

Муниципальное бюджетное общеобразовательное учреждение
Гимназия №1 им.Н.Т.Антошкина городского округа
город Кумертау Республики Башкортостан

**Учебно-исследовательский
проект
на тему:**
*«Влияние микробиологических
показателей почвы на здоровье
человека»*



Автор работы:

Скотарева Анна
учащаяся 8 б класса
МБОУ Гимназии №1

Руководитель:

Сергеева Людмила Геннадьевна
учитель биологии
МБОУ Гимназии №1

Консультант:

Акчурина Резеда Айратовна
Заведующий
бактериологической лабораторией
Кумертауского филиала
ФБУЗ «Центр гигиены и
эпидемиологии»

2018 год

Содержание

Введение.....	3
I. Основная часть работы	
Глава 1. Теоретические основы микробиологического исследования почвы...5	
Глава 2. Микробиологический анализ почвы.....8	
II. Результаты и обсуждение.....	11
III. Заключение и выводы.....	12
Список литературы.....	14
Приложение.....	15

Введение

Здоровье - самое главное богатство. Здоровье детей и подростков в любом обществе является актуальнейшей проблемой и предметом первоочередной важности, так как от него зависит будущее страны, генофонд нации, научный и экономический потенциал общества. Здоровье человека напрямую зависит от качества окружающей среды и целого ряда факторов, которые прямо или косвенно оказывают на него своё негативное влияние. Одним из таких факторов являются микроорганизмы.

Микроорганизмы – это мельчайшие организмы, не видимые невооруженным глазом. Микроорганизмы окружали человека с первых дней его существования, но их изучение стало возможным только после создания микроскопа в середине 17 века. Наука, занимающаяся изучением микроорганизмов, называется микробиологией. Её основоположниками считаются Роберт Кох и Луи Пастер. Благодаря своему большому распространению в окружающей среде микроорганизмы играют важную роль в циркуляции азота, серы и ряда других соединений, способствуют процессам гниения и брожения, осуществляя, таким образом, расщепление белков и углеводов.

По отношению к человеку микроорганизмы могут быть непатогенными (не вызывающими заболеваний), патогенными (способными вызвать инфекционный процесс) и условно-патогенными (инфекционная болезнь возникает при благоприятных для микроорганизмов условиях, например, при снижении активности иммунной системы). Средой обитания микроорганизмов является воздух, вода, почва и организм человека. Почва является главным местом обитания микроорганизмов, поскольку в ней много питательных веществ, достаточно влаги, при этом нет резких перепадов температуры, нет воздействия прямых солнечных лучей. Плодородие почвы в значительной мере определяет продуктивность естественных природных сообществ и зависит от жизнедеятельности организмов, ее населяющих.

В почве встречаются все формы микроорганизмов: бактерии, вирусы, актиномицеты, дрожжи, грибы, простейшие, которые могут быть возбудителями опасных заболеваний человека.

В своей работе я исследовала почву на трех разных территориях: в лесном массиве, на школьной спортивной площадке и на игровой площадке жилого массива.

Актуальность работы: почва — одна из главных составляющих природной среды, которая благодаря своим свойствам обеспечивает человеку питание, работу, здоровую среду обитания. Нарушение этих процессов, вызванное загрязнением, может оказать неблагоприятное влияние на здоровье людей и животных. Наблюдается распространение инфекционных и инвазионных заболеваний, ухудшение качества продуктов питания, воды, атмосферного воздуха. Качественный состав микрофлоры почвы определяет степень опасности для здоровья людей в населенных пунктах, профилактику инфекционных и неинфекционных заболеваний. Я решила изучить методику

обнаружения и классификацию микроорганизмов в почве, а также сравнить микрофлору почв на разных территориях.

Гипотеза исследования: почвы на разных территориях отличаются составом и количеством микрофлоры, наиболее загрязненные микроорганизмами почвы будут в местах скопления людей и животных. Загрязненная почва может спровоцировать инфекционные и неинфекционные заболевания у контактирующих с ней людей.

Цель исследования: получить теоретические и практические знания в микробиологическом исследовании почвы.

Задачи:

- 1) изучить теоретические основы микробиологического исследования почвы;
- 2) рассмотреть основные методики микробиологического анализа почвы;
- 3) сравнить и проанализировать полученные результаты;
- 4) составить рекомендации для школьников по профилактике болезней, вызываемых почвенными микроорганизмами.

Результаты работы могут иметь социальную значимость, помогут не допустить загрязнение в лесу, на пришкольной территории и дворовой площадке, привлечь жителей г.Кумертау к проблемам сохранения улицы чистыми и зелёными.

Объекты исследования: образцы почвы на спортивной площадке школы, игровой площадке во дворе дома №7 по ул. 60 лет БАССР и в лесу.

Предмет исследования: микрофлора поверхности и глубинного слоя почвы на данных участках.

Время проведения исследования: октябрь-ноябрь 2018г.

Методы исследования:

1. Изучение литературы;
2. Отбор проб почвы;
3. Визуальное обследование объекта;
4. Лабораторное обследование объекта;
5. Обследование объекта с помощью микроскопа;
6. Сравнение и анализ полученных результатов.

I. Основная часть работы

Глава 1. Теоретические основы микробиологического исследования почвы

Почва является главным резервуаром и естественной средой обитания микроорганизмов, которые принимают активное участие в процессах формирования и самоочищения почвы, а также являются необходимым звеном в круговороте всех биогенных элементов. Велика эпидемиологическая роль почвы как фактора распространения некоторых инфекционных заболеваний животных и человека, поэтому микробиологический анализ почвы является важным фактором экологической безопасности. Почвенные микроорганизмы оказывают разнообразное и разностороннее влияние на здоровье человека. Оно может быть как положительным, так и отрицательным. Микробы осуществляют очистку почв от органических и неорганических загрязнений и таким образом способствуют оздоровлению почв. Но при этом различные микроорганизмы образуют очень сильные токсины – яды, которые могут быть смертельно опасными для человека. Массовое разведение собак, появление стай бездомных животных, неряшливое отношение к помойкам приводит к накоплению в почвах, в том числе на детских площадках, патогенных и условно-патогенных микробов, токсинообразователей и аллергенов [2]. Динамика численности микроорганизмов почвы подвержена резким колебаниям в зависимости от типа почвы, климатических условий, сезона года, генетического горизонта, характера растительного покрова и других факторов окружающей среды [4]. Многообразна и многочисленна микрофлора почвы на глубине 10-20 см. Разделить почвенных обитателей можно на несколько групп. Одни постоянно прибывают в почву, вторые, попадая в почву способны существовать в ней длительное время, третьи же практически сразу погибают. Появляются патогенные микроорганизмы в почве, в основном, из испражнений зараженных людей и животных, а также из трупов их носителей. Они могут попасть в организм человека или животных и вызывать различные инфекционные заболевания, которые нередко принимают тяжелые формы (например, столбняк, газовая гангрена, различные гельминтозы и др.).

С выделениями человека и животных, с различными хозяйственно-бытовыми и промышленными отходами в почву поступает большое количество разнообразных микроорганизмов. Преобладающе флорой являются анаэробы до 96% всех видов: бифидобактерии, лактобактерии, пептококки, бактериоиды; в меньшем количестве встречаются эшерихии, энтерококки, протей, клостридии и другие микроорганизмы [1].

Попадая в почву, представители нормальной микрофлоры тела человека и животных, а кроме того и патогенные микроорганизмы, как правило, длительно не выживают и рано или поздно погибают. Однако многие представители нормальной флоры человека вступают в биоценоз почвы, участвуют в ее биохимических процессах, а отдельные виды бактерий остаются постоянными обитателями почвы. На сроки выживания патогенных бактерий в почве оказывают влияние многие факторы: состав и тип почвы, температура, влажность, воздействие атмосферных осадков [3].

К *первой группе* патогенных микроорганизмов, постоянно обитающих в почве относится небольшое количество микроорганизмов. Среди них особое внимание заслуживают клостридии ботулизма, которые попадают в почву с испражнениями человека и животных, образуя споры, остаются в ней неопределенно долго.

Вторая группа включает спорообразующие патогенные микроорганизмы (бациллы сибирской язвы, клостридии столбняка, газовой гангрены), которые попадают в почву с фекалиями человека и животных, а кроме того с трупами погибших животных. Почва для них является вторичным резервуаром, поскольку при благоприятных условиях клостридии могут размножаться и сохраняться в виде спор длительное время.

В *третью группу* включены патогенные микроорганизмы, попадающие в почву с выделениями человека и животных и сохраняющиеся в течение нескольких недель и месяцев. Все эти микроорганизмы - сальмонеллы, шигеллы, вибрионы, бруцеллы, лептоспиры и др. не образуют спор и поэтому быстро гибнут в результате воздействия различных физических и биологических факторов. Простое озеленение травами территорий населенных мест, способствующее размножению микроорганизмов - актиномицетов, улучшает антибактериальные свойства и повышает активность самоочищения почвы [6].

Исходя из выше сказанного, естественные процессы, протекающие в почве под влиянием ее микрофлоры, обуславливают самоочищение почвы от попавших в нее микроорганизмов, обезвреживание и уничтожение нечистот. При правильном управлении этими процессами опасность передачи инфекционных болезней через почву может быть сведена к минимуму.

Основная масса патогенной микрофлоры в почве постепенно отмирает, однако длительность переживания патогенной микрофлоры зависит от следующих факторов: свойств микроба, типа почв, температуры и влажности почв, бактериофагов, антагонистов-сапрофитов, микроорганизмов, продуцирующих антибиотики [7].

Микробиологический анализ почвы проводят с целью определения содержания в почве бактерий, их видов и численности.

Санитарно-микробиологические исследования почвы подразделяются на паразитологические, бактериологические и энтомологические. Также возможно проведение расширенного микробиологического анализа, который рекомендован для зон высокого риска: для детских игровых площадок, школ и детских садов, лесопарков, скверов и зон отдыха на водоемах.

Паразитологическое исследование включает выявление яиц различных гельминтов на разных стадиях развития (аскарида, власоглав, тенииды), а также цист кишечных простейших (лямблий).

Бактериологический анализ почвы позволяет проверить, содержатся ли в ней бактерии:

- 1) группы кишечной палочки (БГКП или ЛКП);
- 2) патогенные микроорганизмы (энтерококки и сальмонеллы).

Энтомологическое исследование включает выявление личинок, куколок и имаго синантропных мух.

Санитарно-микробиологический анализ почвы включает определение:

- 1) общего количества бактерий в 1 г почвы;
- 2) титра санитарно-показательных микроорганизмов БГКП (бактерий группы кишечной палочки);
- 3) термофильных бактерий в 1 г почвы;
- 4) по эпидемиологическим показаниям проводится исследование на наличие патогенных микроорганизмов (сальмонелл, шигелл, клостридий столбняка, ботулизма, некоторых вирусов и др.).

СанПиН 2.1.7.1287-03 «Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы» предъявляют требования к качеству почвы различных территорий, в зависимости от их функционального назначения и использования. Санитарно-эпидемиологические требования предъявляются к жилым территориям, рекреационным и курортным зонам, зонам санитарной охраны водоемов и прибрежных водоемов, территориям сельскохозяйственного назначения и другим, где возможно влияние загрязненных почв на здоровье человека и условия проживания [9].

Гигиеническая оценка почвы проводится с целью определения ее качества и степени безопасности для человека, а также разработки мероприятий (рекомендаций) по снижению химических и биологических загрязнений (Приложение, таблица 1).

Этапы и методы микробиологического анализа почвы (Приложение, Методы микробиологического исследования):

- Микробиологический анализ начинается с отбора проб почвы. Выбор места для отбора проб почвы определяется в зависимости от цели и задачи исследования.

- Подготовка почвы. Почву освобождают от включений - камней, осколков стекла и др. Готовят ряд 10-ти кратных разведений от 1:10 до 1:1000 при исследовании чистых почв и до 1:10 000 при исследовании сильно загрязненных почв.

- Определение общего количества сапрофитных бактерий. Микробное число почвы - общее количество микроорганизмов, содержащихся в 1 г почвы. Посев почвенной суспензии производят на пептонный агар (ПА) в чашки Петри. Посевы инкубируют при 28-30°C в течение 72 ч и подсчитывают количество выросших колоний [5].

- Определение бактерий группы кишечной палочки. При анализе малозагрязненных почв используют метод мембранных фильтров. При предполагаемой невысокой степени фекального загрязнения рекомендуется применение титрационного метода. При высокой степени фекального загрязнения рекомендуется метод прямого посева почвенной суспензии (1:10) на среду Эндо.

Глава 2. Микробиологический анализ почвы

Мы обратились за консультацией в Кумертауский межрайонный филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан». Заведующий отделением санитарно-эпидемиологических экспертиз Горбулько Валентина Викторовна рассказала нам, в каких случаях необходимо производить микробиологическое исследование почвы.

Мною, совместно с сотрудниками Кумертауского межрайонного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан» пробы почвы были отобраны в соответствии с действующими нормативными документами, при помощи стерильной металлической лопатки и пробоотборника грунтов в стерильные асептические контейнеры (Приложение, фото 1, 2, 3).

Валентина Викторовна рассказала нам, что с 2011 года в г.Кумертау определена мониторинговая точка за качеством почвы в местах зоны рекреации городской пляж г.Кумертау, с 2013года мониторинговая точка изменена – г.Кумертау, городской парк Победы. За 2017 год в мониторинговой точке было исследовано 6 проб почвы на микробиологические, паразитологические и санитарно-химические показатели, нестандартных проб выявлено не было. За последние 3 года по результатам лабораторных исследований почвы в мониторинговой точке г. Кумертау качество почвы по исследованным санитарно - химическим, микробиологическим, паразитологическим показателям соответствовало нормативам.

Из отчетных данных Кумертауского межрайонного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан» мы узнали следующее: по сравнению с 2016 годом, процент нестандартных проб почвы от общего числа исследованных проб по микробиологическим показателям увеличился с 8,3% до 13,7% (Приложение, таблица 2).

Совместно со специалистами Кумертауского межрайонного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан» для проведения микробиологического исследования 07.10.2018г. были взяты пробы почвы с трех площадок.

Проба №1 – поверхность почвы на спортивной площадке Гимназии №1;

Проба №2 – глубина почвы на спортивной площадке Гимназии №1;

Проба №3 – поверхность почвы в лесном массиве;

Проба №4 – глубина почвы в лесном массиве;

Проба №5 – поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР;

Проба №6 – глубина почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР.

После отбора, образцы почвы были доставлены в бактериологическую лабораторию Кумертауского межрайонного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан» до начала проведения исследований пробы хранились в холодильнике.

Для того чтобы узнать насколько загрязнена исследуемая почва органическими веществами, 11.10.2018г. мною совместно со специалистами бактериологической лаборатории были подготовлены почвы (Приложение, фото

4,5) и сделан посев образцов на ПА (питательный агар) в чашки Петри, для определения общего микробного числа, посеvy инкубировала в термостате при 37 С.

12.10.2018г. мы провели подсчет колоний и определение общего микробного числа (ОМЧ) (Приложение, фото 6,7, таблица 3). Общая микробная загрязненность почвы (ОМЧ) - количество бактерий одном грамме почвы.

Вывод 1: наиболее сильно загрязнена микроорганизмами поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР (проба 5).

Далее меня интересовала, какими микроорганизмами больше заселена почва: сапрофитными или болезнетворными. После количественного анализа микрофлоры почвы был произведен качественный анализ, т.е. определение видового состава микрофлоры методом мембранных фильтров и титрационным (Приложение, фото 8). Данный анализ позволил выявить наличие бактерий группы кишечной палочки (БГКП).

2 этап моей работы: определение в исследуемых пробах почвы присутствие микробов жизнедеятельности человека, животных и птиц. бактерии группы кишечной палочки (БГКП). Эта группа бактерий включает более 100 видов и наиболее устойчивы к неблагоприятным условиям. Мы произвели посеvy проб в специальные жидкие питательные среды и поместили в термостат на 37 С (ближе к температуре тела теплокровных животных), где они интенсивно размножаются (Приложение, фото 9). На следующий день провели исследование образцов в жидких средах (Приложение, фото 10, таблица 4).

Вывод 2: Изменение цвета и газообразование свидетельствует о наличии бактерий группы кишечной палочки во всех образцах почвы. Наибольшие изменения произошли в исследуемом образце №5 - поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР.

Далее, как так в почве могут быть энтерококки (эти микроорганизмы тоже живут в кишечнике теплокровных и долго выживают в окружающей среде) среди них встречаются опасные, которые могут вызывать у детей или взрослых различные заболевания. Я решила продолжить работу по обнаружению энтерококков. Для обнаружения энтерококков мембранным методом с использованием специального аппарата я пропустила разведенные пробы через фильтры (Приложение, фото 11, таблица 5). Посевы убрала в термостат при температуре 37С на 24ч.

Вывод 3: Посев методом мембранных фильтров на азидную среду и агар позволил выявить наличие энтерококковых бактерий во всех образцах почвы, что свидетельствует о фекальном загрязнении почв. Наибольшие изменения произошли в исследуемом образце №5 - поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР, минимальные в пробе №4 - глубина почвы в лесном массиве

Там, где наблюдались изменения в жидкой среде, мы произвели высев на плотную среду Эндо, для изучения морфологических свойств бактерий. При наличии в почве БГКП колонии типичные для кишечных палочек - темно-красные

с металлическим блеском или розовые с красным центром. (Приложение, фото 12, таблица 6)

Вывод 4: Наибольшее количество БГКП – темно-красных колоний с металлическим блеском обнаружено в исследуемом образце №5 - поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР.

Из колоний, выросших на среде Эндо сделали мазки, которые окрасили по методу Грама. Окрашивание колоний по Граму и рассматривание с помощью оптического микроскопа методом масляной иммерсии позволяет выявить присутствие грамположительных бактерий (Приложение, фото 13,14, таблица 7).

Вывод 5: по результатам микропирования (после окрашивания мазков по методу Грама) видно – наибольшее число грамположительных микроорганизмов обнаружено в пробе №5 - поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР, минимальное - в пробе №4 - глубина почвы в лесном массиве.

В почве встречаются микроорганизмы, которые растут в бескислородной среде – анаэробы. К ним относятся клостридии и они могут вызывать такие заболевания, как столбняк, газовую гангрену, ботулизм. Я продолжила работу по обнаружению клостридий, используя селективную железо-сульфитную среду в анаэробных условиях. Бактерии рода клостридии образуют типичные, окрашенные в черный цвет колонии. Данный признак используется для выявления бактерий (Приложение, таблица 8, фото 15).

Вывод 6: по результатам исследования видно – наибольшее число клостридий обнаружено в пробе №5 - поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР, минимальное - в пробах №2 – глубина почвы на спортивной площадке и №4 - глубина почвы в лесном массиве.

Все выявленные микроорганизмы могут вызывать опасные заболевания у человека (Приложение, таблица 10).

Исследование почвы на содержание патогенных микроорганизмов проводились сотрудниками бактериологической лаборатории Кумертауского межрайонного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в республике Башкортостан». По полученным данным патогенных микроорганизмов в исследуемых образцах не обнаружено.

III. Результаты и обсуждение.

По результатам проведенных лабораторных микробиологических исследований почвы нами выявлено следующее:

- наиболее загрязненный участок, с которого отобран образец почвы – проба №5 – поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР;
- минимально загрязнен земельный участок, с которого взят образец почвы №4 - глубина почвы в лесном массиве;
- патогенных микроорганизмов во всех исследуемых образцах почвы обнаружено не было.
- в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.1287-03 «Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы» определены категории загрязнения почв (Приложение, таблица 9).

IV. Заключение и выводы

1. Изучив теоретические основы микробиологического исследования почвы, проконсультировавшись со специалистами Кумертауского межрайонного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в республике Башкортостан» мы узнали виды микробиологических исследований почвы:

Санитарно-микробиологические исследования почвы подразделяются на паразитологические, бактериологические и энтомологические.

- Паразитологическое исследование включает выявление яиц различных гельминтов на разных стадиях развития (аскарид, власоглавов, тениид), а также цист кишечных простейших (лямблий).
- Бактериологический анализ почвы проводится, чтобы определить степень ее эпидемиологической опасности (наличие в почве микроорганизмов, их количество и видовой состав).
- Энтомологическое исследование включает выявление личинок, куколок и имаго синантропных мух.

2. Для проведения микробиологического исследования были взяты пробы почвы с трех площадок.

Проба 1 – поверхность почвы на спортивной площадке Гимназии №1;

Проба №2 – глубина почвы на спортивной площадке Гимназии №1;

Проба №3 – поверхность почвы в лесном массиве;

Проба №4 – глубина почвы в лесном массиве;

Проба №5 – поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАСССР;

Проба №6 – глубина почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАСССР.

3. В бактериологической лаборатории Кумертауского межрайонного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в республике Башкортостан» совместно со специалистами нами были рассмотрены методики бактериологического анализа почвы:

- Исследование почвы на общее микробное число (ОМЧ);
- Метод мембранных фильтров;
- Титрационный метод;
- Метод окрашивания мазков по Граму.

4. Сравнив и проанализировав полученные результаты, мы в соответствии с требованиями СанПиН 2.1.7.1287-03 «Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы» определены категории загрязнения почв:

Проба 1 – поверхность почвы на спортивной площадке Гимназии №1 (опасная);

Проба №2 – глубина почвы на спортивной площадке Гимназии №1 (чистая);

Проба №3 – поверхность почвы в лесном массиве (чистая);

Проба №4 – глубина почвы в лесном массиве (чистая);

Проба №5 – поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАСССР (чрезвычайно опасная);

Проба №6 – глубина почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАСССР (умеренно опасная).

Таким образом, наша гипотеза о том, что наиболее загрязненные почвы будут в местах скопления людей и животных, подтверждается лабораторными исследованиями.

5. Так как во всех исследуемых образцах патогенные микроорганизмы не были обнаружены, то мы выяснили, что данная почва источником возникновения инфекционных заболеваний являться не может. При этом - полученные результаты показали нам наличие проблемных участков почвы на спортивной площадке Гимназии №1 и на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР. С полученными данными мы обратились к директору ООО «РЭУ №1» Крышко Александру Алексеевичу (обслуживающее дом №7 по ул. 60 лет БАССР и его придомовую территорию) и к директору нашей гимназии Музюкиной Ольге Юрьевне (Приложение, фото 14) с предложением о смене песка в детской песочнице и на спортивной площадке образовательного учреждения.

Также нами составлены рекомендации для школьников по профилактике болезней, вызываемых почвенными микроорганизмами (Приложение).

Перспективы

В будущем я хотела бы продолжить изучение микробиологического состава почвы по паразитологическим показателям.

Список литературы

1. Авраменко И.Ф. Микробиология: учеб. пособие. – М.: Колос, 1972. -190 с.
2. Бабьева И. П., Зенова Г. М. Биология почв. М.: МГУ, 1989.
3. Кондакова Г.В. Санитарная микробиология. Ярославль, ЯрГУ, 2005.
4. Лукомская К.А. Микробиология с основами вирусологии. М.: Просвещение, 1987.
5. <http://www.medbookaide.ru/books/fold9001/book2046/content.php>
6. <http://microby.ru/bakterii/> Теория микробиологии
7. <http://5fan.ru/wievjob.php?id=15433>
8. <http://www.studfiles.ru/preview/1737309/>
9. <http://files.stroyinf.ru/Data1/11/11782/>

ПРИЛОЖЕНИЯ

Таблица 1

Оценка степени эпидемической опасности почвы

(СанПиН 2.1.7.1287-03).

Категория загрязнения почв	Индекс БГКП	Индекс энтерококков	Патогенные бактерии, в т.ч. сальмонеллы
Чистая	1 - 10	1 - 10	0
Умеренно опасная	10 - 100	10 - 100	0
Опасная	100 - 1000	100 - 1000	0
Чрезвычайно опасная	1000 и выше	1000 и выше	0

Таблица 2

Доля проб почвы, не отвечающих санитарно-эпидемиологическим требованиям по микробиологическим показателям за 2016-2018гг (из отчетных данных Кумертауского филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в РБ»).

ГОДЫ	КОЛИЧЕСТВО ИССЛЕДОВАННЫХ ПРОБ ПОЧВЫ			
	ИССЛЕДОВАНО ПРОБ ВСЕГО, ЕД	ДОЛЯ ПРОБ ПОЧВЫ, НЕ ОТВЕЧАЮЩИХ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИМ ТРЕБОВАНИЯМ ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ, %		
		ВСЕГО	В СЕЛИТЕБНОЙ ЗОНЕ (жилой зоне)	НА ТЕРРИТОРИИ ДЕТСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ
2016	48	8,3	0	0
2017	24	25,0	16,0	30,0
2018	22	13,7	14,3	0

Фото 1. Взятие пробы почвы с глубины в лесном массиве



Фото 2. Взятие пробы с поверхность почвы на спортивной площадке Гимназии №1



Фото 3. Взятие пробы почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР.



Методы микробиологического исследования почвы:

Титрационный метод

Из приготовленных разведений почвенной суспензии делают посевы в питательную среду Кесслера (1% пептона, 5% желчи, 0,25% лактозы, генциановый фиолетовый). Из разведений 1:10 10 мл засевают во флакон с 50 мл среды, что соответствует 1 г почвы. Посев меньших количеств (0,1 и 0,01) делают по 1 мл из соответствующих разведений почвенной суспензии в пробирки с 9 мл среды. Отсутствие во всех пробирках роста и газообразования указывает на отсутствие БГКП. Если в посевах обнаруживается рост или рост и газообразование, делают высев в чашки Петри со средой Эндо или в пробирки с розовым агаром, инкубируют 24 ч при 37 ° С и проводят дальнейшую идентификацию выделенных бактерий.

Из приготовленных разведений почвенной суспензии по 1 мл переносят в два параллельных ряда пробирок. Один ряд прогревают при 80 ° С 15 мин. Затем во все пробирки наливают по 9-10 мл расплавленной и охлажденной до 45° среды Вильсона-Блер. Инкубацию посевов проводят при 43 ° 24 ч, но уже через 2-3 ч при положительном результате можно наблюдать в толще агара образование круглых колоний черного цвета. В мазках приготовленных из колоний видны характерные грамположительные палочки.

Метод мембранных фильтров

Почвенную суспензию 1:10 фильтруют через мембранные фильтры в аппарате Зейтца. После фильтрования верхнюю часть прибора снимают и фильтр осторожно стерильным пинцетом переносят на среду Эндо в чашку Петри. Фильтр накладывают вверх поверхностью, на которой осели бактерии. Чашки Петри инкубируют при 37 ° С 24 ч. При наличии в почве БГКП на фильтрах появляются колонии типичные для кишечных палочек - темно-красные с металлическим блеском или розовые с красным центром. Из таких колоний делают мазки, окрашивают по Граму.

Окраска по Граму

Методика окрашивания бактерий, предложенная в 1884 году Г. Грамом, получила широкое распространение и имеет большое значение для систематики микроорганизмов и диагностики инфекционных болезней. Метод Грама основан на биохимических свойствах клеточной стенки прокариотов; он позволяет разделить все микроорганизмы на 2 группы:

- грамположительные – в результате окрашивания приобретают устойчивый синий цвет;
- грамотрицательные – обесцвечиваются при промывании, после контрастного окрашивания красителем красного цвета приобретают цвет от красного до розового.

При окрашивании по Граму используют анилиновые красители – метиловый фиолетовый и генциановый – с последующей фиксацией красителя йодом. Окрашенный образец промывают спиртом, после чего

получают 2 группы: микроорганизмы, окрашенные в синий цвет, – грамположительные; обесцвеченные бактерии – грамотрицательные. Колонии подсчитывают на тех фильтрах, на которых из соответствующего разведения почвенной суспензии выросло не более 30-50 колоний.

Определение термофильных бактерий

Учет термофильных бактерий производят на МПА, разлитом в чашки Петри более толстым слоем, чем обычно. Посев делают из разведений 1:10, 1:100, 1:1000, причем из каждого разведения рекомендуется засеивать по 2-3 параллельные чашки. Термофильные бактерии выращивают при температуре около 60 °. Результат учитывают через 24 ч после посева. Подсчет количества бактерий проводят на 1 г почвы.

Фото 4. Подготовка почвы для микробиологического исследования



Фото 5. Подготовка почвенного раствора.



Фото 6. Образцы для определения ОМЧ.



Таблица 3

Результаты определения общего микробного числа в исследуемых образцах.

ОМЧ	Проба 1	Проба 2	Проба 3	Проба 4	Проба 5	Проба 6
0.1	110 колоний	90 колоний	102 колоний	88 колоний	Более 300 колоний	116 колоний
0.01	31 колоний	25 колоний	20 колоний	20 колоний	100 колоний	25 колоний
0.001	20 колоний	15 колоний	5 колоний	4 колонии	52 колоний	10 колоний
0.0001	15 колоний	8 колоний	3 колонии	2 колонии	28 колоний	8 колоний
0.00001	3 колонии	2 колонии	1 колония	0 колоний	13 колоний	3 колонии

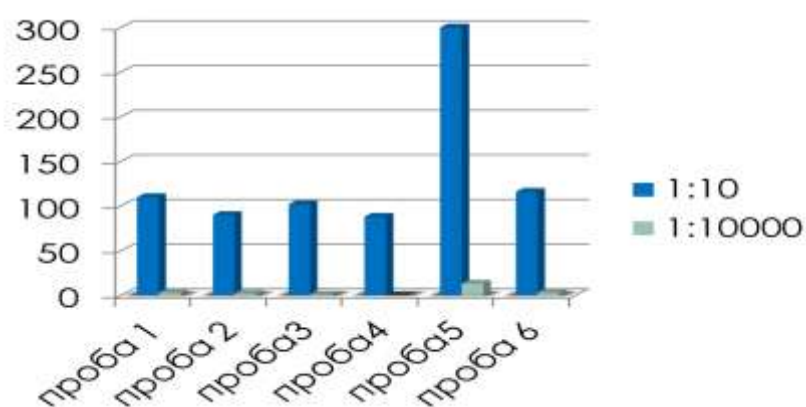


Фото 7. Колонии бактерий, выросшие на питательном агаре



Фото 8. Подготовка разведений почвенных растворов титрационным методом.



Фото 9. Образцы помещаются в термостат



Фото 10. Пробы почв в жидких средах.



Таблица 4

Результаты исследования образцов на наличие бактерий группы
кишечной палочки.

Титр	Проба 1	Проба 2	Проба 3	Проба 4	Проба 5	Проба 6
1.0	Изменение цвета, с обильным выделением газа	Изменени е цвета, с образова-нием газа	Изменени е цвета, с образова-нием газа	Изменение цвета в желтый, без газа	Изменение цвета, с обильным выделени-ем газа	Изменение цвета, с образова-нием газа
0.1	Изменение цвета, небольшое газообразо-вание	Изменени е цвета, без газа	Изменени е цвета, без газа	Изменение цвета, без газа	Изменение цвета, с образова-нием газа	Изменение цвета, без газа
0.01	Изменение цвета, газо-образова-ние	Изменени е цвета, без газа	Изменени е цвета, без газа	Изменение цвета, без газа	Изменение цвета, без газа	Изменение цвета, без газа
0.001	Цвет немного изменился	Цвет не изменил-ся	Цвет не изменил-ся	Цвет не изменился	Изменение цвета, без газа	Изменение цвета, без газа
0.0001	Цвет немного изменился	Цвет не изменилс я	Изменени е цвета, без газа	Цвет не изменился	Изменение цвета, с обильным выделение м газа	Цвет немного изменился, сверху образовала сь белая пленка

0.00001	Цвет не изменился	Цвет не изменился	Цвет не изменился	Цвет не изменился	Изменение цвета, небольшое газообразование	Цвет немного изменился, сверху образовалась белая пленка
0.000001	Цвет не изменился	Цвет не изменился	Цвет не изменился	Цвет не изменился	Цвет не изменился	Цвет не изменился

Фото 11. Посев методом мембранных фильтров.



Фото 12. Колонии бактерий группы кишечной палочки.

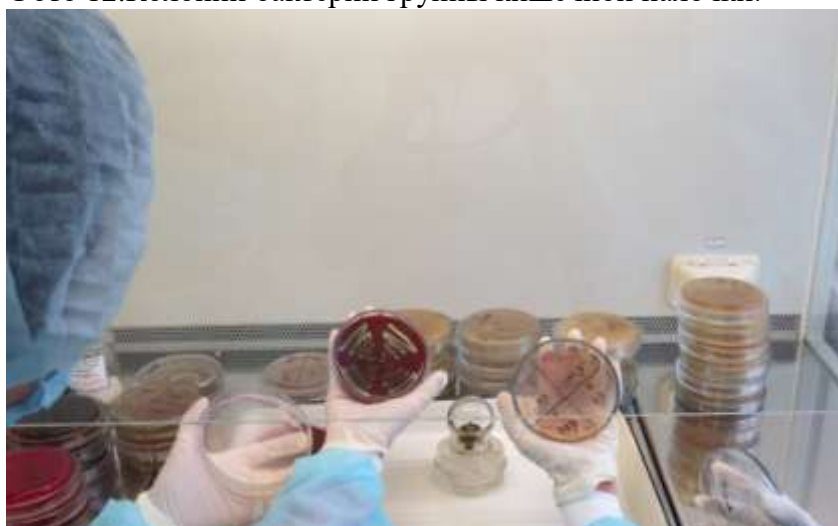


Таблица 5

Результаты исследования образцов почвы
методом мембранных фильтров.

Титр	Проба 1	Проба 2	Проба 3	Проба 4	Проба 5	Проба 6
1.0	Бордовые колонии, мелкие, изолированные, круглые	Бордовые колонии, мелкие, изолированные, круглые	Бордовые колонии, мелкие, круглые, изолированные	Бордовые колонии, мелкие, изолированные круглые, менее 1 мм.	Бордовые колонии, круглые, средние 1- 3 мм, одиночные	Бордовые, единичные круглые, 3 колонии
0.1	Бордовые колонии, мелкие, изолированные, круглые	Бордовые колонии, мелкие, изолированные, круглые	Бордовые колонии, мелкие, изолированные, круглые, менее 1 мм.	Бордовые колонии, мелкие, круглые, изолированные	Бордовые, единичные круглые, 5 колоний	Бордовые, круглые, 1 колония, 1-3 мм.
0.01	Бордовые колонии, мелкие, изолированные, круглые	Бордовые колонии, мелкие, изолированные, круглые	Бордовые колонии, мелкие, круглые, изолированные	Бордовые колонии, мелкие, изолированные круглые, менее 1 мм.	Бордовые единичные круглые, 3 колонии,	Нет роста
0.001	Бордовые колонии, мелкие, круглые, изолированные	Бордовые колонии, мелкие, круглые, изолированные	Бордовые колонии, мелкие, изолированные круглые, менее 1 мм.	Нет роста	Бордовые 2 колонии круглые, 1мм и 3мм, единичные	Бордовые, единичные неправильной формы
0.0001	Нет роста	Нет роста	Бордовые колонии, мелкие, изолированные круглые, менее 1 мм.	Нет роста	Бордовые единичные, неправильной формы	Нет роста

Таблица 6

Результаты исследования образцов на среде Эндо.

Проба 1	Проба 2	Проба 3	Проба 4	Проба 5	Проба 6
Светло розовые, мелкие, круглые, выпуклые	розовые, мелкие, круглые, выпуклые	Розовые колонии, выпуклые, круглые	Светло – розовые колонии	Красные колонии, с металлическим блеском	Плоские, 3-4 миллиметра, с красным отливом

Фото 13. Микрофотография грамположительных бактерий (проба 6)

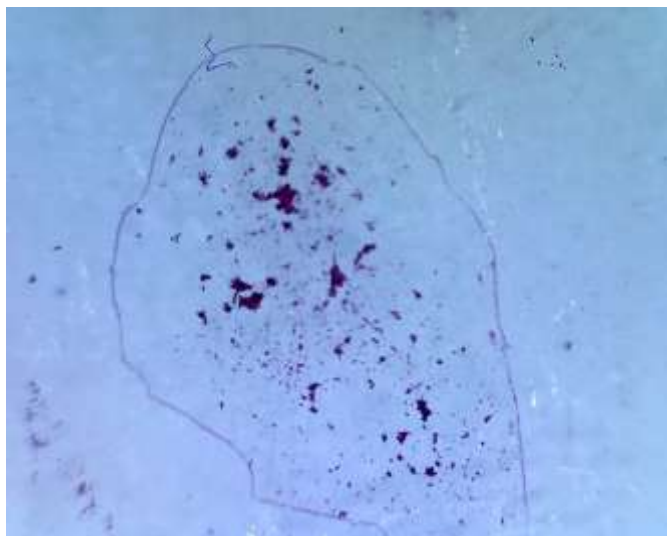


Таблица 7

Результаты исследования образцов после окрашивания мазков по Граму.

Титр	Проба 1	Проба 2	Проба 3	Проба 4	Проба 5	Проба 6
0.1	Грам + парные кокки	Грам + парные кокки	Грам + парные кокки	Нет роста	Грам + парные кокки	Грам + парные кокки
0.01	Грам + парные кокки	Нет роста	Грам + парные кокки	Нет роста	Грам + парные кокки	Грам + парные кокки
0.001	Грам + парные кокки	Нет роста	Грам + парные кокки	Нет роста	Грам + парные кокки	Нет роста
0.0001	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Грам + парные кокки	Нет роста
0.00001	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста
Индекс	1000	10	10	Менее 10	10000	100

индекс энтерококков

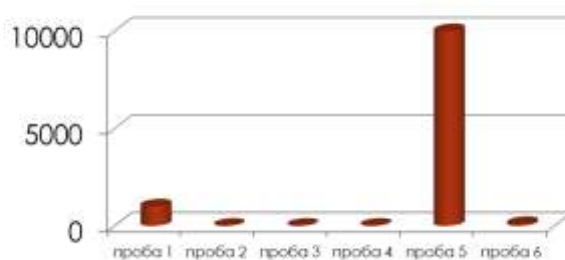


Фото 14. Микрофотография грамположительных бактерий (проба 5)

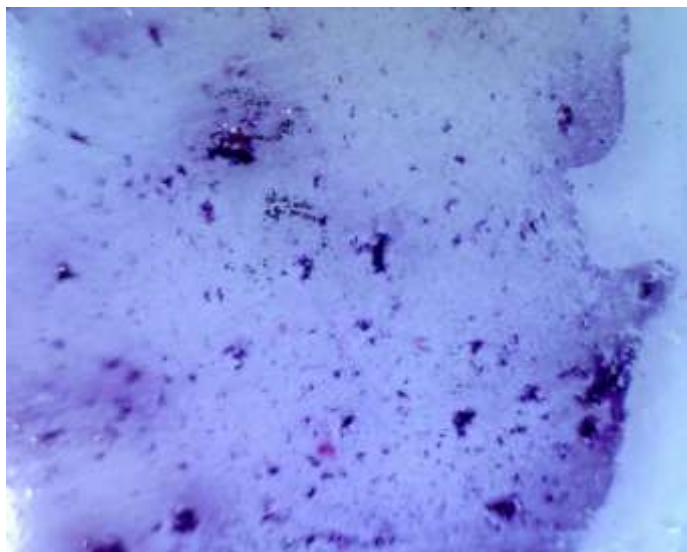
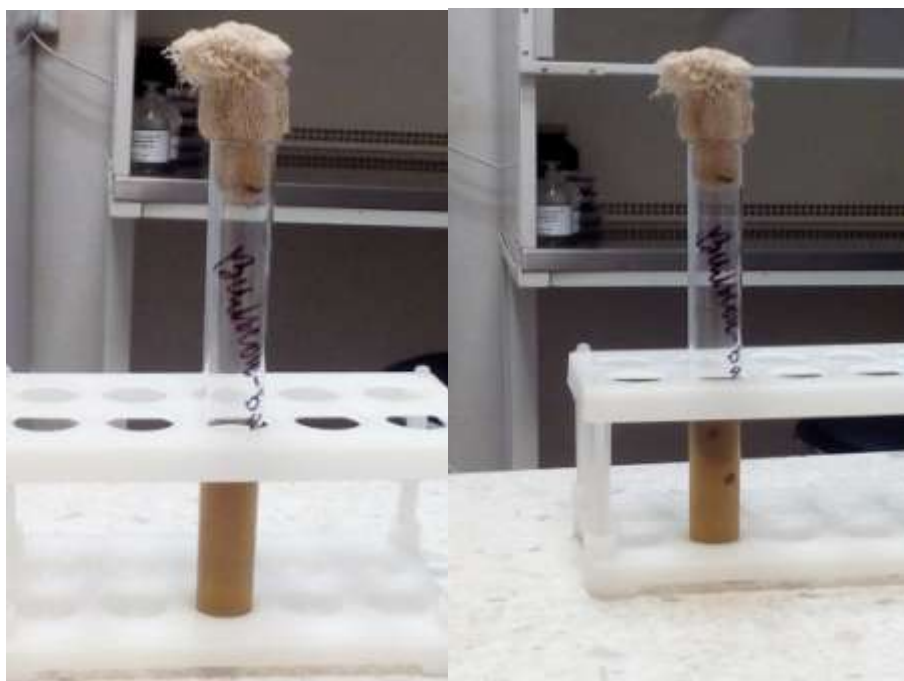


Таблица 8

Результаты исследования образцов на наличие бактерий рода клостридии.

Титр	Проба 1	Проба 2	Проба 3	Проба 4	Проба 5	Проба 6
0.1	1 колония	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Сплошной рост	3 колонии
0.01	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста	9 колоний	Нет роста
0.001	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста	Нет роста
Индекс	10	Менее 10	10	Менее 10	100	10

Фото 15. Исследование образцов на клостридии



Чистая среда Вильсона –Блера

Рост клостридий на питательной среде.

Таблица 9

Сравнительная таблица результатов микробиологических исследований образцов почвы.

Наименование исследуемого образца	Индекс энтерококков	Патогенные бактерии, в т.ч. сальмонеллы	Категория загрязнения почв
Проба 1 поверхность почвы на спортивной площадке Гимназии №1;	1000	0	Опасная
Проба №2 глубина почвы на спортивной площадке Гимназии №1;	10	0	Чистая
Проба №3 поверхность почвы в лесном массиве;	10	0	Чистая
Проба №4 глубина почвы в лесном массиве;	Менее 10	0	Чистая
Проба №5 поверхность почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР;	10000	0	Чрезвычайно опасная
Проба №6 глубина почвы на детской площадке дома №7 по ул. 60 лет БАССР	100	0	Умеренно опасная

Таблица 10

Почвенные патогенные микроорганизмы и виды заболеваний

Патогенные бактерии человека	Инфекционные заболевания
Клостридий ботулиnum (Clostridium botulinum)	Ботулизм
Клостридий диффициле (Clostridium difficile)	Псевдомембранный колит
Палочка газовой гангрены (Clostridium perfringens)	Газовая гангрена Острое пищевое отравление Анаэробный целлюлит
Столбнячная палочка (Clostridium tetani)	Столбняк
Кишечная палочка Escherichia coli	Инфекции мочевыводящих путей Диарея Менингит у младенцев
Энтеротоксигенная кишечная палочка (Enterotoxigenic Escherichia coli, ETEC)	Диарея путешественников
Энтеропатогенная кишечная палочка Enteropathogenic E. coli	Диарея у младенцев
Кишечная палочка O157:H7 (E. coli O157:H7)	Гемоколит Гемолитический уремический синдром
Палочка мышинного тифа (Salmonella typhimurium)	Сальмонеллез (Гастроэнтерит и энтероколит)
Шигелла соней (Shigella sonnei)	Бациллярная дизентерия/Шигеллез

Фото 14. Обсуждение с директором гимназии Музюкиной О.Ю результатов исследований почвы на пришкольном участке.



Рекомендации по профилактике болезней, вызываемых почвенными микроорганизмами.



Наиболее распространёнными заболеваниями, передающимися через почву и огородные культуры, являются кишечные инфекции. С загрязнённой почвой они попадают на траву, овощи, фрукты и ягоды, в водоёмы, на руки, а также на различные продукты питания.

Если человек ест немытые сырые овощи, ягоды и фрукты, он может заразиться гельминтами. Таким же путём в организм попадают возбудители кишечных заболеваний.

Играя на улице, во дворе или в саду, ухаживая за животными, дети загрязняют руки. В частицах земли, в пыли, на игрушках, овощах, на шерсти животных могут находиться яйца аскарид и споры болезнетворных бактерий. Они могут попасть в кишечник человека, если для питья употребляют некипячёную воду родников, неблагоустроенных колодцев.

Чтобы предохранить себя и окружающих от заражения необходимо тщательно мыть руки перед едой. Сырые овощи, фрукты и ягоды перед едой тщательно мыть под струёй проточной воды в течение 10-15 минут, периодически встряхивая. Лук, петрушку, салат предварительно очищают от земли, разбирают по отдельным листочкам, стеблям, перьям и тщательно моют. Хороший эффект даёт мытьё их в мыльной воде с последующим ополаскиванием проточной водой.

Для мытья ягод, имеющих шероховатую поверхность или дольчатое строение (клубника, земляника, малина), лучше всего применять их обмывание 1%-ным раствором соды, а затем чистой водой.

Воду из родников, колодцев и других водоёмов пить только кипячёную.

Источником заражения для маленьких детей может быть открытая песочница, которая загрязняется фекалиями таких животных, как кошки и собаки. Жилищно-коммунальным службам необходимо делать замену песка 1 раз в год. Для защиты от различных паразитов территорию вокруг песочницы рекомендуют озеленить, а ее саму на ночь накрывать специальной крышкой или пленкой. Детям после игры в песочнице необходимо тщательно вымыть руки с мылом.

Необходимо уничтожать мух, защищать от них продукты питания.

Следить за чистотой и благоустройством туалетов.