

УДК: 614.78:613.5:579.63

К ВОПРОСУ ОРГАНИЗАЦИИ ЗДОРОВЬЕСБЕРЕГАЮЩЕЙ СРЕДЫ В ЗАКРЫТЫХ ПОМЕЩЕНИЯХ: УПРАВЛЕНИЕ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИЕЙ ПУТЁМ АВТОМАТИЗАЦИИ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Позднякова М.А., Жукова Е.С., Шалаганова В.В., Полякова Л.В.
ФБУН «Нижегородский НИИ гигиены и профпатологии» Роспотребнадзора,
г. Нижний Новгород
e-mail: veronikachyg@gmail.com

Аннотация. Работа посвящена проблеме создания здоровьесберегающей среды в закрытых помещениях (ЗП), где современный человек проводит около 90% своего времени. Так как ключевым фактором загрязнения ЗП является микробная контаминация, необходима разработка новых подходов к очистке помещений. Перспективным экологически безопасным решением является пробиотическая обработка, которая может быть автоматизирована с помощью современных технологий. Цель настоящей работы - оценить эффективность автоматизированного аэрозольного распыления пробиотика в отношении микробиоты внутренней среды закрытого помещения в условиях естественной микробиологической контаминации. Исследование было проведено с применением стандартных микробиологических методов. В условиях естественной микробиологической контаминации 14-суточное непрерывное автоматизированное воздействие пробиотика привело к элиминации *Enterococcus* spp. с неживых поверхностей, а также снижению на 20% общего микробного числа в воздушной среде ЗП.

Ключевые слова: внутренняя среда закрытых помещений, микрофлора поверхностей, микрофлора воздуха, здоровьесберегающие технологии, пробиотическая очистка.

Увеличение продолжительности жизни, сохранение здоровья населения и повышение благополучия граждан являются первоочередной целью развития страны и направлением деятельности Роспотребнадзора, что подкреплено указом Президента Российской Федерации от 07.05.2024 № 309 «О национальных целях развития Российской Федерации на период до 2030 года и на перспективу до 2036 года». На сегодняшний день известно, что современный человек ежедневно проводит около 90% времени в помещениях жилых и общественных зданий, тогда как воздействие на человека химических, физических и биологических факторов внутренней среды (ВС) помещений остается недооцененным.

Ключевым фактором загрязнения микросреды ЗП ВОЗ выделила микробную контаминацию, источником формирования которой, в первую очередь, является сам человек, а также домашние животные, комнатные растения, некоторые технические приборы при нарушениях правил эксплуатации и многое другое. Для снижения численности микроорганизмов (МО) в ВС ЗП зачастую применяют химические (галоидосодержащие, кислородсодержащие, поверхностно-активные вещества и некоторые другие соединения) и физические (УФ-облучение, проветривание, мойки воздуха и воздухоочистители) средства, однако все они имеют ряд недостатков и ограничений. Исходя из этого, в настоящее время идет активное продвижение биологических подходов к обеззараживанию ЗП: использование пробиотических МО, комнатных растений и синтезируемых ими биологически активных веществ, однако эффективные режимы данных воздействий не были определены [1].

Управление физическими параметрами ВС ЗП является следующей по значимости проблемой. Известно, что микроклимат оказывает воздействие на самочувствие и работоспособность людей, однако все представленные на современном рынке технические средства (кондиционеры, обогреватели, увлажнители воздуха) работают автономно, а такие факторы, как шум, ионный режим и содержание аэроионов в воздухе не корректируются вовсе, превышая предельно допустимые концентрации в десятки и сотни раз [2-3].

Повышение загазованности атмосферного воздуха под воздействием автомобильного транспорта и производственных выбросов особенно характерно для крупных городов. ВС ЗП напрямую зависит от состояния внешней среды, при том, что химические вещества и взвешенные частицы способны аккумулироваться внутри ЗП, достигая в 1,5-4 раза более высоких концентраций [4-5] и значительно превышая установленные нормы [2-3]. В свою очередь, единственными повсеместно используемыми способами снижения содержания химических агентов в воздухе ЗП являются проветривание и использование приточно-вытяжных вентиляционных установок, что требует постоянного контроля со стороны человека и/или серьезных финансовых затрат.

Таким образом, создание комфортной и безопасной среды в ЗП сопряжено с тремя основными факторами и требует комплексного подхода, объединяющего множество технических приборов в единую систему. Научно-обоснованное решение этой проблемы - сложная многоэтапная задача. Для этого в 2022-2023 гг. на базе ФБУН «ННИИГП» Роспотребнадзора была оборудована экспериментальная площадка на основе сетевого программно-аппаратного комплекса (СПАК) для управления ВС ЗП [6], базирующегося на технологии «интернет вещей». На сегодняшний день проведена проверка и корректировка датчиков системы, разработаны базовые программные алгоритмы для автоматизации управления комплексом и регулирования параметров ВС по трем направлениям: 1)

управление микробиотой помещения; 2) контроль, поддержание и управление параметрами микроклимата - первые результаты описаны в работе [7], а также другими физическими характеристиками ВС ЗП; 3) контроль и управление газовым составом. Решение задач по первому направлению и явилось целеполаганием настоящего исследования.

Для проведения экспериментальной работы по управлению микробиотой помещения нами была изучена проблема микробиологического загрязнения ВС ЗП, факторы его формирования и видовое разнообразие МО в зависимости от назначения конкретного помещения, а также существующие на данный момент подходы к борьбе с биозагрязнением [1]. Так, одним из новых перспективных подходов выделяют применение пробиотических МО для коррекции микрофлоры ЗП, однако эффективность такого подхода может быть достигнута лишь при длительном систематическом применении. Автоматизация данного процесса может иметь высокий научно-практический интерес.

В связи с вышесказанным, *целью настоящей работы* явилось: оценить эффективность автоматизированного аэрозольного распыления пробиотика в отношении микробиоты внутренней среды закрытого помещения в условиях естественной микробиологической контаминации.

Материалы и методы. Исследование выполнено в опытном ЗП объемом 40 м³, естественная микробиологическая контаминация которого была осуществлена за счет жизнедеятельности клинически здоровых белых беспородных лабораторных крыс, содержащихся в клетках в конвенциональных условиях. Использование в работе животных одобрено Комиссией по контролю за содержанием и использованием лабораторных животных ФБУН «ННИИГП» Роспотребнадзора, согласно заключению №1 от 19.06.2023. На протяжении эксперимента в опытном помещении проводилась пробиотическая очистка и влажная механическая уборка без использования дезинфицирующих средств.

Эффективность пробиотического воздействия на микробиоту ВС опытного ЗП оценивали по изменению степени контаминации санитарно-показательными МО при сравнении с микробной обсемененностью контрольного помещения. В качестве контроля использовали стандартное помещение для постоянного содержания лабораторных животных объемом 53 м³ и расположенное на том же этаже, что опытное. В соответствии с СанПиН 3.3686-21, в контрольном ЗП еженедельно проводилась уборка с применением стандартного дезинфицирующего средства «Абактерил» (ООО «Рудез»), разрешенного к применению в присутствии людей и животных (ветеринарное заключение №52-005973 от 03.07.202).

На основе анализа литературных данных об экспериментах *in vitro* на культурах, искусственно контаминированных тест-микроорганизмами объектах и испытаниях в практических условиях [8-10] был осуществлен выбор пробиотического средства, его

концентрации и длительности распыления, и предложен расчет режима воздействия для автоматизированной пробиотической очистки ЗП (заявка на изобретение № 2024110000 от 12.04.2024). Для распыления раствора пробиотика с помощью адиабатического увлажнителя воздуха (DL-023H Delta, Китай) в ЗП объемом 40 м³ применялся следующий режим: ежечасно в течение суток на протяжении 28 дней распыляли водный раствор пробиотического коммерческого средства на основе пяти штаммов рода *Bacillus* spp. (Crisal NV, Бельгия) с концентрацией $2,8 \pm 0,4 \times 10^3$ КОЕ/мл (концентрацию жизнеспособных бактерий контролировали культуральным методом).

Забор материала с неживых поверхностей осуществлялся методом смывов с последующим посевом на маннит-солевой агар (для *Staphylococcus* spp.), среду Эндо и хромогенную среду для идентификации колиформных бактерий (для *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Citrobacter* spp., *Pseudomonas* spp., *Enterococcus* spp. и *Enterobacter* spp.), кровяной агар (для *Streptococcus* spp. и *Bacillus* spp.), а также мясо-пептонный агар (МПА) (для общего микробного числа - ОМЧ). Пробы воздуха отбирались аспирационным методом с помощью пробоотборного устройства ПУ-1Б (ООО «ХИМКО», Россия) на чашки Петри с МПА и средой Сабуро (в соответствии с МУК 4.2.2942-11).

На протяжении всего исследования в ЗП проводили мониторинг показаний температуры (t, °C) и относительной влажности воздуха (φ, %) с помощью гигрометра психрометрического ВИТ-1 (ОАО «Термоприбор», Россия) и датчика температуры, давления, относительной влажности воздуха на электронном модуле ВМЕ280 (Bosch Sensortec, Германия), откалиброванного путем сравнения его показаний с данными метеометра МЭС-200 А (ЗАО НПП «Электростандарт», Россия).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы STATISTICA 8.0. Результаты представляли в виде доли и стандартного отклонения процентной доли ($p \pm \sigma$, %). Для выявления статистических различий двух групп при нормальном распределении применяли t-критерий Стьюдента. При ненормальном распределении для сравнения двух независимых групп применяли точный критерий Фишера, зависимых - тест Мак-Немара ($p \leq 0,05$).

Результаты. Непосредственно до пробиотического воздействия в опытном ЗП ($t=26,6 \pm 0,5^\circ\text{C}$, $\phi=47,8 \pm 3,2\%$) на неживых поверхностях были обнаружены *Staphylococcus* spp. и *Enterococcus* spp., тогда как в воздухе помимо этих групп МО в единичных количествах наблюдались *Candida* spp. и *Penicillium* spp. (табл. 1, 2). В контрольном помещении ($t=21,9 \pm 5,0^\circ\text{C}$, $\phi=75,1 \pm 8,1\%$) исследуемые МО не были обнаружены на неживых поверхностях, однако микробная контаминация воздушной среды была сопоставима с показателями опытного ЗП. Из полученных данных видно, что применение

дезинфицирующего средства в контрольном ЗП приводит к элиминации санитарно-показательных МО с неживых поверхностей, однако не оказывает значительного влияния на микробиоту воздушной среды.

Таблица 1

Характеристика микробиологического загрязнения неживых поверхностей закрытого помещения до и после воздействия пробиотика

Доля встречаемости и среди смывов с неживых поверхностей, $p \pm \sigma_p$, %	Тип ЗП	Группы микроорганизмов					
		<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Candida</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.
До распыления пробиотика							
	<i>Контроль</i>	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
	<i>Опыт</i>	0,0±0,0	50,0±17,5	87,5±30,8 **	0,0±0,0	0,0±0,0	12,5±4,2
После 14 суток распыления пробиотика							
	<i>Контроль</i>	0,0±0,0	12,5±4,2	25,0±15,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
	<i>Опыт</i>	12,5±4,2	0,0±0,0*	62,5±15,7 **	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
После 28 суток распыления пробиотика							
	<i>Контроль</i>	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
	<i>Опыт</i>	0,0±0,0	25,0±15,0	0,0±0,0*	0,0±0,0	0,0±0,0	25,0±15,0

Примечание. ЗП - закрытое помещение; $p \pm \sigma_p$ - доля и стандартное отклонение процентной доли; * - $p < 0,05$ при сравнении с данными «до распыления» по тесту Мак-Немара; ** - $p < 0,05$ при сравнении с контролем по точному критерию Фишера

После 14-суточного распыления пробиотического раствора в присутствии лабораторных животных в опытном ЗП отмечена статистически значимая элиминация с неживых поверхностей *Enterococcus* spp. Показано уменьшение ОМЧ воздушной среды на 20%: снизилась концентрация *Staphylococcus* spp. и *Enterococcus* spp., а *Candida* spp. и *Penicillium* spp. не выселились. Содержание *Bacillus* spp. в воздушной среде ЗП значительно не изменялось. Микроклиматические условия составляли $t=23,9 \pm 0,6^\circ\text{C}$ и $\varphi=52,7 \pm 7,7\%$. В контрольном помещении наблюдались единичные случаи обнаружения на неживых поверхностях *Enterococcus* spp. и *S. aureus*. Общее содержание *Staphylococcus* spp. в воздухе было в 1,2 раза больше, чем в опытном, тогда как ОМЧ снизилось с 3420 КОЕ/м³ до 2850

КОЕ/м³ (в 1,2 раза), а *Candida* spp. и *Penicillium* spp наблюдались в единичных количествах. Показатели микроклимата составляли $t=21,9\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ и $\varphi=68,1\pm 8,5\%$.

Таблица 2

Характеристика микробиологического загрязнения воздушной среды закрытого помещения до и после воздействия пробиотика

	Тип ЗП	Группы микроорганизмов					Общее микробное число
		<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Candida</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	
Концентрация микроорганизмов, КОЕ/м ³	До распыления пробиотика						
	<i>Контроль</i>	682	2726	3	7	2	3420
	<i>Опыт</i>	758	3034	1	5	2	3800
	После 14 суток распыления пробиотика						
	<i>Контроль</i>	0	2843	3	4	0	2850
	<i>Опыт</i>	608	2431	0	0	1	3040
	После 28 суток распыления пробиотика						
	<i>Контроль</i>	455	1819	0	0	6	2280
	<i>Опыт</i>	600	2396	35	9	0	3040

Спустя 28 суток воздействия пробиотика на микрофлору ВС опытного ЗП представители рода *Staphylococcus* spp. не были обнаружены в смывах с неживых поверхностей. Однако такое длительное распыление рабочего раствора сопровождалось ростом условно-патогенной микобиоты в пределах низкого уровня контаминации, а именно *Candida* spp. и *Penicillium* spp. в воздухе ЗП, что можно частично объяснить изменением микроклимата в помещении [4] - отмечено снижение температуры с $26,6\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ до $22,3\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ ($p<0,01$, t-критерий Стьюдента) и повышение относительной влажности воздуха с $47,8\pm 3,2\%$ до $55,0\pm 4,8\%$ ($p<0,01$, t-критерий Стьюдента). В свою очередь, уровень контаминации воздушной среды в контрольном ЗП качественно и количественно регистрировался примерно в одном диапазоне. Показатели микроклимата также были стабильны: температура и относительная влажность воздуха составили $21,5\pm 0,7^{\circ}\text{C}$ и $68,5\pm 11,2\%$ соответственно.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что при автоматизированном ежечасном распылении пробиотика на основе *Bacillus* spp. антимикробный эффект зарегистрирован уже через 14 суток в отношении *Enterococcus* spp. на неживых поверхностях и ОМЧ в воздушной среде ЗП. В свою очередь, проведение еженедельной влажной уборки с

дезинфицирующим средством, разрешенным к применению в присутствии людей и животных, приводит к полному удалению МО с обработанных поверхностей, но не оказывает влияния на концентрацию МО в воздухе.

При сравнении полученных результатов с доступными литературными данными, где проводится ручная обработка поверхностей раствором пробиотика в более высоких концентрациях *Bacillus* spp. (5×10^7 КОЕ/мл), стабильный эффект достигается лишь спустя 1 месяц ежедневного применения при обнаружении избыточного роста данной группы МО в помещениях [8-10]. Несмотря на проявление антагонистической активности в отношении условно-патогенной микрофлоры, при исследуемом нами варианте пробиотической обработки ЗП выявлена минимизация риска повышенной обсемененности помещения *Bacillus* spp.

Выводы. На данном этапе научно-исследовательской работы была осуществлена автоматизация управления микробиотой помещения. Выбранный способ пробиотической обработки показал снижение содержания санитарно-показательных МО на неживых поверхностях и в воздухе ЗП на 20% уже через 14 суток. Наибольшая эффективность применяемого подхода показана для *Enterococcus* spp., *Candida* spp. и *Penicillium* spp., тогда как для элиминации *Staphylococcus* spp с неживых поверхностей было необходимо более длительное воздействие, что согласуется с литературными данными [8]. Показано, что пробиотическая обработка ВС ЗП снижает концентрацию исследуемых санитарно-показательных МО на неживых поверхностях и в воздухе опытного ЗП, тогда как результатом проведения влажной уборки с использованием дезинфицирующего средства является элиминация МО только с неживых поверхностей с отсутствием значительного влияния на микробиоту воздуха. Таким образом, распыление пробиотического средства в помещении перспективно как экологический подход в борьбе с микробиологической контаминацией ВС ЗП. Однако необходимы дополнительные исследования по поиску более эффективных режимов и/или комбинаций с другими антимикробными воздействиями.

Работа выполнялась в рамках государственного задания ФБУН «ННИИГП» Роспотребнадзора (Рег. № НИОКТР АААА-А16-116051110222-4, научный руководитель, гл. науч. сотр, заведующий отделом, д.м.н., профессор М.А. Позднякова).

Список литературы

1. Микрофлора искусственной среды как проблема гигиены замкнутых помещений мегаполисов: обзор литературы / В.В. Чугунова [и др.] // Здоровье - основа человеческого потенциала: проблемы и пути их решения. 2022. Т. 17, № 2. С. 892-900.

2. Гигиеническая оценка комплекса физико-химических факторов, воздействующих на человека в помещениях различного назначения медицинских организаций стационарного типа / Н.В. Русаков [и др.] // Гигиена и санитария. 2021. Т. 100, № 6. С. 546-554.
3. Indoor Exposure to Selected Air Pollutants in the Home Environment: A Systematic Review / S. Vardoulakis, E. Giagloglou, S. Steinle et al. // Int J Environ Res Public Health. 2020. Vol. 17, № 23: Article ID 8972. DOI:10.3390/ijerph17238972.
4. Гигиеническая оценка микологической обсеменённости внутренней среды помещений жилых и общественных зданий / Н.В. Калинина [и др.] // Гигиена и санитария. 2023. Т. 102, № 7. С. 632-638.
5. Малышева А.Г., Калинина Н.В., Юдин С.М. Химическое загрязнение воздушной среды жилых помещений как фактор риска здоровью населения // Анализ риска здоровью. - 2022. - № 3. - С. 72-82.
6. Сетевой программно-аппаратный комплекс для управления внутренней средой замкнутых помещений: пат. 202193149 ЕАПО N 2021137142 / Умнов А.Л. ; заявл. 15.12.2021; опубл. 12.10.2022, Бюл. № 2022-10. 30 с.
7. Об организации здоровьесберегающей среды в закрытых помещениях с помощью технологии «Интернета вещей» / М.А. Позднякова [и др.] // Анализ риска здоровью - 2024 : Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Пермь. 2024. Т. 2. С. 226-230.
8. Fighting AMR in the Healthcare Environment: Microbiome-Based Sanitation Approaches and Monitoring Tools / M. D'Accolti, I. Soffritti, S. Mazzacane et al. // Int J Mol Sci. - 2019. - Vol. 20, № 7: Article ID 1535. DOI: 10.3390/ijms20071535.
9. Environmental cleaning to prevent hospital-acquired infections on non-intensive care units: a pragmatic, single-centre, cluster randomized controlled, crossover trial comparing soap-based, disinfection and probiotic cleaning / R. Leistner, B. Kohlmorgen, A. Brodzinski et al. // EClinicalMedicine. 2023. Vol. 59: Article ID 101958. DOI: 10.1016/j.eclinm.2023.101958.
10. Introduction of Probiotic - Based Sanitation in the Emergency Ward of a Children's Hospital During the COVID-19 Pandemic / I. Soffritti, M. D'Accolti, C. Cason, et al. // Infection and Drug Resistance. 2022. Vol. 15. P. 1399-1410.