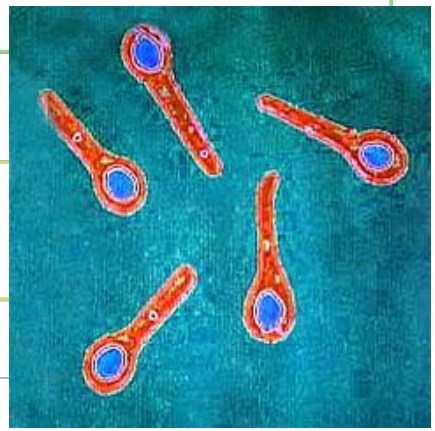
Санитарная микробиология почв

СЗГМУ имени И.И.Мечникова, 2015

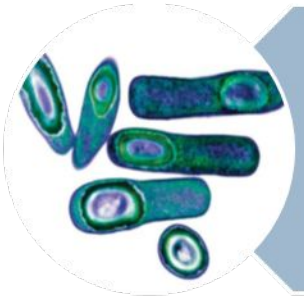
Olga.Punchenko@mail.ru

Почвенные микроорганизмы

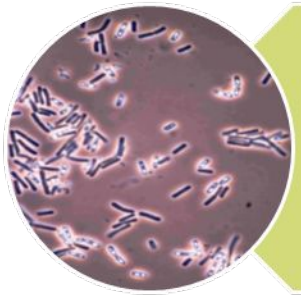
- Сапрофитные
- Разлагающие перегнойные вещества
- Олиготрофные
- Хемолитоавтотрофные



Классификация почвенных патогенов



постоянно обитающие в почве



сохраняющиеся в виде спор длительное время

сохраняющиеся в течение нескольких недель или месяцев

Цель санитарно-микробиологических исследований почвы

- подробная характеристика санитарного состояния;
- определение пригодности исследуемого участка для различного использования;
- охрана водосборных территорий;
- контроль за работой сооружений, в системе которых почва играет роль главного или дополнительного фактора очистки;
- оценка эффективности реабилитационных и санитарно-природоохранных мероприятий;
- проведение эпидемиологического расследования.

Контроль почв:

Текущий надзор

- Краткий анализ:
- БГКП
- ОМЧ
- титр анаэробов (*Clostridium perfringens*), термофильных бактерий, характеризующих характер контаминации (навозом, фекалиями, сточной жидкостью, компостом.
- нитрифицирующих бактерий)

Предупредительный надзор

- Полный анализ
- Дополнительные исследования и поиск патогенов

Предупредительный надзор

- планировка, строительство и реконструкция населенных мест; выбор участков для строительства детских дошкольных учреждений, санаториев и т. д.; строительство водохранилищ; решение вопросов водоснабжения и канализации территорий; санитарная оценка земли на полях орошения, где используются навоз, компосты, стоки животноводческих комплексов и т. д.; определение санитарного состояния почвы, загрязняемой различными ядохимикатами; санитарная оценка пляжей, мест коллективного отдыха и т. д.

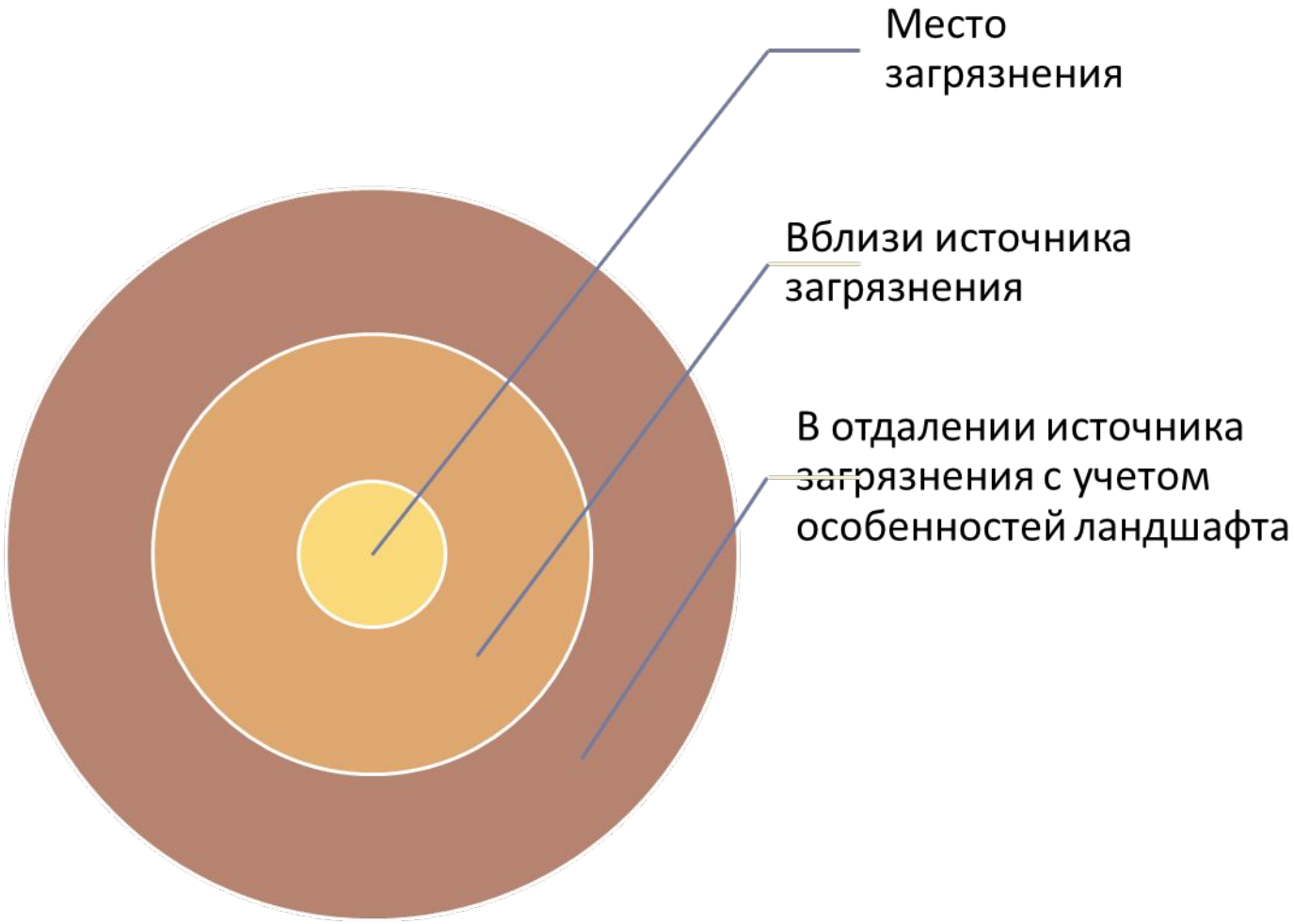
Текущий санитарный надзор

- оценка степени влияния биологической контаминации на способность почвы к самоочищению; контроль за методами обезвреживания сточных вод; выяснение возможного пути передачи инфекционной болезни через почву, сроков выживаемости в ней патогенных микроорганизмов, а также возможности заражения воды (открытых водоемов и грунтовых), овощей (выращиваемых на орошаемых землях).

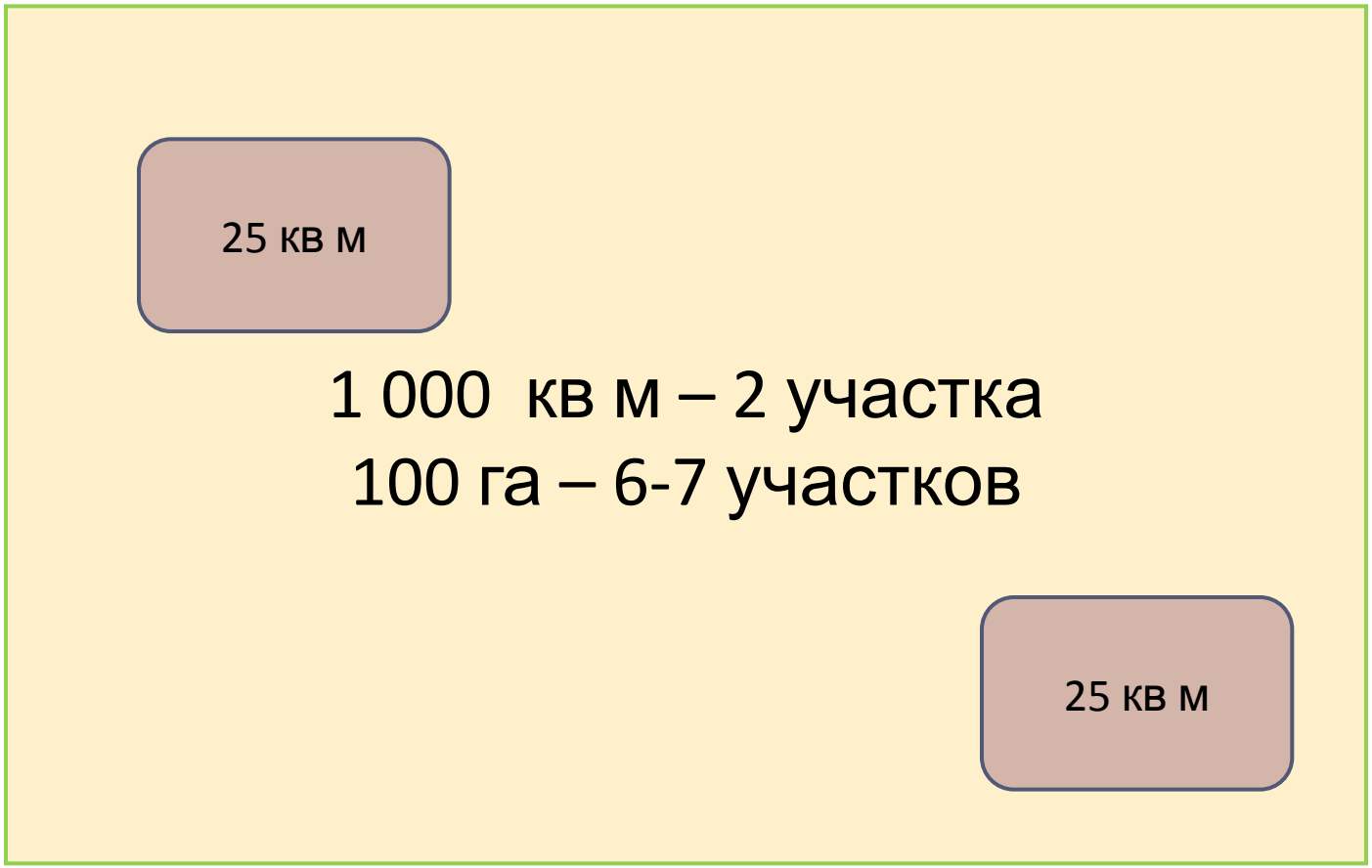
Отбор проб.
Нормативные документы

- ГОСТ 17.4.3.01-83. Почвы. Общие требования к отбору проб.
- ГОСТ 17.4.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа.
- ГОСТ 28168-89. Почвы. Отбор проб.
- ГОСТ Р 53091-2008. Качество почвы. Отбор проб.

Принципы отбора проб при наличии источника загрязнения



Принципы отбора проб при наличии источника загрязнения



Отбор проб почв для бактериологического анализа

Параметры	Частота отбора проб	Размещение	Кол-во	Размер	Кол-во проб	Глубина	Общая масса пробы
Бактериологический анализ	не менее 1 р/год	в местах нахождения человека и животных	На 100 $м^2$ 1 площадка	25 $м^2$	10 из 3-х точечных по 200-250 г каждая	послойно 0-5, 5-20 см	600-750 г
Динамика самоочищения	3 мес (1-й месеженедельно, затем 1 раз/мес)	не менее 1 экспериментальной и 1 контрольной		25 $м^2$	1 объединен. из не менее чем 5 точек по 200 г	0-25 см	1 кг

22 08 2004 15:15

Образец почвы в ложке бура

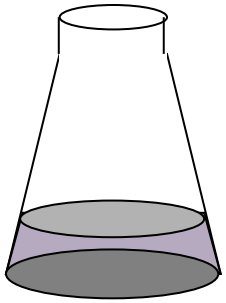
Микробиологический анализ. Нормативные документы

- МР № ФЦ/4022 от 24.12.2004 г. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы микробиологического контроля почвы.

- МУК 4.2.1018-01. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды.

Пробоподготовка

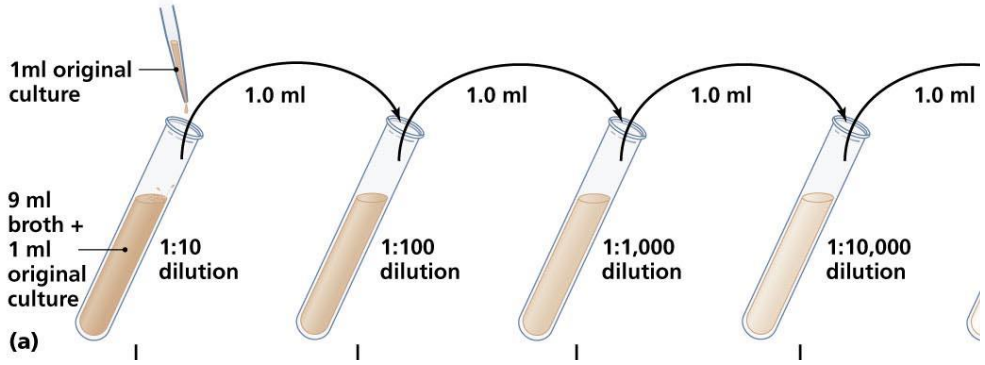
Десорбция микроорганизмов



1-30 г для СПМО,
1 - 10 г для почвенных микроорганизмов,
50 - 60 г для патогенных энтеробактерий.
Навеску почвы высыпают в стерильную колбу и заливают стерильной водопроводной водой в соотношении 1:10

1) 10-минутное вертикальное встряхивание при навеске почвы 1 г;

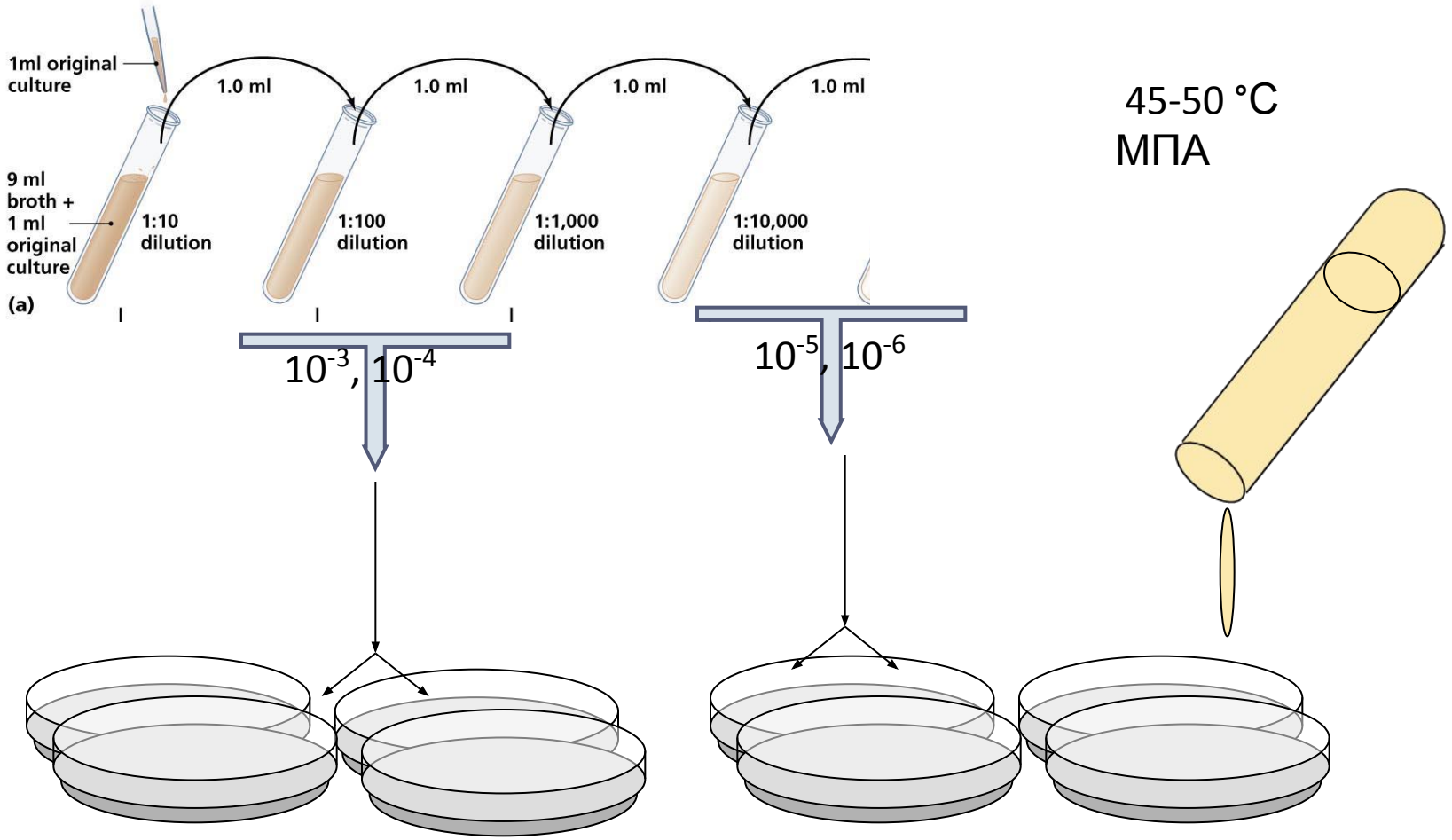
2) 3-минутная обработка на мешалке - при навеске почвы более 1 г.



Показатели биологической активности почвы

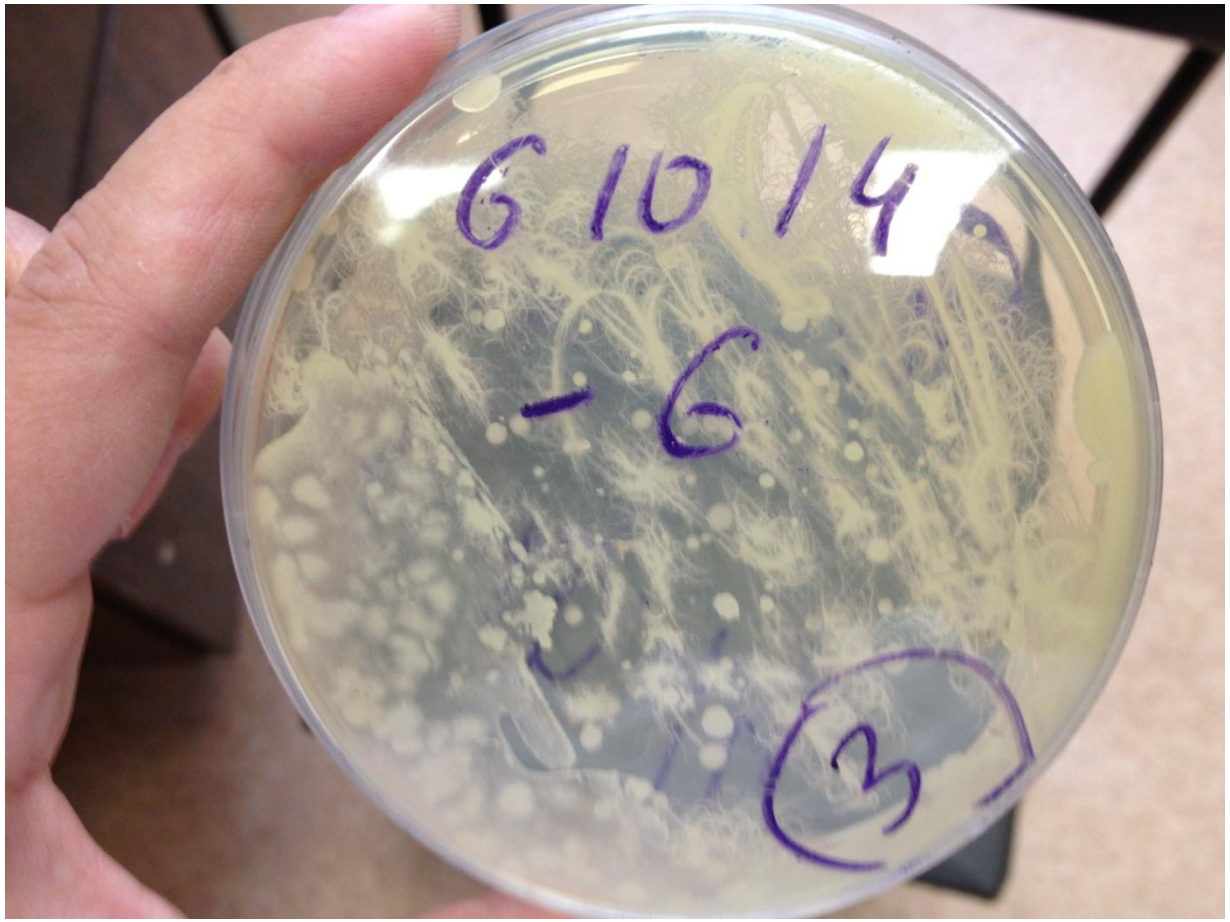
- общая микробная численность (ОМЧ),
- численность основных групп почвенных микроорганизмов (почвенных, сапрофитных бактерий, актиномицетов, почвенных микромицетов)
- показатели интенсивности трансформации соединений углерода и азота в почве («дыхание» почвы, «санитарное число», динамика азота аммиака и нитратов в почве, азотфиксация, аммонификация, нитрификация и денитрификация)
- динамика кислотности и окислительно-восстановительного потенциала в почве
- активность ферментативных систем
- другие показатели. Перечень показателей определяется целями исследования, природой и интенсивностью загрязнения, характером землепользования.

ОМЧ



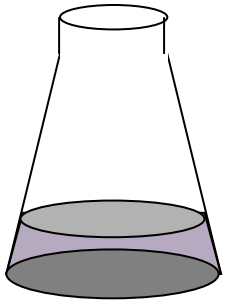
48 ч при 28-30 °C или 72 ч при 22 °C

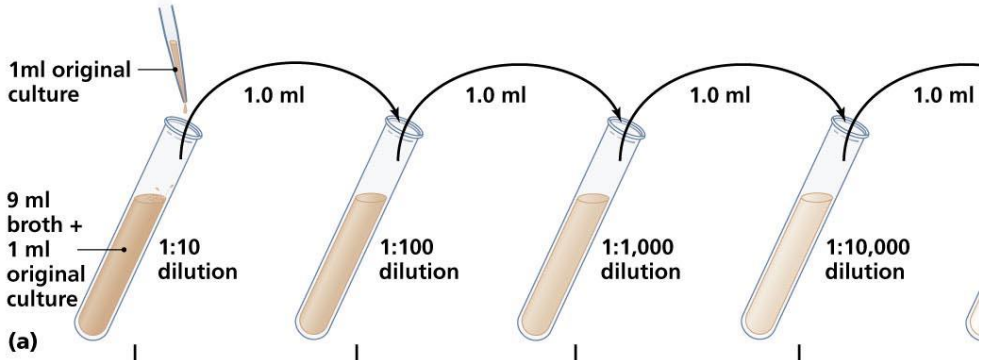
Посев почвы из разведений



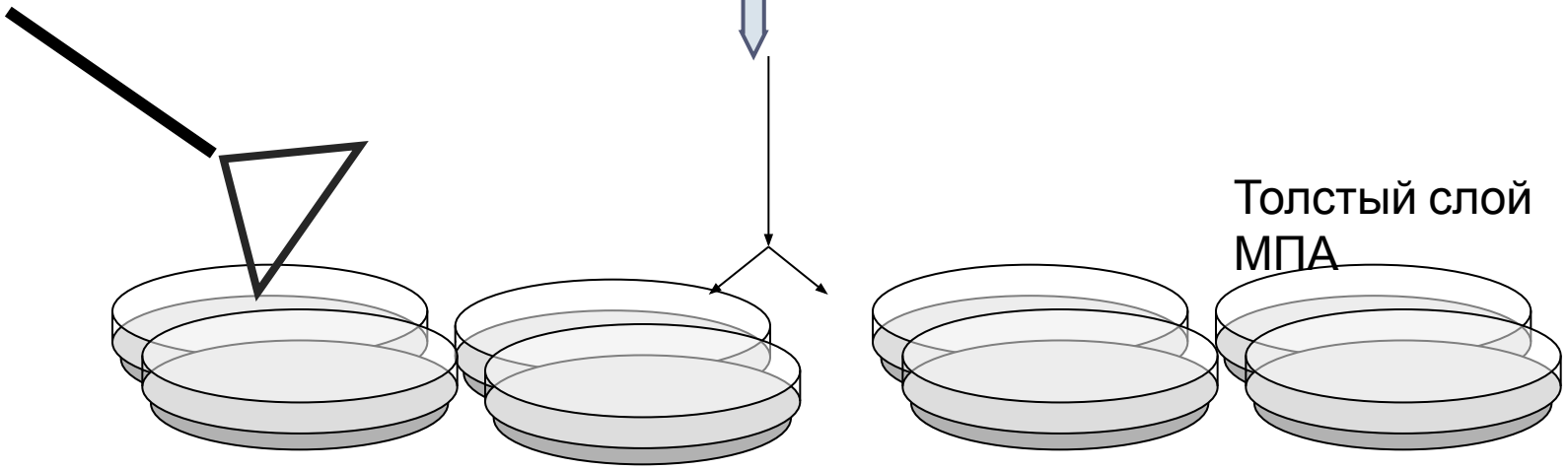
Высокая численность сапрофитной микрофлоры свидетельствует об органическом загрязнении

Термофильные бактерии





10^{-1} - 10^{-6}



Толстый слой МПА

24 ч при 60 °C

Пример роста термофилов из разведения

Высокое содержание термофильных микроорганизмов также указывает на характер загрязнения (компосты, навоз, удобрение сточной жидкостью, фекалиями)

БГКП:

10 мл до 0,01 г (1 мл –из более высоких)

100 (10) мл

37 ℃ 48 ч

ГАЗ, помутнение

0,1-0,2 мл

37 ℃ 24-48 ч

37 ℃ 24-48 ч

37 ℃ 18 - 24 ч

Пример роста СПМО на фильтре из разведения

При микробной контаминации преобладают санитарно-показательные микроорганизмы

Споры C. perfringens

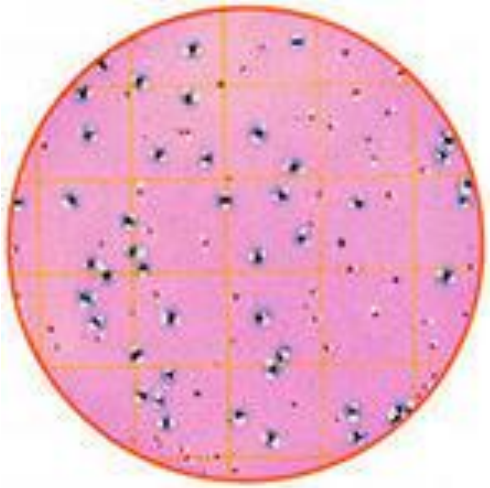
Из приготовленных почвенных разведений, прогретых при температуре 75 +/- 5 °С в течение 20 минут , по 1,0 мл переносят в два параллельных ряда пробирок. Затем во все пробирки наливают по 9-10 мл горячего железосульфитного агара, приготовленного ex tempore и прогретого до 70-80 °С.

Вильсон-Блер
44 +/- 1 °С 16–18 часов

после 30 мин
выдержки на воздухе

Пример роста энтерококков из разведения

Обнаружение энтерококков всегда свидетельствует о свежем фекальном загрязнении

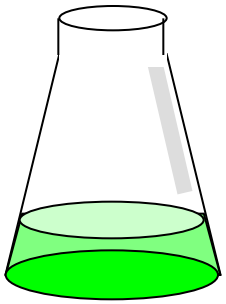


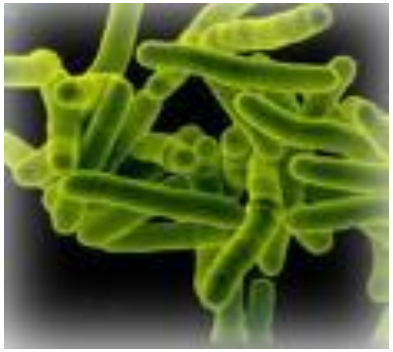
На свежее фекальное загрязнение почвы указывает высокий индекс БГКП при низких титрах нитрификаторов, термофилов, а также относительно высокое содержание вегетативных форм *Clostridium perfringens*.

Пример роста протея из разведения

Бактерии рода *Proteus* могут свидетельствовать о загрязнении гниющими отбросами, навозом.

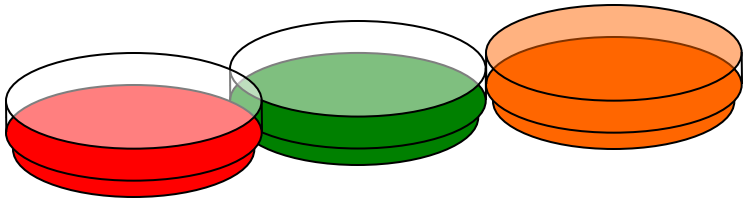
Salmonella и *Shigella*





Среды или/или: магниевая, Мюллера, Кауфмана, **селенитовая**

37 °С 18-24 ч



Среды: Эндо, Плоскирева, висмут-сульфит агар, XLD

37 °С 18-24 – 48 ч

Оценка санитарного состояния. Нормативные документы

- СанПиН 2.1.7.1287-03. Почва, очистка населенных мест, бытовые и промышленные отходы, санитарная охрана почвы. Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы.
- СанПиН 2.1.7.2197-07. Изменение N 1 к санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам "Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы. СанПиН 2.1.7.1287-03"

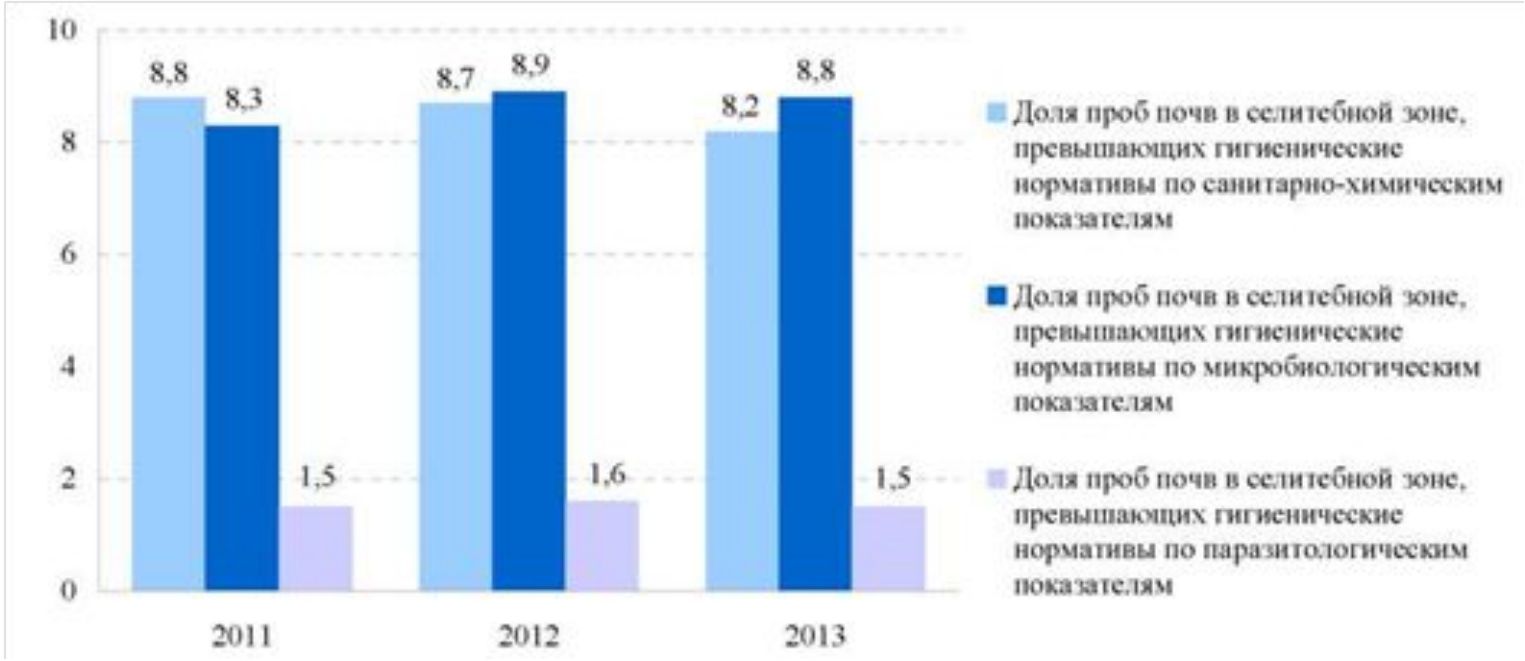
Оценка санитарного состояния. Нормативные документы

- ГОСТ 17.4.2.01-81. Почвы. Номенклатура показателей санитарного состояния.
- МР № 01-19/15-17 от 26.02.1996 г. Почва, очистка населенных мест, бытовые и промышленные отходы, санитарная охрана почв. Микробиологические критерии в гигиенической оценке почв при загрязнении бытовыми и промышленными отходами.
- МУ 2.1.7.730-99 от 5.04.1999 г. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест.

Оценка качества почв

Категория почв	Титры			Термофилы в 1 г
	БГК	нитрифи-цирующих	*C. perfringens*	
Чистая	1,0 и выше	0,1 и выше	0,01 и выше	100-1000
Загрязненная	0,9-0,01	0,01-0,001	0,009-0,0001	1000-100000
Сильно загрязненная	0,009 и ниже	0,0001 и ниже	0,00009 и ниже	>100000

Доли проб почв в селитебной зоне, превышающих гигиенические нормативы по санитарно-химическим, микробиологическим и паразитологическим показателям, % (2013 г.)



Сели́тебная террито́рия — земли, предназначенные для строительства жилых и общественных зданий, дорог, улиц, площадей в пределах городов и посёлков городского типа.

Наибольшая доля проб, превышающих гигиенические нормативы по санитарно-химическим показателям, зарегистрирована в г. Санкт-Петербурге (51,9%), Приморском крае (47,9%) и Мурманской области (41,5%)

Распределение субъектов Российской Федерации по доле проб почв, превышающих гигиенические нормативы по микробиологическим показателям (2013 г.)

Наибольшая доля проб почв, превышающих гигиенические нормативы по микробиологическим показателям, зарегистрирована в Новгородской (37,2%), Владимирской (32,0%) областях и Приморском крае (29,1%)

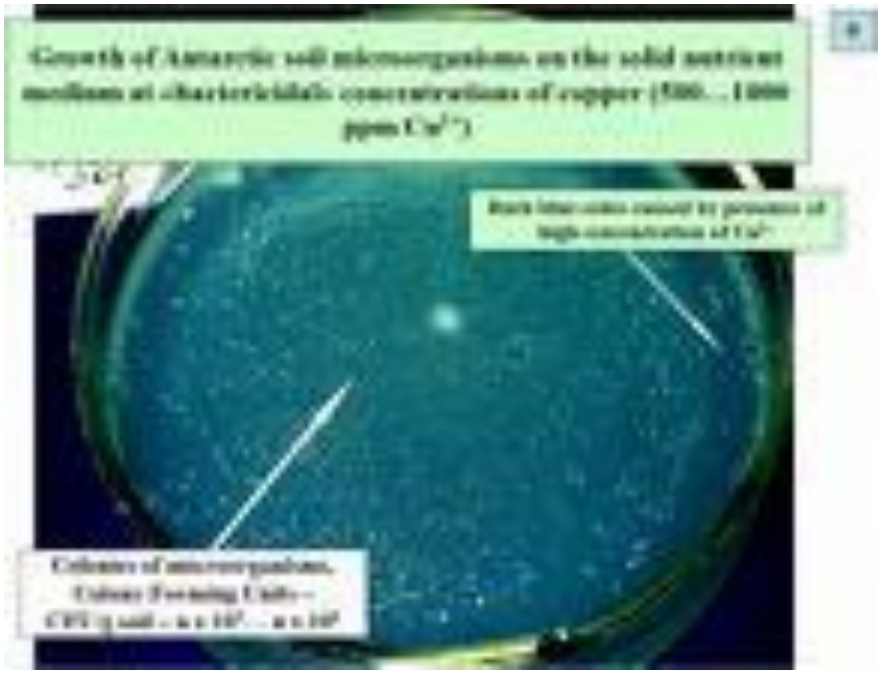
Схема оценки эпидемической опасности почв населенных пунктов

Объекты	Категория	*E.coli*	БГКП	Патогенные энтеробак-терии	Энтеро-вирусы
Зоны повышенного риска (д/с, школа), зоны рекриации, огороды	чистая	1-9	1-9	-	-
	загрязненная	> 10	> 10	+	+
Зоны сан охраны водоемов	чистая	1-9	1-9	1-9	-
	загрязненная	> 10	> 10	> 10	+
Санитарно-защитные зоны	чистая	1-99	1-99	-	-
	загрязненная	>100	>100	+	+

Распределение субъектов Российской Федерации по уровню заболеваемости детского населения некоторыми инфекционными и паразитарными заболеваниями, обусловленной микробиологическим загрязнением почв селитебных территорий (2013 г.)

- Микробное и паразитарное загрязнение почв селитебных территорий может формировать дополнительные случаи заболеваний некоторыми инфекционными и паразитарными болезнями. В среднем по Российской Федерации доля ассоциированных с загрязнением почвы заболеваний населения некоторыми инфекционными и паразитарными заболеваниями составляет порядка 998,0 случая на 100 тыс. детского населения или около 11,5% болезней по указанным причинам.

Определение токсичности почв



классы токсичности почв:

1 - отсутствие - 0 - 20% токсичных образцов,

2 - слабо выраженная - 21 - 40% токсичных образцов,

3 - средняя - 41 - 60% токсичных образцов,

4 - сильно выраженная - 61 - 80% токсичных образцов,

5 - абсолютная - 81 - 100% токсичных образцов.