

**ГБОУ ДТДиМ имени А. П. Гайдара, ДО "Основы микробиологии",
город Москва.**

**«Обнаружение антибиотикорезистентных штаммов кишечной
палочки (*E.coli*) в пробах почвы лесопарков Кусково и
Кузьминки.»**

Авторы: Кунатенко Анастасия Андреевна, 10 класс.

Вирченко Виктория Валерьевна, 10 класс

**Руководитель: Татьяна Евгеньевна Денисенко, канд. биол. наук, педагог
дополнительного образования ГБОУ ДТДиМ имени А.П.Гайдара, доцент
кафедры микробиологии ФГОУ ВО "МГАВМиБ - МВА имени
К.И.Скрябина"**

Москва, 2019 год.

ОГЛАВЛЕНИЕ:

1. Введение	стр. 3
2. Цель и задачи	стр. 5
3. Материалы и методы.....	стр. 6
4. Результаты.....	стр.13
5. Обсуждение.....	стр.16
6. Выводы.....	стр.17
7. Заключение.....	стр.17
8. Список литературы	стр.18

ВВЕДЕНИЕ

Исследование объектов окружающей среды с целью определения их санитарно-гигиенического состояния является одним из важнейших методов применяемых в экологической, медико-биологической и ветеринарно-зоогигиенической практике. К таким объектам относятся вода, воздух и почва. Изучение состава микроорганизмов, обитающих в почве, помогает обнаружить наличие экологических проблем, таких как загрязнение биологическими отходами, токсическими веществами, а, так же, позволяет определить степень биологической опасности для человека и домашних животных. Наибольшее значение санитарно-микробиологических исследований проявляется в крупных городах. Мегаполис – место, где проживает огромное количество людей с разным уровнем здоровья и иммунореактивности и, так же со своими различными микроорганизмами, входящими в состав микробиоты индивидуумов. То есть при высокой плотности населения значительно повышается и возможность обсеменения объектов условно-патогенными и патогенными микроорганизмами. Поэтому экологическая безопасность мегаполиса должна включать и безопасность биологическую. Также, помимо людей, в мегаполисе живут домашние и синантропные животные, которые являются ещё одним источником различной микрофлоры, в том числе и патогенной. [4, 5]

Из всех объектов окружающей среды наиболее обсемененным различными микроорганизмами является почва. В поверхностном слое почвы условия обитания являются подходящими даже для бактерий и грибов - обитателей организма теплокровных животных. Люди соприкасаются с почвами, гуляя во дворе или в парке, или даже вдыхая пыльный воздух. Поэтому при значительном микробном загрязнении такие почвы могут быть опасны для здоровья. [1, 7]

В последнее время увеличилась доля антибиотикорезистентных штаммов различных микроорганизмов, которые находят не только в организме человека, но и в различных объектах окружающей среды. Бактерии, устойчивые к антибактериальным препаратам обнаружены даже в Арктике и в организме диких животных, никогда не подвергавшихся антимикробной терапии [2,8]. В первую очередь, это связано с бесконтрольным применением антибиотиков, встречающихся в медицине и в ветеринарии. В настоящее время отмечается рост количества антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов даже среди непатогенные бактерий, входящие в состав нормальной микробиоты организма человека. Такое явление может привести к тому, что в будущем мы не сможем применять препараты, используемые для лечения бактериальных инфекций человека и домашних животных [5, 8].

Обнаружение резистентных к антибиотикам микроорганизмов в объектах окружающей среды является показателем их антропогенного загрязнения. Существуют разные типы загрязнения: химическими веществами, отходами производственных и бытовых предприятий, отходами биологических и химических производств. Все загрязняющие факторы неизменно попадают в почву, изменяя её состав и свойства, а также неизбежно оказывают влияние

на её биологический состав. Почва городов находится в гораздо худшем состоянии, чем почва сельской местности, что указывает на роль промышленности и количества проживающего в мегаполисе населения как загрязняющего фактора. Так, обсеменённость почвы сельской местности патогенными микроорганизмами в два раза ниже таковой в городах [7].

Показателем свежего органического загрязнения почвы является наличие и количество живых бактерий группы кишечной палочки. *Escherichia coli*, которая является нормальным обитателем толстого отдела кишечника животных и человека, принята в санитарной микробиологии за один из основных санитарно-показательных микроорганизмов. Наличие большого количества кишечной палочки в почве указывает на свежее фекальное загрязнение и соответственно, на ее неблагополучие по биологическому загрязнению [1,9].

При изучении экологического состояния любой экосистемы важно понимать пути попадания туда аллохтонной микрофлоры. Исследование антибиотикорезистентности выделенной из почвы кишечной палочки позволяет узнать её происхождение. И предположить степень биологической безопасности людей, находящихся на территории изучаемых объектов [5]. Всем этим вопросам мы и посвятили нашу исследовательскую работу.

ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ

Цель работы: Определить степень биологической безопасности почв лесопарков Кусково и Кузьминки путем санитарно-микробиологических исследований и антибиотикорезистентности выделенных культур бактерий группы кишечной палочки.

Гипотеза: Почвенные микроорганизмы чувствительны и антибиотикорезистентны ко всем антибиотикам, применяемым в медицине и ветеринарии, так как источники их возникновения связаны с деятельностью человека.

Задачи:

1. Провести отбор проб почв из разных участков лесопарковых зон Кузьминки и Кусково для санитарно-микробиологических исследований.
2. Определить физико-химические показатели и типы отобранных почв.
3. Провести санитарно-микробиологические исследования, в том числе определить коли-титр почвы.
3. Изучить чувствительность выделенной *E.coli* к различным антибактериальным препаратам и определить её происхождение.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Отбор проб почвы проводили в двух лесопарках города Москвы - "Кусково" и "Кузьминки" (см. рисунок 1), расположенных в Юго-Восточном административном округе города. Эти территории активно используются жителями города для активного отдыха, занятий спортом, выгула домашних животных, конных прогулок. В лесопарках так же встречается много диких животных, обитающих по соседству с человеком: различные виды птиц, грызунов, насекомых. Отмечается и наличие синантропных животных. На обеих территориях находятся пресноводные водоемы - пруды, имеющие различных водных и околоводных обитателей. Пруды люди используют как место отдыха, однако купание и рыбная ловля там запрещены.

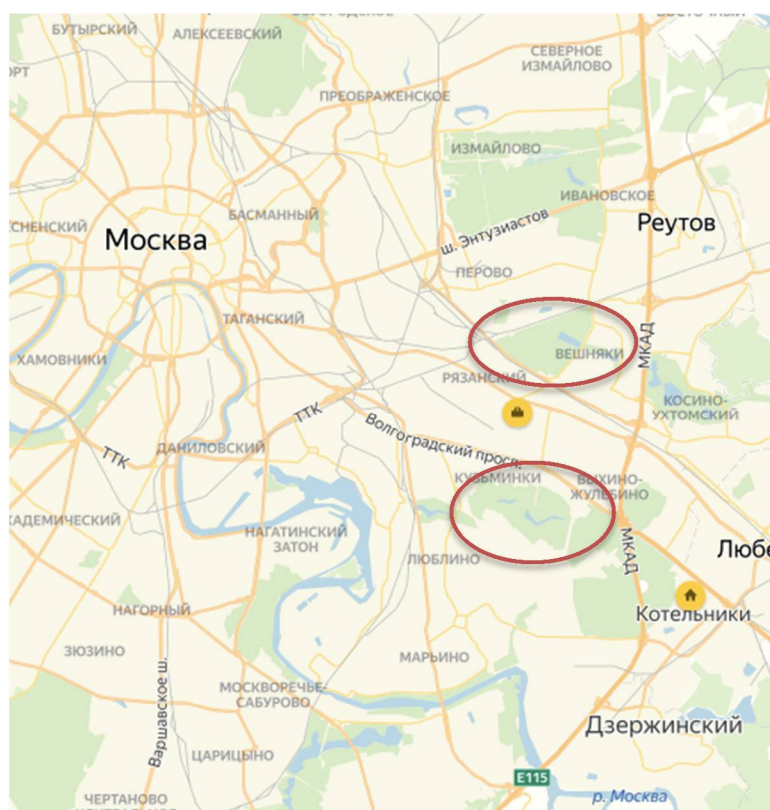


Рисунок 1. Расположение Кузьминского и Кусковского лесопарков в городе Москва (масштаб: 1:1000 м)

В каждом парке были определены точки отбора проб (см. рисунок 2 и 3). Эти участки отбирали с учетом целевого использования территорий, для того что бы сравнить влияние наличия различных факторов на количество и биологические свойства санитарно-показательной микрофлоры почвы. Таких точек мы выбрали по 10 в каждом парке, итого - 20 участков. На рисунках 4 - 7 показаны территории Кузьминского парка, в котором проводили отбор, а на рисунках 8-11 - лесопарка Кусково.

Отбор материала и последующие исследования проводили в период август - октябрь 2019 года.

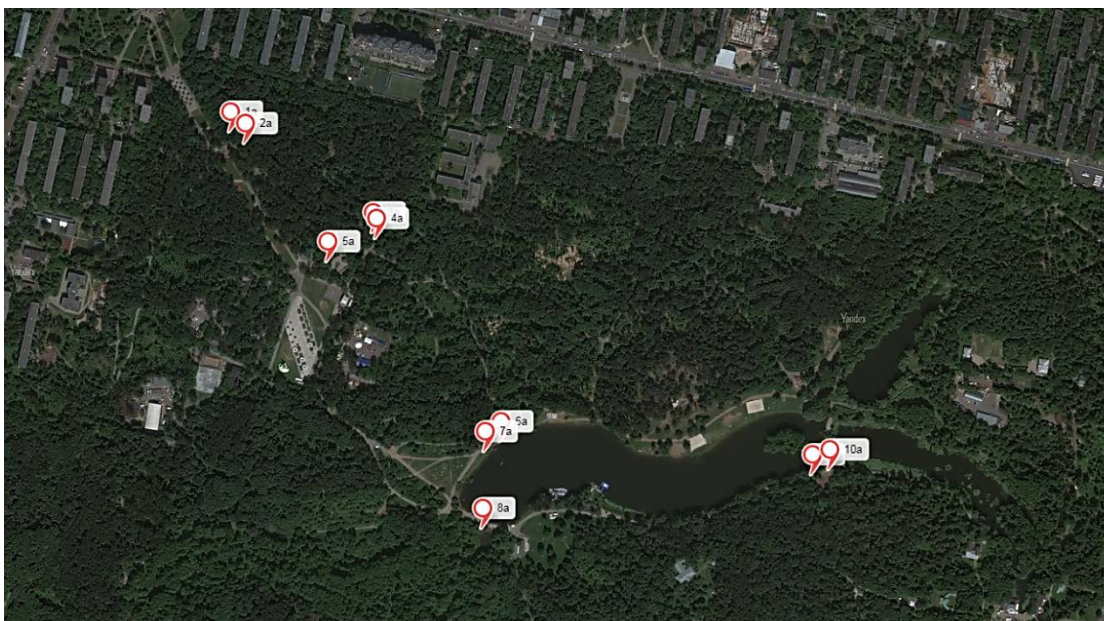


Рисунок 2. Карта Кузьминского лесопарка с указанием точек отбора проб (масштаб: 1:200000)

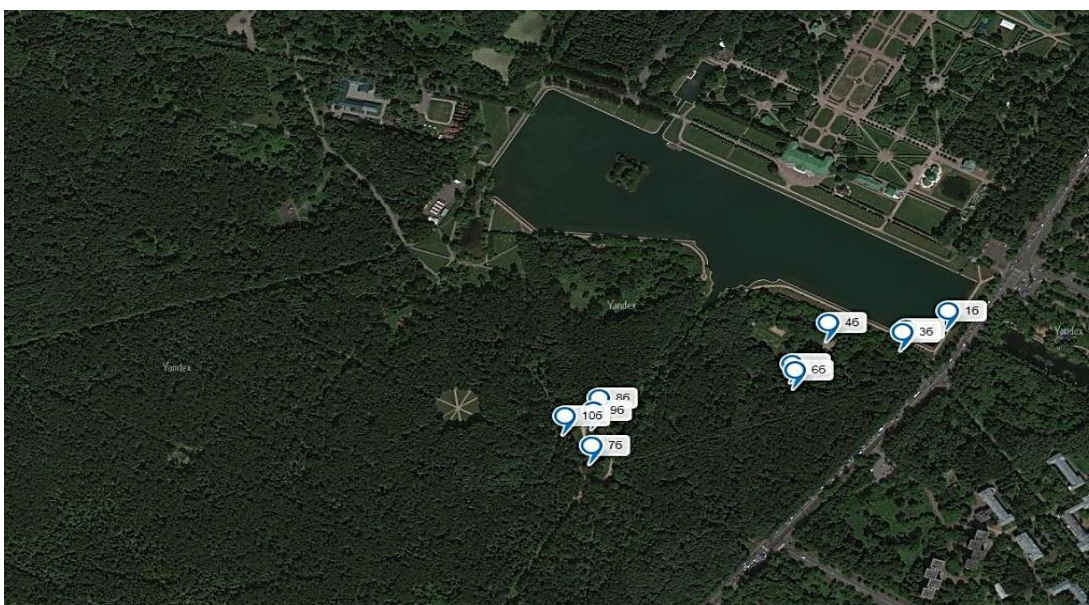


Рисунок 3. Карта лесопарка Кусково с указанием точек отбора проб (масштаб: 1:200000)

рис.4
Кузьминский
лесопарк(точка
9а)



рис.5 Кузьминский
лесопарк(точка
10а)



рис.6
Кузьминский
лесопарк(точка 6а)



рис.7
Кузьминский
лесопарк(точка
8а)



рис.8
Кусковский
лесопарк (точка
4б)

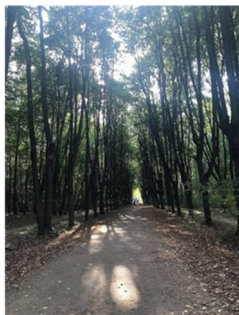


Рис.9 Кусковский
лесопарк (точка 1б)



Рис.10
Кусковский
лесопарк (точка
7б)



Рис.11
Кусковский
лесопарк (точка
10б)



Отбор проб проводили самостоятельно по общепринятым методикам [3, 6,10] с соблюдением правила асептики: стерильным инструментом в стерильные zip-пакеты. Пробы запечатывали, подписывали и упаковывали в коробку для дальнейшей транспортировки в лабораторию (см. рисунок 12)



Рисунок 12. Отобранные пробы почвы, упакованные в zip-пакеты и транспортную коробку

Каждой пробе был присвоен соответствующий номер и определены основные характеристики участков, на которых отбирали почву (см. таблицу 1).

Таблица 1. Перечень образцов и характеристика участков, на которых проводился отбор проб почвы.

№ пробы*	Местоположение участка	Целевое использование	Кол-во людей	Наличие домашних животных	Наличие синантропных животных/вид животного
1а	Расположено около входа в парк на расстоянии 30 м от асфальтированной дороги	Лес	Мало	Домашние собаки Видели 1	Голуби, воробьи
2а	На тропинке около входа в парк на расстоянии 30 м от асфальтированной дороги	Лес	Мало	Домашние собаки	Голуби, воробьи
3а	Под деревом рядом с небольшой детской площадкой, в начале парка	Детская площадка	много	Домашние собаки	Голуби, воробьи
4а	На дорожке на вход на небольшую детскую площадку, в начале парка	Детская площадка	Много	Домашние собаки	Голуби, воробьи
5а	В центре большой детской площадки около парка аттракционов	Детская площадка	Очень много	Домашние собаки	Голуби, воробьи
6а	На земле рядом с деревом около Шибаевского пруда	Пруд	Много	Домашние собаки	Утки, голуби, воробьи
7а	На тропинке около Шибаевского пруда	Пруд	Много	Домашние собаки	Утки, голуби, воробьи
8а	Заболоченное место, около моста, рядом с Шибаевским прудом	Пруд, мост, река, вытекающая из под моста	Средне	Домашние собаки (3 штуки)	Никого не видели
9а	Около детской площадки рядом с водой, под деревом	Пруд, детская площадка	Много	Домашние собаки	Водяная крыса, голуби, утки
10а	С другой стороны детской площадки около воды, на открытом пространстве	Пруд, детская площадка, тропинки	Много	Домашние собаки	Водяная крыса, голуби, утки
1б	Около Большого Дворцового пруда, на бетонном борту	Пруд	Мало	Не было	Никого не было
2б	Под деревом в лесу, рядом с тропинкой и	Тропинки	Мало	Не было	Никого не было

	около Большого Дворцового пруда				
3b	На тропинке в лесу около Большого Дворцового пруда	Тропинка	Мало	Не было	Никого не было
4b	На заросшем футбольном поле в центре парка	Стадион	Мало	Не было	Птицы пели
5b	Около зоны для пикников, где стоят беседки, в центре парка	Беседки, тропинки	Много	Домашние собаки	Голуби и воробьи
6b	В центре зоны для пикника, под деревом, в центре парка	Беседки, тропинки	Много	Домашние собаки	Голуби и воробьи
7b	В конце канала с водой, который заканчивался тупиком и отходил от Большого Дворцового пруда, в центре парка	Вода из пруда	Мало	Не было	Никого не было
8b	С краю детской площадки. Под деревом, в центре парка	Детская площадка	Много	Домашние собаки и лошади	Мыши или крысы
9b	В центре детской площадки, в центре парка	Детская площадка	Много	Домашние собаки и лошади	Мыши или крысы
10b	В 10 метрах от детской площадки, под деревом (хвойным), в центре парка	Лес, недалеко детская площадка	Много	Домашние собаки и лошади	Никого не видели

*Где пробы "а" - отобраны в лесопарке Кузьминки
"б" - отобраны в лесопарке Кусково

Санитарно-микробиологические и физико-химические исследования проводили по общепринятым методикам [3, 6] на базе учебной лаборатории ГБОУ ДТДиМ имени А.П.Гайдара, изучение свойств выделенных культур кишечной палочки - на базе кафедры микробиологии ФГОУ ВО МГАВМиБ-МВА имени К.И.Скрябина.

Для исследования физико-химического состава почв мы определили: тип почвы по механическому составу, кислотность, наличие сульфатов и карбонатов. [6] (рис. 13, 14)

Чтобы определить тип почвы по механическому составу мы отсыпали некоторое количество почвы в чашки Петри, где на землю мы капали немного воды, после чего пытались скатать землю в некие «колбаски». Если земля скатывалась в плотную «колбаску», то это означало, что тип почвы глинистый. Если земля скатывалась в плотную «колбаску», но имела трещины или откалывалась – почва суглинистая. Если земля скатывалась в

рассыпчатую «колбаску» и имела песок – почва супесчаная. Если же «колбаска» вовсе не скатывалась, то это обозначало, что почва песчаная.

Для определения кислотности почвы мы получали почвенную вытяжку и использовали универсальный индикатор, наблюдали за изменением цвета индикатора, сверяли цвет с таблицей окраски индикаторов и записывали ответ.

Карбонаты мы определили тем, что капали серную кислоту на ранее сделанные «колбаски». Если карбонаты присутствовали, то земля пенилась, если отсутствовали, то почва оставалась без изменений.

Для определения сульфатов мы капали 10% раствор солянокислого в пробирку с вытяжкой почвы. При наличии сульфатов отмечали выпадение осадка.



Рис.13 перед проведением физико-химического метода



Рис.14 отбор почвы для физико-химического метода

Следующим этапом было количественное определение **общего микробного числа** - количества микробных тел в 1 г почвы. Для этого мы приготовили разведение почвы на стерильной воде в концентрации 1:1000000. Из данного разведения отбирали 1мл и высевали его в расплавленный и остуженный до 45°C мясопептонный агар. Культивировали 48 часов при температуре 37°C в аэробных условиях. Для учета подсчитывали количество выросших колоний, перемножали на степень разведения и получали **общее микробное число** в каждой пробе почвы. Также, выборочно проводили фотосъемку микропрепаратов выделенных микроорганизмов [6,10].

Для индикации, выделения культур кишечной палочки и определения коли-индекса отобранных проб почвы производили посев суспензии почвы на стерильной воде в концентрации 1:100 на дифференциально-диагностическую среду Эндо (см. рисунок 15 и 16). Посевы культивировали при температуре 37°C в течение 24 - 48 часов в аэробных условиях. При подсчете выросших на среде колониеобразующих единиц учитывали только те колонии, которые были окрашены в ярко-малиновый цвет - лактозоположительные. Полученное количество колониеобразующих единиц перемножали на степень разведения (x100) и получали коли-индекс. Колититр проб почвы подсчитывали путем деления количества почвы (1г) на обнаруженное количество микробных тел. Сравнивали результат

определения общего микробного числа и коли-титра с показателями нормы, представленными в **таблице 2** [1,6,9,10]

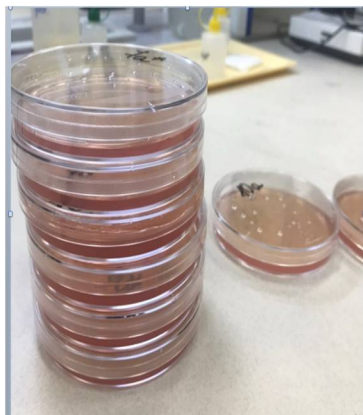


Рисунок 15. Среда Эндо, подготовка к посевам



Рисунок 16. Приготовление разведений почвы

Таблица 2. Показатели коли-титра почв при различном загрязнении

Оценка почвы	ОМЧ*	Коли-титр	Коли-индекс
незагрязнённая	менее 10 000	1г и более	1 и менее
слабозагрязнённая	10001-100000	0,1 - 0,01	10 - 100
умеренно загрязнённая	100001-1000000	0,01 - 0,001	100 - 1000
сильнозагрязнённая	более 1000001	0,001 и меньше	1000 и более

ОМЧ - общее микробное число

Изучение антибиотикорезистентности выделенных культур проводили методом стандартных дисков. Для этого каждую культуру кишечной палочки засекали газонем на поверхность Мясо-пептонного агара и вносили пропитанные различными антибиотиками бумажные диски (промышленного производства) (см рисунок 10 и 11). На каждую культуру применяли 6 препаратов (левомецитин, ванкомицин, фуразолидон, гентамицин, амоксициллин, цефтриаксон). Данный список препаратов обоснован тем, что для стандартной оценки антибиотикорезистентности микроорганизмов в экологической микробиологии применяют препараты различных поколений, а, так же, разные группы по механизму действия на бактериальную клетку [2]. То есть мы использовали "широкий подход" при выборе антибиотиков. Так, мы брали диски с ванкомицином, который обычно не действует на грамотрицательные микроорганизмы, но его необходимо учитывать при стандартной оценке антибиотикорезистентности.

Посевы культивировали при температуре 37°C 24 часа в аэробных условиях. Учитывали наличие стерильных зон вокруг дисков с антибиотиками, измеряли их диаметр и интерпретировали полученный

результат по размеру зон задержки роста бактерий [10]. При оценке зоны



Рисунок 17. Мясо-пептонный агар для посева культуры кишечной палочки и определения общего микробного числа. Учет результатов посевов.

Рисунок 18. Стандартные диски для определения антибиотикорезистентности

задержки роста измеряли её диаметр, включая диск и учитывали только те результаты, при которых в зоне задержки роста не было ни одной колонии микроорганизмов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате проведённых исследований мы определили механический состав почвы, наличие карбонатов и сульфатов, кислотность, общее микробное число и коли-индекс, титр каждой отобранной пробы. Все эти данные отражены в **таблице 3**.

Таблица 3. Результаты определения физико-химических и санитарно-микробиологических показателей проб почв, отобранных в Кузьминском и Кусковском лесопарках

№ пробы *	Тип почвы по механическому составу	Наличие карбонатов	Наличие сульфатов	ОМЧ* микр. тел/г	Коли-индекс, микр.тел/г	Коли-титр, г
1a	Супесчаная	нет	нет	50000000	2200	0,0004
2a	песчаная	нет	да	13000000	11200	0,00008
3a	супесчаная	нет	нет	9000000	4000	0,0002
4a	супесчаная	нет	да	1180000000	3800	0,0002
5a	супесчаная	нет	да	239000000	2300	0,0004
6a	супесчаная	нет	да	4160000000	468000	0,000002
7a	супесчаная	да	да	225000000	28500	0,00004
8a	суглинистая	да	да	450000000	25100	0,00004
9a	супесчаная	нет	да	50000000	7800	0,0001
10a	суглинистая	да	да	2000000	12000	0,00008
1b	суглинистая	да	да	6400000000	2700	0,0003
2b	песчаная	да	нет	4530000000	4700	0,0002
3b	суглинистая	нет	нет	4160000000	16200	0,00006

4b	песчаная	нет	нет	4800000000	30100	0,00003
5b	суглинистая	нет	да	3660000000	2700	0,0003
6b	глинистая	нет	да	814000000	16200	0,00006
7b	супесчаная	да	да	4200000000	30100	0,00003
8b	супесчаная	да	да	5700000000	4700	0,0002
9b	песчаная	нет	нет	400000000	7200	0,0001
10b	супесчаная	нет	нет	5870000000	13700	0,00007

Как видно из таблицы почва из разных участков отличалась по химическому и механическому составу. Явной зависимости общего микробного числа от состава почвы мы не отметили, однако этот показатель сильно зависел от целевого использования участка и от близости водоемов. Следует отметить высокий уровень органического загрязнения почв, который подтверждался критически высоким показателем общего микробного числа. А значительно-превышающие норму, соответствующую даже загрязненной почве, количество кишечной палочки (коли-титр и коли-индекс) во всех пробах указывает на массивное свежее фекальное загрязнение. Основываясь на полученных данных мы определили **наиболее загрязненные площадки Кузьминского лесопарка** – это места отбора проб почвы 4а, 6а и 8а. В **Кусковском лесопарке** - пробы 1b, 3b, 6b и 10b. В целом, почва в Кузьминском лесопарке по санитарно-микробиологическим показателям оказалась незначительно чище.

Следует отметить что бактерии группы кишечной палочки были обнаружены во всех пробах. При изучении посевов исследовали только лактозопозитивные колонии бактерий (малинового цвета). На рисунке 19 представлены результаты посевов некоторых проб почвы, в которых было отмечено наиболее высокое количество колоний бактерий группы кишечной палочки.

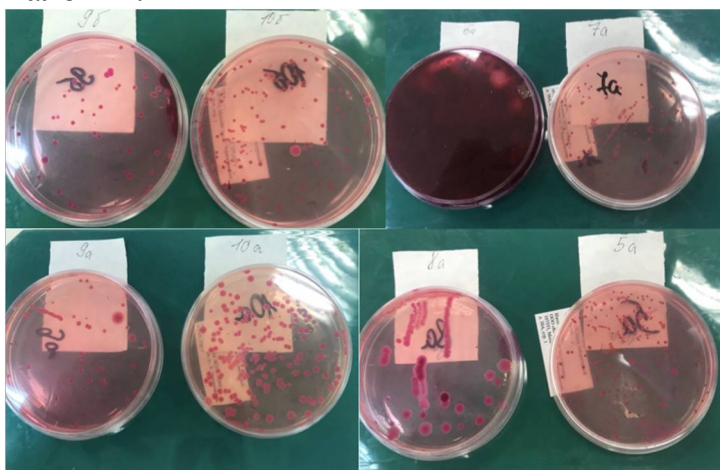


Рисунок 19. Колонии бактерий группы кишечной палочки в посевах проб почв на среде Эндо.

Такие результаты могут указывать на массивное и регулярное загрязнение почв лесопарков биологическими отходами, в том числе и свежими фекалиями. Наиболее загрязненной оказалась проба почвы отобранная на берегу водоема.

При изучении антибиотикорезистентности выделенных культур *E.coli* мы отметили разницу результатов в зависимости от вида антимикробного препарата, а так же вариативность данного признака у изолятов кишечной палочки. Результаты посевов для изучения антибиотикорезистентности показаны на рис.20, где на мясо-пептонном агаре хорошо заметны зоны задержки роста вокруг препаратов, к которым микроорганизмы проявляют чувствительность. Там же где зона задержки роста отсутствует - микроорганизмы устойчивы. Высоким уровнем чувствительности мы считали зоны задержки роста диаметр которых был не менее 20мм.

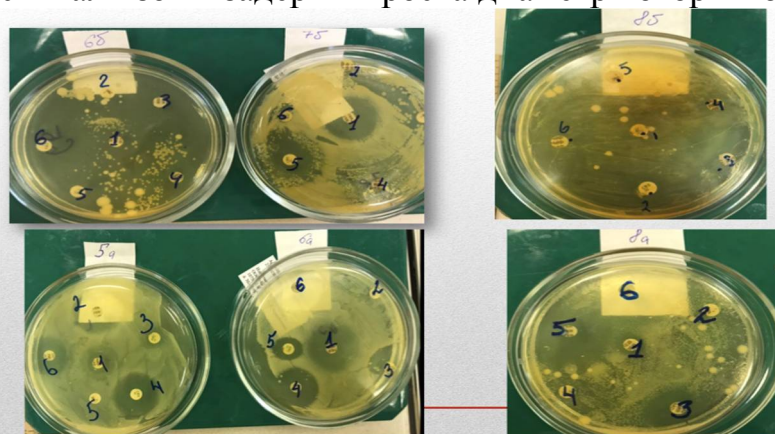


Рисунок 20. Оценка роста культур кишечной палочки с различными антибиотиками на мясо-пептонном агаре.

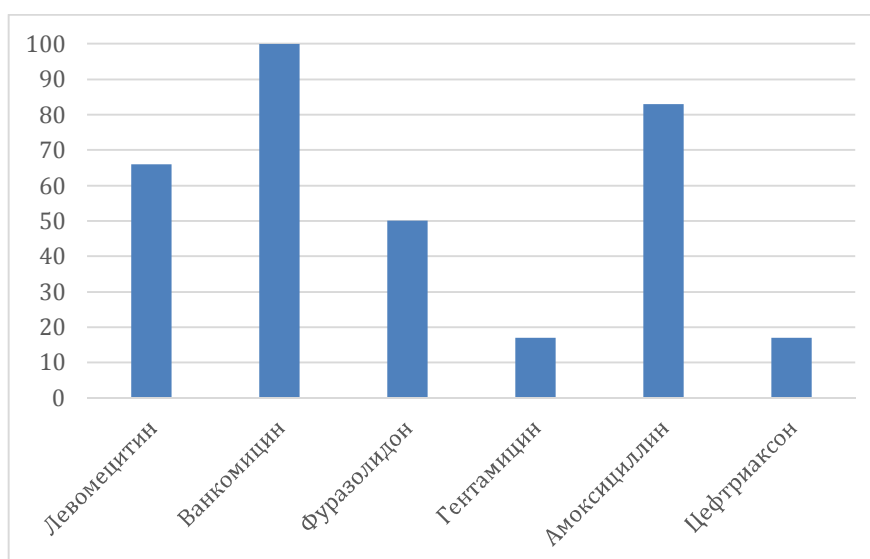


Рис.21 Количество резистентных к антимикробным препаратам культур кишечной палочки, %

Результаты исследования антибиотикорезистентности указаны на **рис. 21**, где показан процент культур устойчивых к тому или иному антибиотику. Как видно из рисунка большинство выделенных культур оказались резистентны к левомецитину, ванкомицину, амоксициллину и фуразолидону. Относительная чувствительность была отмечена к препаратам гентамицин и цефтриаксон. Устойчивость к ванкомицину и амоксициллину можно объяснить биологическими свойствами кишечной палочки - эти

микроорганизмы являются грамтрицательными, а данные антибиотики применяют в основном для грамположительной флоры. А вот устойчивость к левомецитину и фуросолидону, а, так же, наличие ряда устойчивых культур к гентамицину и цефтриаксону позволяет предположить антропогенное происхождение данной микрофлоры. Что указывает не только на санитарное неблагополучие этих почв, но и на опасность получения человеком антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов из окружающей среды.

ОБСУЖДЕНИЕ

Благодаря нашему микробиологическому исследованию мы выяснили, что физико-химическое свойство почвы, наличие людей, синантропных и домашних животных не так сильно влияют на наличие микроорганизмов в почве, нежели географическое местоположение участка, его целевое использование, визуальное наличие органического и неорганического мусора.

Однако результаты наших исследований показали сильную загрязненность почв лесопарковых зон Кузьминки и Кусково биологическими отходами, в том числе фекальными загрязнениями, на что указывают высокие показатели коли-титра и коли-индекса исследуемых проб. Такие показатели напрямую связаны с хозяйственной деятельностью человека и недостаточной культурой поведения посетителей парков. Так, например, несанкционированные свалки пищевых отходов, недостаточное количество общественных туалетов, низкая культура населения при выгуле домашних питомцев, большое количество синантропных животных и, возможно, другие факторы приводят к постоянному попаданию в почву микроорганизмов антропогенного происхождения.

К примеру, пробы 1а и 2а из Кузьминского лесопарка и пробы 2б и 3б из Кусковского имеют «среднее» количество микроорганизмов среди всех проб. Данные участки находились на или рядом с лесными тропинками, по которым стабильно ходили люди с домашними питомцами.

А пробы 8а из Кузьминского лесопарка и проба 1б из Кусковского имеют превышенное количество микроорганизмов, скорее всего из-за близкого месторасположения с водой (географическое положение). Кроме того из-за немалых показателей кишечной палочки мы можем предположить, что недалеко от этих участков находится выброс органического мусора.

Также при сравнении количества загрязненных участков в двух исследуемых лесопарках оказалось, что Кузьминский лесопарк имеет большее количество санитарно-благополучных участков, безопасных для посещения.

Таким образом наша работа помогла выявить зоны загрязнения окружающей среды в исследуемых лесопарках города Москва.

Кроме того, нами были выделены микроорганизмы, имеющие антропогенное происхождение. Они были выявлены путём изучения их антибиотикорезистентности. Так, природные штаммы кишечной палочки, не могут проявлять устойчивость к препаратам, применяемым в медицине и ветеринарии для лечения инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями. Однако в нашем исследовании мы выявили довольно высокий процент культур (более 60%) устойчивых к левомецитину - препарату довольно часто назначаемому при кишечных инфекциях в медицине и ветеринарии и ряд культур, устойчивых к более современным препаратам широкого спектра действия - гентамицину и цефтриаксону. Такие результаты указывают на антропогенное происхождение выделенных *E.coli*. Конечно, при этом мы задумываемся о безопасности посетителей парков в связи с высоким уровнем биологического загрязнения почвы. И несмотря на то, что вероятность заражения людей при соблюдении ими стандартных гигиенических норм не высока, однако наличие антибиотикорезистентных штаммов бактерий в окружающей среде способствует распространению этих свойств и другим микроорганизмам, в том числе представителям нормальной микрофлоры человека и домашних животных.

ВЫВОДЫ

1. Отобранные пробы почвы из лесопарков Кусково и Кузьминки в 100% случаев содержали микроорганизмы, в том числе бактерии группы кишечной палочки.
2. Санитарно-микробиологическое исследование показало высокие значения общего микробного числа в 10-ти пробах, причем 8 из них были отобраны в лесопарке Кусково.
3. При количественном исследовании показателей обсеменения кишечной палочкой все образцы оказались сильнозагрязнёнными, а в пробе №8а обнаруживалось количество микроорганизмов, значительно превышающие значения, указанные в литературных источниках.
4. Во всех пробах почвы были обнаружены антибиотикорезистентные бактерии, в том числе устойчивые к современным антибактериальным препаратам таким как гентамицин и цефтриаксон.
5. Санитарно-микробиологическое состояние почв в лесопарках Кузьминский и Кусково по показателям свежего фекального и биологического загрязнения является неблагоприятным, а в случае с пробой, отобранной вблизи пруда - опасным для здоровья человека.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты санитарно-микробиологических исследований почвы лесопарков города Москвы оказались достаточно неожиданными. Так, уровень загрязнения санитарно-показательными микроорганизмами -

бактериями группы кишечной палочкой оказался значительно выше нормы. Такие данные требуют дальнейших исследований с целью определения основных источников фекального загрязнения и их возможного устранения.

Исследование антибиотикорезистентности санитарно-показательных микроорганизмов может стать достоверным методом определения происхождения изучаемой микрофлоры в окружающей среде. Обнаружение таких микроорганизмов может помочь в дальнейшем в решении проблем борьбы со снижением антибиотикорезистентности у медицинско- и ветеринарно- значимых бактерий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бактерии группы кишечной палочки (БГКП), как показатели санитарного состояния почв/ интернет-публикация
https://studwood.ru/1004328/ekologiya/bakterii_gruppy_kishechnoy_palochki_bgkp_pokazateli_sanitarnogo_sostoyaniya_pochv
2. Бурлаков А.С., Денисенко Т.Е. Антибиотикорезистентность различных видов микроорганизмов, изолируемых от свободно живущих особей Атлантического моржа.// Материалы международной научно-практической конференции “Фармакологические препараты в профилактике и лечении болезней животных”, Москва, МГАВМиБ - 2016, стр. 18 – 23
3. ГОСТ 17.4.4.02-2017 Охрана природы (ССОП). Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа
4. Джессика Снайдер Сакс Микробы хорошие и плохие; перевод с английского П.Петрова - Москва: АСТ: CORPUS, 2014 - 496с.
5. Зубкова Т.А., Карпачевский Л.О., Ашинов Ю.Н. Почва как фактор здоровья человека// НИЦ Пространство и Время, М.-2013, с.207 - 219
6. Кочемасова З.Н., Ефремова З.А., Рыбакова А.М. Санитарная микробиология и вирусология. М.: Медицина, 1987 – 349с.
7. Люлин С.Ю. Микробные сообщества городских почв и влияние поллютантов на популяцию *Escherichia coli* в системе почва - растение/ Автореферат диссертации, М.-2007, 20с.
8. Манжурина О.А., Скогорева А.М., Ромашов Б.В., Ромашова Н.Б. Современные тенденции антибиотикорезистентности микробиоты домашних и диких животных // Вестники Воронежского аграрного университета №1 (52), Воронеж - 2017, с. 41-45.
9. СанПиН 2.1.7.1287-03 Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы и грунтов
10. Скородумов Д.И., Родионова В.Б., Костенко Т.С. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии.- М.: Изд-во «Зоотехния».- 2008.