

УДК 579.63

**САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧВ
БЕРЕГОВОЙ ПОЛОСЫ ВОДОЕМОВ В МЕСТАХ РЕКРЕАЦИИ****Михеев П.В.***Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана» Роспотребнадзора,
Мытищи, e-mail: pvm-fscg@yandex.ru*

В работе приведены данные о санитарно-микробиологическом состоянии почв и песчаных пляжей в береговой зоне у водоемов, используемых для купания, рыбалки и отдыха населения. Антропогенное воздействие на окружающую среду ведет к загрязнению почвы техногенными, химическими и биологическими отходами. Микробиологическое загрязнение является приоритетным фактором, оказывающим влияние на качество почв селитебных зон. Общая численность микроорганизмов, численность микромицетов и актиномицетов были повышенными в сравнении с этими же показателями в холодное время года. Высокий индекс санитарно-показательных бактерий свидетельствовал о эпидемической опасности почв береговой полосы. Оценено санитарно-гигиеническое значение в загрязнении почвы *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp. Учет численности этих бактерий более информативен для оценки эпидемической опасности почвы по сравнению с косвенным показателем численности колиформных бактерий. В эксперименте изучена динамика изменения численности штаммов кишечных бактерий, внесенных в образцы почвы. Численность *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* резко снижалась к 20 суткам. Штамм *Salmonella typhimurium* выделялся из образцов до 42 суток эксперимента. Предложено оценивать степень эпидемической опасности пляжей на основании учета количества видов кишечной палочки и энтерококков.

Ключевые слова: береговая полоса водоемов, биологическое загрязнение почв, условно-патогенные бактерии, эпидемическая опасность почв

**SANITARY-MICROBIOLOGICAL STATE OF SOIL COASTAL ZONE
OF RESERVOIRS IN PLACES OF RECREATION****Mikheev P.V.***F.F. Erisman Federal Scientific Centre of Hygiene, Mytishchi, e-mail: pvm-fscg@yandex.ru*

The paper presents data on the sanitary and microbiological condition of soils and sandy beaches in the coastal zone near water bodies used for swimming, fishing and recreation. Anthropogenic impact on the environment leads to soil contamination by man-made, chemical and biological waste. Microbiological contamination is a priority factor affecting the quality of soils in residential areas. The total number of microorganisms, the number of micromycetes and actinomycetes were increased in comparison with the same indicators in the cold summer. The high index of sanitary-indicative bacteria testified to epidemic danger of soils of a coastal strip. The sanitary and hygienic value in soil contamination *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp. was estimated. Taking into account the number of these bacteria is more informative for assessing the epidemic danger of the soil compared to an indirect indicator of the number of coliform bacteria. The dynamics of changes in the number of strains of intestinal bacteria introduced into soil samples was studied in the experiment. The number of *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* decreased sharply by 20 days. The strain of *Salmonella typhimurium* was isolated from the samples up to 42 days of the experiment. It was proposed to assess the degree of epidemic danger of beaches based on the number of types of *E. coli* and enterococci.

Keywords: coastal zone of reservoirs, soil biological contamination, opportunistic bacteria, epidemic danger of soil

Важными базовыми компонентами качества жизни человека являются природно-климатические условия и состояние окружающей среды. Биологические и социальные потребности в отдыхе населения обеспечивают ландшафты с наличием рек, прудов, водохранилищ и других водных объектов. Почвенный покров береговой полосы водоемов, массово посещаемых горожанами и сельским населением, испытывает повышенную нагрузку, депонируя различные биологические, химические и техногенные отходы. Биологическое загрязнение способствует попаданию и сохранению в верхнем слое почвы потенциально патогенных микроорганизмов. Такие почвы с высокой вероятностью могут быть причиной заболеваний инфекционной природы, а почвы

пляжей и песок могут являться резервуаром инфекции [1, 2]. Объективная оценка степени опасности почвы береговой полосы водоемов, используемых в рекреационных целях, возможна при изучении соотношения приоритетных фекальных индикаторных и патогенных микроорганизмов, с учетом антропогенного загрязнения и процессов самоочищения, с возможностью сохранения в почве вирулентных штаммов патогенных бактерий в дозе, достаточной для заражения человека контактным путем.

Цель исследования: в ходе полевых исследований изучить численность санитарно-показательных кишечных бактерий, сальмонелл и основных физиологических групп микроорганизмов в почвах береговой полосы водоемов и песчаных пляжей

в условиях высокой антропогенной нагрузки. На основании полученных данных и результатов лабораторного эксперимента по скорости элиминации из почвы штаммов кишечных бактерий оценить роль отдельных микробиологических показателей в эпидемиологической оценке почвы.

Материалы и методы исследования

Пробы почвы для микробиологических исследований отбирали на участках береговой полосы прудов, водохранилищ и малых рек в городской и сельской местности. Критериями выбора участков и времени отбора почв для исследования являлись теплый период года, массовое посещение берегов водоемов населением, биологическое загрязнение в виде пищевых отходов и бытового мусора, наличие домашних и диких животных (собаки, гуси, крысы, утки, чайки, вороны), присутствие в водоохранной зоне автотранспорта.

Изученные почвы в Московской области (М.О.) можно в целом охарактеризовать как аллювиальные супесчаные и суглинистые дерново-подзолистые, в Бел-

городской (Б.О.), Курской (К.О.) и Воронежской (В.О.) областях – аллювиальные суглинистые чернозёмные.

Отбирали точечные пробы поверхностного (0–5 см) слоя почвы методом конверта в стерильные полиэтиленовые пакеты для доставки в лабораторию. В 1–2 суточной объединенной пробе определяли численность сапрофитных бактерий на почвенном агаре (ОМЧ²²), численность актиномицетов – на крахмало-аммиачном агаре, численность плесневых грибов – на среде Чапека. Интенсивность биологической нагрузки на почву оценивали по следующим показателям: численность потенциально патогенных бактерий – на ГРМ-агаре при 37 °С в течение суток (ОМЧ³⁷); численность колиформных бактерий – на среде Эндо с идентификацией вида; численность *E. coli* – по образованию кислоты и газа на лактозной среде при 44 °С и росту на хромогенном агар для *E. coli*; численность энтерококков – на агаре с канамицином, эскулином и азидом натрия; численность сульфитредуцирующих бактерий, в том числе *Cl. perfringens* – на SPS агаре. Численность патогенных бактерий родов *Salmonella* выявляли в 10 г навеске почвы методом обогащения с высевом на висмут сульфит агар или XLD агар, и идентификацией до рода.

Санитарно-микробиологическая характеристика почвы в зонах рекреации в летний период

Почва различных посещаемых зон рекреации	Показатели интенсивности биологической нагрузки на почвы, КОЕ/г					Показатели биологической активности почвы, КОЕ/г		
	Колиформы/ <i>E. coli</i>	Энтерококки	<i>Cl. perfringens</i>	<i>Salmonella</i> spp.	ОМЧ ³⁷	Микромицеты	Актиномицеты	ОМЧ ²²
Москва, пляж Серебряный бор	10/не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	4,0x10 ⁵	1,2x10 ²	2,1x10 ⁴	3,2x10 ⁵
Москва, пляж пруда «Путяевский»	10/не обн.	10	10/обн.	Не обн.	1,4x10 ⁵	4,2x10 ³	3,3x10 ⁴	1,2x10 ⁵
Москва, берег Джамгаровского пруда	100/не обн.	10	10/обн.	Не обн.	2,7x10 ⁶	5,8x10 ⁴	6,1x10 ⁵	4,4x10 ⁶
М.О., пляж Жестылевского водохранилища	1000/100	100	10/ обн.	Не обн.	3,5x10 ⁵	1,3x10	1,2x10 ⁴	7,3x10 ⁵
М.О., берег рыболовного пруда	10/не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	1,2x10 ⁶	3,6x10 ⁴	5,5x10 ⁵	6,4x10 ⁶
М.О., берег р. Веля	1000/100	10	10/обн.	Не обн.	9,2x10 ⁶	2,7x10 ⁴	1,1x10 ⁶	1,6x10 ⁶
М.О., берег р. Имбушка	1000/100	100	100/ обн.	Не обн.	3,8x10 ⁶	1,0x10	1,0x10 ⁴	8,0x10 ⁶
М.О., берег р. Яуза в парке	1000/100	100	100/ обн.	Не обн.	1,7x10 ⁶	5,2x10 ²	4,6x10 ⁵	1,4x10 ⁶
М.О., берег р. Яуза рядом с автотрассой	1000/100	20	500/ обн.	Не обн.	2,2x10 ⁶	8,0x10 ²	1,3x10 ⁵	2,7x10 ⁶
М.О., пляж Пяловского водохранилища	10/не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	4,2x10 ⁵	1,3x10 ²	2,2x10 ⁴	6,8x10 ⁵
Б.О., берег р. Сейм	100/не обн.	Не обн.	Не обн.	Не обн.	4,3x10 ⁶	6,3x10 ⁴	4,4x10 ⁶	7,3x10 ⁶
Б.О., пляж пруда «Попов верх»	1000/100	100	100/ обн.	Обн.	1,0x10 ⁵	3,2x10 ⁴	2,1x10 ⁴	2,0x10 ⁵
К.О., пляж на старице р. Сейм	100/10	10	10/обн.	Не обн.	5,5x10 ⁶	3,6x10 ⁴	4,2x10 ⁶	2,7x10 ⁶
К.О., берег р. Речица	100/10	10	10	Не обн.	1,6x10 ⁵	1,1x10 ²	1,5x10 ⁴	1,9x10 ⁵
В.О., пляж пруда в с. Медвежье	1000/100	10	100/ обн.	Не обн.	2,6x10 ⁶	1,0x10 ⁴	1,5x10 ⁶	2,8x10 ⁶

В лабораторном эксперименте использовали 4 типа изученных ранее аллювиальных почв. В 500 г воздушно-сухой почвы, просеянной через сито 3 мм, вносили и равномерно распределяли суточную культуру типовых штаммов *Salmonella typhimurium* № 5715 *E. coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ССМ 4224 из расчета 1 мл бактериальной суспензии плотностью 10 ед. по отраслевому стандарту мутности на 1 кг почвы. Динамику изменения численности типовых штаммов внесенных бактерий на фоне развития сапрофитных микроорганизмов изучали методом мембранной фильтрации почвенной суспензии с последующим ингибированием фильтров на чашках Петри с селективными питательными средами.

Результаты исследования и их обсуждение

Проведено сравнение структуры микробного сообщества разных почв береговой полосы и пляжей в момент максимального антропогенного загрязнения (таблица).

Общая численность микроорганизмов, численность микромицетов и актиномицетов были повышенными в сравнении с этими же показателями в холодное время лета. Пик этих показателей совпадал с погодными условиями, благоприятными для отдыха населения на природе. Почва обследованной территории была сильно уплотнена, растительность – в значительной степени вытоптана, имелись остатки мусора и следы кострищ. В силу того, что почвы пляжно-купальных зон обычно легкого состава, численность микроорганизмов в них была ниже по сравнению с почвами ландшафтов, прилегающих к водоему. Численность актиномицетов была выше в луговых и лесных почвах, богатых гумусом, по сравнению с песчаными почвами пляжей и вытоптанymi участками береговой полосы. Численность плесневых грибов также была низкой в песчаной почве, и значительной в дерново-луговой почве, что в большей мере связано не с биологическим загрязнением, а минерализацией органических полимеров.

Более ярко биологическое загрязнение почвы проявилось на изменении численности бактерий – индикаторов санитарного состояния почвы. Известно, что в микробном сообществе почвы в местах наибольшей концентрации населения повышается частота доминирования представителей семейства *Enterobacteriaceae* [3]. Численность колиформных в жаркий период года была выше на два порядка, численность энтерококков – почти в 4 раза. В массовом количестве высевались потенциально патогенные бактерии: *Aeromonas hydrophila.*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus lentus*, *Streptococcus gordonii*, *Erysipelothrix rhusiopathiae* и другие.

Одним из основных показателей, признанных для оценки качества почвы при

выявлении биологического загрязнения, является индекс бактерий группы кишечной палочки. Практически все обследованные почвы берегов водоемов и рекреационных зон были обсеменены колиформными бактериями, что позволило оценить ее эпидемическую опасность [4]. Семь почв пляжей и береговой полосы водоемов оценены как «чрезвычайно опасные». Среди бактерий, выделенных из этих почв, идентифицированы *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea agglomerans*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumonia*, *Raouitella planticola*, *Citrobacter amalonaticus*, *Citrobacter freundii*, *Yersinia enterocolitica*. Патогенные *Salmonella* spp. выделены в единственном образце почвы береговой полосы пруда, используемого для рыболовства и разведения гусей, т.е. изначально непригодного для купания. Отсутствие сальмонелл и других патогенных кишечных бактерий в почвах может свидетельствовать как о несовершенстве метода выделения или утере способности кишечных патогенных бактерий из почвы к росту на питательных средах, так и об их отсутствии или о диффузности загрязнения. Г.П. Калина указывает на возможность длительного сохранения, и даже размножения сальмонелл в почвах [5].

Несколько рекреационных участков по качеству почвы охарактеризованы как «чистые», несмотря на высокую антропогенную нагрузку – численность колиформных бактерий – до 10 КОЕ/г, при отсутствии *E. coli*, энтерококков и патогенных бактерий.

Качество почв рекреационных зон также оценили по численности бактерий *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Cl. perfringens*. Полученные численные значения значительно (на 1–2 порядка) ниже индекса колиформных бактерий, и вероятно, более адекватно описывают степень загрязненности почв рекреационных зон. По индексу энтерококков качество исследованных почв укладывается в диапазоне от «чистая» до «умеренно опасная».

Современным микробиологическим лабораториям под силу проводить идентификацию не отдельной условной физиологической группы бактерий, объединенной по признаку ферментации лактозы, а конкретных видов бактерий, что позволяет повысить точность оценки опасности почвы. Энтерококки (*Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*), кишечная палочка (*Escherichia coli*), сульфитредуцирующие клостридии (*Clostridium perfringens*) – это санитарно-показательные бактерии, достаточно легко идентифицируемые из объектов окружающей среды. Эти микроорганизмы являются обитателями кишечного тракта теплокровных животных и человека. Они

могут некоторое время сохраняться в почвах и воде, особенно загрязненных ксенобиотиками. Их обнаружение всегда однозначно свидетельствует о фекальном загрязнении. Численность энтерококков, кишечной палочки в почвах береговой полосы и пляжей достаточно часто совпадает (одного порядка), что делает привлекательным использование этих микроорганизмов для оценки эпидемиологической опасности почвы. Эта же аргументация применима к *Clostridium perfringens* с оговоркой, что оценка степени загрязненности ведется за более продолжительный период времени в связи с высокой устойчивостью в почве спор этого микроорганизма.

Остается открытым вопрос о количестве патогенных бактерий в почве пляжей и береговой полосы мест рекреации, достаточном для контактного или перорального способа заражения человека. В литературе имеется достаточно сведений о распространении возбудителей инфекции в пляжных песках [6]. Рассчитано, что посетитель пляжа через частицы песка, прилегающего к коже и загрязненного бактериями, может перенести $6,0 \times 10^5$ КОЕ энтерококков [7]. Число КОЕ при однократном приеме пищи, способное вызвать пищевую токсикоинфекцию, составляет 10^8 – 10^9 для *Citrobacter* spp., *Klebsiella* spp., 10^6 – 10^{10} – для энтеровирулентных *E. coli*, 10^5 – 10^9 – для *Salmonella* spp. [8].

Экспериментальное микробиологическое исследование выживаемости представителей кишечных бактерий, внесенных в почву, содержащую питательные вещества, микроэлементы и естественную аутохтонную микрофлору, показало закономерный процесс снижения их численности (рис. 1).

Численность сапрофитных бактерий (ОМЧ) продолжала оставаться на стабильно высоких уровнях – в пределах 10^5 – 10^6 КОЕ/г и имела тенденцию к увеличению

при дополнительном внесении в почву некоторых ксенобиотиков. Численность штаммов *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, внесенных в дозе 10^3 – 10^4 КОЕ/г, к 20 суткам эксперимента снижалась до нуля.

Источником загрязнения почв сальмонеллами и другими кишечными бактериями в естественных условиях являются преимущественно фекалии диких и домашних животных и птиц. В естественных условиях динамика численности патогенных бактерий, пассированных через организм животных, может отличаться по сравнению с динамикой выживаемости в почве типовых штаммов, длительно пребывающих на питательных средах, делая почвы опасным объектом заражения человека. Скорость элиминации *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* из почвы была значительно выше по сравнению с *Salmonella typhimurium*. Количество сальмонелл на протяжении первой недели изменялось незначительно по сравнению с первоначально внесенной дозой заражения во всех типах почв (рис. 2).

На 42 день эксперимента сальмонеллы не обнаруживались в почвах, в том числе при высеве из сред обогащения. Более продолжительное время сальмонеллы сохраняли свою жизнеспособность в почвах тяжелого механического состава с большим количеством мелких илистых частиц. Высокая устойчивость сальмонелл в естественных почвах может являться причиной необъективной оценки санитарного состояния почвы по косвенным показателям интенсивности биологической нагрузки. Под влиянием техногенного биологического воздействия условно-патогенные и патогенные бактерии выявляются даже за границами санитарно-защитных зон предприятий, изменяя структуру микробного сообщества [9, 10].

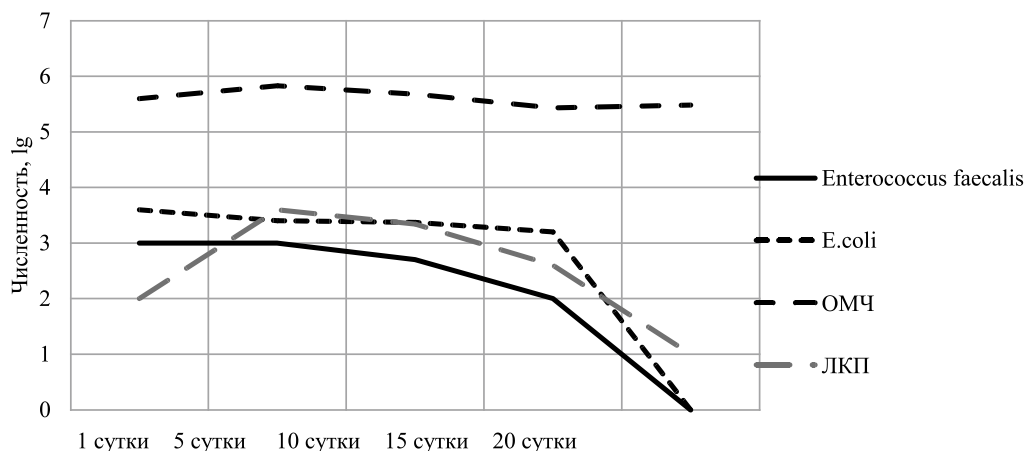


Рис. 1. Формирование искусственного микробиоценоза в дерновой слабообразованной глинистой почве



Рис. 2. Изменение численности типового штамма *Salmonella typhimurium* в различных пойменных почвах

Необходимо с осторожностью делать выводы об отсутствии патогенных бактерий в почве только на основании отсутствия санитарно-показательных видов.

Заключение

Загрязненные кишечными бактериями почвы и пляжи береговой полосы водоемов, наряду с загрязненными поверхностными водами, могут являться причиной заболеваемости населения в результате пляжно-купального отдыха. Биологическое загрязнение почв различного типа носит диффузный характер и увеличивается в местах скопления отдыхающих при прогреве почвенного покрова. В местах массового посещения людей в почвах и пляжах береговой полосы стабильно идентифицируются санитарно-показательные бактерии, но не обнаруживаются или очень редко выявляются бактериальные патогены. Методы прямого выделения из почв *E. coli*, *Enterococcus* spp. более информативны для оценки эпидемической опасности почвы по сравнению с косвенным показателем численности колiformных бактерий.

Сальмонеллы более устойчивы к неблагоприятным условиям в почве по сравнению с кишечной палочкой и энтерококками, в связи с чем нужно с осторожностью интерпретировать результаты качества почвы на основании численности санитарно-показательных микроорганизмов.

Список литературы

1. Андреева Е.Е. Санитарно-эпидемиологическая оценка качества почвы г. Москвы как возможного фактора риска здоровью населения // Анализ риска здоровью. 2016. № 4. С. 72–79.
2. Guidelines for safe recreational water environments. Microbial aspects of beach sand quality. URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/bathing/srwe1-chap6.pdf (дата обращения: 17.11.2018).
3. Лысак Л.В. Бактериальные сообщества городских почв: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Москва, 2010. 46 с.
4. СанПиН 2.1.7.1287-03. Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 16 с.
5. Калина Г.П. Сальмонеллы в окружающей среде. М.: Медицина, 1978. 160 с.
6. Halliday E., Gast R.J. Bacteria in beach sands: an emerging challenge in protecting coastal water quality and bather health. Environ. Sci. Technol. 2011. vol. 45(2). P. 370-379.
7. Elmir S.M., et al. Quantitative evaluation of bacteria released by bathers in a marine water. Water Res. 2007. vol. 41. P. 3–10.
8. МР 2.1.10.0067-12. Оценка риска здоровью населения при воздействии факторов микробной природы, содержащихся в пищевых продуктах. Методические основы, принципы и критерии оценки. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. 44 с.
9. Байтелова А.И., Зинюхин Г.Б., Ермолаева А.А. Оценка воздействия патогенных микроорганизмов на качество почвенного покрова территории, прилегающей к ЗАО «Птицефабрика Оренбургская» // Вестник ОГУ. 2010. № 10 (116). С. 94–97.
10. Замотаев И.В., Михеев П.В. Изменение микробиологических показателей почв в зоне влияния полигона твердых бытовых отходов // Почвоведение – продовольственной и экологической безопасности страны: тезисы докладов VII съезда Общества почвоведов им. В.В. Докучаева и Всероссийской с международным участием научной конференции (Белгород, 15–22 августа 2016 г.). Москва – Белгород: Издательство БелГУ, 2016. С. 220–221.