

上海市典型小区生活垃圾的微生物特征解析

唐汶璇^{1a,1b}, 袁昕儿^{1a}, 陈株凯^{1a}, 潘滨², 彭仁祯^{1a}, 杨文慧^{1a}, 徐燕意^{1a}

1. 复旦大学 a. 公共卫生学院 b. 基础医学院, 上海 200032

2. 上海市生物医药技术研究院, 国家卫生健康委员会计划生育药具重点实验室, 上海 200032

摘要:

[背景] 生活垃圾分类是我国的重大民生工程, 2019 年随着《上海市生活垃圾管理条例》的出台, 上海引领的生活垃圾分类在全国范围内陆续铺展。然而, 垃圾分类过程中的风险特别是微生物风险尚不清楚。

[目的] 初步解析上海市典型小区生活垃圾中的微生物特征, 为上海市乃至全国生活垃圾分类过程的健康防护工作提供一定的理论依据。

[方法] 在 2019—2020 年期间采集上海市某典型小区夏、冬季的干、湿垃圾, 利用菌落计数评估其中的微生物含量, 初步解析不同种类生活垃圾中的微生物生长规律特征。利用 Illumina PE250 高通量测序平台开展 16S rRNA 检测, 使用基于 bray-curtis 算法的层次聚类分析阐明不同种类生活垃圾中微生物组成的相似性和差异性, 通过 α 多样性分析探究微生物的多样性和丰富度, 基于 unweighted UniFrac 的主坐标分析揭示菌群的 β 多样性, 结合线性判别分析 (LEfSe) 筛选组间差异菌群。

[结果] 本研究结果表明, 该典型小区干湿垃圾中的微生物数量相差较大, 且干垃圾表面微生物数量小于湿垃圾渗滤液。此外, 不同季节干湿垃圾中的微生物生长曲线特征明显不同, 其中夏季和冬季干垃圾表面的菌落峰值分别达 200、10 CFU·cm⁻², 夏季和冬季湿垃圾渗滤液中的菌落峰值分别达 6×10^5 、 2×10^6 CFU·mL⁻¹。16 S rRNA 结果显示, 不同种类生活垃圾中微生物的 α 和 β 多样性差异具有统计学意义, 其中干、湿生活垃圾之间差异较不同季节同种垃圾间差异大。各种生活垃圾中的微生物均以变形菌门 (Proteobacteria) 为主, 其次为厚壁菌门 (Firmicutes) 或拟杆菌门 (Bacteroidota)。聚类分析结果表明夏季干垃圾的微生物组成与冬季干垃圾较接近, 其余组间差异较大。在属水平下筛查不同种类生活垃圾中的特征菌, 共发现假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、泛菌属 (*Pantoea*) 等 48 种具有一定潜在致病性的差异微生物。

[结论] 不同季节的干、湿生活垃圾具有不同的微生物结构特征, 存在不同的潜在致病微生物, 结合相关研究, 提示针对不同季节的干、湿生活垃圾需采取不同的防范措施以防控垃圾分类造成的健康危害。

关键词: 生活垃圾分类; 微生物; 高通量测序; 菌落计数; 致病菌群

Microbial characteristics of domestic waste in a typical residential community of Shanghai
TANG Wenxuan^{1a,1b}, YUAN Xin'er^{1a}, CHEN Zhukai^{1a}, PAN Bin², PENG Renzhen^{1a}, YANG Wenhui^{1a}, XU Yanyi^{1a} (1.a. School of Public Health b. School of Basic Medical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. NHC Key Lab of Reproduction Regulation, Shanghai Institute for Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Shanghai 200032, China)

Abstract:

[Background] Domestic waste classification is one of the major livelihood projects in China. With the introduction of the *Shanghai Household Waste Management Regulation* in 2019, the work of domestic waste classification has been carried out nationwide, yet its potential risks especially those derived from microorganisms are not clear.

[Objective] To investigate the microbial characteristics of the domestic waste in typical residential areas in Shanghai, and provide a theoretical basis for health protection during the domestic waste classification process in Shanghai and throughout China.

[Methods] Dry and wet waste from a typical residential community in Shanghai were collected during 2019–2020. Microbial colonies were counted in domestic waste and analyzed for growth



DOI 10.11836/JEOM22022

基金项目

上海市科学技术委员会科研计划项目 (19DZ1204603)

作者简介

唐汶璇 (2002—), 女, 本科生;

E-mail: 19301020088@fudan.edu.cn

通信作者

徐燕意, E-mail: yanyi_xu@fudan.edu.cn

伦理审批 不需要

利益冲突 无申报

收稿日期 2022-01-23

录用日期 2022-09-16

文章编号 2095-9982(2022)10-1102-08

中图分类号 R12

文献标志码 A

补充材料

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22022

► 引用

唐汶璇, 袁昕儿, 陈株凯, 等. 上海市典型小区生活垃圾的微生物特征解析 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(10): 1102-1109.

► 本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM22022

Funding

This study was funded.

Correspondence to

XU Yanyi, E-mail: yanyi_xu@fudan.edu.cn

Ethics approval Not required

Competing interests None declared

Received 2022-01-23

Accepted 2022-09-16

Supplemental material

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22022

► To cite

TANG Wenxuan, YUAN Xin'er, CHEN Zhukai, et al. Microbial characteristics of domestic waste in a typical residential community of Shanghai [J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(10): 1102-1109.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM22022

patterns. Then through 16S rRNA sequencing using Illumina PE250, hierarchical clustering analysis was conducted to reveal the similarity and dissimilarity of community compositions in different domestic waste groups, alpha diversity was estimated to reflect the richness and diversity of bacterial communities, principal co-ordinates analysis of unweighted UniFrac distance was performed to estimate the beta diversity, and linear discriminant analysis effect size (LEfSe) was used to find features differentially represented among domestic waste groups.

[Results] In the chosen typical residential community of this study, the numbers of microorganisms in waste were quite different, with lower numbers of microorganisms in dry waste than the numbers in wet waste. In addition, different growth curves of microorganisms were shown for different seasons, and the peak bacterial colony numbers were $200 \text{ CFU}\cdot\text{cm}^{-2}$, $6\times 10^5 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, $10 \text{ CFU}\cdot\text{cm}^{-2}$, and $2\times 10^6 \text{ CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$ for summer dry waste, summer wet waste, winter dry waste, and winter wet waste, respectively. The results of 16S RNA demonstrated significant differences in α and β diversity indicators among different waste groups, and the difference in waste classifications was larger than the difference of the same classification of waste in different seasons. The main compositions of bacterial colonies in domestic waste was Proteobacteria, followed by Firmicute and Bacteroidota. The clustering analysis showed that the microbial composition in summer dry waste was close to that in winter dry waste, while other groups were quite different. In total 48 differential bacterial taxa were found at the level of genus including *Pseudomonas* and *Pantoea*.

[Conclusion] Different seasons and different classifications of domestic waste present varied microbial characteristics, with different potential pathogenic microorganisms. Together with other related studies, we suggest that different measures should be taken for different domestic wastes to prevent and control the health hazards associated with waste classification.

Keywords: domestic waste classification; microorganism; high-throughput sequencing; microbial colony counting; pathogenic taxa

作为生活垃圾产量居全国前列的大型城市,为有效提高垃圾回收率,减少土地资源消耗,减轻环境污染和降低垃圾处理成本,上海市自2019年起,出台《上海市生活垃圾管理条例》,全面强制实施垃圾分类投放,并建立以“干湿分类、两网融合”为核心的垃圾分类标准和工艺体系。自实施垃圾分类以来,2020年上海全市清运干垃圾519.49万t,同比减少20%;湿垃圾347.85万t,同比增长27.5%;可回收物收运量233.34万t,同比增长57.5%;有害垃圾处理量940.62t,同比增加328.5%^[1];垃圾分类工作推进取得显著成效。与此同时,生活垃圾处理新增人工分类、破袋、分拣和清运等环节,相关人员(源投放公众、分类志愿者、小区保洁员、设施分拣员等)需要进一步处理生活垃圾,这增加了相关人员与生活垃圾接触的频次和时长。此外,由于部分小区采取垃圾定时投放政策,生活垃圾在家中的储存时间可能延长,为其中微生物的增殖提供了条件,进而可能增加生活垃圾中微生物引起的健康风险。

目前国内外较多研究关注垃圾分类模式和管理、垃圾分类行为的影响因素及垃圾处理方法等,少有研究关注垃圾中的微生物特征及其引起的不良健康效应。一些国内外研究发现,从事垃圾分类作业或垃圾处理工作可能会造成相关人员呼吸道感染^[2]、肺功能受损^[3]、胃肠道疾病^[4]、皮肤病^[5-6]等。另有研究发现,垃圾回收者的呼吸道症状发生率明显高于普通民众^[7]。研究提示这些症状可能是接触空气中或垃圾表面的大量微生物与内毒素所致^[8]。此外,研究者发现垃圾填

埋场周边空气、土壤中存在多种潜在致病菌,可能构成健康风险^[9-10]。目前,相较源投放、分拣等环节,终端处理环节得到较多关注。研究发现,国内多地垃圾处理终端填埋场覆盖土和填埋层中下层土壤中的优势菌为变形菌门,且微生物多样性随填埋深度增加而降低^[11]。另有研究检测到手动分拣工作区域空气中细菌浓度明显高于其他工作环境^[12],也有研究分析了生活垃圾焚烧处理职业病危害风险控制措施^[13]。

与发达国家相比,我国的生活垃圾分类起步较晚,相关研究较少。目前,国内团队多关注生活垃圾填埋、焚烧等可能产生的化学、物理因素危害,对收集、分拣、转运等环节的微生物污染特征以及垃圾箱房、中转站、回收站等公众直接接触的潜在生物污染扩散源的研究均较少。相关的微生物研究多仅涉及菌落组成结构^[14],少有研究对垃圾中微生物特征进行深入的探索与评估。基于以上研究背景,在上海市全面实行垃圾分类的环境下,本课题组拟开展对市内典型小区生活垃圾微生物特征的研究,以有效识别其中微生物污染特征,保障源投放公众和垃圾分类作业人员的健康。本研究以上海市典型小区垃圾箱房的干、湿垃圾为研究对象,利用菌落计数和Illumina PE250高通量测序,解析夏、冬季垃圾的微生物生长规律,评估生活垃圾的微生物含量、丰富度、多样性及构成特征,进一步探索潜在致病菌以及环境因素对微生物组成的影响,以为民众投放生活垃圾及相关作业人员工作提供防护建议,为规避垃圾分类相关健康风险提供理论依据,为其他城市推进生活垃圾分类工作提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 采样小区的基本信息

采用纵向研究设计,选取上海市典型小区 A 的一个 24 h 生活垃圾投放点作为垃圾采样点, A 小区为 1994 年建成的典型老公房,位于上海市中心,小区人口组成丰富,老年、青壮年、幼年人口比例适当;居住水平属于上海中等水平,具有一定的代表意义。该小区共配备 4 个垃圾投放点、4 名垃圾分拣员,生活垃圾分类设施较完善,分类清理流程较规范。本研究以垃圾清运完毕为采样零时刻(9:00),严格采集 0、2、4、6、8、12 和 24 h 七个时间点的干、湿垃圾样本^[15],用于开展后续研究。在 2019 年 9 月(夏季)、2020 年 1 月(冬季)针对同一垃圾投放点分别采样一次。夏季样本采集当日温、湿度分别为(32.0±1.0)℃和 88.2%±3.0%,冬季样本采集当日温、湿度分别为(8.5±0.9)℃和 52.4%±1.4%。

1.2 生活垃圾样本的收集

随机选取固定桶中的常见干垃圾类型(如塑料制品、纸制品、玻璃制品、织物、陶瓷制品等),置于无菌垫巾上,用浸润生理盐水的棉拭子在干垃圾表面涂抹采样,利用规格板明确采样面积。用无菌吸管每次吸取固定桶的湿垃圾渗滤液 1~2 mL。每个时间点每类垃圾采集三份平行样。垃圾样本一部分保存于 4℃ 冰箱中用于总菌落计数(取样后 12 h 内完成)^[16],另一部分保存于-80℃,用于 16S rRNA 测序。

1.3 样品处理及微生物生长曲线的构建

使用 SCQ-数控加热超声波清洗机(上海声彦超声波仪器有限公司,中国)对所获得的干垃圾样本使用生理盐水(每份样本 10 mL)进行 40 kHz 超声洗脱 1 min,洗脱液也将用于后续 16S rRNA 检测。用生理盐水对所获得的湿垃圾样本分别进行 1:100、1:1000、1:10000 稀释,以选定适宜稀释倍数进一步实验。将处理好的干、湿垃圾样本(1 mL)接种至营养琼脂培养基上,以只有营养琼脂的无菌平皿作为空白对照,以加入等体积(1 mL)生理盐水的无菌平皿作为阴性对照,将培养皿在 36℃ 环境中培养 48 h 后,对其进行菌落计数(选取菌落数在 30~300 CFU 之间、无蔓延菌落生长的样本计算菌落总数)。使用 GraphPad Prism 8.0.2 绘制微生物生长曲线。

1.4 16S rRNA 测序及数据分析

结合各组微生物生长曲线,发现 8 h 时间点各样本微生物总数普遍处于较高水平,因此选取夏季干垃圾(summer dry waste, SD)、夏季湿垃圾(summer wet

waste, SW)、冬季干垃圾(winter dry waste, WD)和冬季湿垃圾(winter wet waste, WW)四组的 8 h 时间点垃圾样本,进行 16S rRNA 测序。

1.4.1 DNA 提取 使用试剂盒 E.Z.N.A.® Soil DNA Kit(Omega Bio-tek, 美国)^[17]抽提样本中的 DNA,完成后以 1%琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA^[18]。

1.4.2 PCR 扩增及产物的纯化 使用 PCR 扩增细菌 16S rRNA 基因 V3~V4 区,所用正向引物 341F 序列为 5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3',反向引物 806R 序列为 5'-GGACTACNNGGGTATCTAAT-3',利用 TransStart Fastpfu DNA Polymerase(TransGen Biotech, 中国)进行 PCR,使用的 PCR 仪为 ABI GeneAmp® 9700(Applied Biosystems, 美国)。使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen Biosciences, 美国)切胶回收 PCR 产物,用 Tris HCl 洗脱后,用 2%琼脂糖凝胶电泳检测同一样本 PCR 产物混合物^[19]。

1.4.3 文库构建及 Illumina PE250 测序 连接“Y”字形接头后用磁珠筛除接头自连片段,经 PCR 扩增富集文库模板,氢氧化钠变性处理,得到单链 DNA 片段,构建高通量测序文库,使用 Novaseq 6000(Illumina, 美国)进行 Illumina PE250 测序。

1.4.4 测序数据的优化处理 测序数据的优化处理参照先前研究:①过滤序列(read)尾部质量值 20 以下的碱基^[20];②据双向测序序列(PE reads)之间的交叠(overlap)关系,拼接成对序列,以 10 bp 为最小交叠长度;③以 0.2 为拼接序列交叠区允许的最大错配率,过滤不符合序列;④基于序列首尾两端的标签(barcode)和引物进行样品区分和序列方向调整,以 0 为标签允许的错配数,2 为最大引物错配数;⑤利用 gold 数据库和 Usearch 软件(Version 10),以 reference 和 denovo 结合的方式去除嵌合体^[21]。

1.4.5 生物信息分析 使用 Usearch 软件(Version 10)将优化处理后的测序数据进行分类单元(operational taxonomic units, OTU)划分,采用 RDP classifier 贝叶斯算法进行 OTU 代表序列(97%相似水平)分类学分析^[22],从界水平到属水平分别统计各样本的微生物群落组成。Silva(Release138.1)作为细菌和古菌核糖体比对数据库^[23]。使用 bray-curtis 算法进行群落组成的层次聚类分析,绘制样本聚类树图,阐明四组样本在门水平上的物种组成,分析四组样本微生物组成间的相似性和差异性。利用 α 多样性分析探究垃圾样本中微生物的多样性和丰富度,ACE 指数或 Chao 指数越大,表明样本中菌群丰富度越高;Shannon-Wiener 指数越大

或 Simpson 指数越小,说明群落多样性越高。采用基于 unweighted UniFrac 的主坐标分析,比较 SD、SW、WD、WW 四组间的 β 多样性,比较菌群结构差异。采用线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)($\alpha=0.05$)比较样本组间差异菌,使用非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验分析不同分组之间相对丰度有差异的物种,然后使用 Wilcoxon 秩和检验检测上一步筛选出的物种在不同组间子分组中的差异一致性,最后采用线性回归分析评估每个物种的相对丰度对差异效果影响的大小,最终可得到进化分枝图。LDA score 越大,代表该物种对四组间差异的影响效果越大;以 LDA score 大于 2.0 为标准,判断该物种组间差异是否具有统计学意义($P < 0.05$)。对各组中的差异菌种进一步进行文献查阅,以确定差异菌种致病性,并识别不同种类垃圾中的潜在致病菌及其健康风险。

1.5 统计学分析

所有数据均以 $\bar{x} \pm s_x$ 表示。利用 IBM SPSS Statistics 26 对 ACE 指数、Chao 指数、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数进行 Two-way ANOVA 检验,分析不同垃圾样本之间 α 多样性的差异,并用 GraphPad Prism 8.0.2 绘制柱状图。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 生活垃圾中的微生物生长曲线

通过菌落计数构建的微生物生长曲线显示,干、湿垃圾中的微生物数量相差较大,干垃圾表面微生物数量小于湿垃圾渗滤液。另外,两类垃圾的微生物生长曲线趋势有所不同,夏季干垃圾的微生物生长曲线为较典型的迟缓增长→对数急剧增长→平缓期→衰亡期(图 1A),而夏季湿垃圾中的微生物数量则以较稳定的速率持续减少(图 1B)。与此不同的是,冬季干垃圾的微生物生长曲线在 0~4 h 呈现急剧下降的趋势,后呈逐渐上升趋势(图 1C),而冬季湿垃圾的微生物生长曲线则仍可见对数急剧增长→平缓期→衰亡期的变化规律(图 1D),在 2 h 时间点达到峰值。季节对比分析发现,夏季干垃圾微生物数量明显高于冬季干垃圾,两组垃圾均在 4 h 时间点出现最小值;而冬季湿垃圾微生物数量明显比夏季湿垃圾多,其中 4~24 h 期间两组样本微生物数量变化趋势类同。

2.2 不同生活垃圾中微生物的 α 和 β 多样性指标

ACE 和 Chao 指数显示,四组垃圾的丰富度顺序为夏季湿垃圾 > 冬季湿垃圾 > 夏季干垃圾 > 冬季干垃圾,就同季节而言,湿垃圾中的菌群丰富度高于干垃圾;

就同种垃圾而言,夏季垃圾中的菌群丰富度高于冬季(图 2A、B)。另外,同季节湿垃圾的 Shannon-Wiener 指数大于干垃圾,夏季湿垃圾的 Simpson 指数小于夏季干垃圾,说明湿垃圾中的群落多样性更高(图 2C、D)。季节对干垃圾中的菌落多样性影响较小(Simpson 指数和 Shannon-Wiener 指数差异均无统计学意义),但会影响湿垃圾中的菌落多样性;相较于夏季,冬季湿垃圾中的菌落多样性下降(Shannon-Wiener 指数下降, Simpson 指数升高,见图 2C、D)。

基于 unweighted UniFrac 的主坐标分析结果表明(见图 2E),各组之间距离较远,分散度较好,而组内距离较小,说明组间具有差异性,组内样本重复性好,反映生活垃圾在不同季节时的微生物组成的差异性,干、湿垃圾之间也存在一定差异。

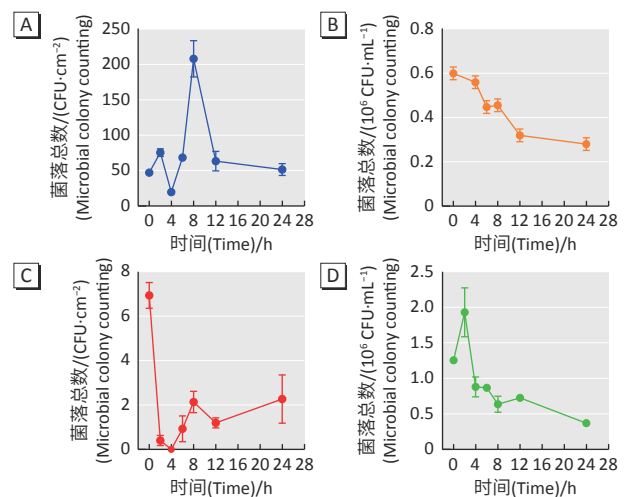


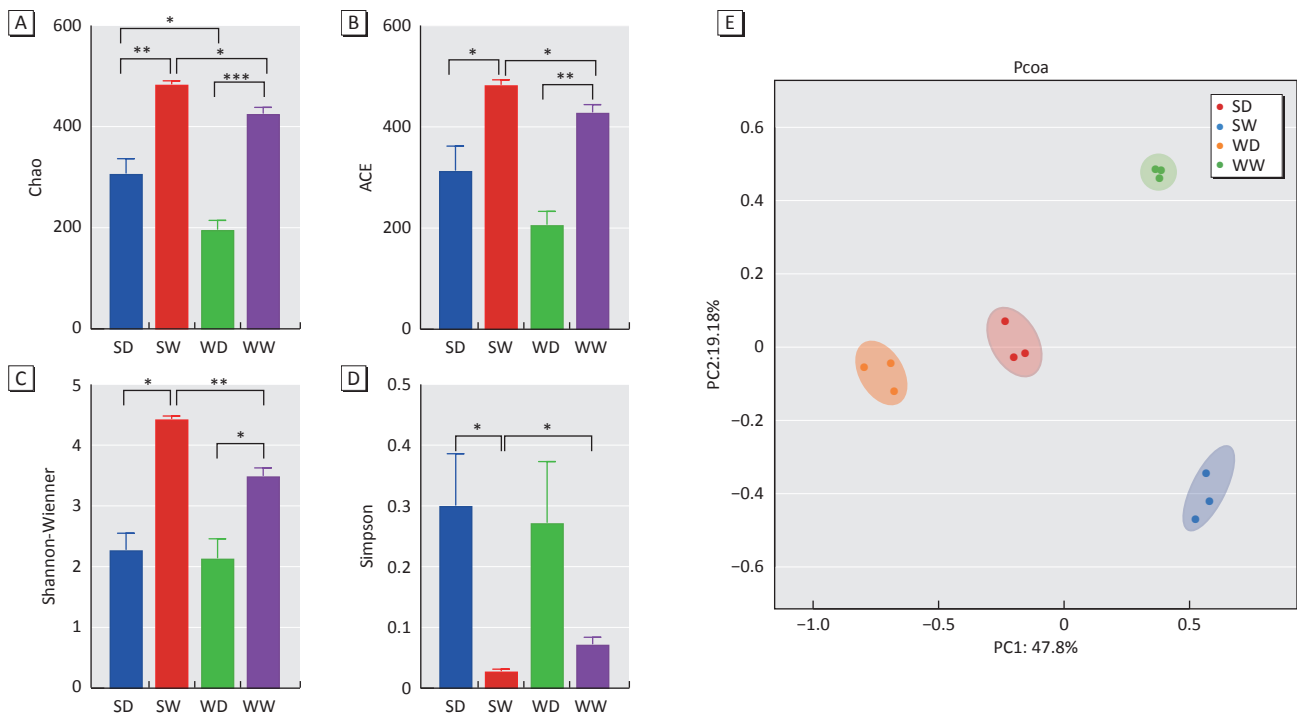
图 1 基于菌落计数得到的上海典型小区夏季干垃圾(A)、夏季湿垃圾(B)、冬季干垃圾(C)及冬季湿垃圾(D)的微生物生长曲线

Figure 1 Growth trajectory of microorganisms in summer dry waste (A), summer wet waste (B), winter dry waste (C), and winter wet waste (D) of a typical residential complex in Shanghai based on microbial colony counting

2.3 不同生活垃圾微生物群落组成差异及聚类分析

在门水平上,四组垃圾样本中的微生物群落均以变形菌门为主,平均占比分别为 88.74%(SD)、54.50%(SW)、75.67%(WD)和 90.13%(WW)。其次是厚壁菌门或拟杆菌门,其中 SW 组中厚壁菌门的占比最高(35.62%),而在其他三组中分别占 7.41%(SD)、0.07%(WD)、6.89%(WW)。

层次聚类分析表明(图 3),所有样本聚类为三大类:夏季湿垃圾、冬季湿垃圾和干垃圾(夏季和冬季)。提示干、湿垃圾中的微生物群落组成存在差异,且湿垃圾中的微生物群落对环境因素可能更敏感。



[注] SD: 夏季干垃圾; SW: 夏季湿垃圾; WD: 冬季干垃圾; WW: 冬季湿垃圾。*, **, ***: $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$ 。
[Note] SD: Summer dry waste; SW: Summer wet waste; WD: Winter dry waste; WW: Winter wet waste. *, **, ***: $P < 0.05$, $P < 0.01$, $P < 0.001$.
图2 上海典型小区不同季节干湿垃圾中微生物的 Chao 指数 (A)、ACE 指数 (B)、Shannon-Wiener 指数 (C)、Simpson 指数 (D) 对比和基于 unweighted UniFrac 的主坐标分析二维图 (E)
Figure 2 The comparison of Chao (A), ACE (B), Shannon-Wiener (C), and Simpson (D) indexes of microorganisms in waste in different seasons and waste classifications, and principal coordinate analysis result using unweighted UniFrac values (E) of a typical residential complex in Shanghai

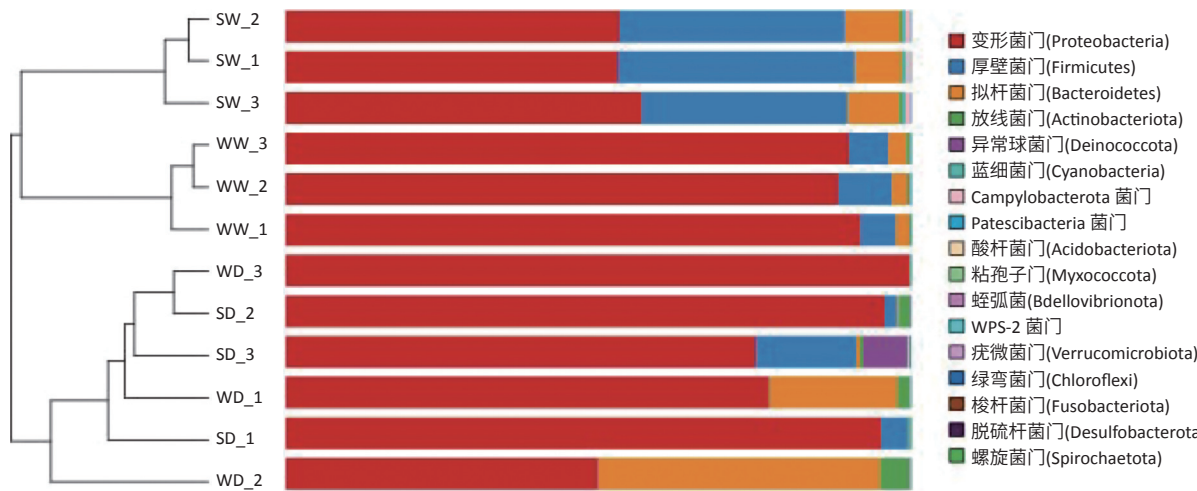


图3 上海典型小区不同生活垃圾样本中微生物群落的聚类树与柱状图组合分析
Figure 3 The clustering tree and histogram of microorganisms in different domestic waste samples of a typical residential complex in Shanghai

2.4 不同生活垃圾中的微生物差异分析

对 SD/SW/WD/WW 四组样本微生物进行 LEfSe 分析, 结果见图 4。图 4 中不同颜色分别表示在不同组别中起重要作用的微生物类群, 从内到外的各个节点依次展示了从界到属水平的微生物, 其中红色、绿色、蓝色、紫色节点分别表示 SD、SW、WD、WW 组中具

有主要影响力的菌 (LDA 得分大于 2.0), 即这些菌属于该类垃圾微生物特征组成成分。
针对每种垃圾的特征菌, 通过查找文献及多方对比, 逐一筛查特征菌的致病性, 在属水平上共识别了生活垃圾中的 48 种潜在致病菌, 具体信息详见补充材料表 S1。

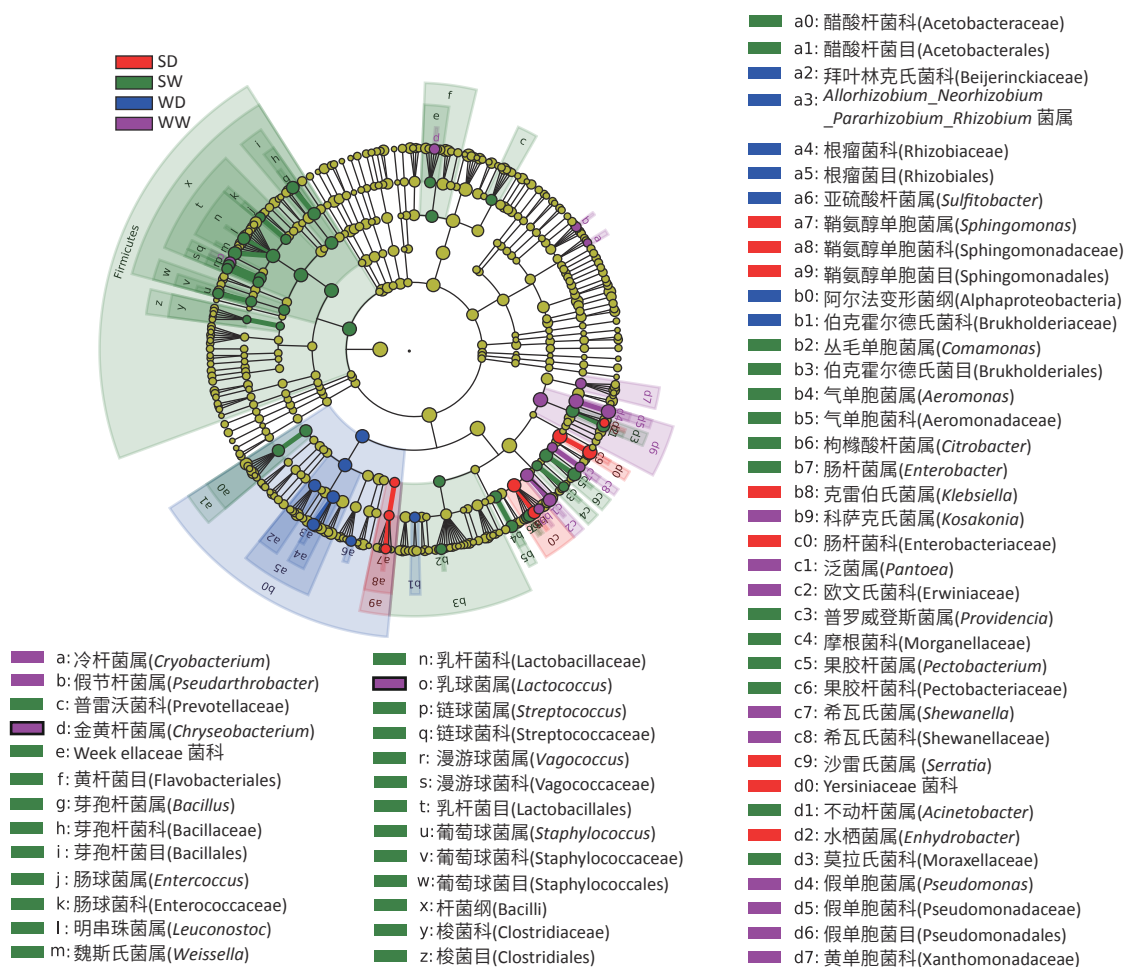


图 4 上海典型小区夏季和冬季干、湿垃圾四组 LEfSe 分析进化分枝图

Figure 4 The LEfSe analysis result of microorganisms in summer dry waste, summer wet waste, winter dry waste, and winter wet waste of a typical residential complex in Shanghai

3 讨论

本研究初步解析了上海市典型小区生活垃圾中的微生物特征,主要结果为:1)夏季干垃圾中微生物数量明显高于冬季干垃圾,而湿垃圾相反;2)不同种类生活垃圾中微生物的 α 和 β 多样性具有差异;3)各组生活垃圾中的微生物均以变形菌门为主,其次为厚壁菌门或拟杆菌门,其中,夏季干垃圾与冬季干垃圾微生物组成最接近;4)在属水平共发现48种差异菌存在潜在致病风险。

基于上海市典型小区垃圾箱房生活垃圾的微生物特征分析结果显示,夏季干垃圾中微生物数量高于冬季,而湿垃圾则相反,且在同样环境变化下,干垃圾和湿垃圾中的微生物数量变化趋势明显不同。这一结果可能与干、湿垃圾微生物群落组成不同有关。Hellberg等^[24]2016年研究发现气温、降水等气候因素会影响微生物在环境中的扩散和存活持久性,部分微生物如沙门氏菌、耶尔森菌在较高温度下存活率较

低^[25],部分微生物如大肠杆菌、沙门氏菌等会依赖于风扩散传播^[26-27]。此外,本研究中冬季干垃圾中的微生物数量较少,且不见对数生长期,可能是由于垃圾储存在家中时微生物含量已达峰值,在被转移至小区垃圾投放点后,受冬季气候影响,干垃圾中的微生物繁殖相对受限。夏季湿垃圾微生物也呈逐渐减少趋势,但是微生物含量较高,因此夏季湿垃圾微生物达到峰值时可能仍留在居民家中,增加对居民的健康风险,建议居民应尽早将垃圾转移。另外,夏、冬季干垃圾样本在4h时间点均出现微生物数量的下降,可能是因为温、湿度变化引起特定菌群减少(如沙门氏菌、真菌等)^[28]。本研究中,夏、冬季干垃圾表面菌落数峰值分别约为200、10 CFU·cm⁻²,夏、冬季湿垃圾渗滤液菌落数峰值分别达6×10⁵、2×10⁶ CFU·mL⁻¹。2019年一项基于东莞市中心垃圾回收站的研究发现,冬季电动车垃圾桶表面检出细菌总数最多达5 CFU·cm⁻²,垃圾渗滤液中细菌总数达1000 CFU·mL⁻¹^[29],与本研究结果趋势

一致。此外,手动分拣工作区域、终端填埋场、中转站等区域也存在一定的微生物风险。例如,1995年德国一垃圾分类工厂人工分拣带的空气中总细菌达 $14\,700\text{ CFU}\cdot\text{m}^{-3}$ ^[12],中国一垃圾填埋场渗滤液处理区空气中细菌含量平均为 $9\,460\text{ CFU}\cdot\text{m}^{-3}$,工作区空气中细菌浓度为 $(5\,437\pm 572)\text{ CFU}\cdot\text{m}^{-3}$ ^[30]。

依据 α 多样性指数分析,发现夏季垃圾微生物群落的多样性和丰富度均高于冬季,说明夏季生活垃圾的潜在致病风险可能更高。另外,各组垃圾中微生物在门水平上的优势菌均为变形菌门,与其他相关研究结果一致^[31],2005年一项基于海滨垃圾填埋场的研究发现,地下水样品中的微生物也以变形菌门为主(63.5%),其次为拟杆菌门(20.3%)^[32]。夏季垃圾微生物群落中厚壁菌门丰度较冬季垃圾微生物群落高,可能与溶解氧含量差异有关,2019年一研究对某湖泊沉积物细菌菌落测序发现,溶解氧含量增加会降低厚壁菌的丰度^[33]。由于湿垃圾以厨余类垃圾为主^[34],含大量食物残渣,硝酸盐含量较高^[35],厚壁菌门能够在厌氧条件下进行反硝化反应,硝酸盐含量的增加会促进其丰度增加^[36]。此外,温度和营养状况也会促进微生物群落结构发生改变,并且对细菌丰度变化产生较大影响^[37]。

基于LEfSe分析结果,结合文献查阅,共筛查出属水平上生活垃圾中48种具有潜在致病风险的差异菌,主要引起败血症、脑膜炎、菌血症、肺炎、心内膜炎、皮肤感染等,少数差异菌还可能造成破伤风、炭疽、鼠疫、阴道感染、淋病和中枢神经系统感染等。48种具有潜在致病风险的差异菌中,有15种可直接经呼吸道吸入感染,9种可经皮肤或伤口感染,16种可经口感染,另有一些感染途径尚不明确,多为机会致病菌。其中,假单胞菌属、泛菌属相对丰度较高,尤其是在冬季湿垃圾中。夏季干垃圾中相对丰度较高的是克雷伯氏菌属、沙门氏菌属、不动杆菌属和肠杆菌属。2017年广东省一相关研究也提示垃圾清运及接收处克雷伯菌属和沙门氏菌属等可能对作业人员产生急慢性危害^[38]。国外的一些研究也表明生活垃圾中存在较多潜在污染源,可能引起呼吸系统、消化系统和皮肤感染等。如2006年芬兰某垃圾处理厂报道部分员工有较明显的干咳和皮疹症状^[39];另外,部分生活垃圾分类工作人员出现有机粉尘综合征(咳嗽、胸闷、呼吸困难等)和胃肠道症状以及皮肤、眼睛和上呼吸道黏膜刺激等症状^[40]。

本研究存在一定局限性:由于时间与条件所限,本研究未能对所有时间点样本进行微生物结构分析,

未能深入解析各种潜在致病微生物随时间的变化趋势;本次仅选取了老公房这一类小区,尚未对其他档次小区开展分析对比,无法全面反映各档次小区生活垃圾中微生物的特征及差异;采样小区为上海市典型小区,但全国各省市气候、生活垃圾分类政策等存在差异,因此本研究结论的外推性受限;此外,本研究随机选取了一典型小区的一个垃圾投放点开展采样,所分析的样本量有限,小区人口结构的波动性,特定饮食的季节性,采样时期的环境因素,垃圾投放习惯等都可能对结果的偏倚。

综上,本研究结果显示不同季节的干、湿生活垃圾具有不同的微生物结构特征,存在不同的潜在致病微生物,结合相关研究,提示针对不同种类生活垃圾需采取不同的防范措施以防控相应健康危害。

参考文献

- [1] 上海市统计局,国家统计局上海调查总队. 2020年上海市国民经济和社会发展统计公报[J]. 统计科学与实践, 2021(3): 12-23.
Shanghai 2020 national economic and social development statistical bulletin[J]. Stat Theory Pract, 2021(3): 12-23.
- [2] KRAJEWSKI JA, SZARAPIŃSKA-KWASZEWSKA J, DUDKIEWICZ B, et al. Assessment of exposure to bioaerosols in workplace ambient air during municipal waste collection and disposal[J]. Med Pr, 2001, 52(6): 417-422.
- [3] KULKARNI MS, PINGALE DP. Effects of occupational exposures on the lung functions and quality of life of garbage collectors in the urban area[J]. Indian J Occup Environ Med, 2019, 23(3): 102-105.
- [4] KRAJEWSKI JA, TARKOWSKI S, CYPROWSKI M. Hazardous health effects in communal waste collection and disposal workers[J]. Med Pr, 2000, 51(2): 159-172.
- [5] MEGNA M, NAPOLITANO M, COSTA C, et al. Waste exposure and skin diseases[J]. G Ital Dermatol Venereol, 2017, 152(4): 379-382.
- [6] DOREVITCH S, MARDER D. Occupational hazards of municipal solid waste workers[J]. Occup Med, 2001, 16(1): 125-133.
- [7] WOUTERS IM, HILHORST SKM, KLEPPE P, et al. Upper airway inflammation and respiratory symptoms in domestic waste collectors[J]. Occup Environ Med, 2002, 59(2): 106-112.
- [8] SIGSGAARD T, MALMROS P, NERSTING L, et al. Respiratory disorders and atopy in Danish refuse workers[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1994, 149(6): 1407-1412.
- [9] ODONKOR ST, MAHAMI T. Microbial air quality in neighborhoods near landfill sites: implications for public health[J]. J Environ Public Health, 2020, 2020: 4609164.
- [10] KALWASIŃSKA A, BURKOWSKA A. Municipal landfill sites as sources of microorganisms potentially pathogenic to humans[J]. Environ Sci Process Impacts, 2013, 15(5): 1078-1086.
- [11] 何芝, 赵天涛, 邢志林, 等. 典型生活垃圾填埋场覆盖土微生物群落分析[J]. 中国环境科学, 2015, 35(12): 3744-3753.
HE Z, ZHAO TT, XING ZL, et al. Analysis of bacterial community composition in landfill cover soil[J]. China Environ Sci, 2015, 35(12): 3744-3753.

- [12] JAGER E, RÜDEN H, ZESCHMAR-LAHL B. Air microbial burden at garbage sorting facilities[J]. Zentralbl Hyg Umweltmed, 1995, 197(5): 398-407.
- [13] 石峻岭, 陈健, 吴世达. 生活垃圾焚烧作业职业病危害风险控制措施及其优先顺序研究[J]. 环境与职业医学, 2013, 30(6): 475-478.
SHI J L, CHEN J, WU S D. Risk control measures and related priority for occupational hazards during domestic refuse incineration[J]. J Environ Occup Med, 2013, 30(6): 475-478.
- [14] 苏月, 吴双, 夏孟婧, 等. 北京市大屯垃圾转运站渗滤液微生物群落分析[J]. 环境科学与技术, 2018, 41(2): 157-163.
SU Y, WU S, XIA M J, et al. Microbial community of leachate in Datun solid waste transfer station, Beijing[J]. Environ Sci Technol, 2018, 41(2): 157-163.
- [15] STERNIŠA M, SABOTIČ J, KLANČNIK A. A novel approach using growth curve analysis to distinguish between antimicrobial and anti-biofilm activities against Salmonella[J]. Int J Food Microbiol, 2022, 364: 109520.
- [16] 龙焰, 沈东升, 劳慧敏, 等. 生活垃圾填埋场不同粒径垃圾中微生物的分布特征[J]. 环境科学学报, 2007, 27(9): 1485-1490.
LONG Y, SHEN D S, LAO H M, et al. The distribution of microorganisms in various granules from aged landfill refuse[J]. Acta Sci Circumst, 2007, 27(9): 1485-1490.
- [17] LIU Z, SUN D, TIAN H, et al. Enhancing biotreatment of incineration leachate by applying an electric potential in a partial nitrification-Anammox system[J]. Bioresour Technol, 2019, 285: 121311.
- [18] 陈青霞. Illumina高通量测序技术观察剖宫产儿肠道微生物群的演替[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2015.
CHEN Q X. Characterize the succession of gut microbiota of caesarean infants with high throughput sequencing technology[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2015.
- [19] 陆颖影. 肠道菌群构成变化与结肠腺瘤发生关系的研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2016.
LU Y Y. The interactions between structural change of intestinal microbiota and development of colorectal adenoma[D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2016.
- [20] ZHOU Q, SU X Q, JING G C, et al. RNA-QC-chain: comprehensive and fast quality control for RNA-Seq data[J]. BMC Genomics, 2018, 19(1): 144.
- [21] 马嘉阳. 绝经后女性阴道微生态菌群及其与经阴道益生菌干预相关性研究[D]. 北京: 北京协和医学院, 2019.
MA J Y. Study on vaginal microecological flora of postmenopausal women and its correlation with transvaginal probiotic intervention[D]. Beijing: Peking Union Medical College, 2019.
- [22] WANG W, ZHOU J, CHEN M, et al. Exposure to concentrated ambient PM_{2.5} alters the composition of gut microbiota in a murine model[J]. Part Fibre Toxicol, 2018, 15(1): 17.
- [23] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Res, 2012, 41(D1): D590-D596.
- [24] HELLBERG R S, CHU E. Effects of climate change on the persistence and dispersal of foodborne bacterial pathogens in the outdoor environment: a review[J]. Crit Rev Microbiol, 2016, 42(4): 548-572.
- [25] ASADISHAD B, GHOSHAL S, TUFENKJI N. Role of cold climate and freeze-thaw on the survival, transport, and virulence of *Yersinia enterocolitica*[J]. Environ Sci Technol, 2013, 47(24): 14169-14177.
- [26] ROSAS I, SALINAS E, YELA A, et al. Escherichia coli in settled-dust and air samples collected in residential environments in Mexico City[J]. Appl Environ Microbiol, 1997, 63(10): 4093-4095.
- [27] MILLER M F, LONERAGAN G H, HARRIS D D, et al. Environmental dust exposure as a factor contributing to an increase in *Escherichia coli* O157 and *Salmonella* populations on cattle hides in feedyards[J]. J Food Prot, 2008, 71(10): 2078-2081.
- [28] 肖新云, 赵先平, 王永华, 等. 空气中微生物的分布规律研究[J]. 中国微生物生态学杂志, 2015, 27(4): 406-408, 416.
XIAO X Y, ZHAO X P, WANG Y H, et al. The characteristics of the distribution of microbes in the air[J]. Chin J Microecol, 2015, 27(4): 406-408, 416.
- [29] 黄晋, 李荣宗, 罗彩凤. 某乡镇垃圾回收站冬季环卫作业细菌污染情况抽样调查[J]. 中国校医, 2019, 33(5): 323-324, 339.
HUANG J, LI R Z, LUO C F. Sampling survey of bacterial contamination of winter sanitation work in township garbage collection stations[J]. Chin J Sch Doct, 2019, 33(5): 323-324, 339.
- [30] 马嘉伟, 杨凯雄, 柴风光, 等. 生活垃圾填埋场细菌气溶胶粒径分布及种群特征[J]. 环境科学, 2019, 40(8): 3470-3476.
MA J W, YANG K X, CHAI F G, et al. Particle size distribution and population characteristics of airborne bacteria emitted from a sanitary landfill site[J]. Environ Sci, 2019, 40(8): 3470-3476.
- [31] GUPTA R S. The phylogeny of proteobacteria: relationships to other eubacterial phyla and eukaryotes[J]. FEMS Microbiol Rev, 2000, 24(4): 367-402.
- [32] TIAN Y J, YANG H, WU X J, et al. Molecular analysis of microbial community in a groundwater sample polluted by landfill leachate and seawater[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2005, 6(3): 165-170.
- [33] ZHANG L, ZHAO T, SHEN T, et al. Seasonal and spatial variation in the sediment bacterial community and diversity of Lake Bosten, China[J]. J Basic Microbiol, 2019, 59(2): 224-233.
- [34] 奚慧. 上海市生活垃圾全程分类体系建设现状分析及对策建议[J]. 环境卫生工程, 2020, 28(3): 80-85.
XI H. Analysis on the construction status and countermeasures and suggestion of whole-process classification system of MSW in Shanghai[J]. Environ Sanit Eng, 2020, 28(3): 80-85.
- [35] CHOY S Y, WANG K, QI W, et al. Co-composting of horticultural waste with fruit peels, food waste, and soybean residues[J]. Environ Technol, 2015, 36(11): 1448-1456.
- [36] LUO J, LIANG H, YAN L, et al. Microbial community structures in a closed raw water distribution system biofilm as revealed by 454-pyrosequencing analysis and the effect of microbial biofilm communities on raw water quality[J]. Bioresour Technol, 2013, 148: 189-195.
- [37] TANG X, LI L, SHAO K, et al. Pyrosequencing analysis of free-living and attached bacterial communities in Meiliang Bay, Lake Taihu, a large eutrophic shallow lake in China[J]. Can J Microbiol, 2015, 61(1): 22-31.
- [38] 李荣宗, 陈惠清, 徐绮庆, 等. 城市生活垃圾清运及接收作业常见肠杆菌科细菌危害识别与预防控制[J]. 中国卫生工程学, 2017, 16(2): 121-124, 128.
LI R Z, CHEN H Q, XU Q Q, et al. Identification, prevention and control of the common Enterobacteriaceae hazards in municipal solid waste collection, cleaning, transportation and storage workplace[J]. Chin J Public Health Eng, 2017, 16(2): 121-124, 128.
- [39] TOLVANEN O K, HÄNNINEN K I. Mechanical-biological waste treatment and the associated occupational hygiene in Finland[J]. Waste Manag, 2006, 26(10): 1119-1125.
- [40] POULSEN O M, BREUM N O, EBBEHØJ N, et al. Sorting and recycling of domestic waste. Review of occupational health problems and their possible causes[J]. Sci Total Environ, 1995, 168(1): 33-56.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 陈姣, 丁瑾瑜)