

Инструкция Государственного комитета Кыргызской Республики по охране природы от 31 мая 1994 года По осуществлению государственного контроля за биологическим загрязнением почвы

Зарегистрировано в Министерстве юстиции Кыргызской Республики
21 июля 1994 года. Регистрационный номер 206

Утверждаю
Председатель Госкомприроды
Кыргызской Республики
И.С.Мураталин
от 31 мая 1994 года

ИНСТРУКЦИЯ ГОСУДАРСТВЕННОГО КОМИТЕТА КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ ПО ОХРАНЕ ПРИРОДЫ

По осуществлению государственного
контроля за биологическим загрязнением почвы

I. Биологическое загрязнение почвы

Кроме химического, радиационного и других загрязнений почвы подвергаются различным видам биологического загрязнения - биогенному, микробиологическому, гельминтологическому, протозоологическому и т.д. Проявляются эти виды загрязнений в виде привнесения в почву нехарактерных для нее биологических агентов или превышения среднего многолетнего уровня концентрации этих агентов. Биологическое загрязнение почв чужеродными агентами происходит в результате попадания в почву хозяйственно-бытовых и промышленных отходов, отбросов, а также за счет аэрозолей микробиологических производств. С бытовыми отбросами в почву могут попадать потенциально опасные микроорганизмы - патогенные и токсичные, способные вызывать кишечные инфекции и пищевые отравления у человека, эпидемические заболевания у животных, токсикозы растений. Биологическое загрязнение почвы отрицательно влияет на почвообразовательный процесс, урожайность, приводит к ослаблению самоочищения почв. Этот вид загрязнения почвы особенно опасен в неканализованных районах и на территориях тех предприятий, где могут скапливаться органические отходы (например: бойни и т.д.), на хозяйственных дворах, животноводческих комплексах, пляжах и прилегающих к ним участках. Со сточными водами микроорганизмы попадают в иловые осадки, что может привести к инфицированию почвы, а затем ягодных культур и овощей, выращиваемых на полях орошаемых сточными водами и применяемых осадков с очистных сооружений в качестве органического удобрения.

Бактерии-загрязнители могут проникать в почву довольно глубоко, до 30-40 см в зависимости от ее структуры и поверхностного слоя.

Представители нормальной флоры организма человека и животных, а также патогенные микроорганизмы в почве, как правило, длительно не выживают и рано или поздно погибают, но отдельные виды бактерий становятся постоянными обитателями. Продолжительность сохранения и размножения патогенных бактерий приводится в таблицах 4, 5, 6. В почве зимуют и

сохраняются яйца и личинки многих вредных насекомых и гельминтов. Пути заражения человека и животных гельминтами через почву разнообразны, в том числе можно заразиться при ходьбе босиком по загрязненной почве или при купании в зараженном водоеме, откуда личинки активно проникают через кожу и слизистые оболочки. Географическое распространение гельминтов зависит от природных и социальных факторов. Природные условия включают в себя: климат, характер почв, наличие необходимых хозяев или переносчиков и т.д.

Социальные условия - это образ жизни, обычаи, тип жилищ и поселков, вид работы, уровень санитарного благоустройства и санитарной культуры.

Активную роль в заражении человека через почву различными заболеваниями играют мухи. Они откладывают яйца в гниющих остатках растительного и животного происхождения, в мусорных и помойных ямах, свалках, в местах скопления отходов. Вышедшие из яиц личинки обычно обитают в верхних слоях скоплений отходов. Перед превращением в куколку личинки опускаются в более глубокие слои или проникают в почву. Продолжительность развития зависит от температуры субстрата. Так, при температуре 30-36 градусов Цельсия личинки завершают свое развитие за 3-4 суток. Куколке для развития требуется 4-7 суток. Мухи живут около месяца откладывая за это время 500-600 яиц. Дальность полета мух около 3-5 км.

II. Общие положения

1. Настоящая инструкция разработана для специалистов ЦИАК (Центральной инспекции аналитического контроля), местных государственных природоохранных органов при осуществлении государственного контроля за использованием и охраной земель.

Охране от биологического загрязнения подлежат почвы населенных территорий, мест коллективного отдыха, орошаемых сельскохозяйственных угодий и других земельных объектов.

2. Охрана земель от биологического загрязнения.

2.1. Оценка степени биологического загрязнения почв проводится по комплексу микробиологических и паразитологических исследований. Для этой цели осуществляется предупредительный и текущий санитарный надзор. Предупредительный надзор необходим:

- а) При планировке, строительстве и реконструкции вновь заселяемых участков и населенных мест;
- б) при выборке участков для строительства детских дошкольных учреждений, пионерских лагерей, санаториев и т.д.;
- в) при строительстве водохранилищ;
- г) при решении вопросов водоснабжения и канализации населенных территорий;
- д) при определении состояния почвы, где в виде удобрений используются навоз, компосты.

Текущий надзор осуществляется:

- а) при оценке загрязнения поверхностных слоев почвы для установления степени влияния биологической контаминации на способность почвы к самоочищению;
- б) при контроле за почвенными и биотермическими методами обезвре-

живания сточных вод и отбросов;

2.2. Микробиологическое исследование почвы проводится в соответствии с "Методическими указаниями по санитарно-биологическому исследованию почвы" (М., 1976 г.) в виде краткого или полного анализа.

Краткий анализ проводится при осуществлении текущего надзора и включает определение бактерий группы кишечных палочек, общего числа сапрофитных бактерий, титра анаэробовкlostридий перфрингенс, термофильных бактерий, характеризующих характер контаминации (навозом, фекалиями, сточной жидкостью, компостом), нитрифицирующих бактерий.

Полный анализ включает определение общей численности сапрофитов, численности и процентного отношения спор к общему количеству микроорганизмов, количества актиномицентов, грибов, целлюлозоразлагающих микроорганизмов, основных групп почвенного микробиоценоза

2.3. В соответствии с номенклатурой, утвержденной Министерством здравоохранения бывшего СССР (приказ N 886 от 12.11.73 г.) проводятся следующие паразитологические исследования почвы:

а) исследование почвы на личиночные стадии нематод и мух;

б) определение наличие яиц гельминтов в почве, сточных водах, на овощах, фруктах.

2.4. Отбор проб почвы, их хранение, транспортировка и подготовка к анализу осуществляется в соответствии с ГОСТом 17.4.4.02-8 "Охране природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб почвы для химического, бактериологического и гельминтологического анализа".

III. Оценка степени биологического загрязнения почв

Оценка степени загрязнения производится комплексно: по санитарно-микробиологическим показателям, с учетом гельминтологических и химических данных, и регламентируется соответствующими ГОСТами, санитарными правилами и методическими указаниями.

В категорию санитарно-показательных (индикаторных) микроорганизмов почвы включены представители кишечной микрофлоры человека: БГКП; фекальные кишечные палочки (ФКП), к которым в основном относится *E. Coli*; энтерококки (*S. faecalis*), cloстридии (*C. perfringes*) термофилы.

Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) являются показателем фекального загрязнения и, следовательно, косвенным индикатором эпидемиологической опасности объектов окружающей среды. Обнаружение энтерококков подтверждает наличие свежего фекального загрязнения (так как они быстрее отмирают в окружающей среде и в то же время более устойчивы к действию пестицидов и детергентов). Обнаружение *C. perfringes* в определенном титре в почве свидетельствует о старом фокальном загрязнении.

Присутствие в почве термофильных микробов свидетельствует о загрязнении ее навозом, компостом и разложившимися фекалиями людей. Наличие яиц и личинок гельминтов в почве может свидетельствовать о возникновении очагов геогельминтозов.

Для санитарной оценки почвы пользоваться показателями таблиц 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16.

IV. Ответственность за биологическое

загрязнение почв

В соответствии с постановлением Правительства Кыргызской Республики от 19 июля 1993 года N 317 "О материальной ответственности за ущерб, причиненный порчей земель" предприятия, организации и другие хозяйствующие субъекты (независимо от форм собственности и способа ведения хозяйства), допустившие действия или бездействия, приведшие к порче земель, возмещают причиненный ущерб по таксам и в порядке согласно приложениям 1 и 2 данного постановления. Учет степени биологического загрязнения и отсюда ущерба, причиненного почвенному покрову, проводится согласно "Инструкции по осуществлению государственного контроля за биологическим загрязнением почв" по приводимой в ней методике.

Иски за биологическое загрязнение предъявляются по двум показателям: загрязненная (среднезагрязненная или умеренно) и сильнозагрязненная в размере 50% и 100%, соответственно от данных такс.

При загрязнении почв несколькими видами биологических показателей оценка проводится по величине суммарного показателя загрязнения или, если это затруднено, по наиболее опасному виду загрязнения.

Уплата иска по биологическому загрязнению не освобождает от возмещения затрат на лабораторные анализы, транспортные и иные расходы при определении степени биологического загрязнения.

Кроме исков, в зависимости от степени загрязнения и последствий от него для почвы, применяются и иные меры воздействия:

- а) выдача предписания об устранении нарушения;
 - б) вынесение постановления о наложении административного взыскания;
 - в) выдача постановления о превращении (приостановке) производственной деятельности землепользователя, землевладельца, предприятия, организации, учреждения и т.д.;
 - г) постановка вопроса о прекращении права пользования, владения землей перед соответствующими местными административными органами.
- Все эти меры воздействия к нарушителям определяются в каждом конкретном случае госинспектором по охране природы или руководителем местного органа по охране природы.

При составлении протоколов следует обратить особое внимание на точность и конкретность изложения нарушения, его причин и последствий. Обязательно должны быть даны рекомендации по их устранению, с указанием сроков. Протокол составляется в 3-х экземплярах, подписываемых инспектором по охране природы, лицом совершившим нарушение, а также лицами, принимавшими участие в обследовании земельного участка и в лабораторных исследованиях. Один экземпляр вручается нарушителю, второй вручается вышестоящему руководству (если таковое имеется), третий остается у инспектора по охране природы.

Методики отбора проб в полевых условиях, проведения лабораторных анализов на биологическое загрязнение, табличный материал, а также словарь терминов и определений приводятся далее.

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

по отбору, хранению и транспортировке проб почвы

Перед взятием образцов для микробиологического исследования, проводят описание местности, где указывается характер рельефа, растительность, климат, наличие источника водоснабжения и места отвода сточных вод канализации, сведения о применяемой агротехнике и т.д. Определяют местонахождение источника загрязнения.

На обследуемой территории площадью до 1000 кв.м., выделяют два участка по 25 кв.м.: один - вблизи источника загрязнения, второй (контрольный) - вдали.

Образцы почв забираются в 5 точках - по типу конверта: 4 по углам участка и 1 в центре.

Взятый пробы массой 200-300 г перемешивают в стерильной посуде и затем берут средний образец, который помещают в стерильный сосуд с ватно-марлевой пробкой (или пергаментный пакет). Объем почвы в 300 г. необходим для поддержания определенной влажности в образце при его транспортировке и хранении до начала исследования. При взятии проб с поверхностных слоев земли снимают лопатой цельный пласт почвы, затем с боковой, отвесной поверхности фламбированным ножом срезают землю толщиной 1-1,5 см, нож снова прожигают и из глубины срезанного участка набирают образец почвы. Образцы с пахотных почв берут на всю глубину пахотного слоя.

Взятые пробы помещают в стерильную посуду, маркируют и снабжают сопроводительным документом, в котором указывают номер образца, место и глубину взятия, дату отбора пробы. Обработку пробы желательно проводить в день исследования, хранение допускается в течение 24 часов при температуре 4-5 град.

Подготовка проб почвы

Образцы почвы освобождают от крупных включений: камней, щебня, осколков стекол, корней, листьев растений и т.д. Затем почву помещают в стерильную фарфоровую ступку, просеивают через стерильное сито (протереть спиртом) с диаметром пор 3 мм и забирают навески для приготовления почвенной суспензии. В зависимости от цели исследования навеска может быть различной: 1-30 г для определения санитарно-показательных микроорганизмов, 1-10 г для учета почвенных микроорганизмов, 50-60г для обнаружения патогенных энтеробактерий. Навеску почвы высыпают в стерильную колбу и заливают стерильной водой в соотношении 1:10. Полученную суспензию подвергают встряхиванию на электромешалке в течение 10-15 минут и последующему отстаиванию в течение 2-3 минут. С помощью такой обработки удается извлечь микроорганизмы из комочков земли и с поверхности почвенных частиц.

Из первого разведения (1:10) почвенной суспензии готовят ряд последующих 10-кратных разведений: от 1:10 до 1:1000 при исследовании чистых почв и до 1:1000000 и более - при исследовании сильно загрязненных почв.

Исследование почвы на зараженность гельминтами

Почву для анализа берут в зависимости от цели исследования в различных местах: на индивидуальных и общественных огородах, полях ороше-

ния, территории усадеб, детских учреждений, рынков, мест игр детей, на животноводческих фермах, в местах проживания работников животноводства и т.д.

После общего санитарного обследования участка намечают конкретные места для взятия проб:

1. На территории детского учреждения - игровые площадки, песочницы, игрушечный домики, клумбы и огородные грядки, участки возле заборов, уборных и мусорных ям в т.д.
2. Во дворе жилого дома - участки вблизи сараев, заборов, уборных и местах сбора нечистот и мусора, содержания животных, хранения корма для скота.
3. На усадьбах - огороды, сады или газоны.
4. В местах общего пользования или отдыха - окружение санитарных узлов и мусоросборников, водопроводных колонок и раковин, используемых для мытья ягод, овощей, зелени, увлажненные места пляжей и места под различными летними навесами.
5. На рынках - под прилавками, на которых ведется торговли овощами и зеленью.

Землю берут как с поверхности, так и на глубине 2-3 см, а на огородах, в садах и полях орошения с 10-20 см.

С каждого однотипного участка почву собирают в 6-10 различных местах навесками по 10-15 г, объединяя все в одну пробу общей массой 150-200 г, причем составляется общая проба с поверхности, общая - с глубины 2-3 см в т.д.

На территории одного объекта (усадеб, огород, поля орошения, детский сад и т.д.) берут 10 проб.

Землю с поверхности собирают ложкой, совочком, с большой глубины - лопаткой или буром. Пробу помещают в плотно закрытую стеклянную посуду или целлофановые пакеты. Внутри вкладывают этикетку с указанием даты и объекта обследования, места взятия пробы, глубины, условий участка (открытое место, в тени, участок закрыт растительностью). Пробы доставленные в лабораторию, желательно исследовать не откладывая, так как яйца ряда гельминтов быстро разрушаются, погибают личинки. Хранить пробы рекомендуется в холодильнике (+5 град. Цельсия).

Обнаружение личинок гельминтов в почве

С этой целью применяют метод Бермана. Этот метод основан на способности личинок мигрировать по направлению к теплу. Берут пробу почвы массой 20-40 г и помещают на мелкоячеистую металлическую сетку в стеклянной воронке, закрепленной на штативе. На узкий конец воронки надевают резиновую трубку с зажимом. Воронку заполняют нагретой до 50 град. Цельсия водой так, чтобы нижняя часть сетки была в нее погружена. Личинки из почвы переходят в воду и скапливаются в нижнем конце трубки. Открыв через 4 часа зажим, собирают личинки в центрифужные пробирки, центрифугируют 2-3 мин. и микроскопируют осадок.

В местах выхлода мух не реже 1 раза в декаду проводят учет численности личинок и куколок. На нескольких участках снимают слой почвы и подсчитывают личинки на 0,25 кв.м. поверхности и получают показатель оценки состояния данной местности (см. табл.12).

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ по лабораторным исследованиям

Определение бактерий групп кишечных палочек (БГКП)

При невысокой степени фекального загрязнения почвы применяется титрационный метод, при высокой степени загрязнения - прямой посев почвенной суспензии (1:10) на среду Эндо.

Определения коли-титра почвы или титрационный метод

Готовят 10%-ную почвенную суспензию, из нее делают разведения. Из суспензии и разведений 1:10, 1:100 засевают по 1 мл в пробирки со средой Кесслера (на 1 л дистиллированной воды - 10 гр. пептона, 50 мл бычьей желчи, 2,5 гр, лактозы, 4 мл 1% водного раствора генициавиолета). Таким образом, в среду вносятся 0,1 гр., 0,01 гр. и 0,001 гр. исследуемой почвы. Посевы выдерживают в термостате при температуре +37 С в течение 48 час. Затем пробирки с посевами просматривают, из тех пробирок, где есть газообразование высеивают штрихом на агар Эндо в чашки Петри, культивируют при +37 С 24 час. Красные колонии, выросшие на агаре, типичные для бактерий рода эшерихиа, исследуют: мазки окрашивают по Граму, микроскопируют. При обнаружении в мазках коротких грамотрицательных палочек, красные колонии вновь пересеивают в среду Кесслера для подтверждения газообразования в чистой культуры E Coli. Наибольшее разведение почвенной суспензии, в котором отмечена ферментация лактозы (с газообразованием), соответствует коли-титру почвы (табл.1).

Таблица 1

Определение коли-титра почвы

Этапы исследования	Номера пробирок
Засаеваемые объемы, мл	1 1 (1:10) 1 (1:100)
	(0,1 г) (0,01 г) (0,001 г)
Среда Кесслера, мл	9 9 9
Высев на среду Эндо (секторами)	
Результат	
Заключение	

Определение перфрингенс-титра почвы

Определение перфрингенс-титра является важным критерием для сани-

тарной оценки почвы и ее самоочищения, так как при фокальном загрязнении почвы уже через 4-5 месяцев эшерихии исчезают, а *S. perfringens* обнаруживается в титре 0,01 г. Этот титр дает возможность судить о давности фекального загрязнения.

Предложено несколько методов определения перфрингенс-титра.

Посев почвенной суспензии в среду Вильсона-Блера. Из приготовленных разведений почвенной суспензии (от 1:10 до 1:1000000) переносят по 1 мл в два параллельных ряда стерильных пробирок. Один ряд пробирок с разведениями суспензии прогревают при температуре 80 С в течение 15 мин. (для подавления размножения сопутствующей вегетативной микрофлоры почвы). Затем в пробирки обоих рядов вносят по 15 мл среды Вильсона-Блера, приготовленной непосредственно перед употреблением (к 100 мл сахарного (с 1% глюкозы) расплавленного и охлажденного до 60 С мясопептонного агара добавляют 10 мл 20%-ного раствора сульфата натрия и 1 мл 8%-ного раствора хлорида железа (II) приготовленного на дистиллированной стерильной воде). Суспензию перемешивают со средой, вращая пробирки между ладонями рук, затем, для быстрого застывания агара и выхода кислоты из среды пробирки помещают под струю холодной воды. Инкубируют в термостате при температуре +43 С в течение 24 час., но уже через 2-3 часа при положительном результате можно наблюдать в толще агара образование круглых колоний черного цвета, разрывающих агар в месте газообразования. В мазках, приготовленных из черных колоний, видны характерные грамположительные палочки.

Наибольшее разведение почвы или наименьшее ее количество, вызвавшее почернение и разрыв плотной среды Вильсона-Блера в первые 12 часов роста, соответствует (или принято считать) ее перфрингенс-титру (табл.2).

Таблица 2

Определение перфрингенс-титра почвы

Ингредиенты | Номера пробирок

|-----

| 1 | 2 | 3

-----|-----|-----|-----

Засаеваемые объемы, мл | 1 | 1 (1:10) | 1 (1:100)

Среда Вильсона-Блера, мл | 15 | 15 | 15

Результат | | |

Заключение | | |

Определение общей численности сапрофитных бактерий

Общее число сапрофитных бактерий определяется количеством микроорганизмов, обнаруживаемых в 1 г исследуемой почвы. Этот показатель имеет относительное значение, свидетельствующее о биологическом состоянии почвы в момент исследования.

Для определения общей численности почвенных сапрофитов может быть использован метод на посева на плотные питательные среды. Посев почвенной суспензии производят на мясопептонный агар в чашки Петри. Из каждого разведения берут 1 мл суспензии и переносят в стерильную чашку Петри (не менее двух чашек на каждое разведение). Затем в чашки заливают во 7-10 мл расплавленного и остуженного до +45 С мясопептонного агара, который тщательно смешивают с почвенной суспензией, слегка двигая чашки по поверхности стола. Посевы инкубируют при +28-30 град. Цельсия в течение 72 час. и подсчитывают количество выросших колоний. Для подсчета берут такие разведения почвенной суспензии, при которых на чашках вырастает от 50 до 150 колоний. Из суммы колоний, подсчитанных на всех чашках, выводят среднеарифметическое и затем определяют число колоний на 1 г почвы (с учетом разведений) (табл.3).

Таблица 3

Определение микробного числа почвы

Ингредиенты Номера пробирок			

1	2	3	
----- ----- ----- -----			
Засеваемые объемы, мл	1	1 (1:100)	1 (1:1000)
Мясопептонный агар, мл	15	15	15
Результат			
Заключение			

Определение термофильных бактерий

Степень фекального загрязнения почвы можно определить по количеству термофильных бактерий, температурный оптимум которых равен 58-60 град. Цельсия. Термофилы представлены в основном спорообразующими грамположительными бациллами и актиномицетами, активно размножаются в компостных кучах, навозе.

Для обнаружения термофилов делают посев разведений почвенной суспензии (от 1:10 до 1:1000000) на 2-3 параллельные чашки с мясопептонным агаром, разлитые более толстым слоем, чем обычно.

Количество выросших колоний подсчитывают, перерасчет термофилов на 1 г почвы ведется, как при определении общей численности сапрофитов в почве.

Определение нитрифицирующих бактерий

Одним из показателей процесса самоочищения почвы являются нитрифицирующие бактерии (*Nitrosomonas Nitrobacter*), участвующие в превращении аммонийных соединений в азотистую и азотную кислоты.

Титр нитрификаторов определяют посевом разведения почвенной суспензии от 1:100 до 1:10000 во флаконы с жидкой минеральной средой Виног-

радского (к 1 г дистиллированной воды добавляют 2 г сульфата аммония, 1 г двузамещенного фосфата калия, 0,5 сульфата магния, 2 г хлорида натрия и 1 г химически чистого мела. Среду разливают в пробирки и стерилизуют при 1 атм, 30 мин. В среде не должно содержаться ни нитритов, ни нитратов). В качестве контроля в термостат помещают два флакона с незасеянной средой. Посевы инкубируют при температуре +28 град. Цельсия в течение 14-15 сут. На 5-7-й день можно проверить образование азотистой или азотной кислоты с помощью качественной пробы с дифениламином. При добавлении к капле среды (помещенной на стеклянную пластинку) нескольких капель раствора дифениламина (в концентрированной серной кислоте) появляется синее окрашивание, что указывает на присутствие нитратов. Среда в контрольных флаконах не должна давать изменения окраски.

Определение в почве сальмонелл и шигелл

Для определения сальмонелл в почве может быть использован более простой метод - посев в среду накопления.

В подготовленную почвенную суспензию вносят ингредиенты магниевой среды (готовят три раствора): 1) Пептон-4,2 г, NaCl-7,15 г, KH_2PO_4 -1,43 г, дрожжевой диализат-9 мл, дистил.воды-890 мл;
2) $MgCl_2$ - кристаллический-35,7 г, дистил.воды-90 мл;
3) 0,1% водный раствор бриллиантового зеленого-0,9 мл.

Все растворы смешивают, стерилизуют при 0,5 атм. 30 мин., инкубируют при температуре 37 град. Цельсия в течение 18-20 час. Затем делают высеив на висмут-сульфитную среду (обычно 3-5 чашек). Помещают чашки в термостат на 2 сут., ежедневно просматривая их. Подозрительные на сальмонеллы колонии (но менее 4-5) - круглые, черные, сероватые с металлическим ободком или зеленые с темным центром и без него, вызывающие потемнение среды под колонией - пересеивают в пробирки со средой Олькеницкого или Расселя и инкубируют в течение 24 час. (среда Расселя: к 100 мл 1,5% мясо-пептонного агара добавляют 1% лактозы, 0,1% глюкозы и 1 мл индикатора Андрее (кислый фуксин, обесцвеченный едкий натрий) или смесь водного голубого и розоловой кислоты. Устанавливают pH 7,2. Среду разливают в пробирки, стерилизуют при 112 град. Цельсия 20 мин. и скашивают, оставляя столбик агара высотой 2-3 см. При сбраживании лактозы и глюкозы изменяется цвет среды в столбике и скошенной части. Сбраживание только глюкозы, вызывает изменение окраски лишь столбика среды). На четвертый день, если идет разложение глюкозы, о чем свидетельствует изменение - цвет столбика, проводят идентификацию культуры по биологическим и антигенным свойствам.

Положительный ответ выдается при обнаружении грамотрицательных подвижных бактерий, ферментирующих глюкозу и маннит с образованием кислоты и газа (или только кислоты), не разлагающих лактозу сахарозу и мочевины, индолотрицательных, сероводородположительных.

Шигеллы обнаруживают параллельно - посевом в селънитовую среду (бульон готовят из среды Лейфсона по прописи на этикетке). При необходимости ее можно приготовить следующим образом. Основной раствор: в 1 л воды растворяют 7 г фосфата натрия двузамещенного безводного, 3 г фосфата натрия однозамещенного, 5 г пептона и 4 г лактозы. Устанавливают pH не ниже 7,0. Стерилизуют при 112 град. Цельсия 30 мин. Перед началом

работы в каждом флаконе к 50 мл основного раствора добавляют 2 мл 10%-го раствора стерильного селенистокислого натрия Готовую среду разливают в стерильные пробирки по 5-7 мл.

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ

жизнеспособности яиц и личинок гельминтов

Во внешней среде значительное число яиц гельминтов погибает и разрушается. Опасность для человека представляют только жизнеспособные инвазионные яйца. Поэтому с эпидемиологической точки зрения необходимо определить процент погибших и живых яиц (личинок что дает возможность выяснить условия и сроки сохранения яиц во внешней среде, обосновать определенные профилактические мероприятия по обезвреживанию почвы. Жизнеспособность яиц определяют на основе изучения морфологии а также методами окрашивания и культивирования.

Метод окрашивания основан на избирательном действии красителя на мертвую и живую ткань. При этом во внимание принимают только реакцию зародыша: живой зародыш не окрашивается, погибший воспринимает краску. Окраску яиц производят на том же предметном стекле, на котором они были обнаружены.

Исследование почв в лабораторных условиях
для обнаружения яиц и личинок гельминтов

Метод Романенко достаточно удобен для практического применения и эффективен.

Из общей пробы берут 25 г почвы, помещают в центрифужную пробирку емкостью 250 мл и заливают 150 мл водопроводной воды. Смесь тщательно размешивают стеклянной палочкой в течение 5 мин. или с помощью электро-мешалки 1 мин.

Всплывшие крупные частицы сразу же удаляют. После центрифужирования в течение 3 мин. при 800-1000 об/мин воду сливают, а в пробирки добавляют 150 мл насыщенного раствора нитрата натрия (NaNO_3) Перемешивают палочкой в вновь центрифужируют 3 мин.

Пробирки устанавливают в штатив с тем же раствором до образования выпуклого мениска, накрывают обезжиренным стеклом (размер 6-12) так, чтобы оно касалось слоя жидкости. Через 20-30 мин. стекло снимают, на влажную поверхность добавляют несколько капель 50% раствора глицерина и микроскопируют.

С целью повышения эффективности выявления яиц рекомендуется центрифужирование и снятие препарата, повторить 2-3 раза.

Термины и определения

1. Бациллы - спорообразующие палочковидные бактерии (например, возбудитель сибирской язвы).
2. Болезнь - нарушение жизнедеятельности организма, возникающее в ответ на действие чрезвычайных раздражителей внешней и внутренней среды.
3. Гельминтозы - заболевание человека, животных и растений, вызы-

ваемое паразитическими червями (нематодами, трематодами, цестодами).

4. Загрязнение биологическое - случайное или связанное с деятельностью человека проникновение и размножение в эксплуатируемых системах чуждых им организмов, оказывающие угнетающее или деструктивное действие.

5. Загрязнение биотическое (биогенное) - распространение определенных, как правило, нежелательных для людей, биогенных веществ (выделений, мертвых тел и т.п.) на территории, где они раньше отсутствовали.

6. Загрязнение микробиологическое (микробное):

а) появление в среде необычно большого количества микроорганизмов связанное с массовым размножением их на антропогенных субстратах или средах, измененных в ходе хозяйственной деятельности человека;

б) приобретение ранее безвредной (обычно массовой) формой микроорганизмов патогенных свойств или способности подавлять другие организмы в сообществе.

7. Загрязнение почвы - привнесение и возникновение в почвах новых, обычно нехарактерных для нее агентов или превышение естественного многолетнего уровня (в пределах его крайних колебаний) концентрации данных агентов. Загрязнение почв меняет ход почвообразования, резко снижает урожай, вызывает накопление загрязнителей в растениях, приводит к ослаблению самоочищения почв от болезнетворных и нежелательных микроорганизмов.

8. Индекс - количество особей санитарно-показательного микроба, обнаруженного в определенном объеме (количестве) исследуемого объекта. Для почвы в 1 ч Индекс-величина, обратная титру, поэтому перерасчет титра в индекс и обратно можно производить по формуле:

$$I = \frac{1}{T}$$

Титр = -----; Индекс = ----- для почвы.

индекс титр

9. Индикатор загрязнения - индикатор (биол. хим. и физич.), сигнализирующий о наличии кумуляции, изменениях количественного и качественного состава загрязнения в окружающей среде.

10. Инъекция - состояние зараженности, комплекс биологической реакции взаимодействия организма животного и возбудителя.

11. Контаминация - обсеменение поверхности тела животного, предметов ухода, почвы, воды и других объемов патогенными микроорганизмами.

12. Микрофлора - (от микро и флора) - совокупность микроорганизмов (бактерий, грибов, микроскопических водорослей), находящихся в определенной среде, почве, воде и т.д.

13. Нитрифицирующие бактерии - почвенные и водные аэробные бактерии, превращающие аммиак в аммонийные соли в нитраты.

14. Паразит - (от греч.- нахлебник, туеядец), растение, животное или микроорганизм, живущие на или внутри другого организма и питающиеся за счет живой субстанции хозяина.

15. Паразитология - (от паразит и ...логия), раздел биология изучающий паразитов, их образ жизни и значение для человека и природы в целом.

16. Патогенные микроорганизмы - микробы, способные вызвать патологический процесс, инфекцию, эволюционно приспособившиеся к паразитированию в живом организме.

17. Персистентность - (от лат. - остаюсь, упорствую) способность химических веществ и биологических агентов сохранять свои свойства в окружающей среде.
18. Протозоология - раздел зоологии, изучающий одноклеточные организмы-простейших.
19. Предупредительный надзор - наблюдение за выполнением санитарно-гигиенических правил и норм в процессе проектирования и создания новых зданий.
20. Самоочищение - совокупность естественных процессов обезвреживания примесей, поступивших в природную среду или в организм
21. Санитарно-запретная (защитная зона) - зона земельного простр-ранства и растительности, специально выделенная между промышленными предприятиями и районом проживания населения в целях охраны здоровья людей.
22. Сапрофиты - (от сапро и трофы), организмы, питающиеся органическими веществами мертвых тел или экскрементами животных)
- 23 Суспензия - взвесь, смесь двух или более веществ, одно из которых (твердое) распределено, взвешено в виде мельчайших частичек в другом (в жидкости).
24. Термофильные бактерии - теплолюбивые бактерии, которые предпочитают жить в условиях постоянно высоких температур (70-90 град. Цельсия и выше).
25. Титр - это тот наименьший объем исследуемого материала (в миллиметрах) или весовое количество (в граммах), в котором обнаружена хоть одна особь санитарно-показательного микроорганизма.
26. Шигеллы - возбудители кишечных инфекций. Вызывают дизентерию с поражением толстой кишки и общей интоксикацией. Это мелкие, неподвижные, не имеющие капсулы грамотрицательные палочки.
27. Сальмонеллы - возбудители брюшного тифа, паратифов А и В и пищевых отравлений. Это мелкие, грамотрицательные подвижные палочки с закрученными концами.
28. Клостридии перфрингенс - неподвижные грамположительные спорообразующие палочки, являются анаэробом, одним из возбудителей газовой анаэробной инфекции. Обитатели кишечника человека и некоторых теплокровных животных, выделяются в окружающую среду в сравнительно небольшом количестве - 1000000 в 1 час. Служат показателями загрязнения пищевых продуктов и почвы.
29. Бактерии группы кишечных палочек (БГКП) -объединяются бактерии семейства Enterobacteriaceae. Они грамотрицательные не образующие спор палочки, ферментирующие лактозу и глюкозу до кислоты и газа. Выделяются в окружающую среду только из кишечника человека и теплокровных животных. Представитель этой группы является санитарно-показательным микроорганизмом