

А. И. Жабровская, О. А. Емельянова, Н. В. Дудчик

АПРОБАЦИЯ МЕТОДОВ ВЫЯВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ ВИДА *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* В ВОЗДУШНОЙ СРЕДЕ ПОМЕЩЕНИЙ ОРГАНИЗАЦИЙ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ В МОДЕЛЬНОМ ЭКСПЕРИМЕНТЕ

*РУП «Научно-практический центр гигиены», г. Минск,
Республика Беларусь*

*В данной статье приведены результаты апробации методов выявления бактерий вида *Staphylococcus aureus* в воздушной среде помещений организаций здравоохранения в модельном эксперименте в закрытом ламинарном боксе с использованием типовых штаммов микроорганизмов и изолятов, выделенных в ходе мониторинга воздушной среды.*

Испытания проводились в лаборатории микробиологии республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены» в 1 квартал 2021 г. – 2 квартал 2021 г.

*Установлено, что оптимальный объем отбираемого воздуха для контроля соблюдения гигиенического норматива по содержанию для *Staphylococcus aureus* в 1 м³ составляет 500 дм³ на 2 чашки.*

Данное количество отбираемого воздуха позволило осуществлять подсчет колоний с учетом их морфологии.

Ключевые слова: *воздух, организации здравоохранения, закрытый ламинарный бокс, стафилококк.*

A. I. Zhabrouskaya, O. A. Emeliyanova, N. V. Dudchik

APPROBATION OF METHODS FOR DETECTING BACTERIA OF THE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* SPECIES IN THE AIR ENVIRONMENT OF THE PREMISES OF HEALTHCARE ORGANIZATIONS IN A MODEL EXPERIMENT

*This article presents the results of testing methods for detecting bacteria of the *Staphylococcus aureus* species in the air environment of healthcare facilities in a model experiment in a closed laminar flow hood using typical strains of microorganisms and isolates isolated during air monitoring.*

The tests were carried out in the microbiology laboratory of Republican unitary enterprise “Scientific practical centre of hygiene” in the 1st quarter of 2021 – the 2nd quarter of 2021.

*It has been established that the optimal volume of air taken to monitor compliance with the hygienic standard for *Staphylococcus aureus* in 1 m³ is 500 dm³ per 2 cups.*

This amount of sampled air will allow the counting of colonies, taking into account their morphology.

Key words: *air, healthcare organizations, closed laminar box, staphylococcus.*

По данным Всемирной организации здравоохранения *Staphylococcus aureus* стоит во главе списка бактерий, которыми наиболее часто заражаются в больницах. Стафилококк является причиной множества заболеваний человека, включая сердечные (эндокардит и перикардит), опорно-двигательного аппарата (остеомиелит и инфекцион-

ный артрит). При поражении слизистых развиваются конъюнктивиты, стоматиты, отиты и энтериты. На коже и в мягких тканях стафилококк способствует появлению фурункулов, карбункулов, пиодермий, абсцессов, флегмон, панарициев и целлюлитов. Инфицирование может также происходить при нарушении обычных правил гигиены. Увеличение ко-

личества заболеваний, в развитии которых принимают участие стафилококки, объясняется уменьшением действия антибактериальных препаратов по отношению к микроорганизмам и изменением свойств возбудителей, ослаблением иммунитета в условиях техногенного прессинга, при этом болезнь нередко принимает затяжное течение [1].

Огромный риск инфицирования стафилококком при использовании внутривенных катетеров и других медицинских устройств, контактирующих с внутренней средой организма. Фактором риска является и искусственная вентиляция легких [2, 3].

Поэтому своевременное обнаружение источников микробного загрязнения, а также контроль микробной контаминации воздуха помещений организаций здравоохранения разных классов чистоты может обеспечить принятие необходимых мер, направленных на предупреждение распространения болезней и является важным компонентом в системе мероприятий профилактики заболеваний человека, вызываемых микроорганизмами [4].

В настоящее время количество колоний *Staphylococcus aureus* в 1 м³ воздуха в организациях здравоохранения регламентируются гигиеническим нормативом «Допустимые значения санитарно-микробиологических показателей воздушной среды помещений учреждений здравоохранения разных классов чистоты» (утв. постановлением Министерства здравоохранения от 5 июля 2017 г. № 73), а также с 6 июня 2021 г. вступило в силу постановление Совета Министров Республики Беларусь от 25 января 2021 г. № 37 «Об утверждении гигиенических нормативов». Для контроля выполнения гигиенических нормативов разработаны методы выявления *Staphylococcus aureus* в воздушной среде помещений организаций здравоохранения [5].

Цель исследования. Моделирование микробных аэрозолей для апробации методов выявления бактерий вида *Staphylococcus aureus* в воздушной среде помещений организаций здравоохранения.

Материалы и методы

Перед проведением модельного эксперимента пробы воздуха отбирали в помещениях организаций здравоохранения перед началом рабочего дня, а также во время работы в присутствии сотрудников организации здравоохранения и пациентов. Для отбора проб воздуха аспирационным методом использовали пробоотборник воздуха SAS SUPER 100 (PBI International, Италия), 219 отверстий в аспирационной насадке пробо-

отборника, объем отбираемого воздуха составил 250–1000 дм³.

При отборе воздуха в объеме 1000 дм³ на чашках Петри наблюдался обильный рост микроорганизмов, сходных по морфологии со стафилококком. Проведенная видовая идентификация позволила установить, что данные микроорганизмы являлись представителям родов *Staphylococcus*, *Kocuria* и *Micrococcus* обитающие на кожных покровах и слизистых человека. Однако, большое число колоний вызывало затруднение при подсчете их числа, а также не позволяло визуализировать зоны лецитиназной активности, являющиеся одним из дифференциально-диагностических признаков вида *Staphylococcus aureus*.

При отборе 250 дм³ воздуха эти затруднения не отмечались, однако подобный подход на практике имел ряд недостатков, таких, как повышение расхода питательных сред и лабораторной посуды, увеличение времени отбора. Так как для отбора 1000 дм³ воздуха требовалось взять 4 пробы по 250 дм³, соответствующее число чашек Петри было необходимо поместить в аспиратор. Процедура замены чашки в приборе была связана со снятием крышки аспиратора, обработкой пробоотборника дезинфицирующими средствами и дополнительными манипуляциями для поддержания асептических условий, что продлевало процесс отбора воздуха на 3–5 мин. Таким образом, было установлено, что оптимальный объем отбираемого воздуха для контроля соблюдения гигиенического норматива по содержанию для *Staphylococcus aureus* в 1 м³ составлял 500 дм³ на 2 чашки. Данное количество отбираемого воздуха позволяло осуществлять подсчет колоний с учетом их морфологии.

Для получения дополнительной информации о возможности микробиологического загрязнения поверхностей, медицинского оборудования, операционного поля, изделий медицинского назначения бактериями вида *Staphylococcus aureus*, присутствующими в воздухе использовали седиментационный способ. Однако данный способ фактически является качественным, так как полученные с его помощью результаты не могут быть использованы при расчете количества *Staphylococcus aureus* в единице объема воздуха помещения.

Контроль микробной обсемененности воздуха помещений позволил установить количество отбираемых проб воздуха в зависимости от площади помещения: 1 проба воздуха в помещениях до 15 м² и не менее 2 проб воздуха в помещениях от 15 м².

В наших исследованиях было использовано 3 селективные питательные среды: Байрд-Паркер агар, желточно-солевой агар и маннит-солевой агар, а также 2 неселективные питательные среды: МПА и ТСА. На среде Байрд-Паркер бактерии вида *Staphylococcus aureus* росли в виде черных блестящих выпуклых колоний диаметром 1–1,5 мм, окруженных прозрачной зоной лецитиназной активности. На желточно-солевом агаре *Staphylococcus aureus* образовывал круглые, слегка возвышающиеся над поверхностью агара колонии с ровными краями диаметром 2–2,5 мм, окрашенные в желтый или белый цвет, окруженные прозрачной зоной лецитиназной активности. На маннит-солевом агаре колонии, окруженные желтыми зонами, свидетельствовали о способности *Staphylococcus aureus* ферментировать маннит.

На недифференцированных средах МПА и ТСА помимо характерных для *Staphylococcus aureus* округлых колоний желтого и белого цвета, отмечался рост схожих по морфологии колоний, принадлежащих к видам микроорганизмов, обитающих на коже человека, таких как *K. rhizophila*, *S. epidermidis*, *M. luteus*. Также наблюдался рост колоний сапрофитных бактерий; ползучих колоний споровых микроорганизмов, плесневых и дрожжевых грибов.

Вышеперечисленное позволило обосновать перечень питательных сред, объемы отбираемого воздуха, а также способы отбора проб воздуха.

В закрытом ламинарном боксе создавали аэрозоль микроорганизмов из суспензии плотностью 10^3 КОЕ/мл. Создание мелкодисперсного жидкого микробного аэрозоля проводили путем поэтапного последовательного распыления с помощью небулайзера в течение 1 минуты [6]. Для проведения исследований использовали штаммы *S. aureus* ATCC 6538, изолят *S. aureus* ЦГЛМ-1-2019 и смесь штаммов, выделенных в ходе мониторинга воздушной среды помещений организаций здравоохранения.

Для приготовления смеси штаммов использовали суточные культуры микроорганизмов. Штаммы отсеивали на мясопептонный агар с 0,1 % глюкозы и 0,2 % дрожжевого экстракта и инкубировали в термостате при 37 ± 1 °C в течение 18–24 часов. Для получения смеси штаммов в 100 мл фосфатно-буферного раствора вносили суспензию монокультур в равных долях (по 0,1 мл) и выдерживали при комнатной температуре в течение 24 ч. Конечная концентрация микроорганизмов в суспензии составляла 10^3 КОЕ/мл.

В модельном эксперименте проводили отбор проб воздуха в количестве 500 дм³ при помощи пробоотборника воздуха SAS SUPER 100 (PBI International, Италия) на поверхность Байрд-Паркер агара, желточно-солевого агара и маннит-солевого агара.

Перед каждым отбором воздуха аспиратор обрабатывали спиртом и устанавливали подготовленную чашку Петри со средой, прибор закрывали, не допуская соприкосновения снимаемой с чашки крышки прибора со средой.

После отбора пробы воздуха пробоотборник открывали, быстро снимали чашку Петри и закрывали крышкой от данной чашки. Чашки Петри помещали в термостат и инкубировали при температуре (37 ± 1) °C. Результаты учитывали в два этапа. Первый этап проводили через 48 ч с начала инкубации. Если подсчет вызывал затруднение из-за слабовыраженного роста колоний, то термостатирование продлевали еще на 24 ч.

Результаты и обсуждение

Испытания в закрытом ламинарном боксе показали, что при объеме отбираемого воздуха 500 дм³ между двумя операторами получилась высокая сходимость результатов.

Перерасчет количества выросших колоний на каждой чашке Петри в количество микроорганизмов в отобранном объеме воздуха осуществляют с использованием таблицы коррекции подсчета колоний, приведенной в руководстве пользователя к пробоотборнику воздуха.

Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха приведены в таблицах 1–12.

На агаризованной среде Байрд-Паркер бактерии вида *Staphylococcus aureus* росли в виде черных блестящих выпуклых колоний диаметром 1–1,5 мм, окруженных прозрачной зоной лецитиназной активности.

На желточно-солевом агаре бактерии вида *Staphylococcus aureus* образовали круглые, слегка возвышающиеся над поверхностью агара колонии с ровными краями диаметром 2–2,5 мм, окрашенные в желтый или белый цвет, окруженные прозрачной зоной лецитиназной активности.

На маннит-солевом агаре колонии, окруженные желтыми зонами, свидетельствовали о способности *Staphylococcus aureus* ферментировать маннит.

После инкубации чашек Петри с селективной средой Байрд-Паркер агар, на которые распылялся

Таблица 1. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ATCC 6538

Номер отбора	Оператор А		Оператор В	
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)
№ 1	114	160	122	178
№ 2	112	156	118	169
№ 3	109	150	110	152
№ 4	109	150	126	187
№ 5	126	187	98	130
№ 6	97	128	118	169
№ 7	123	180	130	196
№ 8	125	185	114	160
№ 9	112	156	122	178
№ 10	107	146	98	130

Таблица 2. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ЦГЛМ-1-2019

Номер отбора	Оператор А		Оператор В	
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)
№ 1	92	119	109	150
№ 2	89	114	93	121
№ 3	100	133	98	130
№ 4	89	114	79	98
№ 5	95	124	80	99
№ 6	84	106	90	116
№ 7	90	116	95	124
№ 8	89	114	76	93
№ 9	93	121	104	141
№ 10	86	109	72	87

Таблица 3. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ATCC 6538

Номер отбора	Оператор А		Оператор В	
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)
№ 1	102	137	92	119
№ 2	100	133	94	122
№ 3	98	130	102	137
№ 4	95	124	92	119
№ 5	97	128	106	144
№ 6	93	121	90	116
№ 7	99	131	105	142
№ 8	106	144	103	139
№ 9	99	131	96	126
№ 10	104	141	91	117

аэрозоль, содержащий смесь штаммов микроорганизмов наблюдался рост разных по морфологии колоний. На чашках Петри выявлялись черные, блестящие, выпуклые колонии в диаметре 1–5 мм, с узкими белыми краями, окруженные прозрачной зоной лецитиназной активности

шириной 2–5 мм, также черные, блестящие колонии неправильной формы и очень мелкие, серые колонии, без прозрачной зоны.

Для подтверждения *Staphylococcus aureus* делали мазки и окрашивали по Граму. Стафилококки по Граму окрашивались положительно и имели

Таблица 4. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ЦГЛМ-1-2019

Номер отбора	Оператор А		Оператор В	
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)
№ 1	104	141	102	137
№ 2	99	131	108	148
№ 3	106	144	97	128
№ 4	101	135	99	131
№ 5	107	146	105	142
№ 6	98	130	102	137
№ 7	98	130	110	152
№ 8	109	150	99	131
№ 9	97	128	106	144
№ 10	104	141	102	137

Таблица 5. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ATCC 6538

Номер отбора	Оператор А		Оператор В	
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)
№ 1	99	131	89	114
№ 2	101	135	86	109
№ 3	98	130	98	130
№ 4	107	146	107	146
№ 5	87	110	99	131
№ 6	105	142	102	137
№ 7	110	152	97	128
№ 8	105	142	105	142
№ 9	98	130	98	130
№ 10	103	139	107	146

Таблица 6. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ЦГЛМ-1-2019

Номер отбора	Оператор А		Оператор В	
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество колоний с учетом перерасчета по Таблице коррекции подсчета колоний (КОЕ)
№ 1	98	130	100	133
№ 2	102	137	95	124
№ 3	87	110	105	142
№ 4	105	142	97	128
№ 5	100	133	104	141
№ 6	87	110	109	150
№ 7	102	137	98	130
№ 8	97	128	102	137
№ 9	102	137	107	146
№ 10	106	144	98	130

шарообразную форму, располагались в виде скоплений, напоминающих гроздь винограда. Выделенную чистую культуру исследовали на наличие фермента плазмокоагулазы, а также пересевали на среду Гисса с маннитом или мальтозой,

разлитую высоким столбиком (посев производили уколом петли). Рост стафилококка на среде Гисса с маннитом или мальтозой сопровождался ферментацией или окислением углевода, а также изменением цвета среды.

Таблица 7. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *K. rhizophila* ЦГЛМ-2-2019, *S. aureus* ЦГЛМ-1-2019, *S. epidermidis* ЦГЛМ-15-2019

Номер отбора	Оператор А	Оператор В
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)
№ 1	114 (31 с лецит. акт.)	98 (19 с лецит. акт.)
№ 2	98 (25 с лецит. акт.)	116 (38 с лецит. акт.)
№ 3	120 (42 с лецит. акт.)	112 (45 с лецит. акт.)
№ 4	124 (39 с лецит. акт.)	109 (40 с лецит. акт.)
№ 5	118 (27 с лецит. акт.)	111 (41 с лецит. акт.)
№ 6	112 (35 с лецит. акт.)	90 (29 с лецит. акт.)
№ 7	96 (25 с лецит. акт.)	113 (45 с лецит. акт.)
№ 8	116 (39 с лецит. акт.)	106 (45 с лецит. акт.)
№ 9	123 (48 с лецит. акт.)	114 (52 с лецит. акт.)
№ 10	115 (47 с лецит. акт.)	118 (39 с лецит. акт.)

Таблица 8. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ATCC 6538, *K. rhizophila* ЦГЛМ-2-2019, *S. epidermidis* ЦГЛМ-15-2019

Номер отбора	Оператор А	Оператор В
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)
№ 1	99 (27 с лецит. акт.)	107 (36 с лецит. акт.)
№ 2	98 (23 с лецит. акт.)	102 (30 с лецит. акт.)
№ 3	102 (39 с лецит. акт.)	89 (19 с лецит. акт.)
№ 4	110 (35 с лецит. акт.)	100 (32 с лецит. акт.)
№ 5	116 (29 с лецит. акт.)	111 (38 с лецит. акт.)
№ 6	98 (24 с лецит. акт.)	110 (31 с лецит. акт.)
№ 7	96 (20 с лецит. акт.)	103 (36 с лецит. акт.)
№ 8	106 (31 с лецит. акт.)	96 (25 с лецит. акт.)
№ 9	103 (34 с лецит. акт.)	94 (24 с лецит. акт.)
№ 10	108 (42 с лецит. акт.)	102 (29 с лецит. акт.)

Таблица 9. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *K. rhizophila* ЦГЛМ-2-2019, *S. aureus* ЦГЛМ-1-2019, *S. epidermidis* ЦГЛМ-15-2019

Номер отбора	Оператор А	Оператор В
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)
№ 1	89 (19 с лецит. акт.)	95 (17 с лецит. акт.)
№ 2	94 (25 с лецит. акт.)	100 (28 с лецит. акт.)
№ 3	102 (39 с лецит. акт.)	99 (30 с лецит. акт.)
№ 4	113 (36 с лецит. акт.)	109 (39 с лецит. акт.)
№ 5	108 (27 с лецит. акт.)	97 (32 с лецит. акт.)
№ 6	102 (34 с лецит. акт.)	92 (21 с лецит. акт.)
№ 7	92 (19 с лецит. акт.)	103 (31 с лецит. акт.)
№ 8	110 (37 с лецит. акт.)	116 (45 с лецит. акт.)
№ 9	103 (39 с лецит. акт.)	104 (37 с лецит. акт.)
№ 10	105 (44 с лецит. акт.)	98 (27 с лецит. акт.)

Таблица 10. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ATCC 6538, *K. rhizophila* ЦГЛМ-2-2019, *S. epidermidis* ЦГЛМ-15-2019

Номер отбора	Оператор А	Оператор В
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)
№ 1	89 (25 с лецит. акт.)	109 (33 с лецит. акт.)
№ 2	98 (21 с лецит. акт.)	117 (42 с лецит. акт.)
№ 3	105 (32 с лецит. акт.)	88 (20 с лецит. акт.)
№ 4	111 (37 с лецит. акт.)	110 (29 с лецит. акт.)
№ 5	106 (30 с лецит. акт.)	99 (35 с лецит. акт.)
№ 6	98 (22 с лецит. акт.)	104 (21 с лецит. акт.)
№ 7	100 (38 с лецит. акт.)	97 (26 с лецит. акт.)
№ 8	97 (19 с лецит. акт.)	107 (39 с лецит. акт.)
№ 9	102 (34 с лецит. акт.)	95 (27 с лецит. акт.)
№ 10	118 (43 с лецит. акт.)	99 (34 с лецит. акт.)

Таблица 11. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *K. rhizophila* ЦГЛМ-2-2019, *S. aureus* ЦГЛМ-1-2019, *S. epidermidis* ЦГЛМ-15-2019

Номер отбора	Оператор А	Оператор В
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)
№ 1	97 (23 с лецит. акт.)	110 (35 с лецит. акт.)
№ 2	104 (33 с лецит. акт.)	105 (28 с лецит. акт.)
№ 3	96 (29 с лецит. акт.)	102 (33 с лецит. акт.)
№ 4	103 (36 с лецит. акт.)	99 (20 с лецит. акт.)
№ 5	107 (40 с лецит. акт.)	104 (30 с лецит. акт.)
№ 6	97 (23 с лецит. акт.)	89 (17 с лецит. акт.)
№ 7	106 (28 с лецит. акт.)	98 (21 с лецит. акт.)
№ 8	100 (31 с лецит. акт.)	106 (35 с лецит. акт.)
№ 9	113 (39 с лецит. акт.)	102 (30 с лецит. акт.)
№ 10	98 (34 с лецит. акт.)	100 (35 с лецит. акт.)

Таблица 12. Результаты модельного эксперимента в ламинарном боксе при отборе 500 дм³ воздуха, содержащего микроорганизмы *S. aureus* ATCC 6538, *K. rhizophila* ЦГЛМ-2-2019, *S. epidermidis* ЦГЛМ-15-2019

Номер отбора	Оператор В	Оператор А
	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)	количество микроорганизмов в 500 дм ³ воздуха (КОЕ)
№ 1	121 (43 с лецит. акт.)	103 (39 с лецит. акт.)
№ 2	107 (32 с лецит. акт.)	98 (27 с лецит. акт.)
№ 3	98 (24 с лецит. акт.)	106 (37 с лецит. акт.)
№ 4	109 (37 с лецит. акт.)	111 (35 с лецит. акт.)
№ 5	102 (36 с лецит. акт.)	97 (24 с лецит. акт.)
№ 6	108 (31 с лецит. акт.)	100 (21 с лецит. акт.)
№ 7	97 (29 с лецит. акт.)	103 (38 с лецит. акт.)
№ 8	109 (39 с лецит. акт.)	99 (29 с лецит. акт.)
№ 9	99 (29 с лецит. акт.)	109 (36 с лецит. акт.)
№ 10	100 (32 с лецит. акт.)	108 (37 с лецит. акт.)

Исследования смешанных аэрозолей проводили также на желточно-солевом агаре. Наблюдался рост разных по морфологии колоний.

Для подтверждения *Staphylococcus aureus* на желточно-солевом агаре делали мазки и окрашивали по Граму. Колонии окрашивались положительно и имели шарообразную форму, располагались в виде скоплений, напоминающих гроздь винограда. Бактерии вида *Staphylococcus aureus* на желточно-солевом агаре образовали круглые, слегка возвышающиеся над поверхностью агара колонии с ровными краями диаметром 2–2,5 мм, окрашенные в желтый или белый цвет, окруженные прозрачной зоной лецитиназной активности. Выделенную чистую культуру исследовали на наличие фермента плазмокоагулазы, а также пересевали на среду Гисса с маннитом или мальтозой, разлитую высоким столбиком. Рост стафилококка на среде Гисса с маннитом или мальтозой сопровождался ферментацией или окислением углевода, а также изменением цвета среды.

Аналогичные исследования смешанных аэрозолей проводили на маннит-солевом агаре. *Staphylococcus aureus* образовывал колонии, окруженные желтыми зонами, которые свидетельствовали о его способности ферментировать маннит.

Стафилококки по Граму окрашивались положительно и имели шарообразную форму, располагались в виде скоплений, напоминающих гроздь винограда. Выделенную чистую культуру исследовали на наличие фермента плазмокоагулазы. Проводили исследование на подтверждение на среде Гисса с маннитом или мальтозой. Рост стафилококка на среде Гисса с маннитом или мальтозой сопровождался ферментацией или окислением углевода, а также изменением цвета среды.

Выводы. Для апробации методов выявления бактерий вида *Staphylococcus aureus* в воздушной среде помещений организаций здравоохранения выполнено моделирование микробных аэрозолей с использованием типовых штаммов микроорганизмов и изолятов, выделенных в ходе мониторинга воздушной среды помещений организаций здравоохранения. В закрытом ламинарном боксе проводили отбор проб воздуха в количестве 500 дм³ при помощи пробоотборника воздуха SAS SUPER 100 (PBI International, Италия) на поверхность Байрд-Паркер агара, желточно-солевого агара и маннит-солевого агара. В модельном эксперименте показана высокая сходимость результатов между операторами, а также установлено, что 500 дм³ отбираемого воздуха является оптимальным для выявления *Staphylococcus aureus*.

Литература

1. Стафилококковая инфекция микробиология. Стафилококк и стафилококковые инфекции. Основные методы исследования [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://2s5.ru/diagnosis/stafilokokkovaya-infekciya-mikrobiologiya-stafilokokki-stafilokokkovye>. – Дата доступа: 25.06.2022.
2. *МикроБио: Staphylococcus aureus* [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mibio.ru/contents.php?id=86>. – Дата доступа: 25.06.2022.
3. Assessment of bioaerosol particle characteristics at different hospital wards and operating theaters: a case study in Tehran / F. Bolookat [et al.] // *MethodsX*. – 2018. – Vol. 5. – P. 1588–1596.
4. Характеристика микробиоты воздушной среды помещений учреждений здравоохранения различных классов чистоты / Н. В. Дудчик [и др.] // *Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Республики Беларусь. Науч.-практ. центр гигиены; под общ. ред. Н. П. Жуковой; гл. ред. С. И. Сычик*. – Минск: РИВШ, 2019. – Вып. 29. – С. 7–12.
5. Инструкция по применению № 002-0521 «Методы выявления бактерий вида *Staphylococcus aureus* в воздушной среде помещений организаций здравоохранения» утв. зам. мин. Гл. гос. сан. врачом РБ от 21.05.2021 г.
6. Экспериментальное моделирование аэрозолей микроорганизмов-продуцентов в воздухе рабочей зоны как фактора риска воздействия на здоровье работников биотехнологического производства / Н. В. Дудчик [и др.] // *Анализ риска здоровью*. – 2017. – № 3. – С. 127–134. – DOI: 10.21668/health.risk/2017.3.15.

References

1. *Staphylococcal infection microbiology*. Staphylococcus and staphylococcal infections. Basic research methods [Electronic resource]. – Access of mode: <https://2s5.ru/diagnosis/stafilokokkovaya-infekciya-mikrobiologiya-stafilokokki-stafilokokkovye>. – Access of date: 25.06.2022.
2. *MicroBio: Staphylococcus aureus* [Electronic resource]. – Access of mode: <https://mibio.ru/contents.php?id=86>. – Access of date: 25.06.2022.
3. Assessment of bioaerosol particle characteristics at different hospital wards and operating theaters: a case study in Tehran / F. Bolookat [et al.] // *MethodsX*. – 2018. – Vol. 5. – P. 1588–1596.
4. Characteristics of the microbiota of the air environment in the premises of health care institutions of various classes of cleanliness / N. V. Dudchik [et al.] // *Health and Environment: Sat. scientific tr. / Ministry of Health of the Republic of Belarus. Scientific-practical. hygiene center; under total ed. N. P. Zhukova; ch. ed. S. I. Sychik*. – Minsk: RIVSH, 2019. – Issue. 29. – P. 7–12.
5. Instructions for use №. 002–0521 “Methods for detecting bacteria of the species *Staphylococcus aureus* in the air environment of premises of healthcare organizations” approved. deputy min. Ch. state dignity. doctor of the Republic of Belarus dated May 21, 2021.
6. Experimental modeling of aerosols of microorganisms-producers in the air of the working area as a risk factor for the impact on the health of workers in biotechnological production / N. V. Dudchik [et al.] // *Health risk analysis*. – 2017. – № 3. – S. 127–134. – DOI: 10.21668/health.risk/2017.3.15.

Поступила 11.07.2022 г.