состав и физико-химические показатели лечебной грязи в процессе активирования изменяются в связи с физиологической активностью специфической автохтонной микрофлоры лечебной грязи, связанной с условиями инкубирования (табл. 4, 5).

Переходя к рассмотрению физико-химических показателей грязей до их инфицирования и после 300 дней хранения и соответственно 5, 10, 15 часов активации, следует сразу же сказать о том, что в обоих опытах эти данные незначительно отличаются друг от друга.

Химический состав и физико-химические показатели лечебной грязи в процессе активирования изменяются в связи с ее физиологической активностью специфической автохтонной микрофлоры, связанной с условиями инкубирования. В числе других изменений, произошедших в параметрах грязей

в опытах регенерации и активации, можно назвать снижение в грязевом растворе содержания сульфат-иона и соответственное увеличение количества гидрокарбонат-иона, объясняющееся интенсивной жизнедеятельностью сульфатредуцирующих бактерий.

Уменьшение общей минерализации грязей, вероятно, можно связать с разжижением, обводнением субстрата, перекачиванием, перемешиванием, инфицированием, отбором проб. В целом основные параметры грязи до и после опытов соответствуют исходному типу пелоида (табл. 5).

Лечебная грязь с естественным инфицированием и с внедрением санитарно-показательных и патогенных микроорганизмов (кишечной палочки, синегнойной палочки, стафилококка золотистого) гарантированно очищается при длительном прогреве, активации, разжижении грязи водой и смене экстрагента. Минимальная продолжительность этого процесса составляет 10 часов. В наших опытах длительность процесса активации некондиционной грязи составила 18 часов. Зондирование общей численности микроорганизмов в этом процессе показывает его повышение через 2–3 часа активации.

Таблица 5. Физико-химические показатели лечебных грязей озера Утиное до и после процессов регенерации и активации (прогрев, перемешивание, разжижение)

Показатель	Перед регенерацией	После регенерации	Перед активацией	После активации
Сопrotивление сдвигу, дин/см ²	7198	300	2700	400
Eh раствора	–85	–140	–90мВ	–135мВ
pH раствора	7,5	7,5	5,6	7,6
Общая минерализация, г/л	4,8	2,7	5,0	2,6
Формула химического состава грязевого раствора	SO ₄ 82 Cl 17 Ca 55 (Na+K) 38	SO ₄ 65 Cl 27 (Na+K) 52 Ca 43	SO ₄ 82 Cl 17 Ca 59 (Na+K) 35	SO ₄ 57 Cl 28 HCO ₃ 15 (Na+K) 53 Ca 39

Закономерности изменения соотношения и количества физиологических групп микроорганизмов соответствуют процессу регенерации при инкубировании грязи, но в другом, ускоренном масштабе времени. Через 18 часов активации общая численность микроорганизмов сохраняется на высоком уровне с нормализацией кондиций лечебной грязи по содержанию санитарно-показательной флоры. Химический состав и физико-химические показатели лечебной грязи в процессе активирования закономерно изменяются в связи с направлениями физиологической активности специфической автохтонной микрофлоры лечебной грязи.

Структурно-функциональная характеристика микробного сообщества закономерно изменяется в процессе активации лечебной грязи, являясь главным процессором изменений ее физико-химических и биологических свойств.

Глава 7. Разработка и получение пелоидных препаратов на основе лечебной грязи озера Утиное

7.1. Основа технологии получения экстрактивных форм лечебной грязи

Основным принципом получения пелоидного препарата из лечебной грязи оз. Утиное является водное экстрагирование грязе-иловой массы. Грязе-иловая масса с влажностью 69–79% смешивается с дистиллированной водой в соотношении 1:2 при непрерывной механической активации и подогреве до 45°C. Длительность экстрагирования составляет 10 часов. Описанная методика, до отделения жидкой фазы грязи, обозначается нами как активация в связи с усилением механизмов самоочищения, повышением биохимической и микробиологической активности грязевого раствора. Полученная смесь подвергается центрифугированию в течение 20 минут при режиме работы центрифуги 5 тыс. оборотов в минуту. К твердой фазе, после отделения жидкой фазы грязи, добавляется такое же количество дистиллированной воды и проводится вторичная экстракция в течение 6 часов при той же температуре (45°C). Первый и второй экстракты объединяют и после проведения через бактериальный фильтр составляют выход готового продукта.

Определение микробиологических свойств растворов, полученных непосредственно из лечебной грязи озера, в процессе ее хранения в бассейнах грязехранилища и в условиях инкубирования с активированием, показывают различную степень санитарной загрязненности пелоида, его антибактериальных свойств и очистительной способности от условно-патогенных и патогенных микроорганизмов.

При активации лечебной грязи мобилизуются механизмы самоочищения, включающие развитие специфической микрофлоры и накопление в растворе веществ антибактериального и лечебного действия, а также снижение концентрации тяжелых металлов, поступивших в грязевой раствор из термальной воды.

7.2. Физико-химические свойства водного экстракта лечебной грязи

Физико-химические свойства препаратов, получаемых на основе водного экстрагирования, как было отмечено выше, зависят от особенностей технологии их получения. Сохранилась зависимость физико-химических свойств препарата от качества лечебной грязи в связи с условиями ее содержания (табл. 6, 8).

С физической точки зрения препарат ВЭЛГ представляет собой прозрачную, слегка опалесцирующую жидкость с незначительной минерализацией, слабо кислой или нейтральной реакцией pH. Перечень химических свойств препаратов, полученных через различные сроки хранения лечебной грязи при комнатной температуре, представлен в таблицах 8, 9.

Таблица 6. Химический состав водных экстрактов лечебной грязи озера Утиное при различных сроках хранения пелоида при комнатной температуре

Показатель	1 месяц хранения	4 месяца хранения	5 месяцев хранения
pH	7,46	3,45	2,95
H ⁺	0,35	0,40	1,22
NH ₄ ⁺	15,3	18,8	23,40
Ca ²⁺	94,8	145,0	200,0
Mg ²⁺	3,0	4,9	3,6
Na ²⁺	186,0	193,2	150,0
K ⁺	3,8	10,4	7,4
Fe ³⁺	18,2	18,4	20,20
Fe ²⁺	1,90	2,30	<0,50
Al ³⁺	2,4	7,8	9,6
Cl ¹⁻	48,5	205,6	138,0
SO ₄ ²⁻	342,3	542,4	845,0
HCO ₃ ¹⁻	397,8	121,2	<0,50
F ¹⁻	0,74	0,68	0,27
H ₂ SiO ₄ , мг/л	47,5	38,9	15,8
Минерализация, г/л	1,1	1,1	1,4
Формула Курлова	$M_{1,1} \frac{SO_4 47 HCO_3 44}{Na 61 Ca 36}$	$M_{1,1} \frac{SO_4 67 Cl_3 33}{Na 50 Ca 43}$	$M_{1,4} \frac{SO_4 82 Cl_3 18}{Ca 46 Na 30}$
$\frac{Na}{Cl}$	3,8	0,9	1,1
$\frac{CNa^+}{\sqrt{CCa^{2+}}}$	19,2	16,1	10,6

Определенную роль в формировании лечебных качеств водного экстракта лечебной грязи играют: Fe, I, As, Br, кремниевая кислота, а также химические элементы, присутствующие в экстракте в небольших количествах.

Между тем они, согласно клиническим наблюдениям, имеют существенное бальнеологическое значение. В таблице 7 приводится содержание микроэлементов в термальной воде Паратунских источников, участвующих в формировании покровных вод озера.

При достижении доли термальной воды 40% в питающих водах озера Утиное, наблюдаемое в последние годы, происходит повышение концентрация лития, цинка, мышьяка и др. Разжижение лечебной грязи в процессе активации, снижает концентрацию микроэлементов грязевого раствора и, таким образом стимулирует деятельность микрофлоры и биологическую активность пелоида, активирование которого является частью технологии получения пелоидного препарата.

Длительное повторное экстрагирование извлекает микроэлементы, связанные с твердым веществом пелоида. Этим объясняется более высокий уровень содержания марганца, алюминия, кобальта, сурьмы в экстрагированном препарате по сравнению с содержанием микроэлементов в термальной воде (табл. 7).

Таблица 7. Содержание микроэлементов в водном экстракте лечебной грязи (ВЭЛГ) озера Утиное и термальной воде Нижне-Паратунских источников

Микроэлементы	Содержание, мкг/л		
	ВЭЛГ	Термальная вода	ВЭЛГ на термальной воде
Литий	25,01	140,04	66
Бор	680,33	770,12	440
Алюминий	510,03	100,03	1000
Скандий	3,11	4,14	3,0
Марганец	890,31	17,03	1300
Кобальт	60,02	41,21	38
Цинк	30,04	280,02	45
Мышьяк	13,13	69,01	64
Бром	240,43	800,32	480
Рубидий	11,21	30,12	15
Молибден	15,32	18,01	15
Серебро	0,49	0,99	1,2
Сурьма	2,31	0,76	0,76
Йод	3,30	37,00	27
Висмут	0,20	0,20	0,2
Вольфрам	2,00	18,00	2,0

Содержание отдельных микроэлементов в препарате ВЭЛГ зависит от воздействия термальной воды на процесс формирования грязи и технологии получения препарата.

В состав контролируемых микроэлементов препарата ВЭЛГ входят: Al, Fe, Mn, Mo, Cu, As, Ti, Sr, Si, Ag (табл. 7). Будучи фактором положительного бальнеологического действия, эти металлы угнетают специфическое микробное сообщество лечебной грязи.

Ряд содержания микроэлементов в ВЭЛГ, ранжированный по убыванию, следующий: Mn > B > Al > Br > Co > Zn > Li > Mo > As > Rb > Sc > Sb > W > Ag > Bi.

Ряд содержания микроэлементов в термальной воде следующий: Br > B > Zn > Li > Al > As > Co > I > Rb > Mo > W > Mn > Sc > Ag > Sb > Bi.

Значительное снижение содержания токсических элементов в процессе активации лечебной грязи уменьшает их подавляющее влияние на автохтонную микрофлору лечебной грязи, стимулирует очищающую способность пелоида, повышает его биологическую активность и включает микроэлементы в бальнеологические факторы лечебного действия по аналогии с сопочными грязями.

7.3. Изменение важнейших параметров растворов лечебной грязи в процессе длительной (аэробной или анаэробной) активации

При длительной активации лечебной грязи в реакторе, обеспечивающем условия инкубирования, физико-химические факторы, влияющие на биологическую активность пелоида, могут достигать значительных уровней (табл. 8). Процесс активации длился 30 суток как в аэробном, так и в анаэробном вариантах инкубирования.

Таблица 8. Физико-химические свойства экстрактов лечебной грязи озера Утиное в различных условиях инкубации в течение 30 суток

Измеряемые показатели	Проба №1 Без вмешательств		Проба №2 Активация (без барботирования)		Проба №3 Активация с барботированием атмосферным воздухом		Проба №4 Активация в анаэробных условиях	
	мг/л	мг.экв/л	мг/л	мг.экв/л	мг/л	мг.экв/л	мг/л	мг.экв/л
pH	6.14		3.74		2.90		7.12	
H ⁺			0.2	0.2	1.57	1.57		
Al ³⁺	2.43	0.18			10.8	0.8	1.35	0.1
Na ⁺	98.9	4.29	97.2	4.22	123.2	5.33	100.8	4.38
NH ₄ ⁺	32.5	1.80	30.0	1.67	30.0	1.67	30.0	1.67
Ca ²⁺	87.8	4.38	95.2	4.75	416.8	20.8	87.8	4.38
Mg ²⁺	10.6	0.87	12.16	1.0	68.1	5.6	10.5	0.87
Fe ²⁺	-	-	< 0.3		938.3	33.6	-	-
Fe ³⁺	1.68	0.09			229,0	12,3	1,12	0,06
Σ катион.	223,9	11,61	236,9	12,0	1392,8	80,87	231,7	11,46
Cl ⁻	127.7	3.6	134.7	3.8	141.8	4.0	134.7	3.8
HCO ₃ ⁻	12.0	0.196					56.8	0.828
SO ₄ ²⁻	293	6.1	358.3	7.46	3611.8	75.2	320.4	6.67
SO ₄ ²⁻ общ.	358	7.46						
Σ анион.	498.7	11.26	493	11.26	3753.6	79.2	511.9	11.3
H ₃ BO ₃ общ.	1.94		1.94		27.1		1.94	
H ₄ SiO ₄ раств.	75.0		93.0		188.0		66.0	
M	809.5		824.8		5362		811.5	

Наблюдаемые изменения в физико-химических свойствах экстрактов в процессах активации объясняются развитием соответствующих физиологических групп микробного сообщества лечебной грязи.

В анаэробных условиях, достигнутых изолирующим слоем вазелинового масла, происходит стабилизация и накопление органического вещества, промежуточных продуктов замедленной анаэробной диссимилиации. Минерализованные экстракты имеют высокий уровень антибактериальной активности по отношению к привнесенной микрофлоре, а также обладают рефлекторно-раздражающим действием. Экстракты после анаэробной активации обладают высоким содержанием БАВ, включающих белковые вещества, аминокислоты, витамины, гумматы, обладающие противовоспалительным, ранозаживляющим действием.

Аэробные процессы активации, интенсивные по своей природе, затрачивая органические вещества, вызывают значительную минерализацию грязевого раствора, подкисливают его и делают процесс терминальным, после которого извлекаемая жидкая фракция обладает выраженным антибактериальным и рефлекторно-раздражающим действием.

В анаэробных процессах происходит балансирование направлений изменения грязевого субстрата, при этом накапливается гидротроиллит, грязь приобретает темную окраску, содержит большое количество БАВ. После аэробного процесса преобразований пелоида возможен анаэробный реверс-восстановление, требующий органическое питание и отведение конечных продуктов разведением дистиллированной водой (табл. 8).

7.4. Микробиологическая характеристика препарата ВЭЛГ

Микробиологические свойства препарата ВЭЛГ исследовались по содержанию микроорганизмов в самом препарате, а также по его воздействию на развитие культур патогенных и условно-патогенных бактерий различных систематических, морфологических, физиологических, биохимических групп – кокки, бациллы (палочки), капсулообразующие, спороносные, грамположительные, грамотрицательные.

Из таблицы 9 видно, что в исходной концентрации препарат подавляет рост *Staphylococcus aureus* и *Kl. pneumoniae* (капсульный микроорганизм). Препарат оказывал наиболее существенное действие на грамотрицательный микроорганизм *E. coli*. Изученное вещество водного экстракта лечебной грязи (препарата ВЭЛГ) в системе *in vitro* оказывает угнетающее действие на *S. aureus*, *Kl. pneumonia* и обладает бактерицидным воздействием на кишечную палочку – таблица 11 (Мурадов и др., 1997; Мурадов, Чертова, 2006).

Таблица 9. Активность водного экстракта лечебной грязи в отношении некоторых видов микроорганизмов

Вид микроорганизма:	№ проб Время:	1 исх. конц.	2 ½	3 1/4	4 1/8	5 1/16	6 1/32	7 1/64	К
<i>Staphylococcus aureus</i>	30 мин.	ед. Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	60 мин.	ед. Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	150 мин.	ед. Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	30 мин.	ед. Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	60 мин.	ед. Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	150 мин.	ед. Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
<i>Bacillus cereus</i>	30 мин.	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	60 мин.	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
	150 мин.	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р	Р
<i>Escherichia coli</i>	30 мин.	ед. Р	ед. Р	ед. Р	Р	Р	Р	Р	Р
	60 мин.	ед. Р	ед. Р	ед. Р	ед. Р	Р	Р	Р	Р
	150 мин.	ед. Р	ед. Р	ед. Р	ед. Р	Р	Р	Р	Р

Примечание: ед. Р – единичный рост колоний микроорганизмов, Р – рост колоний микроорганизмов, К – контроль

Антибактериальное действие экстрактов, описанных в таблице 8 (раздел 7.3), выявляется с использованием дискодиффузионного метода (монослой бактерий на 3% МПА).

Экстракты формируют зону осветления на монослое культуры кишечной палочки. Выражен антибактериальный эффект действия экстракта № 3 (аэробная активация). Использовались 1, 2, 3, 4–диффузионные диски, содержащие соответствующие исследуемые экстракты (Рис. 7).

Исследование препаратов, полученных нами, показало, что их общая микробная обсемененность (мезофильными аэробами и факультативными анаэробами) оказывалась не выше 300 колониеобразующих единиц на миллилитр, что соответствует чистоте ключевой воды. ПЦР исследования присутствия санитарно-показательной микрофлоры в процессе активации и по-

лучении пелоидных препаратов показывают их чистоту и кондиционность для лечебного применения.

Антибактериальные свойства экстракта аэробно-активированной лечебной грязи, в сравнении с действием важнейших антибиотиков, показано на рисунках 8, 9.

Таким образом, препаративная форма лечебной грязи не только лишена загрязняющего параметра, но и обладает выраженным антибактериальным действием, обусловленным экстрактивными веществами активированной лечебной грязи.



Рисунок 8. Антибактериальное действие исследуемых экстрактов с использованием диско-диффузионного метода (1, 2, 3, 4–диффузионные диски, содержащие исследуемые экстракты, описанные в табл. 8)

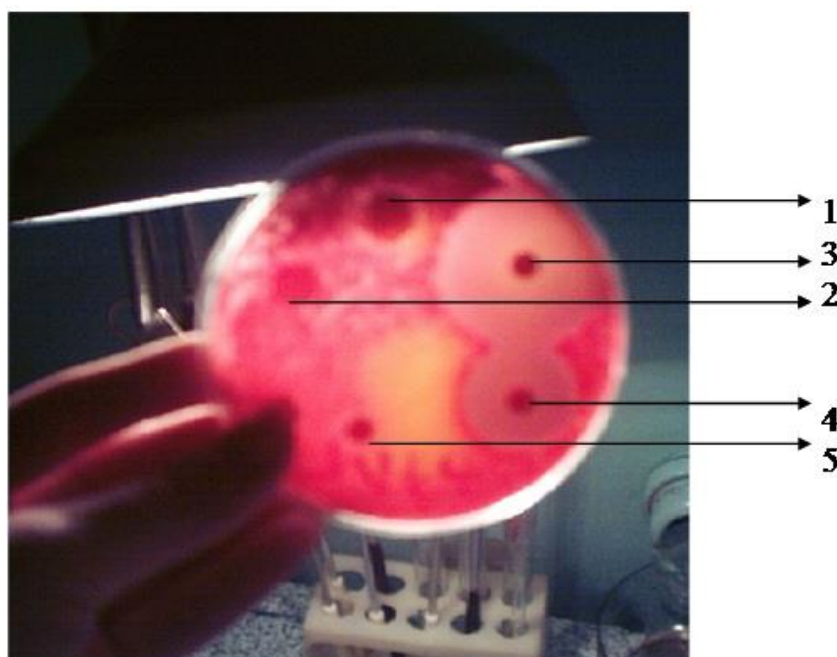


Рисунок 9. Антибактериальные свойства препарата ВЭЛГ, определяемые диско-диффузионным методом: 1 – препарат ВЭЛГ, 2 – контрольный чистый диск, 3 – левомицитин, 4 – ампициллин, 5 – олеандромицин

7.5. Биомедицинские свойства водного экстракта лечебной грязи

Тестирование биомедицинских свойств препарата ВЭЛГ осуществлялось по раздражающему действию на кожные покровы, ранозаживляющему действию на механические и ожоговые повреждения кожи лабораторных животных. При изучении раздражающего действия препарата смоченные марлевые тампоны наносились на материальную часть тела 10 крыс и 10 кроликов, такой же численности контрольной группе животных прикладывались тампоны, смоченные дистиллированной водой. Длительность воздействия в опыте и контроле составляла 30 минут. Наблюдения в течение трех недель не выявили никаких изменений кожных покровов. Таким образом, было установлено отсутствие раздражающего действия препарата.

Ранозаживляющее действие препарата изучалось воздействием на механическое повреждение кожи 10 крыс и 10 кроликов. В первой группе на рану прикладывался марлевый тампон, смоченный изучаемой субстанцией, во второй группе – смоченный облепиховым маслом, в третьей группе раны накрывались сухим тампоном. Наблюдение осуществлялось до полного заживления ран. Эффективность оценивалась по скорости уменьшения раневого дефекта, качеству заживления, а также цитологически по анализу экссудата (мазков). Цитологические препараты окрашивались по стандартной гематологической методике Азур-Эозином.

Существенных отличий в 1 и 2 группах в закрытии раневого дефекта не отмечено. По мере формирования эпителия происходило оттеснение струпа. Полное закрытие раневого дефекта в 1 и 2 группах по длительности заживления практически происходило с одинаковой интенсивностью в течение 5-7 дней. Причем у кроликов процесс заживления опережал аналогичные изменения у крыс на 1-2 дня.

Цитологические исследования мазков экссудатов раневой поверхности выявляли нейтрофильные лейкоциты, макрофаги. Единичные гистиоциты обнаруживались на 2-3 день заживления.

При исследовании мазков экссудатов ран 1 и 2 групп животных кокковые микроорганизмы – возбудители гнойных инфекционных процессов – не наблюдались.

В 3 (контрольной) группе животных в первую неделю развивался гнойно-воспалительный процесс. Раны неравномерно покрывались кровянисто-фибринозным струпом отдельными островками, чередующимися с гнойно-некротическими массами. У всех животных наблюдалась серозная экссудация. Цитологические исследования экссудата выявляли кокковую флору на 2-3 день заживления, большое количество нейтрофилов, макрофагов, эритроцитов. Единичные гистиоциты обнаруживались на 5-6 день заживления. Сухим струпом у основной группы животных (75%) рана закрылась через две недели. 25% животных (2 кролика, 3 крысы) имели осложнения, затянувшие заживление еще на 5-7 дней.

Тест ранозаживляющего действия препарата ВЭЛГ при его сравнительном изучении с облепиховым маслом показал его одинаковую эффективность с признанной ранозаживляющей субстанцией – облепиховым маслом. Суще-

ственных различий в проявлении реакции заживления у крыс и кроликов не было выявлено. Различие в длительности заживления опытных 1 и 2 групп опережали контрольную группу на 1,5 недели с достижением лучших результатов – эпителизации в опыте, в отличие от сухого струпа в контроле.

При исследовании препарата по его воздействию на ожоговую рану было сформировано 3 группы, аналогично предыдущему эксперименту, с включением в каждую группу 10 крыс и 10 кроликов. Животным опытных групп наносилось ожоговое повреждение приложением металлической поверхности площадью 1 см² для крыс и 3 см² – для кроликов, нагретой до температуры 150°С. Длительность воздействия устанавливалась в 50 секунд. Процедура экспериментального ожога осуществлялась под наркозом с применением сомбревина и эфира.

В первой группе животных ожоговая поверхность покрывалась тампоном, смоченным препаратом ВЭЛГ, во второй группе тампоны смачивались облепиховым маслом, а в третьей – прикладывались сухие тампоны. Длительность наблюдений во всех группах составляла 2 недели. Критерием оценки процесса восстановления поврежденного участка кожи явилось полное заживление. Цитологические наблюдения ран не выявили клеточных элементов, за исключением единичной кокковой флоры, наблюдаемой в экссудатах 3 (контрольной) группы животных.

При исследовании проб водного экстракта лечебной грязи аэробной и анаэробной инкубации на острую и хроническую токсичность установлено, что они нетоксичны.

Препараты активированной лечебной грязи оз. Утиное по своим физико-химическим свойствам близки к грязевому раствору нативной грязи, по составу сульфатные, натриево-кальциевые, слабоминерализованные со слабокислой или нейтральной реакцией среды. Они обладают ценным комплексом свойств: ранозаживлением от механических и ожоговых повреждений, антибактериальностью по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам различных систематических, морфологических, физиологических и биохимических групп (кокки, бациллы, капсулообразующие, споросные, грамположительные, грамотрицательные), а также лишены токсичности и раздражающего действия на кожу и слизистые.

ВЫВОДЫ

1. Оценка экологического состояния месторождения лечебной грязи озера Утиное на основе исследований покровных вод, грязеиловых отложений показывает, что физико-химическая характеристика покровных вод и грязеиловых отложений практически соответствует нормативам исследуемого типа грязи, а совокупность параметров грязи указывает на высокие кондиции лечебной грязи по параметрам: влажность – 77%; объемный вес – 1,11 г/см³; сопротивление сдвигу – 2606 дин/см²; pH – 6,3; окислительно-восстановительный потенциал Eh – (–53) mV; теплоемкость – 0,87 кал./г/град.; сульфиды железа – 0,38%, в том числе сероводород – 0,16%, органические вещества – 18%, минерализация грязевого раствора 2,6 г/л, его

состав -хлоридно-карбонатный, кальциево-натриевый. Биохимические исследования лечебной грязи озера Утиное обнаруживают высокое содержание гуминовых и фульвокислот, липидов, каротиноидов. Экологическими пороками месторождения и его грязеиловых отложений является неудовлетворительное санитарное состояние и песчаное загрязнение.

2. Имеющее место на озере Утином инфицирование сточными водами грязе-иловых отложений, определяющее пониженные титры условно-патогенной флоры, может быть предотвращено за счет строгой санитарной охраны месторождения на всем водосборном бассейне либо устранено выдерживанием лечебной грязи в грязехранилище при температуре 20–22°C в течение 4-х месяцев или методом активации в течение 15-ти часов.

3. На основе молекулярно-генетических методов ПЦР разработаны модификации для идентификации санитарно-показательных микроорганизмов *E. coli* и *Cl. perfringens*. Установлено их наличие в исходной лечебной грязи и отсутствие при всех вариантах ее активации, что показывает эффективность экологической активации при очищении пелоида.

4. Нормальный уровень параметров лечебной грязи сохраняется в абиотической части грязевой структуры и в определенной степени на уровне специфической микрофлоры, составляющей следующие группы, определяющие направления их физиологической активности: гнилостные аэробы (NH_3); гнилостные аэробы (H_2S); гнилостные анаэробы; денитрифицирующие (N_2O); денитрифицирующие (N_2); маслянокислые; целлюлозоразлагающие аэробы; целлюлозоразлагающие анаэробы; сульфатредуцирующие; тионовые; плесневые грибы. Специфическая иловая микрофлора грязи отличается разнообразием физиологической активности и достаточной суммарной численностью, но не обеспечивает самоочищение пелоида от привнесенной санитарно-показательной микрофлоры.

5. При экологической активации пелоида происходит значительное снижение содержания токсических элементов, снимается их подавляющее влияние на автохтонную микрофлору лечебной грязи, стимулируется очищающая способность. Развитие физиологических групп микробного сообщества лечебной грязи определяет ее биологическую активность и регенеративные свойства. Размножение гнилостных аэробов, денитрифицирующих бактерий, тионовых и сульфатредуцирующих бактерий приводит к накоплению катионов и анионов, а также кремниевой кислоты, что обуславливает значительное увеличение минерализации (809,5–5362,0 мг/л), подкисливание рН экстракта (6,14–2,90). Маслянокислые бактерии, плесневые грибы увеличивают содержание органического вещества, доступного для гнилостных процессов с выделением сероводорода, аммиака и далее синтеза гидротроиллита – основного вещества формирования лечебной грязи.

6. Технологической основой получения пелоидного препарата из лечебной грязи оз. Утиное является водное экстрагирование грязе-иловой массы, обеспечивающее извлечение грязевого раствора с включением в раствор веществ, связанных с твердой фазой грязевого материала и теряющих эту связь за счет разжижения, повышения температуры (35°C), механической активации (перемешивания) и повторного экстрагирования со сменой экстрагента.

7. Установлено бактериостатическое и бактерицидное действие экстрактов из активированной лечебной грязи и их аналога, препарата ВЭЛГ, на культуры условно патогенных и основные группы патогенных микроорганизмов. Биологическое тестирование препарата установило отсутствие раздражающего действия, острой и хронической токсичности, способности препаратов заживлять механические и ожоговые повреждения кожных покровов лабораторных животных.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ И РЕКОМЕНДАЦИИ

Несмотря на снижение уровня бактериального загрязнения озера Утинное, наблюдаемое в последние годы, необходимо продолжать вести мониторинг санитарно-микробиологического состояния месторождения как в части исследования покровных вод, так и донных грязе-иловых отложений, а также питающих озеро рек и стоков, в том числе за содержанием токсичных компонентов, выявлять источники загрязнения, вырабатывать рекомендации по их исключению или обеспечению очистки.

При исследовании покровных вод и грязевых отложений на содержание ЛКП, методика её определения, основанная на элективном факторе температуры 45°C, не позволяет дифференцировать содержание термотолерантных палочек, характерных для термальных вод. Для проведения бактериологических исследований целесообразнее использовать метод молекулярно-биологического обнаружения санитарно-показательных микроорганизмов, разработанный в НИГТЦ ДВО РАН. Применение этого метода позволит дифференцировать присутствие в водах и донных отложениях месторождения колиформных бактерий фекального и гидротермального происхождения, что существенно уточняет оценку его санитарно-экологического состояния. Возможно также сочетание современных молекулярно-биологических методов с классическими микробиологическими методами.

Существенным совершенствованием процесса грязелечения на современном этапе развития Паратунского курорта является производство пелоидных препаратов на основе лечебной грязи озера Утинное. Этот экологический подход включает активацию лечебной грязи, создает возможность использования некондиционных пелоидов для получения грязевых препаратов, решает экономические проблемы развития грязелечения и позволяет успешно развивать широкое внекурортное грязелечение, а также распространение препаратов за пределами края.

Камчатский край является основным носителем ресурсов термоминеральных вод современной России (здесь сосредоточено более 90% всех источников холодных и термо-минеральных вод, обладающих высокими целебными свойствами), их успешное бальнеологическое применение включает грязелечение, а в этой связи – сохранение и успешную эксплуатацию единственного в крае месторождения лечебной грязи.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Монографии и учебно-методическое пособие:

1. **Мурадов С.В.** Формирование и биологическая активность грязе-иловых отложений. Экология и микробиология. – Владивосток: Дальнаука, 2000. – 91 с. – 5,69 п.л.
2. **Мурадов С.В.** Экологическое решение проблем современного грязелечения. – Петропавловск-Камчатский: Изд-во КамГУ им. Витуса Беринга, 2007. – 266 с. – 16,63 п.л.
3. Потапов В.В., Зеленков В.Н., Кашпура В.Н., Горбач В.А., **Мурадов С.В.** Получение материалов на основе нанодисперсного кремнезема гидротермальных растворов. – М.: РАЕН, 2010. – 296 с. – 18,5 / 3,7 п.л.
4. **Мурадов С.В.**, Кириченко В.Е., Рогатых С.В. Термоминеральные источники и лечебные грязи Камчатского края. – Петропавловск-Камчатский: РИОиП ККТ, 2013. – 238 с. – 14,88 / 4,96 п.л.
5. **Мурадов С.В.** Учебно-методическое пособие по курсу «Микробиология». – Петропавловск-Камчатский: Изд-во КамГУ им. В. Беринга, 2007. – 108 с. – 6,75 п.л.

Публикации в журналах, которые включены в перечень российских рецензируемых научных журналов и изданий для опубликования основных научных результатов диссертаций:

6. Ступникова Н.А., Христофорова Н.К., **Мурадов С.В.** Месторождение лечебной грязи «Озеро Утиное»: условия формирования и оценка состояния при антропогенном воздействии // География и природные ресурсы. – 2003. – № 4. – С. 39-43. – 0,31 / 0,11 п.л.
7. Ступникова Н.А., **Мурадов С.В.** Физико-химические и микробиологические исследования лечебной грязи месторождения Озеро Утиное Камчатской области // Вестник Дальневосточного отделения Российской академии наук. – 2005. – № 3. – С. 76-82. – 0,44 / 0,22 п.л.
8. **Мурадов С.В.**, Чертова В.Д. Пути решения экологического неблагополучия лечебной грязи // Научное обозрение. – 2006. – № 4. – С. 15-18. – 0,25 / 0,13 п.л.
9. **Мурадов С.В.**, Пахомова Н.А., Рогатых С.В. Минеральные источники и пелоиды Южной Камчатки как основа для выделения специализированных лечебных зон // Естественные и технические науки. – 2008. – № 1 (33). – С. 169-175. – 0,44 / 0,15 п.л.
10. **Мурадов С.В.**, Борисенко В.В., Асабина В.Д., Балыков А.А. Экологическое состояние лечебной грязи оз. Утиное Паратунского курорта Камчатского края // Проблемы региональной экологии. – 2009. – № 4. – С. 54-61. – 0,5 / 0,13 п.л.
11. Хайнасова Т.С., Левенец О.О., Кузякина Т.И., **Мурадов С.В.**, Балыков А.А. Состояние и перспективы развития технологии бактериально-химического выщелачивания металлов из сульфидных руд на Камчатке // Горный информационно-аналитический бюллетень (научно-технический журнал). Mining informational and analytical bulletin (scientific and technical

journal). – 2009. – Т. 4, № 12. – С. 306-310. – 0,31 / 0,07 п.л.

12. Трухин Ю.П., Кузякина Т.И., **Мурадов С.В.**, Хайнасова Т.С., Левенец О.О., Балыков А.А., Рогатых С.В. Эколого-экономические аспекты применения технологии биовыщелачивания ценных компонентов из сульфидных кобальт-медно-никелевых руд (Камчатка) // Проблемы региональной экологии. – 2010. – № 6. – С. 117-122. – 0,38 / 0,05 п.л.

13. Рогатых С.В., Докшукина А.А., Хайнасова Т.С., **Мурадов С.В.**, Кофиади И.А. Использование технологии ПЦР в реальном времени для оценки эффективности методов выделения ДНК из культур ацидофильных хемототрофных микроорганизмов // Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – Т. 47, № 2. – С. 226-230. – 0,31 / 0,07 п.л.

14. Лапин А.А., Потапов В.В., Калайда М.Л., **Мурадов С.В.**, Зеленков В.Н. Очистка воды от загрязнений водными растениями // Бутлеровские сообщения. – 2012. – Т. 31, № 7. – С. 85-92. – 0,5 / 0,1 п.л.

15. **Мурадов С.В.**, Рогатых С.В. Физико-химические свойства растворов лечебной грязи и основы технологии получения пелоидных препаратов // Научно-технический вестник Поволжья. – 2013. – № 3. – С. 214-217. – 0,25 / 0,13 п.л.

16. **Мурадов С.В.** Восстановление санитарно-микробиологических кондиций лечебной грязи в процессах регенерации и активации // Вестник Московского государственного областного университета. Серия «Естественные науки». – 2013. – № 3. – С. 37-42. – 0,38 п.л.

17. **Мурадов С.В.** Мониторинг лечебной грязи озера Утиное (Камчатский край) по физико-химическим характеристикам за 50 лет эксплуатации месторождения // В мире научных открытий. – 2013. – № 7.1 (43). – С. 14-28. – 0,94 п.л.

18. **Мурадов С.В.** Мониторинг санитарно-микробиологического состояния лечебной грязи озера Утиног (Камчатский край) за 50 лет эксплуатации месторождения // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 6 (часть 4). – С. 913-917. – 0,31 п.л.

19. Рогатых С.В., Докшукина А.А., Левенец О.О., **Мурадов С.В.**, Кофиади И.А. Оценка качественного и количественного состава сообществ культивируемых ацидофильных микроорганизмов методами ПЦР-РВ и анализа библиотеки клонов // Микробиология. – 2013. – Т. 82, № 2. – С. 212-217. – 0,38 / 0,08 п.л.

20. **Мурадов С.В.** Микробиологические свойства и биомедицинское тестирование пелоидных препаратов из активированной лечебной грязи // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Т. 20, № 4. – С. 38-41. – 0,25 п.л.

Публикации в других научных изданиях:

21. **Мурадов С.В.**, Моисеев Р.С., Леонова Л.А. Проблемы использования лечебных грязевых ресурсов Камчатки // Материалы юбилейной научно-практической конференции Томского НИИ курортологии и физиотерапии. – Томск, 1991. – С. 51-55. – 0,25 / 0,08 п.л.

22. **Мурадов С.В.** Клинико-биологические подходы к лечебному приме-

нению препаратов из грязи Утиног озера Паратунского курорта // Актуальные вопросы природопользования и экологической культуры на Камчатке. – Петропавловск-Камчатский: Дальневосточное книжное издательство, Камчатское отделение, 1994. – С. 57-58. – 0,13 п.л.

23. **Мурадов С.В.**, Калинин С.В. Экологические, биохимические и биотехнологические предпосылки широкого внедрения пелоидных препаратов в лечебную практику // Материалы международной конференции «Камчатка — уникальный геофизический, геохимический, геокосмический регион планеты. Этносы и геополитика региона, космоантропоэкология». – Петропавловск-Камчатский, 1996. – С. 8. – 0,06 / 0,03 п.л.

24. **Мурадов С.В.** Пути изучения экологии грязевого месторождения и его рациональной эксплуатации при обеспечении грязелечебных методов // Материалы международной конференции «Камчатка – уникальный геофизический, геохимический, геокосмический регион планеты. Этносы и геополитика региона, космоантропоэкология». – Петропавловск-Камчатский, 1996. – С. 10. – 0,06 п.л.

25. **Мурадов С.В.**, Калинин С.В., Ступникова Н.А. Обоснование принципов рациональной эксплуатации грязевого месторождения в связи с широким медицинским применением // Физико-химические процессы в гетерогенных средах. Труды Петропавловск-Камчатского Высшего Морского училища. – Вып. 2. – Петропавловск-Камчатский, 1997. – С. 77-84. – 0,5 / 0,17 п.л.

26. **Мурадов С.В.**, Ступникова Н.А. Перспективы развития бальнеологии и курортных методов оздоровления и лечения в связи с развитием горнодобывающей промышленности и освоением Центральной Камчатки // Материалы научно-практической конференции. – Петропавловск-Камчатский: Издательство КГАРФ, 1997. – С. 31. – 0,06 / 0,03 п.л.

27. **Мурадов С.В.**, Калинин С.В. Биомедицинское отражение экологических процессов в лечебных грязях // Эколого-экономические проблемы рационального природопользования Камчатки. Труды Камчатской государственной академии рыбопромыслового флота. – Вып. 4. – Петропавловск-Камчатский, 1998. – С. 50-54. – 0,31 п.л.

28. **Мурадов С.В.**, Ступникова Н.А. Особенности экологических и биомедицинских проблем Камчатского региона как зоны активной вулканической деятельности. // Первая международная научная конференция «Вулканизм и биосфера» – Туапсе, 1998. – С. 82. – 0,06 / 0,03 п.л.

29. **Мурадов С.В.**, Ступникова Н.А. Особенности экологии формирования лечебной грязи в зоне активного вулканизма // Вторая международная научная конференция «Вулканизм и биосфера Земли и экологические проблемы Причерноморья», тезисы докладов. – Туапсе, 2000. – С. 79–80. – 0,06 / 0,03 п.л.

30. **Мурадов С.В.** Оценка экологического состояния донно-грязевых отложений и активация их лечебных свойств // Человек в прибрежной зоне: опыт веков. Материалы международной междисциплинарной конференции. – Петропавловск-Камчатский, 2001. – С. 118–120. – 0,19 п.л.

31. **Мурадов С.В.**, Ступникова Н.А., Жариков И.В. Биоразнообразие микроорганизмов донных отложений о. Утиног как фактор формирования ле-

чебных свойств грязи // Сохранения биоразнообразия Камчатки и прилегающих морей. Материалы II научной конференции. – Петропавловск-Камчатский, 2001. – С. 84–86. – 0,19 / 0,06 п.л.

32. Ступникова Н.А., **Мурадов С.В.** Экологические основы восстановления лечебных свойств грязей Паратунского курорта Камчатской области // Материалы межрегионального научного семинара «Человек на Севере: проблемы качества жизни». – Петропавловск-Камчатский, 2002. – С. 81–84. – 0,25 / 0,13 п.л.

33. **Мурадов С.В.**, Аношина М.Е., Ступникова Н.А. Хронобиологические подходы к применению природных средств оздоровления и лечения // Материалы межрегионального научного семинара «Человек на Севере: проблемы качества жизни». – Петропавловск-Камчатский, 2002. – С. 62–64. – 0,19 п.л.

34. Константинова Т.А., **Мурадов С.В.** Особенности протекания адаптивных процессов у контингентов групп населения Камчатской области – зоны активного вулканизма // Третья туапсинская международная научная конференция «Вулканизм, биосфера и экологические проблемы»: тезисы докладов. – Туапсе, 2003. – С. 79–80. – 0,13 / 0,06 п.л.

35. **Мурадов С.В.** Значение термальных вод и гидротермальной энергетики для развития отраслей медицины, биологии и биотехнологии // Международный геотермальный семинар МГС-2004: аннотации докладов. Россия, Петропавловск-Камчатский, 9-14 августа 2004. – Петропавловск-Камчатский, 2004. – С. 72. – 0,06 п.л.

36. **Мурадов С.В.**, Ключков А.А. Традиционное грязелечение: опыт естественно-исторического и современного применения // Вестник Камчатской региональной ассоциации «Учебно-научный центр». Гуманитарные науки. – 2004. – № 1. – С. 23–24. – 0,13 / 0,07 п.л.

37. Сельминская О.В., Константинова Т.А., **Мурадов С.В.** Опыт выживания народов Севера и природные факторы, обеспечивающие адаптацию в условиях Камчатского региона // Вестник Камчатской региональной ассоциации «Учебно-научный центр». Гуманитарные науки. – 2004. – № 1. – С. 20–23. – 0,25 / 0,08 п.л.

38. **Мурадов С.В.** Бальнеологические ресурсы Камчатки в связи с развитием геотермальной энергетики // Международная научная конференция «Извлечение минеральных компонентов из геотермальных Растворов»: тезисы докладов. Петропавловск-Камчатский 12-15 сентября 2005 г. – С.100–102. – 0,19 п.л.

39. Чепур А.А., Данильченко Н.С., **Мурадов С.В.** Опыт использования синоптической информации в медицинских целях на примере влияния циклонической активности на показатели лейкоцитарной формулы (г. Петропавловск-Камчатский) // Аспирант и соискатель. – 2006. – № 3 (34). – С. 244–252. – 0,56 п.л.

40. **Мурадов С.В.**, Пилипенко Е.М., Рогатых С.В. Медико-биологические исследования экологии человека и адаптационных процессов в камчатском регионе // Безопасность России в условиях глобализации: межвузовский сборник научных трудов / под ред. Т.М. Зуевой. – Зерноград: ФГОУ ВПО АЧГАА, 2007. – С. 77–80. – 0,25 / 0,09 п.л.

41. **Мурадов С.В.**, Рогатых С.В. Разнообразие минеральных источников Камчатки – один из существенных факторов экономического развития области // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Дальний Восток России: перспективы развития», 2-9 февраля 2007 г. – Петропавловск-Камчатский: Изд-во КамГУ им. В. Беринга, 2007. – С. 269-271. – 0,19 / 0,09 п.л.

42. Рогатых С.В., **Мурадов С.В.** Предпосылки развития рационального и эффективного использования бальнеологических ресурсов Камчатской области // Дальневосточная весна - 2007: Материалы международной научно-практической конференции в области экологии и безопасности жизнедеятельности, Комсомольск-на-Амуре, 7-8 июня 2007 г. / отв. ред. И.П. Степанова. – Комсомольск-на-Амуре: ГОУ ВПО «КНАГТУ», 2007. – С. 488-489. – 0,13 / 0,07 п.л.

43. **Мурадов С.В.** Бактериально-химический метод повышения биологической активности и восстановление кондиций лечебной грязи // Камчатка – здравница северо-восточных регионов России: материалы и доклады межрегиональной научно-практической конференции, Петропавловск-Камчатский, 22–24 октября 2009 г. / Отв. ред. С.В. Мурадов. – Петропавловск-Камчатский: НИГТЦ ДВО РАН, 2009. – С. 72–79. – 0,5 п.л.

44. Рогатых С.В., Садовникова А.О., **Мурадов С.В.** Проблемы классификации лечебных минеральных вод Камчатского края // Камчатка – здравница северо-восточных регионов России: материалы и доклады межрегиональной научно-практической конференции, Петропавловск-Камчатский, 22–24 октября 2009 г. / Отв. ред. С.В. Мурадов. – Петропавловск-Камчатский: НИГТЦ ДВО РАН, 2009. – С. 100–109. – 0,63 / 0,21 п.л.

45. **Мурадов С.В.** Вулканизм и здоровье человека на Камчатке // Вулканизм, биосфера и экологические проблемы: сборник материалов V Международной научной конференции. Майкоп–Туапсе, 4–8 октября 2009 г. / науч. ред. Е.К. Мархинин, И.Г. Волкодав. – Майкоп–Туапсе: Адыгейский гос. университет, 2009. – С. 131–132. – 0,13 п.л.

46. Асабина В.Д., **Мурадов С.В.** Мониторинг экологического состояния лечебной грязи озера Утиное Паратунского курорта Камчатского края // Камчатка – здравница северо-восточных регионов России: материалы и доклады межрегиональной научно-практической конференции, Петропавловск-Камчатский, 22–24 октября 2009 г. / отв. ред. С.В. Мурадов. – Петропавловск-Камчатский: НИГТЦ ДВО РАН, 2009. – С. 14–18. – 0,31 / 0,16 п.л.

47. **Мурадов С.В.**, Рогатых С.В. История изучения термальных вод Камчатского края // Люди великого долга: материалы международных исторических XXVI Крашенинниковских чтений. – Петропавловск-Камчатский: Камчатская краевая научная библиотека им. С.П. Крашенинникова, 2009. – С. 146-152. – 0,44 / 0,22 п.л.

48. **Мурадов С.В.**, Пилипенко Е.М., Троцко Н.А. Связь клинко-биохимических параметров крови человека с уровнем экстремальных воздействий в условиях Камчатского региона // Вулканизм, биосфера и экологические проблемы: сборник материалов V Международной научной конференции. Майкоп–Туапсе, 4-8 октября 2009 г. / науч. ред. Е.К. Мархинин,

И.Г. Волкодав. – Майкоп–Туапсе: Адыгейский гос. университет, 2009. – С. 133. – 0,06 / 0,02 п.л.

49. **Мурадов С.В.**, Асабина В.Д., Балыков А.А., Борисенко В.В. Биотехнология переработки пелоидных материалов с целью повышения биологической активности и улучшения их экологических кондиций // Вулканизм, биосфера и экологические проблемы: сборник материалов V Международной научной конференции. Майкоп–Туапсе, 4–8 октября 2009 г. / Науч. ред. Е.К. Мархинин, И.Г. Волкодав. – Майкоп–Туапсе: Адыгейский гос. университет, 2009. – С. 96-97. – 0,13 / 0,04 п.л.

50. **Мурадов С.В.**, Рогатых С.В., Сельминская О.В., Ключков А.А., Волин В.В. Бальнеологические ресурсы Камчатки – возможности их применения // Камчатка – здравница северо-восточных регионов России: материалы и доклады второй межрегиональной научно-практической конференции, посвященной 65-летию юбилею военного санатория «Паратунка», Петропавловск-Камчатский, 19–20 октября 2011 г. / Отв. ред. С.В. Мурадов. – Петропавловск-Камчатский, НИГТЦ ДВО РАН, 2011. – С. 41-49. – 0,56 / 0,12 п.л.

51. Лапин А.А., Потапов В.В., Хабибуллина Л.Р., **Мурадов С.В.**, Калайда М.Л., Борисова С.Д., Зеленков В.Н. Использование водных растений для очистки вод от загрязнений в условиях санитарной плантации // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сборник научных трудов. – Вып. 20. – М.: РАЕН, 2012. – С. 88-98. – 0,69 / 0,1 п.л.

52. Лапин А.А., Масгутова Г.А., Потапов В.В., **Мурадов С.В.**, Зеленков В.Н. О возможности применения нанодисперсного кремнезема природных геотермальных вод в аквакультуре // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты: сборник научных трудов. – Вып. 20. – М.: РАЕН, 2012. – С. 154-161. – 0,5 / 0,1 п.л.

53. Потапов В.В., **Мурадов С.В.**, Сивашенко В.А., Рогатых С.В. Нанодисперсный диоксид кремния: применение в медицине и ветеринарии // Наноиндустрия. – 2012. – № 3 (33). – С. 32–36. – 0,31 / 0,08 п.л.

54. Кофиади И.А. **Мурадов С.В.**, Рогатых С.В. Возможности использования биомедицинских технологий для решения задач сохранения экологии и развития бальнеотерапии на Камчатке // Экологический туризм: проблемы и перспективы развития на Дальнем Востоке. Сборник научных трудов по материалам Международного экологического форума на Камчатке 12–16 сентября 2013 г. Часть 1. / Под ред. Л.Г. Буряк, О.В. Сарайкиной. – Петропавловск-Камчатский: ООО «СЕТО-СТ+», 2013. – С. 133-136. – 0,25 / 0,08 п.л.

55. **Мурадов С.В.** Физико-химическое и санитарно-микробиологическое состояние лечебной грязи озера Утиное (Камчатский край) // Экологический туризм: проблемы и перспективы развития на Дальнем Востоке. Сборник научных трудов по материалам Международного экологического форума на Камчатке 12–16 сентября 2013 г. Часть 1. / Под ред. Л.Г. Буряк, О.В. Сарайкиной. – Петропавловск-Камчатский: ООО «СЕТО-СТ+», 2013. – С. 137-153. – 1,06 п.л.

56. **Мурадов С.В.**, Балыков А.А., Рогатых С.В. Технология биовыщелачивания медно-никелевой руды месторождения Шануч (Западная Камчатка): молекулярно-генетические и биотехнологические подходы // Экология Кам-

чатки и устойчивое развитие региона: материалы I Всероссийской научно-практической конференции, Петропавловск-Камчатский, 22–23.10.2012 г. / Отв. ред. В.Ю. Горлачев – Петропавловск-Камчатский: КамГУ им. Витуса Беринга, 2013. – С. 223-229. – 0,44 / 0,15 п.л.

57. **Мурадов С.В.**, Рогатых С.В. Экологические подходы к улучшению кондиций и повышению биологической активности лечебной грязи // Экологический туризм: проблемы и перспективы развития на Дальнем Востоке. Сборник научных трудов по материалам Международного экологического форума на Камчатке 12–16 сентября 2013 г. Часть 1. / Под ред. Л.Г. Буряк, О.В. Сарайкиной. – Петропавловск-Камчатский: ООО «СЕТО-СТ+», 2013. – С. 153-158. – 0,38 / 0,19 п.л.

58. **Мурадов С.В.**, Хоменко А.И., Корнилова Т.И., Ратчина Т.И. Результаты длительной реакторной активации лечебной грязи // Экологический туризм: проблемы и перспективы развития на Дальнем Востоке. Сборник научных трудов по материалам Международного экологического форума на Камчатке 12–16 сентября 2013 г. Часть 1. / Под ред. Л.Г. Буряк, О.В. Сарайкиной. – Петропавловск-Камчатский: ООО «СЕТО-СТ+», 2013. – С. 158-169. – 0,75 / 0,19 п.л.

59. Потапов В.В., **Мурадов С.В.**, Каплина А.М. Водоросли макрофиты как концентраторы тяжелых металлов // Экология Камчатки и устойчивое развитие региона: материалы I Всероссийской научно-практической конференции, Петропавловск-Камчатский, 22–23.10.2012 г. / Отв. ред. В.Ю. Горлачев. – Петропавловск-Камчатский: КамГУ им. Витуса Беринга, 2013. – С. 230–233. – 0,25 / 0,08 п.л.

60. **Muradov S.V.** Ecological approaches to improve conditions and increase the biological activity of mud // 3rd International Scientific Conference “European Applied Sciences: modern approaches in scientific researches”. Volume 1. / Edited by Ludwig Siebenberg. – May 20–21, 2013, Stuttgart, Germany. – P. 7-8. – 0,13 п.л.

Подписано в печать 04.04.2014 г.
Формат А4/2. Ризография
Печ. л. 2,00. Тираж 100 экз. Заказ № 1/04-14
Отпечатано в ООО «Позитив-НБ»
634050 г. Томск, пр. Ленина 34а