

МЕТОДОЛОГИЯ И ПОКАЗАТЕЛИ САНИТАРНО-МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО КОНТРОЛЯ БЕЗОПАСНОСТИ ПОЧВЫ

(аналитический обзор)

М.С. Соколов¹, Д.М. Соколов¹, С.Н. Тымчук², В.Е. Ларин^{2*}

¹ООО «МикроБио» и ²Отдел биологических методов анализа ЗАО «РОСА», Москва, Россия

* Эл. почта: info@mibio.ru

Почвы – главный резервуар и биотоп санитарно-значимых микроорганизмов. Рассмотрены основные факторы заселения и выживания в почве ряда патогенных микроорганизмов – возбудителей опаснейших болезней человека и домашних животных. Обсуждены проблемы контроля биологического (преимущественно бактериального) загрязнения почвы, официальные методы оценки ее санитарно-эпидемиологического состояния, биологической активности и антипатогенных (супрессивных) свойств. Сформулированы основные принципы, цели и задачи санитарно-микробиологического исследования почвы. Обсуждены понятия «микробиологический санитарный показатель», «качественный и количественный санитарный показатель», «санитарно-показательный микроорганизм», «косвенный микробный контроль». Критически рассмотрены отдельные действующие санитарные показатели и конкретные санитарно-показательные микроорганизмы, охарактеризованы питательные среды, рекомендуемые для их выявления. Приведены индексы и титры микроорганизмов, характеризующие чистую почву. Изложены общие принципы отбора образцов и пробоподготовки почвы к микробиологическому анализу, особенности современных ускоренных методов выявления санитарно-показательных микроорганизмов. Интенсификация охраны почвы, ее экологического мониторинга и процесса самоочищения от патогенных микроорганизмов рассматривается как важнейшая задача земледельцев и государственных органов.

Ключевые слова: санитарный показатель, санитарно-показательный микроорганизм, патогенный микроорганизм, условно-патогенный микроорганизм, ускоренные методы анализа, петрифильмы.

METHODOLOGY AND PARAMETERS USED IN SANITARY MICROBIOLOGICAL CONTROL OF SOILS SAFETY (analytical review)

M.S. Sokolov¹, D.M. Sokolov¹, S.N. Tymchuk², V.E. Larin^{2*}

¹ООО «MicroBio» and ²Department of Biological Test Methods, ZAO «ROSA», Moscow, Russia

E-mail: info@mibio.ru

Soil is the principal reservoir and habitat of sanitary significant microorganisms. The present review addresses the main factors of settlement and survival of soil pathogens responsible for dangerous diseases of humans and domestic animals, the problems of biological control (mainly bacterial) of soil contamination, and the formal methods of evaluating its sanitary-epidemiological conditions, biological activity, and anti-pathogenic (suppressive) properties. The main principles, goals and objectives of the sanitary-microbiological testing of soil are formulated. The concepts of “microbiological health indicator”, “qualitative and quantitative indicator of health”, “sanitary indicator microorganisms”, “indirect microbial control” are discussed. Some of the currently valid soil health indicators, including specific sanitary indicator microorganisms, and the characterized of culture medium recommended for their identification are critically assessed. The parameters and titers of microorganisms characteristic of safe soil are presented. The general principles of soil sampling and sample preparation for microbiological analysis, including the latest express methods, used to identify sanitary indicator microorganisms are outlined. Promotion of soil conservation and environmental monitoring and its self-purification of pathogens is an important priority of government bodies and local land users.

Keywords: sanitary indicator, sanitary indicator microorganisms, pathogen, opportunistic pathogens, rapid methods of analysis, petrifilms.

«Несмотря на авторитетные декларации и принимаемые меры по охране почв, как в международном плане, так и на уровне разных стран, деградация почвенного покрова Земли – ее педосферы продолжается»...

Г.В. Добровольский¹

ВВЕДЕНИЕ

Почва – уникальный, незаменимый компонент агро- и урбаносферы. Экологическая ценность селитебных и сельскохозяйственных земель тради-

ционно определяется характером эксплуатации и санитарным состоянием их почвы. Санитарное состояние различных угодий характеризуется «...совокупностью физико-химических и биологических свойств почвы, определяющих качество и степень ее безопасности в эпидемиологическом и гигиеническом

¹ Педосфера как оболочка высокой концентрации и разнообразия жизни на планете Земля // Почвы в биосфере и жизни человека. – М.: МГУЛ, 2012. – С. 31.

отношениях»². Биобезопасность почвы во многом зависит от изначально присущей ей *самоочищающей способности*. Именно поверхностный горизонт почвы (5–10÷20 см) является не только основным локусом накопления *болезнетворных бактерий*, но и местообитанием их *антагонистов* – свободноживущих сапротрофных микроорганизмов, в том числе *целлюлозолитиков, азотфиксаторов, аммонификаторов, нитрификаторов* и проч. В 1 г почвы численность микроорганизмов может колебаться от сотен миллионов до нескольких миллиардов пропагул. Окультуривание почвы, как правило, приводит к увеличению в ней численности микроорганизмов [6].

Наиболее экологически значимыми биотопами для сапротрофных бактерий и грибов являются *ризосфера* (околокорневая зона) и *ризоплана* (поверхность корня). Численность и разнообразие ризосферных микроорганизмов на порядки выше в сравнении с почвой корнеобитаемого горизонта. Почвообитающие микроорганизмы (геомикробобии) – основные консорбенты сложного *микробиоценоза почвы*. Он характеризуется антагонистическими и симбиотическими взаимоотношениями консорбентов как между собой, так и с иной биотой, включая растения. *Аутохтонная* (утилизирующая почвенный гумус) микрофлора здоровой природной почвы обладает мощным *санитрующим действием* в отношении большинства патогенных микроорганизмов. Однако нерациональная, непродуманная хозяйственная деятельность часто приводит к нарушению функционирования почвенных микробиоценозов, снижению или даже полному подавлению процессов почвенного самоочищения. В эпидемиологическом плане такая *кондуктивная почва* становится опасным объектом для экосферы.

Биобезопасность почвы подразумевает ее безвредность в эпидемиологическом и гигиеническом отношении для контактирующей с ней биоты, включая человека. Биологическая безопасность почвы изначально зависит от присущей ей природной самоочищающей способности, определяемой совокупностью физико-химических, биохимических и супрессивных свойств; лишенная этой способности кондуктивная почва становится опасной для экосферы.

1. Проблема биологического загрязнения почвы

Радикально измененные человеком почвы (селитебных и отдельных сельскохозяйственных территорий) принимают на себя колоссальную нагрузку продуктов жизнедеятельности человека и домашних животных. Многие органические отходы производства, зачастую преднамеренно вносимые в почву в качестве местных удобрений (навоз, фекалии, сточные воды), при определенных условиях могут рассматриваться и как экотоксиканты. Отходы жизнедеятельности человека и домашней фауны индуцируют в почве резкое увеличение численности сапротрофных микроорганизмов. Следствием *фекального загрязнения* почвы является повышенная численность основных представителей микрофлоры кишечника теплокровных организмов. Обычно *условно-патогенные* представители нормальной кишечной микрофлоры и сопутствующие им *патогенные микроорганизмы*,

изначально попав в почву, постепенно элиминируются из-за отсутствия необходимых пищевых ресурсов для размножения и/или выживания. Однако некоторые представители кишечной микрофлоры могут включаться в микробиоценозы почвы.

Болезнетворные микроорганизмы по срокам выживания в почве классифицируют на три группы: а) *постоянно обитающие* – *Clostridium botulinum, Actinomyces* spp., возбудители микотоксикозов и подкожных микозов; б) *длительно обитающие* – спорообразующие микроорганизмы *Bacillus anthracis, Clostridium* spp. и др.; в) *ограниченно сохраняющиеся* – неспоровые бактерии *Salmonella, Shigella, Vibrio, Brucella, Francisella, Mycobacterium, Leptospira, Pseudomonas* [6]. Сроки выживания болезнетворных микроорганизмов зависят от их видового состава, типа почвы, ее гидротермического режима, pH, степени и природы загрязнения – органическое, микробное, химическое или иное [2, 6].

Одна из острых городских экологических проблем – несанкционированные свалки твердых бытовых отходов (ТБО) и отходов жизнедеятельности населения. Наибольшим количеством подобных отходов характеризуются частный сектор города и его пригороды. В свалках отходов обитают мыши, крысы, синантропные насекомые, иные переносчики инфекции, представляющие потенциальную эпидемиологическую угрозу. Многие свалки – это первичные источники *биологического загрязнения*.

Биологическое загрязнение – это «...*составная часть органического загрязнения, обусловленная диссеминацией возбудителей инфекционных и неинфекционных болезней, а также вредными насекомыми и клещами, переносчиками возбудителей болезней человека, животных и растений*»³. Биологическим загрязнением характеризуются преимущественно почвы территорий, прилегающих к автомагистралям, несанкционированным свалкам и полигонам ТБО, санитарно-защитных зон различных предприятий, животноводческих комплексов, полей фильтрации и орошения. В заселенных вредными организмами, в *больных, инфицированных* биологически загрязненных почвах присутствуют *санитарно значимые микроорганизмы* – патогенные и условно-патогенные (в отношении человека и теплокровных животных) бактерии, грибы и вирусы.

В сравнении с другими объектами окружающей среды инфицированная патогенами почва – это своеобразный рекордсмен по длительности сохранения некоторых жизнеспособных болезнетворных микроорганизмов – возбудителей опаснейших заболеваний человека и животных (табл. 1). Главный источник обнаруживаемых в почве патогенов – отходы социумов и животноводства. В санитарно-эпидемиологическом отношении большую опасность представляют захороненные трупы животных, а также осваиваемые для хозяйственной деятельности скотопогольники.

Поскольку заселение почвы болезнетворными микроорганизмами зачастую приводит к опаснейшим для человека последствиям, ее общероссийский санитарно-эпидемиологический контроль является важнейшей государственной функцией.

² Методические указания МУК 4.2.1018-01. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды.

³ Методические указания МУ 2.1.7.730-99. Гигиеническая оценка качества почвы населенных мест.

Табл. 1
Выживаемость возбудителей инфекционных болезней человека и домашних животных в объектах экосферы и кормах [2]

Заболевание	Срок выживаемости, месяцы		
	Почва	Вода	Корма
Сальмонеллез	5	4	3
Туляремия	12,5	6	4,5
Листериоз	18	18	–
Лептоспироз	6	0,3	–
Туберкулез	36	12	24*
Бруцеллез	17	12,5	14,5
Ящур	10	0,7	7

* Пастбище.

2. Основные законодательные и нормативные документы, регулирующие санитарное состояние почвы

В ряде государственных природоохранных законов, других нормативных документах регламентированы требования к качеству почвы сельскохозяйственных угодий и населенных мест, показатели ее санитарно-эпидемиологической оценки, содержатся общие рекомендации по рациональному использованию и охране почвенного покрова. Главные государственные документы, регулирующие использование почв и земельных угодий, – это федеральные законы «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»⁴, «Об охране окружающей среды»⁵, Земельный кодекс РФ⁶, а также свод санитарно-эпидемиологических правил и нормативов, посвященных гигиенической оценке почв^{7, 8, 9, 10}.

Согласно закона «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» на территории РФ действуют нормативные документы, регулирующие в объектах экосферы предельное содержание *санитарно значимых биоагентов* и *предельно допустимые концентрации вредных веществ*^{3, 7, 9, 10, 11}. На основе этих двух важнейших групп *показателей вредности* (биобезопасности) официально оценивается санитарно-эпидемиологическое состояние почвы различных территориальных объектов. Подобное обследование почвы на *биобезопасность* проводится в обязательном порядке при ведении сельскохозяйственной деятельности, а также при размещении, проектировании, строительстве, реконструкции и эксплуатации объектов различного социального и производственного назначения.

Экологический мониторинг предусматривает комплексные исследования почвы, а именно ее *токсикологическую, радиологическую, паразито-*

логическую и микробиологическую экспертизы [11]. Основная задача *микробиологической экспертизы* – получение информации о заселении почвы биоагентами, как вредными, так и полезными для человека, домашних животных, культивируемых растений. Подобные сведения крайне важны для прогнозирования, профилактики, предотвращения и/или минимизации негативных последствий, а также для планирования комплекса долгосрочных мероприятий по ремедиации (восстановлению, «излечиванию») *нарушенной или больной почвы*.

Микробное загрязнение почвы прямо и/или опосредовано (через воду, воздух, продукты питания) влияет на человека и условия его проживания. Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы различных территорий изложены в ряде официальных документов^{3, 7, 11}. В них регламентированы допустимые уровни содержания *условно-патогенных микроорганизмов* в почвах различного назначения, а также методики (протоколы) определения регламентированных санитарных показателей. При загрязнении почвы возбудителями особо опасных инфекций ремедиационные мероприятия в каждом конкретном случае разрабатываются в соответствии с действующими нормативными документами и согласовываются с региональными органами и учреждениями **Госсанэпиднадзора**. Именно эти учреждения осуществляют категоризацию почвы по ее санитарному состоянию и обладают правом выдавать санитарно-эпидемиологическое заключение о соответствии почвы обследуемого земельного участка действующим санитарно-эпидемиологическим правилам и нормативам (СанПиН) [6].

Общее содержание мероприятий по рекультивации и ремедиации почв селитебных территорий, угодий АПК, а также стандартный и расширенный перечни контролируемых биообъектов изложены в санитарных правилах^{7, 12}. Однако в 2007 г. из них было исключено не только требование к составлению *«санитарно-эпидемиологического заключения на почву»*, но и само понятие, характеризующее этот уникальный, незаменимый элемент ландшафта. Термин «почва» безосновательно был заменен более широким определением «земельный участок». Согласно подобному подходу обследуемые угодья следовало оценивать без их дифференциации по *плодородию* и специфическим *почвенно-агрохимическим характеристикам* [5]. Тем не менее, суть проблемы по санитарной охране и воспроизводству плодородия почв от этого не меняется: *почва как неотъемлемый элемент любого ландшафта была и остается главным резервуаром и биотопом санитарно-значимых микроорганизмов*. Поэтому нормативные документы по ее санитарной оценке [8] актуальны и продолжают оставаться действующими.

Непрерывно выполняя уникальные социально-экономические и экологические функции, почва, тем не менее, сама нуждается в постоянной защите. Соблюдение санитарных нормативов применительно к почве – это, в конечном счете, обеспечение и сохранение благоприятной среды обитания сельских и городских социумов, гарантия их экологического благополучия. В соответствии с законодательством¹² одной из важных задач нормирования в почве

⁴ Собрание законодательства Российской Федерации. – М., 1999. – № 14.

⁵ Федеральный закон «Об охране окружающей среды» от 10 января 2002 г. (ст. 19).

⁶ Собрание законодательства РФ. 29.10.2001. № 44, ст. 4147.

⁷ СанПиН 2.1.7.1287-03. Санитарно-эпидемиологические требования к качеству почвы.

⁸ СП 1.2.1170-02. Гигиенические требования к безопасности агрохимикатов. – М.: Минздрав РФ, 2003. – 19 с.

⁹ СанПиН 1739-77. Оценочные показатели санитарного состояния почвы населенных мест.

¹⁰ ГОСТ 17.4.4.02-84. Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа.

¹¹ Методы микробиологического контроля почвы. Методические рекомендации № ФЦ/4022-2004.

¹² Федеральный закон «Об охране окружающей среды» от 10 января 2002 г. (ст. 19).

и других компонентах экосферы вредных биоагентов является регулирование их численности целенаправленными природоохранными и социально-экологическими мероприятиями. Однако исторически сложилось так, что нормирование параметров биоценозов почвы (как важнейшего компонента агроферы) преимущественно фокусировалось на регулировании качества почвы *сельскохозяйственных угодий*. При этом решались две важные задачи: получение *экологичной агропродукции* и *обеспечение безопасности землепользователей* и других работников, непосредственно контактирующих с почвой. В то же время, применительно к почвам *урбано-сферы*, других *селитебных*, а также *рекреационных* территорий главная задача их санитарно-гигиенического мониторинга сводилась лишь к оценке их *эпидемической безопасности* – этой важнейшей составляющей *биобезопасности социумов*.

Согласно методическим указаниям³, гигиенические требования к качеству почвы селитебных и водоохраных территорий, в первую очередь, устанавливаются для наиболее значимых объектов – зон повышенного риска. В числе последних детские и образовательные учреждения, спортивные, игровые, детские площадки жилой застройки, площадки и места рекреации в зонах санитарной охраны водоемов, прибрежных и санитарно-защитных зон (табл. 2). По степени опасности для местного населения почва поселенческих территорий классифицируется как *чистая*, *умеренно опасная*, *опасная* и *чрезвычайно опасная* [5], либо как *чистая*, *загрязненная* и *сильно загрязненная* [6].

Действующие гигиенические нормативы и санитарно-оценочные показатели загрязненности почвы вредными биоагентами³ изначально (в 1950–1970-е гг.) разрабатывались и научно обосновывались ведущими отечественными микробиологами и гигиенистами – Е.Н. Мишустиным, М.И. Перцовской, И.М. Перельгиным, Е.И. Гончаруком, Д.Г. Звягинцевым и др. [2, 3, 4]. Общее санитарное состояние почвы с учетом характера микробного заселения принято оценивать сравнением его с действующими регламентными показателями [6, 12]. Сводка по Государственным нормативам, характеризующим эпидемическую опасность почв населенных пунктов, дана в [12].

Почва как неотъемлемый элемент агроферы и урбано-сферы является главным резервуаром и биотопом санитарно-показательных микроорганизмов (СПМ); в чистой почве на территориях жилой застройки и детских учреждений не допускается наличие возбудителей каких-либо кишечных инфекций, патогенных бактерий и энтеровирусов; индекс СПМ для чистой почвы должен быть <10 КОЕ/г, титр ≥1,0 г.

3. Цели и задачи санитарно-микробиологического исследования почвы

Профилактика чрезвычайных ситуаций, создание условий для *безопасного проживания населения и получения экологичной агропродукции* определяют круг наиболее актуальных задач по оценке биобезопасности почвы. В числе наиболее значимых назовем следующие [6, 11].

1. Мониторинг состояния генеральных эколого-биоценологических функций *здоровой почвы*, используемой в хозяйственной деятельности (*гетеротрофная активность*, трансформация азотсодержащих соединений, *самоочищающая способность*, поддержание *биоразнообразия* и др.).

2. Характеристика санитарного состояния почвы сельскохозяйственных угодий.

3. Охрана от микробного загрязнения почвы *водосборных территорий*.

4. Оценка пригодности земельных участков для озеленения, строительства жилья, водопроводных и рекреационных сооружений, детских площадок и т. п.

5. Контроль за функционированием очистных и технологических сооружений (полей фильтрации и орошения, участков вермикомпостирования, свалок ТБО и т. п.).

6. Оценка эффективности различных мероприятий по *оздоровлению почвы* (мелиоративных, реабилитационных, рекультивационных, ремедиационных и др.).

7. Выявление источников и путей заражения населения (расследование эпидемических вспышек, установление источников первичного заражения, обоснование системы профилактических и противоэпидемических мероприятий).

Табл. 2

Оценка степени эпидемической опасности почвы по совокупности биологических показателей^{7, 11, 12}

Категория загрязнения почвы	Индекс БГКП/г	Индекс энтерококков/г	Индекс патогенных бактерий/г, в т. ч. сальмонеллы	Яйца гельминтов, (экз./кг)	Личинки (Л) и куколки (К) мух (в почве с площади 20×20 см), экз.
Чистая	1–10	1–10	0	0	0
Умеренно опасная	10–100	10–100	0	До 10	Л: до 10 К: отсутствие
Опасная	100–1000	100–1000	0	До 100	Л: до 100 К: до 10
Чрезвычайно опасная	1000 и выше	1000 и выше	0	>100	Л: > 100 К: > 10

8. Систематическая оценка сроков выживания в почве патогенных микроорганизмов (в местах обеззараживания продуктов жизнедеятельности человека и домашней фауны, захоронений павших животных и т. п.).

Главная цель санитарно-микробиологического контроля почвы – это оценка состояния ее самоочищающей, антипатогенной способности, профилактика чрезвычайных ситуаций, создание условий для безопасного проживания населения и производства экологичной агропродукции.

4. Основные принципы санитарно-микробиологической оценки почвы и ее санитарные показатели

Санитарно-микробиологическое исследование почвы призвано определить, прежде всего, степень ее биологической опасности для жизни и здоровья человека.

Прямое обнаружение возбудителей инфекционных заболеваний в почве, других объектах экосферы является важной, но далеко не единственной составляющей санитарно-микробиологического исследования. *Обнаружение патогенных микроорганизмов* однозначно свидетельствует о санитарном неблагополучии исследуемого объекта, однако *не обнаружение* (это не синоним слова «отсутствии») *не является* достаточным и достоверным подтверждением эпидемической безопасности почвы [12].

Систематический надзор за санитарным состоянием почвенных объектов и надзор на этапах их эксплуатации, в основном, проводится *косвенно*, путем определения степени загрязнения исследуемого объекта выделениями человека и животных. Логика *косвенного* микробного контроля почвы достаточно проста и заключается в следующем.

1. Основными источниками попадания возбудителей инфекционных заболеваний в почву являются больные люди или животные, или носители инфекции.

2. Основную массу микроорганизмов, в том числе и патогенных, человек и теплокровные животные выделяют в окружающую среду двумя путями: с испражнениями и со слюной из верхних дыхательных путей.

3. Соответственно, чем выше степень загрязнения почвы выделениями человека и животных, тем выше вероятность нахождения в ней патогенных микроорганизмов, и тем опаснее она в эпидемическом отношении.

При необходимости углубленной оценки санитарного состояния почвы и способности ее к самоочищению исследуются индикаторы *биологической активности* или *интегральные санитарные показатели* (СП) почвы. В их числе – общее микробное число (ОМЧ), численность клостридий, термофильных бактерий, грибов и актиномицетов, аммонификаторов, аэробных целлюлолитических микроорганизмов и др. Перечень оцениваемых СП определяется целями исследования, природой и интенсивностью микробного заселения почвы, характером землепользования¹¹.

Кроме того, сравнительный анализ показателей позволяет также оценить *давность загрязнения*. Так, для *свежего фекального загрязнения* характерны увеличение ОМЧ и количества жизнеспособных (недеформированных) яиц геогельминтов, уменьшение коли- и перфрингенс-титра (минимальные количе-

ства почвы, где определяются *E. coli* и *Clostridium perfringens*), обязательное превалирование в почве неспорообразующих форм бактерий. Напротив, превалирование спор сульфитредуцирующих клостридий – свидетельство ее давнего фекального загрязнения [2].

Микробиологический санитарный показатель (СП) – инструмент, позволяющий прямо или косвенно оценить степень заселения почвы патогенными и условно-патогенными микроорганизмами, прогнозировать их опасность для здоровья человека и домашних животных; основой СП является «санитарно-показательный микроорганизм» (СПМ).

5. Понятие «санитарно-показательный микроорганизм» (СПМ)

К *санитарно-показательным микроорганизмам* относят представителей облигатной микрофлоры организма человека и теплокровных животных, обитающих в их кишечнике или в дыхательных путях.

Для того чтобы микроорганизм мог рассматриваться как СПМ, он должен соответствовать ряду свойств¹³.

1. Микроорганизм должен постоянно обитать в естественных полостях человека и животных и постоянно выделяться ими во внешнюю среду в количествах, относительно редко подвергающихся колебаниям.

2. Микроорганизм не должен размножаться во внешней среде (за исключением пищевых продуктов) или размножаться незначительно и короткое время; *это одно из самых важных свойств СПМ.*

3. Длительность сохранения жизнеспособности СПМ в почве должна быть не меньше или даже несколько превосходить по времени длительность выживания в ней *патогенных микробов*, выделяемых из организма теми же путями.

4. Устойчивость СПМ к естественным и искусственным воздействиям (применяемым, например, при обеззараживании различных объектов при водоподготовке) должна быть не ниже, а по возможности, несколько выше устойчивости соответствующих патогенных микроорганизмов.

5. У СПМ не должно быть почвенных аналогов-сапрофитов, сходство с которыми потребовало бы сложных или длительных по времени приемов дифференциальной диагностики.

6. Микроорганизм, находясь в почве, не должен сколько-нибудь значительно изменять свои биологические свойства.

7. Методы обнаружения микроорганизма в почве, его идентификации и количественного учета должны быть современными, простыми и общедоступными.

Самым первым микроорганизмом, предложенным в качестве СПМ, была *Escherichia coli* (кишечная палочка). Она до сих пор сохраняет ведущие позиции как показатель *фекального загрязнения*. В последующем список СПМ расширялся, в него были включены фекальные стрептококки (энтерококки), споры сульфитредуцирующих клостридий, протей, термо-

¹³ Методические указания МУК 4.2.1018-01. Санитарно-микробиологический анализ питьевой воды. – М.: ФЦ Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2001. – 43 с.

фильные микроорганизмы, колифаги (вирусы бактерий) и ряд других.

Таким образом, обнаружение в почве СПМ (в качестве которых могут выступать и некоторые *патогенные микроорганизмы*) и установление их численности лежит в основе определения значения СП.

СПМ постоянно обитают в естественных полостях человека и теплокровных животных. Они непрерывно выделяются во внешнюю среду в количествах, относительно редко подверженных колебаниям. Присутствие СПМ в исследуемой почве однозначно свидетельствует о наличии в ней выделений человека и/или животных; численность СПМ прямо пропорциональна степени биогенного загрязнения почвы.

6. Понятие «санитарный показатель» (СП)

Санитарный показатель (СП) – это параметр, отражающий наличие и количество конкретных СПМ в *нормируемой пробе* почвы, взятой с исследуемого земельного участка. Поскольку невозможно исследовать всю почву на территории обследуемого объекта, анализу подвергают только ее представительную часть – *пробную площадку*. Это определенная часть участка, состояние которой по конкретному СП достаточно *полно* и *достоверно* отражает санитарное состояние всей его территории.

Согласно методическим рекомендациям¹¹ пробная площадка должна располагаться на типичном для изучаемой территории месте: на площади 100 м² закладывается одна пробная площадка размером 25 м². Если на обследуемом участке имеется несколько источников загрязнения, то пробные площадки выделяются вблизи каждого из них. Если обследуется значительная территория, то на каждые 100 га при спокойном рельефе местности для отбора проб почвы выделяют 6–7 участков площадью по 25 м² [6].

Для бактериологического анализа с одной пробной площадки составляют 10 *объединенных проб*. Каждая *объединенная проба* комплектуется из трех *точечных проб* массой каждая от 200 до 250 г, отобранных послойно с глубины 0–5 и 5–20 см. *Точечная проба* – типичный материал, взятый из одного места горизонта (слоя) почвенного профиля. Точечные пробы (образцы) отбирают согласно правилам, прописанным в соответствующих нормативно-методических документах применительно к конкретному почвенному объекту^{3, 7, 11, 12, 14}.

Если из-за высоких уровней микробного загрязнения исследуется количество пробы меньше нормируемого, результат все равно экстраполируется в пересчете на *нормируемое количество* (приводится к общему знаменателю). *Бактериологические* показатели (индексы, титры) выражают из расчета на 1 г, *паразитологические* – на 1 кг исследованного образца почвы^{11, 14}. Это необходимо для того, чтобы результаты учета структуры и численности микроорганизмов в разных образцах и объектах можно было корректно сравнивать между собой и с *нормативны-*

ми значениями. Подчеркнем, однако, что при определении СП, нормативом которого является *отсутствие* микроорганизмов в регламентированной массе почвы, исследованию подлежит количество пробы почвы *не меньше нормируемого*. При этом *экстраполяция результатов с меньшей исследованной массы почвы на ее большее количество недопустима!*

Санитарно-микробиологическая оценка эпидемической опасности почвы подразумевает определение совокупности СП, то есть определенных значений, подтверждающих соответствие либо несоответствие санитарного состояния почвы требованиям государственных нормативов; допустимые значения СП определены специальными нормативными документами.

7. Качественные и количественные санитарные показатели (СП)

Качественные СП отвечают на вопрос, присутствуют ли искомые (целевые) микроорганизмы в нормируемом образце (навеске) почвы или нет. Эти СП чаще всего используются при определении патогенных, потенциально патогенных и некоторых условно-патогенных микроорганизмов (сальмонелл, шигелл, листерий, синегнойной палочки и др.). К качественным показателям санитарного состояния почвы разные источники относят «*Патогенные бактерии, в т. ч. сальмонеллы*»^{7, 11, 12} или «*Патогенные энтеробактерии*» и «*Энтеровирусы*»³. Кроме того, в почве зон повышенного риска и санитарной охраны к категории качественных отнесены также *паразитологические показатели*³. Так, присутствие в нормируемом объеме почвы цист кишечных патогенных простейших или жизнеспособных яиц гельминтов однозначно свидетельствует об эпидемиологическом неблагополучии исследуемого объекта. *Качественный СП* выражают и нормируют как *отсутствие* или *наличие* целевых микроорганизмов в нормируемой массе почвенной пробы (табл. 2). Однако простая констатация наличия СПМ в почве все-таки не отражает степени ее загрязнения или динамики процессов самоочищения. Для этих целей служат *количественные санитарные показатели*.

Количественные СП – это регламентированное содержание целевых (искомых) СПМ в нормируемом количестве (навеске) пробы почвы. Иными словами, количественные СП отражают концентрацию СПМ в единице объема (массы) исследуемого объекта. Численность СПМ выражается в виде *индекса СПМ* – количества КОЕ (колониеобразующих единиц) или экземпляров микроорганизма на единицу нормируемой массы почвы (КОЕ/г, экз./кг)^{3, 7, 11, 12}.

Качественный СП характеризует содержание целевых микроорганизмов в нормируемой массе почвы по альтернативному принципу (*отсутствие/наличие*); количественный СП выражается в виде индекса СПМ – количества СПМ (КОЕ, экземпляров, спор и проч.) на единицу нормируемой массы почвы (КОЕ/г, экз./кг, спор/г), либо титра СПМ – минимального количества почвы (г), в котором обнаруживается один искомый микроорганизм.

¹⁴ Методические указания МУК 1446-76. Методические указания по санитарно-микробиологическому исследованию почвы (04.08.1976 № 1446-76).

8. Санитарный показатель как группа санитарно-показательных микроорганизмов

Определение СП как наличия или численности СПМ в нормируемой массе пробы почвы не вполне корректное. Это объясняется тем, что в отечественной практике для упрощения и удешевления анализа СПМ до вида не идентифицируют. Чаще всего определяют группу близкородственных микроорганизмов, при этом ее основным, но не единственным представителем является искомым СПМ. Название определяемой группы чаще всего дает название и определяемому санитарному показателю. Это порождает определенную неразбериху, особенно в отношении кишечной палочки (*Escherichia coli*), которая входит сразу в несколько определяемых групп, не равноценных при санитарной оценке почвы (табл. 3).

В западных странах, в частности, ЕС за последние 10–20 лет произошел переход от определения групп СПМ (термотолерантные колиформные бактерии, фекальные стрептококки, споры сульфитредуцирующих клостридий) к видовому определению непосредственно самих СПМ (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*).

Переход от определения СП как группы микроорганизмов к идентификации СПМ до вида делает оценку биобезопасности почвы, других экологических объектов более стандартизированной и достоверной, хотя и приводит к существенному удорожанию анализа [13].

9. Краткая характеристика наиболее значимых микробиологических показателей

9.1. Показатели группы кишечных палочек

Присутствие в наименовании разных СП названия одного и того же СПМ (в частности, *кишечной палочки*) порождает неразбериху в восприятии и оценке значимости конкретного СП. Подробно взаимоотношения показателей разных групп *колиформных бактерий* и их значимость на примере *E. coli* (табл. 3) обсуждались нами в работе [13]. Тем не менее, даже при санитарно-микробиологическом нормировании почвы и регламентации санитарно-гигиенических требований к одному и тому же биоагенту в разных официальных документах до сих пор отсутствует

единый подход. Так, согласно нормативным документам, показатель, подразумевающий определение численности *энтеробактерий* в почвенном образце, именуется «БГКП»^{7, 11, 12}, или же это «*кишечные палочки*»³, хотя ни то, ни другое название не отражает сути обсуждаемого показателя.

Показатель БГКП (бактерии группы кишечных палочек) в его традиционном понимании – это грам-отрицательные палочки, не обладающие ферментом цитохромоксидазой и способные расти на среде Эндо (дифференциальная лактозная среда с солями желчи), которые при 37 °С за 24 ч сбрасывают глюкозу до кислоты и газа. Подозрительными на БГКП считаются все колонии (любого оттенка с отпечатком или без, с металлическим блеском или без), кроме сухих, пленчатых, морщинистых или склонных к ползучему росту. Однако этими свойствами обладают практически все представители семейства Enterobacteriaceae (кроме представителей негазиобразующих родов – *Shigella*, *Hafnia* и некоторых других). Поскольку в данное семейство входит много сапрофитов и эпифитов, прекрасно размножающихся в окружающей среде в отсутствие хозяина, интегральный показатель численности БГКП не может рассматриваться в качестве корректного показателя фекального загрязнения.

В свою очередь, к *E. coli* (кишечной палочке) будут относиться *грамотрицательные палочки, не обладающие ферментом цитохромоксидазой*, дающие типичный рост на среде Эндо, способные сбрасывать лактозу до кислоты и газа при 44 °С за 24 ч и образовывать индол на среде с триптофаном. Именно эта бактерия, по ВОЗ¹⁵, является индексным, а не индикаторным показателем, свидетельствующим о свежем фекальном загрязнении.

На самом же деле, если проанализировать тексты методик^{3, 11}, данный показатель является ничем иным, как *колиформными бактериями*, согласно международной практике, или же общими *колиформными бактериями* (ОКБ) или *лактозоположительными кишечными палочками* (ЛКП), согласно отечественной практике. Правда, во второй из них¹¹ даются необходимые разъяснения по поводу того, что «Показатель „*бактерии группы кишечных па-*

¹⁵ World Health Organization. Guidelines for drinking-water quality [electronic resource]: incorporating first addendum. Vol. 1, Recommendations. – 3rd edition.

Табл. 3

Видовая структура важнейших санитарно-бактериологических показателей, характеризующих эпидемическую безопасность почвы [6]

Санитарно-показательный микроорганизм	Группа (показатель)	Другие микроорганизмы, потенциально входящие в группу
<i>Escherichia coli</i>	БГКП (бактерии группы кишечных палочек)	Практически все семейство Enterobacteriaceae, включая свободноживущих сапрофитов
	ОКБ (общие колиформные бактерии)	Бактерии родов <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Serratia</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Rahnella</i> и др.
	ТКБ (термотолерантные колиформные бактерии)	Отдельные представители родов <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i>
	<i>E. coli</i>	–
<i>Enterococcus faecalis</i>	Энтерококки (фекальные стрептококки)	<i>E. faecium</i> , <i>E. durans</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	Споры сульфитредуцирующих клостридий	<i>C. sporogenes</i> , <i>C. barati</i> , <i>C. bif fermentans</i> и др.

лочек“ (БГКП) приведен в соответствие с принятой международной номенклатурой и идентичен показателю „общие колиформные бактерии“ (ОКБ). Согласно¹¹, «к колиформам относятся грамотрицательные бактерии, имеющие форму палочек, способных развиваться в присутствии солей желчных кислот или других поверхностно-активных агентов с аналогичной способностью к подавлению роста и способных ферментировать лактозу при t (35–37 °С) с образованием кислоты, газа и альдегида».

БГКП (ОКБ) включают следующие роды: эшерихия, клебсиелла, энтеробактер, цитробактер и сerratии. В настоящее время список бактерий, входящих в состав показателя ОКБ, расширился. Однако даже перечень видов, приведенных в документе¹¹, указывает на наличие в составе показателя свободноживущих микроорганизмов, которые могут при благоприятных условиях размножаться в почве. Это снижает ценность данного показателя как маркера фекального загрязнения.

Выбор метода определения ОКБ зависит, прежде всего, от степени предполагаемого загрязнения почвы. При анализе почв с умеренной степенью фекального загрязнения рекомендуется использовать титрационный метод. Для ускоренного анализа слабозагрязненных почв рекомендуется метод мембранной фильтрации. Анализ проб с высокой степенью фекального загрязнения проводится прямым поверхностным посевом разведения почвенной суспензии на поверхность среды Эндо¹¹.

Основной плотной дифференциальной средой для определения колиформных показателей в отечественных методиках является среда Эндо. Однако в последних редакциях стандартов ISO (например, ISO 9308-1:2000) среда Эндо заменена другой лактозной средой, включающей Тергитол 7. Причиной такой замены является потенциальная канцерогенность фуксина – анилинового красителя, входящего в состав среды Эндо. Для титрационного метода используют жидкие среды обогащения (Кесслера или ее аналоги).

В последние годы широкое распространения получили питательные среды нового поколения, именуемые «хромогенными». В отличие от традиционных сред они позволяют идентифицировать не признак патогена (например, утилизацию лактозы), а конкретные ферменты микроорганизма. Хромогенные среды для идентификации *E. coli*, например Chromocult или Coli ID, позволяют определять фермент β-глюкуронидазу, высокоспецифичный для эшерихий. Наличие этого фермента и способности образовывать индол с 95%-ной вероятностью свидетельствует о принадлежности энтеробактерий к виду *E. coli*. Эти же среды позволяют определять и β-галактозидазу, характерную для ОКБ. Ценность этого диагностического теста, однако, сомнительна, так как данным ферментом обладают и аэромонады – свободноживущие оксидазоположительные палочки, не относящиеся к ОКБ. Компания Merck усовершенствовала хромогенную среду Chromocult EC, включив в нее селективную добавку, ингибирующую рост аэромонад¹⁶.

Из инновационных технологий, до недавнего времени преимущественно используемых в области са-

нитарной бактериологии воды, отметим петрифильмы – тест-системы с сухими средами на специальных пластиковых подложках. Примером таких тест-систем, используемых для идентификации колиформ (ОКБ, ТКБ), являются две марки петрифильмов 3М™ – СС и HSCC. Их уникальность заключается в простоте использования: исключается трудоемкий этап приготовления питательных сред, облегчаются хранение и утилизация использованных тест-систем. Однако их главное преимущество перед традиционными средами и петрифильмами других производителей заключается в том, что петрифильмы 3М™ уже на этапе первичного посева при получении изолированных колоний позволяют определять не только их способность утилизировать лактозу до кислоты, но и выявлять газообразование бактерий. Это позволяет в большинстве случаев сократить анализ до 1–2 суток. Кроме того, петрифильмы (в отличие от среды Эндо) можно инкубировать при 44 °С, что позволяет в полной мере использовать селективный фактор высокой температуры уже на этапе первичного посева. Все это существенно сокращает время и трудоемкость анализа на ТКБ¹⁷, см. также [9].

В чистой почве индекс ОКБ должен быть <10 КОЕ/г, титр ≥1,0 г.

9.2. Индекс энтерококков

Энтерококки (род семейства Enterococcaceae) – грамположительные, не образующие каталазу кокки; они полиморфны, слегка вытянутые, с заостренными концами, располагающиеся в виде диплококков или коротких цепочек, реже одиночно. По физиологическим характеристикам бактерии очень близки к стрептококкам. Основными симбионтами микрофлоры кишечника человека являются два вида энтерококков: *E. faecalis* (90–95%) и *E. faecium* (5–10%)¹¹.

Энтерококки – постоянные обитатели кишечника человека и теплокровных животных. Как и кишечная палочка, они не размножаются в почве и воде, но более устойчивы к всевозможным физическим и химическим воздействиям, в частности, к действию повышенных концентраций солей, колебаниям pH, нагреванию до 60 °С, хлорированию. Это позволило использовать энтерококки не только как показатель свежего фекального загрязнения, но и как важный технологический показатель чистоты различных объектов.

При исследовании почвы энтерококки имеют преимущество перед кишечной палочкой. В их пользу как СПМ свидетельствует также наличие высокоселективных сред для их выявления. Энтерококк введен как дополнительный СП фекального загрязнения воды: с 1958 г. – в Международный стандарт ВОЗ по исследованию питьевой воды, с 1960 г. – в стандарт США по исследованию питьевой и сточной воды, с 1963 г. – в Европейский стандарт ISO. В международном стандарте подчеркнуто, что при обнаружении в исследуемых объектах атипичных (лактозоотрицательных) кишечных палочек наличие или отсутствие энтерококка является решающим для суждения о наличии или отсутствии фекального загрязнения¹⁶.

Согласно рекомендациям ВОЗ, в последнее время рекомендуется определять не групповой по-

¹⁶ Методические рекомендации МР № 24 ФЦ 513. Определение колиформных бактерий и *E. coli* с использованием хромогенных и флюорогенных индикаторных сред производства Merck (Германия). – М.: ФЦ Госсанэпиднадзора, 2004. – 26 с.

¹⁷ МУК 4.2.2884-11. Методы микробиологического контроля объектов окружающей среды и пищевых продуктов с использованием петрифильмов. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.

казатель – «энтерококки» (*Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*), а непосредственно санитарно-показательный вид *Enterococcus faecalis*. В отечественной нормативной базе определение энтерококков рекомендуется при контроле качества обеззараживания сточных вод, санитарного состояния почвы и ряда пищевых продуктов.

Определение энтерококков проводится как прямым, так и титрационным методами (НВЧ). При прямом определении широко используется метод мембранной фильтрации. Для выделения энтерококков с одинаковой эффективностью может использоваться *энтерококковый агар* – азидная среда с ТТХ (трифенилтетразолий хлористый), либо щелочной агар с полимиксином. В качестве жидкой среды обогащения для метода НВЧ используется щелочной бульон с полимиксином. Рекомендуются также молочно-ингибиторная среда и желточная среда Турчинского¹¹.

В чистой почве индекс энтерококков должен быть <10 КОЕ/г, титр энтерококков ≥1,0 г.

9.3. Споры сульфитредуцирующих клостридий и *Clostridium perfringens*

Сульфитредуцирующие клостридии (СРК) – это крупные облигатно анаэробные грамположительные спорообразующие палочки, у которых диаметр спор превышает диаметр вегетативной клетки. Данная группа клостридий обладает свойством восстанавливать сульфиты до сульфидов, что используется при их идентификации. Считается, что способностью редуцировать сульфиты обладают только споровые анаэробы кишечного происхождения, что позволило выделить эту группу микроорганизмов как санитарно-показательную. Доминирующим представителем СРК является *Clostridium perfringens*. Эта бактерия является постоянным и нормальным обитателем кишечного тракта, хотя по численности она значительно уступает *E. coli*. Споры СРК и *Clostridium perfringens* в частности обладают высокой устойчивостью в окружающей среде, поэтому их обнаружение в почве свидетельствует о некогда имевшем место фекальном загрязнении. Однако с учетом того, что СРК способны при благоприятных условиях размножаться в окружающей среде (и особенно в почве), их ценность как показателя фекального загрязнения низкая. С другой стороны, высокая устойчивость спор к агрессивным воздействиям внешней среды и, в том числе, к дезинфицирующим и стерилизующим мероприятиям, делает споры СРК важным технологическим показателем, позволяющим оценить качество обеззараживания (например, почвосубстратов, воды, пищевых продуктов). При дефектах в технологии обеззараживания спорообразующие клостридии будут первыми из бактерий, кто преодолеет этот барьер. Кроме того, СРК относятся к *индикаторным микроорганизмам*, поскольку наличие их спор в почве будет указывать на возможное присутствие сходных по устойчивости цист и ооцист простейших и яиц гельминтов.

В РФ количественный учет спор СРК предусмотрен при санитарных исследованиях почвы, лечебных грязей, воды открытых водоемов, контроле качества водоподготовки. При контроле почв данный показатель именуется *перфрингенс-титром*. Перфрингенс-титр – это наименьшее весовое количество

почвы (г), в котором обнаруживаются жизнеспособные клетки *C. perfringens*. Для выявления спор СРК и *Clostridium perfringens* чаще всего используют железосульфитный агар (среда Вильсон-Блер), реже – среду Китта-Тароции.

СРК и *Clostridium perfringens* в сравнении с другими споровыми анаэробами являются менее строгими анаэробами, что позволяет выращивать их в аэробных условиях с использованием редуцированных сред (прогретых до 75 °С и быстро охлажденных). Нагревание приводит к снижению растворимости газов, в результате чего кислород покидает питательную среду, а быстрое охлаждение не позволяет ему вновь насытить ее.

В настоящее время для выделения и учета спор СРК используют высокочувствительные и высокоспецифичные коммерческие среды, содержащие соли тиогликолевой кислоты и добавки антибиотиков, например SPS-агар. Соли тиогликолевой кислоты обеспечивают более высокую степень анаэробизации, благодаря чему повышается чувствительность метода, а добавка антибиотиков повышает его специфичность. Определение проводят прямым глубинным посевом в пробирках, двухслойным чашечным методом, методом мембранной фильтрации или методом НВЧ. Благодаря редукции сульфитов на железосульфитном агаре и сходных средах СРК и *Clostridium perfringens* образуют колонии в виде черных пушинок или комочков ваты.

Для идентификации *Clostridium perfringens* дополнительно определяют подвижность клеток, каталазную активность, редукцию нитратов, утилизацию лактозы, разжижение желатина и «штормовую реакцию» (при росте на лакмусовом молоке). Бактерии грамположительны, сбраживают лактозу, редуцируют нитраты в нитриты, как правило, разжижают желатин, на лакмусовом молоке дают выраженную «штормовую реакцию», лишены каталазной активности.

Clostridium perfringens – это важный критерий для оценки санитарного состояния почвы, ее самоочищающей способности. Установлено, что в загрязненной фекалиями почве уже через 4–5 месяцев исчезают БГКП, а *C. perfringens* обнаруживаются в титре 0,01 г. Следовательно, перфрингенс-титр позволяет объективно судить о давности фекального загрязнения [6].

В чистой почве перфрингенс-титр должен быть ≤0,01 г.

9.4. Потенциально патогенные микроорганизмы

Эта группа показателей включает оценку численности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, обнаруживаемых в различных объектах окружающей среды. Некоторые из них, например *сальмонеллы*, будучи патогенами, в то же время свидетельствуют о фекальном загрязнении почвы, являясь, по сути, СПМ – индикатором возможного наличия в почве других болезнетворных микроорганизмов. Отдельные представители данной группы для одних объектов являются СПМ, а для других – *потенциально патогенными* (*C. perfringens*, *B. cereus* и др.).

Сальмонеллы попадают в почву и другие объекты внешней среды только с фекалиями человека и животных. Поэтому их наличие в исследуемом субстрате свидетельствует о его фекальном загрязнении. Вне организма эти бактерии обычно не способны к раз-

множению (за исключением пищевых продуктов). С учетом того, что сальмонеллы являются еще и одними из самых распространенных возбудителей острых кишечных заболеваний [1], их относят к важным СПМ – индикаторам возможного присутствия в почве других болезнетворных бактерий со сходным патогенезом (шигелл, диареогенных эшерихий и др.).

В большинстве случаев определение сальмонелл в почве проводят качественным методом. Поскольку их в почве заведомо меньше, чем сопутствующей микрофлоры, все методики определения сальмонелл включают обязательный этап их *селективного обогащения* в жидких селективных средах (селенитовый бульон, магниевая или тетраэтилатная среды и др.). Селективное обогащение выполняется не менее чем на двух разных средах.

После обогащения исследуемый материал высевается, как минимум, на две плотные дифференциальные среды, например, SS-агар и висмут-сульфитный агар. На среде с SS-агаром, помимо способности бактерий утилизировать лактозу (сальмонеллы лактозоотрицательны), определяется их способность образовывать сероводород (колонии таких микроорганизмов имеют черный центр). Среди лактозоотрицательных микроорганизмов, кроме сальмонелл, сероводород образуют только протеи, провиденции и некоторые другие. На висмут-сульфитном агаре сальмонеллы в большинстве случаев образуют темно-серые или черные колонии с черным отпечатком под колонией и темным ореолом. Типичные для сальмонелл колонии идентифицируют по биохимическим и антигенным свойствам [8].

В настоящее время известны новые, более эффективные дифференциальные среды для выделения сальмонелл. В их числе XLT-4 агар, на котором подавляется рост протея, что крайне важно при исследовании почв, или хромогенный Rambach-агар. Недавние инновационные разработки в данной области позволили существенно сократить время анализа. Так, петрифильмы (3M™ Petrifilm™ Salmonella Express System, SALX) позволяют выявлять сальмонеллы в 2–3 раза быстрее в сравнении с классическим методом [7].

В чистой почве содержание сальмонелл и других патогенных энтеробактерий не допускается.

9.5. Показатели биологической активности почвы

Исследования по *биологической активности* почвы проводятся с целью углубленной оценки ее санитарного состояния и способности к самоочищению. Основными интегральными показателями биологической активности почвы являются: общее микробное число (ОМЧ), численность основных групп почвенных микроорганизмов (сапротрофных бактерий, актиномицетов, микромицетов), показатели интенсивности трансформации соединений углерода и азота («дыхание» почвы, «санитарное число», динамика аммиака и нитратов, азотфиксация, аммонификация, нитрификация, денитрификация), активность ферментативных систем, динамика кислотности, ОВП, другие показатели³.

Перечень конкретных показателей биологической активности почвы определяется целями исследования, природой и интенсивностью загрязнения, характером землепользования. На первом этапе исследова-

ний целесообразно использовать наиболее простые и ускоренно определяемые информативные интегральные показатели: «дыхание» почвы, ОМЧ, рН и ОВП, динамику аммиака и нитратов. Дальнейшая более углубленная оценка проводится в соответствии с полученными результатами и конкретными задачами исследования.

Протоколы оценки биологической активности почвы приведены в «*Методических указаниях по гигиеническому обоснованию ПДК химических веществ в почве*» (от 05.08.82 № 2609-82). Так, по показателям биологической активности почву относят к «незагрязненной» при изменениях (в сравнении с чистой здоровой почвой аналогичного типа) *микробиологических* показателей до 50%, *биохимических* показателей – до 25% [8].

Чистая, здоровая почва характеризуется эталонной динамикой важнейших интегральных биологических процессов, таких как: гетеротрофная активность (интенсивность почвенного дыхания), трансформация соединений азота, способность к самоочищению (от ксенобиотических и природных поллютантов) и др.

10. Оценка антипатогенных (супрессивных) свойств почвы

Самоочищение почвы от болезнетворных микроорганизмов может происходить при воздействии на них неблагоприятных факторов среды, отсутствии необходимого питательного субстрата и, что немало важно, вследствие *антагонистического воздействия других геобионтов* – бактериофагов, бактерий-паразитов, грибов, простейших, корневых экссудатов. Интересно, что в ризосфере ряда растений происходит либо более быстрое отмирание патогенов, либо, напротив, сроки их выживания возрастают [6].

Определение антипатогенных свойств почвы в отношении целевых групп болезнетворных микроорганизмов предложено использовать в качестве ускоренного ориентировочного и достаточно чувствительного теста [6]. Метод позволяет получать предварительные сведения о способности почвы самоочищаться от патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Низкая степень ингибиторного действия почвы в отношении патогенных микроорганизмов (либо динамика его снижения) свидетельствует об условиях, *способствующих выживанию возбудителя*. Антипатогенная способность почвы классифицируется по 5-балльной шкале: 1 – 0÷20% колоний выживших патогенов – *супрессивная* почва, 5 – 81÷100% этих колоний – абсолютно кондуктивная почва.

Антипатогенные свойства почвы оценивают *качественным* и *полуколичественным* методами. В последнем случае по всей поверхности дна стерильной чашки Петри равномерно вносится 10 г исследуемой нативной почвы. Затем поверхность почвы в чашке заливают 10 мл расплавленного и остуженного голодного агара. Для выявления исследуемого тест-патогена после застывания агара на него наслаивают 10 мл расплавленной и остуженной питательной среды. На поверхность застывшей питательной среды помещают подготовленный мембранный фильтр. На его поверхность в местах, заранее отмеченных точками, высевают тест-организм, суспензированный в

изотоническом растворе NaCl с титром $\sim 10^8$ /мл бактериальных клеток. Условия культивирования подбирают с учетом потребностей оцениваемого патогена. Результаты учитывают, подсчитывая выросшие колонии в точках посева. Процент пророста (выход, P) рассчитывается как количество выросших колоний к количеству посевов. Токсичность почвы (Т%) рассчитывают по формуле: $T = 100 - P$. Метод позволяет установить *абсолютную токсичность* или *супрессивность* почвы (если не вырастает ни одна колония), *отсутствие токсичности* (на местах всех посевов вырастают колонии) и *различную степень токсичности* (прорастает только часть засеянных точек)¹¹.

Результаты оценки самоочищающей (супрессивной) способности почвы в отношении целевых болезнетворных микроорганизмов позволяют предварительно характеризовать антипатогенные (самоочищающие) свойства почвы.

Заключение

Почва как уникальный, незаменимый компонент агросферы и урбаносферы не только обеспечивает оптимальные условия для роста и развития растений, но (до определенного предела) поглощает, сохраняет и поддерживает в жизнеспособном состоянии либо, напротив, элиминирует *патогенные микроорганизмы*. Во многих случаях почва селитебных территорий и агроценозов – это своеобразное депо и аккумулятор, обеспечивающий длительное сохранение возбудителей опаснейших болезней человека, домашних животных и культивируемых растений. Продолжительность сохранения патогенов в жизнеспособном состоянии определяется *самоочищающей способностью почвы* – ее совокупными физико-химическими, биохимическими, супрессивными и иными генетическими свойствами.

Первоисточник патогенных микроорганизмов в почве – выделения продуктов жизнедеятельности людей и животных (больных и/или носителей инфекции). Заселенная патогенами почва представляет реальную опасность не только для здоровья людей, но и для сопряженных сред – поверхностных

водоисточников, приземной атмосферы, продуктов урожая. Для почв селитебных территорий источником патогенных бактерий в ряде мест являются несанкционированные свалки ТБО. Для почв сельскохозяйственных угодий постоянную угрозу представляют неочищенные стоки, *некомпостированные* отходы животноводства и продукты жизнедеятельности человека, используемые в качестве местных органических удобрений. Их повсеместное обеззараживание и утилизации должны стать обязательной частью региональной социально-экологической политики.

Оценка санитарного состояния почвы базируется на выявлении в ней *санитарно-показательных микроорганизмов* (СПМ). Их наличие свидетельствует о загрязнении почвы выделениями человека и теплокровных животных, а их численность – о степени такого загрязнения. Индексы и титры санитарных показателей, таких как *общие и термотолерантные колиформные бактерии, энтерококки, сульфитредуцирующие клостридии, сальмонеллы, энтеровирусы* и др., характеризуют чистоту почвы и степень ее биогенного загрязнения.

Перечни СПМ, их допустимое содержание в почве, методы выявления, а также оценка антипатогенной (супрессивной) активности почвы регламентируются международными и/или федеральными нормативными документами. Для выявления СПМ официально рекомендованы как традиционные (классические), так и современные *ускоренные методы* микробиологических исследований. В числе последних достижений – автоматизированные методы пробоподготовки, посева и учета численности микробных колоний [10, 12], хромогенные среды и готовые тест-системы (петрифилмы) [7, 9, 12], прецизионные молекулярные методы выявления патогенов – ИФА-экспрестесты Singlepath®, система молекулярного детектирования (MDS) [8].

Здоровая, чистая, супрессивная почва способна (в определенных пределах) к элиминированию заселяющих ее патогенных микроорганизмов. Усилия землепользователей должны быть направлены на поддержание и интенсификацию ее самоочищения – этого уникального природного феномена.

Литература

1. Бондаренко В.М., Батура А.П. Сальмонеллы – возбудители брюшного тифа и пищевой токсикоинфекции / Руководство по медицинской микробиологии. – Кн. 2. – М.: БИНОМ, 2010. – С. 461–476.
2. Гончарук Е.И., Бардов В.Г., Гарковий С.И., Яворский А.П. и др. Коммунальная гигиена / Ред. Е.И. Гончарук. – К.: Здоров'я, 2006. – 792 с.
3. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. – М.: Изд-во МГУ, 2005. – 448 с.
4. Мишустин Е.Н., Перцовская М.И., Горбов В.А. Санитарная микробиология почвы. – М.: Наука, 1979. – 304 с.
5. 14. Рязанова Н.Е., Ткач Е.Д., Рыков С.В. Законодательная база нормирования качества почв // Экологический вестник России. – 2012. – № 9. – С. 52–57.
6. Санитарно-микробиологическое исследование почвы. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология. Книга 1 / Ред. А.С. Лабинская, Е.Г. Волина. – М.: БИНОМ, 2008. – С. 825–890.
7. Соколов Д.М., Соколов М.С. Ускоренный метод обнаружения сальмонелл в пищевых продуктах с использованием петрифилмов 3М™ Petrifilm™ Salmonella Express System // Молочная промышленность. – 2014. – № 4. – С. 50–52.

8. Соколов Д.М., Соколов М.С. Ускоренные методы выявления бактерий рода *Salmonella* в пищевых продуктах и сырье // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82, № 1. – С. 33–40.

9. Соколов Д.М., Соколов М.С. Микробиологический контроль с использованием петрифильмов // Молочная промышленность. – 2012. – № 2. – С. 36–37.

10. Соколов Д.М., Соколов М.С. Инновационные технологии в санитарно-микробиологическом контроле почвы // Экологический вестник России. – 2014. – № 2. – С. 20–25.

11. Соколов М.С., Марченко А.И. Экологический мониторинг здоровья почвы в системе «ОВОС» (методология выбора критериев оценки) // Агрохимия. – 2013. – № 3. – С. 3–18.

12. Соколов М.С., Соколов Д.М. Санитарно-бактериологическая оценка почвы и органических удобрений // Агрохимия. – 2014. – № 5. – С. 3–18.

13. Тымчук С.Н., Ларин В.Е., Соколов Д.М., Соколов М.С. Основные принципы санитарно-микробиологической оценки воды, предназначенной для потребления человеком // Экологический вестник России. – 2013. – № 6. – С. 40–51.

