

Лекция. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха -1 апреля

1. Санитарно-показательные микроорганизмы воздуха.
2. Методы санитарно-микробиологического исследования воздуха.
3. Аппаратура для отбора проб.
4. Критерии оценки загрязненности воздуха.

1. Санитарно-показательные микроорганизмы воздуха.

Санитарная микробиология изучает микрофлору окружающей среды (включая свободноживущие и паразитические бактерии и вирусы) и влияние микрофлоры на здоровье человека и экологическую ситуацию в различных биотопах. Главная задача практической санитарной микробиологии – раннее обнаружение патогенной микрофлоры во внешней среде.

Санитарно-показательные микроорганизмы (СПМ) - это представители нормальной микрофлоры, которые выделяются естественным путем в окружающую среду и там сохраняются, поэтому служат показателями санитарного неблагополучия, потенциальной опасности исследуемых объектов. Так, если на объектах обнаруживают нормальных обитателей кишечника, делают заключение о наличии фекального загрязнения и возможном присутствии патогенных энтеробактерий. Так как патогенных представителей меньше и выделить их труднее, то вначале выявляют санитарно-показательные микроорганизмы в окружающей среде, а после их выявления можно проводить поиск патогенных.

СПМ условно разделяют на 3 группы:

1. **Группа А** включает обитателей кишечника человека и животных, эти микроорганизмы расценивают как индикаторы фекального загрязнения. В нее входят бактерии группы кишечной палочки (БГКП) – эшерихии, энтерококки, протеи, сульфитвосстанавливающие клостридии (*S. perfringens*), термофилы, бактериофаги, ацинетобактер, аэромонады.
2. **Группа В** включает обитателей верхних дыхательных путей и носоглотки. В нее входят α - и β -гемолитические стрептококки, стафилококки (плазмокоагулирующие, лецитиназоположительные, гемолитические и антибиотикоустойчивые).
3. **Группа С** включает сапрофитические микроорганизмы, обитающие во внешней среде, их расценивают как индикаторы процессов самоочищения. В нее входят бактерии-аммонификаторы, бактерии-нитрификаторы, некоторые спорообразующие бактерии, грибы, актиномицеты, целлюлозобактерии, сине-зеленые водоросли.

К санитарно-показательным бактериям воздуха относят α - и β -гемолитические стрептококки, стафилококки.

Стафилококки относятся к факультативным, но очень часто обнаруживаемым обитателям организма человека и некоторых теплокровных

животных. Основным местом локализации стафилококков служат слизистые оболочки верхних дыхательных путей, а также кожные покровы. В окружающую среду – воздух, на предметы обихода – они попадают со слюной и мокротой при разговоре, кашле, чихании, а также с кожи, из мест воспалений и раневых поверхностей. При высыхании выделений из носоглотки находившиеся в них стафилококки могут распространяться воздушно-пылевым путем.

В организме человека доминируют 3 вида: коагулазоположительный *S.aureus* и коагулазонегативные *S.epidermidis* и *S.saprophyticus*. Наибольшую роль в патологии человека играет **Staphylococcus aureus** – золотистый стафилококк, он же является санитарно-показательным. Во внешней среде он не размножается (за исключением пищевых продуктов), однако обладает большой устойчивостью к различным химическим и физическим факторам. Сроки выживания стафилококков во внешней среде могут достигать до 2-3 месяцев в зависимости от температуры, влажности, воздействия солнечного света и др. Поэтому обнаружение в окружающей среде коагулазоположительных стафилококков следует расценивать как показатель воздушно-капельного загрязнения.

Стафилококков предложено применять в качестве СПМ для воздуха закрытых помещений, особенно хирургических, детских стационаров, в отделениях реанимации, родильных отделениях. Увеличение количества санитарно-показательных стафилококков в воздухе, на предметах обихода перечисленных лечебных учреждений свидетельствует о санитарном неблагополучии, а ряде случаев – и об эпидемиологической опасности (внутрибольничные инфекции).

Стрептококки являются представителями нормальной микрофлоры верхних дыхательных путей человека и теплокровных животных. Они постоянно и в большом количестве (до 10^7 кл/мл слюны) присутствуют в полости рта, носу и носоглотке как больных, так и здоровых людей, и поэтому обильно выделяются в окружающую среду при разговоре, кашле, чихании и т.п.

В зависимости от способности разрушать эритроциты стрептококков делят на 3 группы:

- **α (альфа) – стрептококки** (α -гемолитические, зеленящие), - не полностью разрушают эритроциты, образуют зеленоватые зоны вокруг колоний при росте на кровяном агаре). К этой группе относятся стрептококки ротовой полости *S.mutans* (главный возбудитель кариеса), *S.sanguis* и др.

- **β (бета) - стрептококки** (β -гемолитические), - вызывают лизис эритроцитов и образуют зону гемолиза вокруг колоний на кровяном агаре. Наибольшее значение в патологии человека имеет *S.pyogenes*.

- **γ (гамма) - стрептококки** (негемолитические) – не изменяют кровяной агар. Это сапротрофы, широко распространенные в окружающей среде, например, *S.lactis*, *S.cremoris* и др.

Альфа-стрептококки присутствуют в слюне и слизи из верхних дыхательных путей почти в 100% здоровых людей и обильно выделяются о

внешнюю среду при разговоре, кашле, чихании, загрязняя воздух и др. Бета-стрептококки не относятся к облигатным обитателям дыхательных путей, выделяются только у 25-76% здоровых людей и всегда воспринимаются как потенциальная угроза для своего хозяина и его окружения. Исходя из этого, СПМ считают суммарно α - и β -гемолитические стрептококки, они свидетельствуют о воздушно-капельном загрязнении окружающей среды. Негемолитические γ -стрептококки, не играющие роли в патологии человека, не включены в число СПМ.

Стрептококки менее устойчивы в окружающей среде, чем стафилококки. Наименее устойчивы α -гемолитические стрептококки, поэтому их считают показателем свежего загрязнения.

2. Методы санитарно-микробиологического исследования воздуха.

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха и безопасность воздуха в эпидемиологическом отношении определяется соответствием его нормативам (Сан Пин 2.1.6. 9-18-2002 «Гигиенические требования к охране атмосферного воздуха населенных пунктов»).

Санитарно-микробиологическое исследование воздуха можно разделить на 4 этапа:

1. **отбор проб;**
2. обработка, **транспортировка, хранение проб**, получение концентрата микроорганизмов (если необходимо);
3. бактериологический посев, культивирование микроорганизмов;
4. идентификация выделенной культуры.

Отбор проб, как и при исследовании любого объекта, является наиболее ответственным. Правильное взятие проб гарантирует точность исследования. В закрытых помещениях точки отбора проб устанавливаются из расчета на каждые 20 м² площади - одна проба воздуха, по типу конверта: 4 точки по углам комнаты (на расстоянии 0,5 м от стен) и 5-я точка - в центре. Пробы воздуха забираются на высоте 1,6 - 1,8 м от пола - на уровне дыхания в жилых помещениях. Пробы необходимо отбирать днем (в период активной деятельности человека), после влажной уборки и проветривания помещения. Атмосферный воздух исследуют в жилой зоне на уровне 0,5 - 2 м от земли вблизи источников загрязнения, а также в зеленых зонах (парки, сады и т.д.) для оценки их влияния на микрофлору воздуха. Для отбора воздуха на уровне 0,5 - 2 м от земли используют специальные штативы.

Следует обратить внимание на то, что при отборе проб воздуха во многих случаях происходит посев его на питательную среду.

Все методы отбора проб воздуха можно разделить на **седиментационные и аспирационные.**

Седиментационный - наиболее старый метод, широко распространен благодаря простоте и доступности, однако является неточным. Метод предложен Р. Кохом и заключается в способности микроорганизмов под действием силы тяжести и под влиянием движения воздуха (вместе с частицами пыли и капельками аэрозоля) оседать на поверхность питательной среды в **открытые чашки Петри**. Чашки устанавливаются в точках отбора на горизонтальной поверхности. При определении общей микробной обсемененности чашки с мясопептонным агаром оставляют открытыми на 5 - 10 мин или дольше в зависимости от степени предполагаемого бактериального загрязнения. Для выявления санитарно-показательных микробов применяют среду Гарро или Туржецкого (для обнаружения стрептококков), молочно-солевой или желточно-солевой агар (для определения стафилококков), суслоагар или среду Сабуро (для выявления дрожжей и грибов). При определении санитарно-показательных микроорганизмов чашки оставляют открытыми в течение 40 - 60 мин.

По окончании экспозиции все чашки закрывают, помещают в анаэробстат или термостат для культивирования в оптимальной для развития выделяемого микроорганизма среде, затем (если этого требуют исследования) на 48 ч оставляют при комнатной температуре для образования пигмента пигментообразующими микроорганизмами.



Чашка Петри с колониями микроорганизмов, осевших из воздуха при использовании седиментационного метода

Седиментационный метод имеет ряд недостатков: на поверхность среды оседают только грубодисперсные фракции аэрозоля; нередко колонии образуются не из единичной клетки, а из скопления микробов; на применяемых питательных средах вырастает только часть воздушной микрофлоры. К тому же этот метод совершенно непригоден при исследовании бактериальной загрязненности атмосферного воздуха.

Более совершенными методами являются **аспирационные**, основанные на принудительном осаждении микроорганизмов из воздуха на поверхность

плотной питательной среды или в улавливающую жидкость (мясо-пептонный бульон, буферный раствор, изотонический раствор хлорида натрия и др.).

3. Аппаратура для отбора проб.

В практике санитарной службы при аспирационном взятии проб используются аппарат Кротова, пробоотборное устройство ПУ-1Б, бактериоуловитель Речменского, прибор для отбора проб воздуха (ПОВ-1), пробоотборник аэрозольный бактериологический (ПАБ-1), бактериально-вирусный электропреципитатор (БВЭП-1), прибор Киктенко, приборы Андерсена, Дьяконова, МБ и др. Для исследования атмосферы могут быть использованы и мембранные фильтры № 4, через которые воздух просасывается с помощью аппарата Зейтца. Большое разнообразие приборов свидетельствует об отсутствии универсального аппарата и о большей или меньшей степени их несовершенства.

Пробоотборное устройство ПУ-1Б. В настоящее время этот прибор широко применяется при исследовании воздуха закрытых помещений и имеется в лабораториях СЭС.

Принцип работы ПУ-1Б основан на том, что воздух, просасываемый через отверстия в крышке аппарата, ударяется о поверхность питательной среды, при этом частицы пыли и аэрозоля прилипают к среде, а вместе с ними и микроорганизмы, находящиеся в воздухе. Чашку Петри с тонким слоем среды укрепляют на вращающемся столике аппарата, что обеспечивает равномерное распределение бактерий на ее поверхности. Работает аппарат от электросети. После отбора пробы с определенной экспозицией чашку вынимают, закрывают крышкой и помещают на 48 ч в термостат. Обычно отбор проб проводят со скоростью 200 л/мин в течение 0,5-5 мин. Таким образом, определяется флора в 100-1000 л воздуха.

Приемник перед забором пробы воздуха заполняется 3-5 мл улавливающей жидкости (водой, мясопептонным бульоном, изотоническим раствором хлорида натрия).

Пробоотборник аэрозольный бактериологический (ПАБ-1) (в настоящее время снят с производства). Механизм действия ПАБ-1 основан на принципе электростатического осаждения частиц аэрозоля (а следовательно, и микроорганизмов) из воздуха при прохождении его через прибор, в котором эти частицы получают электрический заряд и осаждаются на электродах с противоположным знаком. На электродах для улавливания аэрозолей помещают в горизонтальном положении металлические поддоны с твердыми средами в чашках Петри или жидкой питательной средой (15-20 мл). Прибор переносной с большой производительностью 150-250 л/мин, т.е. за 1 ч можно отобрать 5-6 м³ воздуха. Его рекомендуют применять для исследования больших объемов воздуха при обнаружении условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, например, при выявлении в воздухе палат больниц возбудителей внутрибольничных инфекций

(*Pseudomonas aeruginosa*, *Staph. aureus* и др.), определении сальмонелл и эшерихий в атмосферном воздухе в местах дождевания при орошении земледельческих полей сточными водами.

При использовании любого из перечисленных приборов получаемые результаты являются приблизительными, однако они дают более правильную оценку обсемененности воздуха в сравнении с седиментационным методом. Поскольку и отбор и санитарно-микробиологические исследования воздуха не регламентированы ГОСТ, то можно использовать любой прибор для оценки бактериальной загрязненности воздуха. Во многих случаях отбор проб совмещен с этапом посева.

Для снижения численности микроорганизмов в воздухе закрытых помещений применяют следующие средства:

1. химические - обработка озоном, двуокисью азота, распыление молочной кислоты,
2. механические - пропускание воздуха через специальные фильтры,
3. физические - ультрафиолетовое облучение.

4. Критерии оценки загрязненности воздуха.

Оценку чистоты воздуха помещений проводят на основании определения общего количества микроорганизмов, содержащихся в 1 м³ воздуха (ОМЧ), и наличия санитарно-показательных микроорганизмов: патогенных, коагулазоположительных, гемолитических стафилококков, а также стрептококков – обычных обитателей дыхательных путей человека.

Особенно важен контроль за микробным загрязнением воздуха в хирургических, ожоговых и детских отделениях больниц, а также в родильных домах, где возникновение послеоперационных, послеродовых и других госпитальных инфекций наиболее опасно. При систематическом контроле обнаружение небольшого количества патогенных санитарно значимых микроорганизмов в отделениях, где отсутствует госпитальная инфекция, является закономерным и не выходит за пределы допустимого. Показателем санитарного неблагополучия является большое, особенно нарастающее, обсеменение воздуха этими микроорганизмами.

При оценке результатов исследования микробной обсемененности воздуха необходимо установить, какое место среди обнаруживаемых патогенных стафилококков занимают виды, устойчивые к антибиотикам, и не преобладает ли среди высеваемых культур какой-либо один или немногие фаготипы. Нарастание количества патогенных стафилококков при одновременном сужении круга их типов и повышении удельного веса полирезистентных к антибиотикам форм следует рассматривать как предвестник возможного появления госпитальных инфекций.

Плановые исследования воздуха на общую бактериальную обсемененность и наличие золотистого стафилококка в операционных, асептических, реанимационных палатах хирургических отделений,

родильных залах и детских палатах акушерских стационаров проводят 1 раз в месяц; в асептических отделениях – на наличие грамотрицательных микроорганизмов по показаниям. Однако по эпидемиологическим показаниям спектр определяемых в воздухе микроорганизмов может быть расширен.

Гигиеническая оценка микробного загрязнения воздуха помещений ЛПО проводится путем сопоставления фактического количества колоний микроорганизмов (КОЕ - колониеобразующих единиц) в 1 м³ воздуха с допустимым уровнем, регламентированным действующим в настоящее время нормативным документом СанПиН 2.1.3.2630-10 (табл.).

Таблица
Допустимые уровни бактериальной обсемененности воздушной среды помещений ЛПО

Класс чистоты помещений	Наименование помещений	Общее микробное число КОЕ/м ³		Количество колоний золотистого стафилококка КОЕ/м ³	
		До начала работы	Во время работы	До начала работы	Во время работы
А	Операционные, послеоперационные палаты, реанимационные залы (палаты), в т. ч. для ожоговых больных; палаты интенсивной терапии, родовые, манипуляционные-туалетные для новорожденных	Не более 200	Не более 500	Не должно быть	
Б	Послеродовые палаты (в т. ч. с совместным пребыванием ребенка), палаты для ожоговых больных, палаты для лечения пациентов в асептических условиях, в т. ч. для иммунокомпрометированных, палаты для недоношенных, грудных, травмированных новорожденных; стерилизационные при операционных, ЦСО (чистая и стерильная зоны), малые операционные; рентгенооперационные	Не более 500	Не более 750	Не должно быть	
Б	Процедурные и асептические перевязочные, процедурные бронхоскопии	Не более 300	Не нормируется	Не должно быть	
В	Шлюзы перед палатами для новорожденных; шлюзы в боксах и полубоксах инфекционных отделений, боксы палатных отделений, боксированные палаты, палатные секции инфекционных отделений (в т.ч. туберкулёзные), кабинеты врачей	Не нормируется			

Г	ЦСО: грязная зона (приемка, разборка, мытьё и сушка медицинских инструментов), регистратурно-справочные вестибюли, гардеробные и др.; помещения для сан. обработки больных; буфетные и столовые для больных	Не нормируется
---	---	----------------