



Сравнительный анализ методов отбора проб смывов с объектов внешней среды для оценки вирусно-бактериальной контаминации

С.С. Смирнова^{1,2}, Н.Н. Жуйков¹, И.А. Егоров¹, Н.А. Пушкарёва³, А.В. Семенов^{1,4}

¹ ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора, ул. Летняя, д. 23, г. Екатеринбург, 620030, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, ул. Репина, д. 3, г. Екатеринбург, 620028, Российская Федерация

³ Филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области» в Ленинском, Верх-Исетском, Октябрьском и Кировском районах г. Екатеринбурга, ул. Мичурина, д. 91, г. Екатеринбург, 620075, Российская Федерация

⁴ Институт естественных наук и математики Уральского федерального университета имени Первого президента России Б.Н. Ельцина, ул. Мира, д. 19, г. Екатеринбург, 620002, Российская Федерация

Резюме

Введение. Одним из ключевых элементов системы эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями является микробиологический мониторинг контаминации объектов окружающей среды и рук персонала. В условиях пандемии COVID-19 сложилась особая необходимость проведения вирусологических исследований смывов с объектов окружающей среды и средств индивидуальной защиты персонала в инфекционных госпиталях для больных COVID-19. Однако, согласно действующим нормативным документам, приоритет микробиологического мониторинга смещен в сторону определения и идентификации, прежде всего, патогенов бактериальной природы. Создается необходимость в разработке и внедрении современного метода, позволяющего проводить одномоментную оценку вирусно-бактериальной контаминации.

Цель исследования: провести сравнительный анализ методов отбора проб смывов с объектов внешней среды для оценки вирусно-бактериальной контаминации.

Материалы и методы. Отбор проб смывов проводили в соответствии с запатентованной авторами «Схемой отбора проб смывов с объектов внешней среды для одновременной оценки вирусно-бактериальной контаминации» (патент на промышленный образец № 132971 от 05.09.2022). В исследовании применяли бактериологический, молекулярно-генетический и статистический методы.

Результаты. Исследованы 343 пробы смывов, из которых 68 были нестандартными (по 38 или 11,1 % содержали РНК SARS-CoV-2 и условно-патогенные микроорганизмы). Среди условно-патогенных микроорганизмов было идентифицировано 42 штамма бактерий, в том числе *Enterococcus faecalis* 16 штаммов (38,1 %), *Klebsiella pneumoniae* 9 штаммов (21,4 %), *Escherichia coli* 7 штаммов (16,7 %), *Enterococcus faecium* 3 штамма (7,1 %), *Staphylococcus aureus* 3 штамма (7,1 %), *Pseudomonas aeruginosa* 2 штамма (4,9 %) и *Pantoea agglomerans* 2 штамма (4,9 %). Было выявлено 11 вариантов вирусно-бактериальных ассоциаций. Сопоставление результатов исследования смывов, отобранных исследуемым методом, с результатами отбора регламентированным методом указывало на существенное различие в доле нестандартных находок SARS-CoV-2 – в 11,1, условно-патогенной микрофлоры – 12,3 раза.

Выводы. Таким образом, исследуемый метод отбора смывов с объектов окружающей среды отвечает современным требованиям и обеспечивает возможность проведения объективной оценки уровня вирусно-бактериальной контаминации исследуемых объектов. Данный подход может быть применен при проведении лабораторных исследований в рамках государственного и производственного контроля в учреждениях различных профилей (медицинских, пищевых, детских и пр.).

Ключевые слова: инфекционный госпиталь, объекты внешней среды, вирусно-бактериальная контаминация, SARS-CoV-2, условно-патогенная микрофлора.

Для цитирования: Смирнова С.С., Жуйков Н.Н., Егоров И.А., Пушкарёва Н.А., Семенов А.В. Сравнительный анализ методов отбора проб смывов с объектов внешней среды для оценки вирусно-бактериальной контаминации // Здоровье населения и среда обитания. 2023. Т. 31. № 4. С. 77–84. doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2023-31-4-77-84>

Comparative Analysis of Methods of Environmental Surface Sampling for Assessment of Viral and Bacterial Contamination

Svetlana S. Smirnova,^{1,2} Nikolai N. Zhuikov,¹ Ivan A. Egorov,¹ Nataliya A. Pushkareva,³ Aleksandr V. Semenov^{1,4}

¹ Federal Research Institute of Viral Infections “Virome”, 23 Letnyaya Street, Yekaterinburg, 620030, Russian Federation

² Ural State Medical University, 3 Repin Street, Yekaterinburg, 620028, Russian Federation

³ Branch of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region in Leninsky, Verkh-Isetsky, Oktyabrsky and Kirovsky Districts of Yekaterinburg, 91 Michurin Street, Yekaterinburg, 620075, Russian Federation

⁴ Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin, 19 Mira Street, Yekaterinburg, 620002, Russian Federation

Summary

Introduction: One of the key elements of the infectious disease surveillance system is microbiological monitoring of contamination of environmental objects and healthcare personnel hands. In the context of the COVID-19 pandemic, virology testing of swabs from hospital objects and personal protective equipment of workers of infectious disease hospitals for patients with COVID-19 has acquired special importance. According to the current regulatory documents, however, greater priority in microbiological monitoring is given to determination and identification of bacterial pathogens, thus necessitating the development and implementation of an advanced technique of a simultaneous assessment of viral and bacterial contamination.

Objective: To compare different environmental surface sampling techniques used to assess viral and bacterial contamination.

Materials and methods: Samples for environmental swab testing were collected in accordance with the “Scheme for sampling environmental swabs for simultaneous assessment of viral and bacterial contamination” patented by the authors (Industrial Design Patent No. 132971 of September 5, 2022). We applied bacteriological, molecular genetic, and statistical methods in the study.

Results: Overall, 343 wipe samples were tested, of which 68 were atypical (two 38-swab portions, 11.1 % each, contained SARS-CoV-2 RNA and opportunistic microorganisms). Among the opportunistic microorganisms, 42 bacterial strains were identified, including 16 strains of *Enterococcus faecalis* (38.1 %), 9 strains of *Klebsiella pneumoniae* (21.4 %), 7 strains of *Escherichia coli* (16.7 %), 3 strains of *Enterococcus faecium* (7.1 %), 3 strains of *Staphylococcus aureus* (7.1 %), 2 strains of *Pseudomonas aeruginosa* (4.9 %), and 2 strains of *Pantoea agglomerans* (4.9 %). Eleven variants of viral and bacterial associations were identified. The comparison of environmental swabbing performed by the technique under study with that performed by the standard method, based on test results, indicated a significant 11.1 and 12.3-fold difference in the proportion of non-standard findings for SARS-CoV-2 and opportunistic microorganisms, respectively.

Conclusions: The study results prove that our technique of environmental swabbing meets all modern requirements and facilitates an objective assessment of the level of viral and bacterial contamination of the study objects. This approach can be used for laboratory testing within state and industrial control at institutions of various specialties (healthcare, food industry, childcare facilities, etc.).

Keywords: infectious disease hospital, environmental objects, viral and bacterial contamination, SARS-CoV-2, opportunistic microorganisms.

For citation: Smirnova SS, Zhuikov NN, Egorov IA, Pushkareva NA, Semenov AV. Comparative analysis of methods of environmental surface sampling for assessment of viral and bacterial contamination. *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2023;31(4):77–84. (In Russ.) doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2023-31-4-77-84>

Введение. Одним из ключевых элементов системы эпидемиологического надзора за инфекционными заболеваниями является микробиологический мониторинг контаминации объектов окружающей среды (ООС) и рук персонала, в том числе медицинских организаций, как факторов распространения возбудителей инфекционных болезней.

Согласно действующим нормативным документам основными направлениями микробиологического мониторинга являются санитарно-бактериологические исследования микробной обсемененности ООС^{1,2} и санитарно-вирусологические исследования³. Несмотря на это, приоритет микробиологического мониторинга смещен в сторону определения и идентификации, прежде всего, патогенов бактериальной природы. Такой подход не учитывает современную тенденцию эпидемического процесса, характеризующуюся сменой ведущих возбудителей, со значительным увеличением этиологической роли агентов вирусов природы и не позволяет в полной мере установить причинно-следственные связи при расследовании вспышек инфекционных заболеваний [1].

Так, в частности, оценка вспышечной заболеваемости острыми кишечными инфекциями (ОКИ) свидетельствует о значительной роли в этиологии рота- и норовирусов [2]. В Государственном докладе «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2021 году» отмечено, что в медицинских организациях в 2021 году помимо SARS-CoV-2 формировались вспышки, связанные с рота-, норо- и энтеровирусами⁴.

В условиях пандемии COVID-19 сложилась особая необходимость проведения вирусологических исследований смывов с ООС и средств индивидуальной защиты (СИЗ) персонала в специализированных медицинских организациях (МО) стационарного типа – инфекционных госпиталях для лечения больных COVID-19. В учреждения данного типа формируется искусственно созданная закрытая экосистема, в которой отмечается одновременная циркуляция вирусов и бактерий с антимикробной резистентностью [3–6]. Это требует расширения номенклатуры исследований обсемененности ООС дополнительными вирусологическими исследованиями.

Регламентированная раздельность процедур отбора проб смывов с ООС на бактериологические и вирусологические исследования не позволяет проводить совместную оценку вирусно-бактериальной контаминации в рамках микробиологического мониторинга. Страдает объективность оценки микробной контаминации за счет невозможности сопоставления результатов бактериологических и вирусологических исследований разных наблюдений [7–9]. Также не учитывается специфика взаимодействия вирусных и бактериальных популяций при их смешанной циркуляции, сопровождающаяся более длительным сохранением вирусов в бактериальных биопленках [10].

Создается необходимость в разработке и внедрении современного метода по одномоментной оценке, вирусно-бактериальной контаминации с целью установления роли ООС в эпидемиологической цепочке передачи возбудителей инфекционных

¹ МУ 4.2.2942–11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях». [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200087214> (дата обращения: 02.02.2022).

² МР 4.2.0220–20 «Методы санитарно-бактериологического исследования микробной обсемененности объектов внешней среды». [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/573595605> (дата обращения: 02.02.2022).

³ МУК 4.2.3591–19 «Методы санитарно-вирусологических исследований пищевых продуктов и смывов с объектов окружающей среды на предприятиях пищевой промышленности, общественного питания и торговли. Подготовка образцов для исследований с применением методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК)». [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/564952849> (дата обращения: 02.02.2022).

⁴ О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2021 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2022. 340 с.

болезней и разработке целенаправленных профилактических и противозидемических мероприятий.

Цель исследования: провести сравнительный анализ методов отбора проб смывов с объектов внешней среды для оценки вирусно-бактериальной контаминации.

Материалы и методы. Исследование проведено в 2022 году на базе Екатеринбургского научно-исследовательского института вирусных инфекций Федерального бюджетного учреждения науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии “Вектор”» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (в настоящее время – Федеральное бюджетное учреждение науки «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций “Виром”» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, приказ Роспотребнадзора № 599 от 11.11.2022), Федерального бюджетного учреждения здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области» и одного из учреждений здравоохранения Свердловской области, где был развернут инфекционный госпиталь для лечения больных COVID-19.

Отбор проб смывов с ООС и СИЗ персонала на наличие генетического материала SARS-CoV-2 и условно-патогенной микрофлоры (УПМ) проводили в соответствии с запатентованной авторами «Схемой отбора проб смывов с объектов внешней среды для одновременной оценки вирусно-бактериальной контаминации» (патент на промышленный образец № 132971 от 05.09.2022).

Смывы отбирали одновременно двумя стерильными тампонами в течение 3 суток через каждые 4 часа по 20 унифицированным точкам отбора (рисунок). Точки отбора были сгруппированы в 3 блока: СИЗ персонала (наружная поверхность перчаток врача, медицинской сестры, уборщика служебных помещений; наружная поверхность комбинезона врача, медицинской сестры, уборщика служебных помещений), пациенты (манипуляционный столик у постели больного, поручни и рычаги реанимационной кровати, наружная поверхность шприцевого дозатора, наружная поверхность аппарата ИВЛ), общебольничные точки (наружная поверхность электроотсоса, винты кислородной разводки, выключатели электроосвещения, ручки дверей, дозаторы для жидкого мыла/кожного антисептика, рабочее место врача). Всего

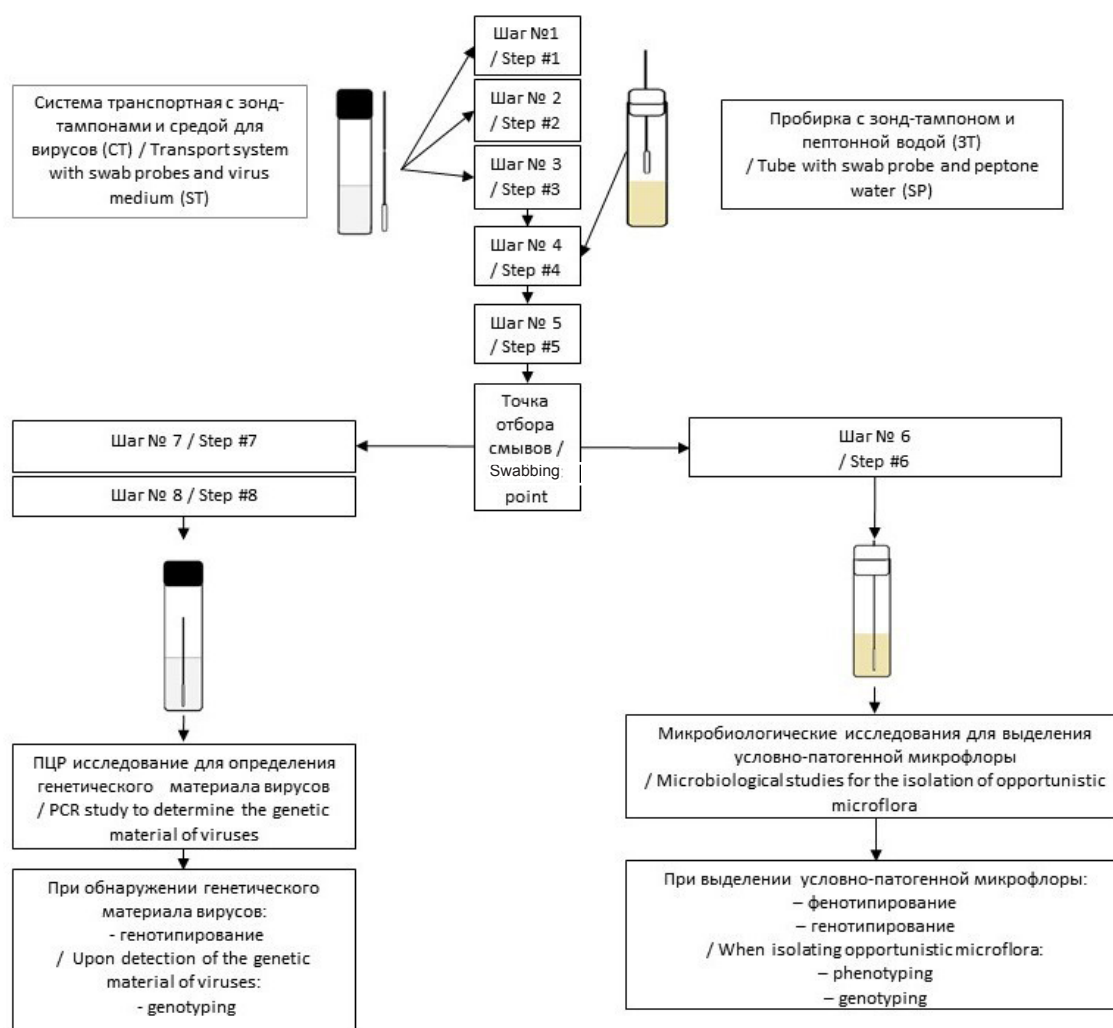


Рисунок. Схема отбора смывов с объектов внешней среды для оценки вирусно-бактериальной контаминации
Figure. Scheme for sampling environmental swabs for simultaneous assessment of viral and bacterial contamination

было отобрано 343 пробы смывов, по 17–18 проб с каждой точки отбора.

Перед началом отбора проводилась подготовка пробирки с зонд-тампоном и средой для вирусов (СТ) и пробирки с зонд-тампоном и пептонной водой (ЗТ). Процедура взятия смыва осуществлялась в соответствии с запатентованной «Схемой отбора проб смывов с объектов внешней среды для одновременной оценки вирусно-бактериальной контаминации». После окончания отбора смывов зонд-тампоны опускали обратно в пробирки, которые устанавливали в штатив. В дальнейшем проба направлялась на микробиологические исследования для выделения УПМ. При выделении УПМ выделенные штаммы исследовались фенотипически и генотипически. Генетический материал вирусов в пробах определялся методом полимеразной цепной реакции. При обнаружении генетического материала вирусов проводили генотипирование.

Смывы брались одновременно с запланированных поверхностей путем легкого надавливания тампонами по поверхности. Перемещение тампонов по поверхности осуществлялось в двух перпендикулярных направлениях. При контроле мелких предметов смывы забирались с поверхности всего предмета, при контроле предметов с большей поверхности – из нескольких мест с общей площадью не менее 100 см². Смывы с рук брали в следующем порядке: протирали тампонами поверхности перчаток обеих рук, проводя не менее 5 раз по каждой тыльной, ладонной поверхностям кистей, больших пальцев и межпальцевых промежутков.

В настоящем исследовании после процедуры взятия смыва для обнаружения РНК SARS-CoV-2 тампон погружали в стерильные одноразовые пробирки, наполненные 2 мл транспортной среды для вирусов (ООО «Полигем»), для определения условно-патогенных бактерий – стерильные стеклянные пробирки с пептонной водой.

Хранение, подготовка проб к транспортированию, транспортировка и выявление РНК SARS-CoV-2 в пробах проводились в соответствии с МР 3.1.0196–20⁵, МУ 4.2.2942–11⁶ и инструкцией к тест-системам методом ПЦР в реальном времени с применением тест-системы АмплиСенс® Cov-Bat-FL. Для выделения нуклеиновых кислот из исследуемых проб использовали набор «РИБО-преп», проведения обратной транскрипции применяли набор «Реверта-Л» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва).

Изучение фенотипических свойств циркулирующей микрофлоры проводилось бактериологическим методом с подтверждением чистоты культуры, постановкой биохимических рядов. Оценка антибиотикорезистентности выделенных штаммов проводилась с помощью автоматического бактериологического анализатора VITEK® 2 Compact (bioMérieux SA,

Франция) и классическим полуколичественным диско-диффузионным методом.

Объектом сравнения частоты выделения УПМ и генетического материала вируса SARS-CoV-2 при использовании стандартных (раздельных) методов отбора материала с объектов внешней среды послужили данные еженедельного отчета № 1364 «Мониторинг нарушения санитарного законодательства в медицинских организациях», представленного Управлениями Роспотребнадзора по субъектам Уральского Федерального округа (УФО) за 43 неделю 2021 года в системе оперативного обмена данных report.gsen.ru, что по времени соответствовало периоду проведения исследования.

Патентный поиск осуществлялся путем введения поисковых запросов по ключевым словам: смывы, отбор смывов, контаминация объектов, вирусно-бактериальная контаминация в базах данных «Патентные документы РФ» и «Российские промышленные образцы» Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный институт промышленной собственности» (<https://fips.ru/iiss/>). Глубина поиска составила 22 года (2000–2022 гг.).

В исследовании применяли молекулярно-генетические, бактериологический и статистический методы. Для анализа полученных данных применяли общепринятые статистические приемы. Данные представлены в виде абсолютных и относительных величин (%).

Статистическую значимость различий оценивали по точечному критерию Фишера (φ). Различия считали достоверными при $p \leq 0,05$. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Microsoft Office 2010, онлайн-ресурса <https://medstatistic.ru/>, ПС Statistica 10.

Результаты. В ранее проведенном авторами исследовании была изучена вирусно-бактериальная контаминация объектов больничной среды инфекционного госпиталя для лечения больных, инфицированных SARS-CoV-2, и практически отработан метод отбора проб смывов с объектов внешней среды для одновременной оценки вирусно-бактериальной контаминации (патент на промышленный образец № 132971 от 05.09.2022 «Схема отбора проб смывов с объектов внешней среды для одновременной оценки вирусно-бактериальной контаминации») [11]. Настоящее исследование является логическим продолжением исследования по возможности совместной оценки вирусно-бактериальной контаминации в рамках микробиологического мониторинга.

Всего отобрано и исследовано 343 пробы смывов с ООС и СИЗ персонала, из них 68 нестандартных, в том числе 38 – РНК SARS-CoV-2 (11,1 %), 38 – УПМ (11,1 %).

Выделенный с поверхностей SARS-CoV-2 относился к геноварианту B.1.617.1 DELTA, который имел

⁵ МР 3.1.0196–20 «Профилактика инфекционных болезней. Выявление возбудителя COVID-19 в образцах внешней среды». [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/565310373> (дата обращения: 02.02.2022).

⁶ МУ 4.2.2942–11 «Методы санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, воздуха и контроля стерильности в лечебных организациях». [Электронный ресурс.] Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200087214> (дата обращения: 02.02.2022).

наибольшее распространение в период проведения исследования.

В процессе исследования нестандартных проб УПМ выделено 42 штамма бактерий: *Enterococcus faecalis* (16 штаммов, 38,1 %), *Klebsiella pneumoniae* (9 штаммов, 21,4 %), *Escherichia coli* (7 штаммов, 16,7 %), *Enterococcus faecium* (3 штамма, 7,1 %), *Staphylococcus aureus* (3 штамма, 7,1 %), *Pseudomonas aeruginosa* (2 штамма, 4,9 %) и *Pantoea agglomerans* (2 штамма, 4,9 %).

Установлено 11 вариантов вирусно-бактериальных ассоциаций, спектр сочетания которых был крайне разнообразен: SARS-CoV-2 + *E. faecalis* (27,3 %), SARS-CoV-2 + *K. pneumoniae* (18,2 %), SARS-CoV-2 + *E. coli* (9,1 %), SARS-CoV-2 + *P. aeruginosa* (9,1 %), *P. agglomerans* + *E. faecalis* (9,1 %), *E. coli* + *E. faecalis* (9,1 %), *K. pneumoniae* + *E. faecalis* (9,1 %), *K. pneumoniae* + *E. coli* (9,1 %). В роли ассоцианта в большинстве случаев (63,6 %) выступал SARS-CoV-2, среди бактериальной микрофлоры лидировали *E. faecalis* (54,5 %) и *K. pneumoniae* (36,4 %).

Профиль антибиотикорезистентности всех выделенных штаммов УПМ характеризовался устойчивостью к пенициллинам (40,5 %), фторхинолонам и тетрациклинам (по 33,3 %) и цефалоспорином (26,2 %).

Штаммы *E. faecalis* были резистентны к макролидам (100,0 %) и тетрациклинам (75,0 %), в меньшей степени к фторхинолонам – 18,8 %. Все штаммы *E. faecium* были устойчивы к макролидам, треть была резистентна к нитрофурантоину.

Треть штаммов *S. aureus* была устойчива к пенициллинам и макролидам (по 33,3 %). Один выделенный штамм *S. aureus* имел фенотип MLSB, обуславливающий перекрестную устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам и стрептограммам В.

Все выделенные штаммы *K. pneumoniae* (100 %) были устойчивы к пенициллинам, цефалоспорином, макролидам и сульфаметоксазол/триметоприму, в 66,7 % – к фторхинолонам, аминогликозидам, нитрофурантоину, в 22,2 % – к карбапенемам, тетрациклинам, фосфомицину. Бета-лактамазу расширенного спектра действия (ESBL) продуцировали 7 (77,8 %) из 9 выделенных штаммов *K. pneumoniae*.

Все выделенные штаммы *E. coli* проявили резистентность к пенициллинам (100,0 %), 71,4 % – к фторхинолонам. В меньшей степени устойчивость *E. coli* проявлялась к цефалоспорином – 28,6 %, аминогликозидам и фосфомицину – по 14,3 %. Бета-лактамазу расширенного спектра действия (ESBL) продуцировали 2 (28,6 %) из 7 выделенных штаммов *E. coli*.

Штаммы *P. aeruginosa* были резистентны к фосфомицину (100,0 %) и пенициллинам (50,0 %), штаммы *P. agglomerans* – к тетрациклинам (100,0 %) и карбапенемам (50,0 %).

Нами проведено сопоставление результатов, полученных в ходе исследуемого отбора смывов для определения вирусно-бактериальной контаминации с результатами регламентированного отбора проб, который проводился в рамках еженедельного мониторинга вирусно-бактериальной контаминации ООС инфекционных госпиталей субъектов Уральского федерального округа (УФО) в период, соответствующий периоду проведения исследования (43 неделя 2021 г.).

Всего в инфекционных госпиталях УФО было отобрано и исследовано 709 пробы смывов на SARS-CoV-2 (нестандартных не выявлено) и 1021 проб на УПМ (из них 9 нестандартных, 0,9 %). Всего было выделено 10 штаммов бактерий, из них: *Staphylococcus spp.* (3 штамма, 30,0 %), *E. coli* (3 штаммов, 30,0 %), *Klebsiella spp.* (1 штамм, 10,0 %), *Acinetobacter spp.* (1 штамма, 10,0 %), *P. aeruginosa* (2 штамма, 20,0 %).

Сопоставление результатов исследования смывов, отобранных исследуемым методом, с результатами отбора регламентированным методом указывало на существенное различие в доле нестандартных находок SARS-CoV-2 – в 11,1, УПМ – 12,3 раза (табл. 1).

Спектр выделенных штаммов УПМ существенно не различался в зависимости от метода отбора и был представлен *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter spp.* (табл. 2). Однако частота выделения имела различия. Так, при регламентированном методе отбора в структуре находок

Таблица 1. Частота обнаружения нестандартных находок смывов с объектов внешней среды инфекционных госпиталей исследуемым и регламентированным методом отбора проб смывов (абсолютное число, %)

Table 1. Frequency of atypical findings in wipe samples of environmental objects in infectious disease hospitals collected using the proprietary and standard methods (n, %)

Показатели / Indicators	SARS-CoV-2		УПМ / Opportunistic microorganisms	
	исследуемый метод / proprietary method	регламентированный метод / standard method	исследуемый метод / proprietary method	регламентированный метод / standard method
Количество проб, n / Wipe samples, n	343	709	343	1021
Количество нестандартных проб, n / Atypical samples, n	38	0	38	9
Доля нестандартных проб, % / Atypical samples, %	11,1	0	11,1	0,9
Критерии и достоверности различия / Criteria and significance of differences	$\varphi_{\text{эмп/теор}} = 10,318$, $p < 0,01$	$\varphi_{\text{эмп/теор}} = 7,861$, $p < 0,01$		

Примечание: p – уровень статистической значимости; $\varphi_{\text{эмп}}$ – точечный критерий Фишера.

Notes: p – level of statistical significance; $\varphi_{\text{эмп}}$ – Fisher's exact test.

Таблица 2. Частота выделения штаммов условно-патогенных бактерий с объектов больничной среды инфекционных госпиталей исследуемым и регламентированным методом отбора проб смывов (абсолютное число, %)**Table 2. Frequency of isolating strains of opportunistic bacteria from wipe samples of environmental objects in infectious disease hospitals collected using the proprietary and standard methods (n, %)**

Наименование бактерии / Name of bacterium	Исследуемый метод / Proprietary method		Регламентированный метод / Standard method		Критерии и достоверности различия / Criteria and significance of differences
	Количество проб, n / Wipe samples, n	Доля положительных проб, % / Positive test results, %	Количество проб, n / Wipe samples, n	Доля положительных проб, % / Positive test results, %	
<i>Enterobacter spp.</i>	19	45,2	0	0	$\varphi_{\text{эмп/emp}} = 4,193, p < 0,01$
<i>Klebsiella spp.</i>	9	21,4	1	10,0	$\varphi_{\text{эмп/emp}} = 0,907, p > 0,05$
<i>Escherichia coli</i>	7	16,7	3	30,0	$\varphi_{\text{эмп/emp}} = 0,904, p > 0,05$
<i>Staphylococcus spp.</i>	3	7,1	3	30,0	$\varphi_{\text{эмп/emp}} = 1,757, 0,01 < p < 0,05$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	4,8	2	20,0	$\varphi_{\text{эмп/emp}} = 1,385, p > 0,05$
<i>Acinetobacter spp.</i>	0	0	1	10,0	$\varphi_{\text{эмп/emp}} = 1,829, 0,01 < p < 0,05$
<i>Pantoea agglomerans</i>	2	4,8	–	–	–
Всего / Total	42	100	10	100	–

Примечание: p – уровень статистической значимости; $\varphi_{\text{эмп}}$ – точечный критерий Фишера.

Notes: p – level of statistical significance; φ_{emp} – Fisher's exact test.

преобладали *Staphylococcus spp.* и *Escherichia coli* (по 30,0 %), *Pseudomonas aeruginosa* (20,0 %), в том время как при одномоментном методе отбора лидировали *Enterobacter spp.* (45,2 %), *Klebsiella spp.* (21,4 %) и *Escherichia coli* (16,7 %).

Обсуждение. Необходимость совместной оценки уровня вирусной и бактериальной нагрузки в учреждениях различного типа приобрела особое значение в условиях пандемии COVID-19. Проведен широкий спектр исследований по изолированной оценке контаминации объектов больничной среды вирусом SARS-CoV-2 и представителями УПМ [12–15]. В Китае доля смывов с ОСС, отобранных в помещениях «красной зоны» инфекционных госпиталей для лечения больных COVID-19, содержащих РНК SARS-CoV-2, достигала 56,7 % [16–18]. В медицинских организациях г. Хабаровска уровень бактериальной контаминации ООС составил 4,7 %, были выделены *P. aeruginosa*, *P. stutzeri*, *Acinetobacter baumannii*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Pantoea*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus haemolyticus*, однако обнаружение вирусов (в т. ч. SARS-CoV-2) не проводилось [19].

Опубликованы результаты исследований и по совместной оценке вирусно-бактериальной контаминации. Так, в Испании отбор проб на SARS-CoV-2 осуществлялся методом смывов, а бактериальная нагрузка оценивалась путем прижатия чашек Петри с питательной средой к исследуемым поверхностям [20]. В США для совместной оценки вирусной (SARS-CoV-2) и бактериальной нагрузки поверхностей инфекционного госпиталя для лечения больных и подозрительных на COVID-19 использовали синтетические тампоны с двойным наконечником, которые погружали в пробирку с этиловым спиртом. Однако применение этилового спирта вместо транспортной среды существенно ограничивало использование данного метода отбора совместно с классическими бактериологическими методами [21]. Исследование, проведенное в Англии, совмещало в себе изучение

контаминации объектов больничной среды РНК SARS-CoV-2 с бактериями, однако в ходе него не проводили секвенирование и родовидовую характеристику выделенных бактерий [5]. Опубликованы данные и о применении двойных зондов для взятия смывов с рук для изучения влияния техники гигиены рук на микробном кожи [22].

В результате патентного поиска в базах данных «Патентные документы РФ» и «Российские промышленные образцы» Федерального государственного бюджетного учреждения «Федеральный институт промышленной собственности» документов на методику одномоментного использования двух тупферов для отбора смывов с объектов внешней среды для совместной оценки контаминации объектов вирусами и бактериями нами не найдено.

Закключение. Таким образом, при сравнительном анализе исследуемого и регламентированного методов отбора проб установлено:

1. Отбор смывов с объектов внешней среды для одновременной оценки вирусно-бактериальной контаминации показал высокую эффективность в обнаружении нестандартных находок SARS-CoV-2 и УПМ (до 12,3 раза).

2. Исследуемый метод отвечает современным требованиям и обеспечивает возможность проведения объективной оценки уровня вирусно-бактериальной контаминации ООС и рук персонала, что позволяет оптимизировать проведение микробиологического мониторинга с учетом текущей эпидемиологической ситуации, проводить одновременную оценку контаминации объектов внешней среды бактериями и вирусами, целенаправленно проводить дезинфекционные мероприятия.

3. Данный подход может быть применен при проведении лабораторных исследований в рамках государственного и производственного контроля в учреждениях различных профилей (медицинских, пищевых, детских и пр.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Смирнова С.С., Южанина Т.С., Вяткина Л.Г., Голубкова А.А., Алимов А.В. Вспышки инфекционных заболеваний в медицинских организациях. Вопросы эпидемиологической диагностики. Преданалитический этап // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2019. Т. 24. № 5-6. С. 204–212. doi: 10.17816/1560-9529-2019-24-5-6-204-212
- Сергеев В.И., Кузовникова Е.Ж., Тряслобова М.А., Ладейщикова Ю.И. Тенденции в многолетней динамике заболеваемости населения острыми кишечными инфекциями и эпидемиологические особенности вспышек в последние годы // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2015. Т. 20. № 4. С. 17–21.
- Wu S, Wang Y, Jin X, Tian J, Liu J, Mao Y. Environmental contamination by SARS-CoV-2 in a designated hospital for coronavirus disease 2019. *Am J Infect Control*. 2020;48(8):910-914. doi: 10.1016/j.ajic.2020.05.003
- Coil DA, Albertson T, Banerjee S, et al. SARS-CoV-2 detection and genomic sequencing from hospital surface samples collected at UC Davis. *PLoS One*. 2021;16(6):e0253578. doi: 10.1371/journal.pone.0253578
- Moore G, Rickard H, Stevenson D, et al. Detection of SARS-CoV-2 within the healthcare environment: a multi-centre study conducted during the first wave of the COVID-19 outbreak in England. *J Hosp Infect*. 2021;108:189-196. doi: 10.1016/j.jhin.2020.11.024
- Белобородов В.Б., Гусаров В.Г., Дехнич А.В. и др. Методические рекомендации Российской некоммерческой общественной организации «Ассоциация анестезиологов-реаниматологов», Межрегиональной общественной организации «Альянс клинических химиотерапевтов и микробиологов», Межрегиональной ассоциации по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), общественной организации «Российский Сепсис Форум» «Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов» // Вестник анестезиологии и реаниматологии. 2020. Т. 17. № 1. С. 52–83. doi: 10.21292/2078-5658-2020-17-1-52-83
- Onakpoya IJ, Heneghan CJ, Spencer EA, et al. SARS-CoV-2 and the role of fomite transmission: a systematic review. *F1000Res*. 2021;10:233. doi: 10.12688/f1000research.51590.3
- Белова И.В., Точилина А.Г., Соловьева И.В. и др. Видовой состав микробиоты автобусов внутригородских маршрутов // Здоровье населения и среда обитания. 2021. № 4 (337). С. 10–17. doi: 10.35627/2219-5238/2021-337-4-10-17
- Послова Л.Ю., Сергеева А.В., Ковалишена О.В. Оценка контаминации больничной среды кишечными вирусами в рамках эпидемиологического надзора за острыми кишечными инфекциями вирусной этиологии // Медицинский альманах. 2018. № 4 (55). С. 42–46. doi: 10.21145/2499-9954-2018-4-42-46
- Turnage NL, Gibson KE. Sampling methods for recovery of human enteric viruses from environmental surfaces. *J Virol Methods*. 2017;248:31-38. doi: 10.1016/j.jviromet.2017.06.008
- Егоров И.А., Смирнова С.С., Мищенко В.А., Вялых И.В. и др. Особенности вирусно-бактериальной контаминации объектов больничной среды инфекционного госпиталя для лечения больных COVID-19 в период пандемии // Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2022. Т. 21. № 6. С. 13–23. doi: 10.31631/2073-3046-2022-21-6-13-23
- Cheng VC, Wong SC, Chan VW, et al. Air and environmental sampling for SARS-CoV-2 around hospitalized patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020;41(11):1258-1265. doi: 10.1017/ice.2020.282
- Elbadawy HM, Khattab A, Alalawi A, et al. The detection of SARS-CoV-2 in outpatient clinics and public facilities during the COVID-19 pandemic. *J Med Virol*. 2021;93(5):2955-2961. doi: 10.1002/jmv.26819
- Shah MR, Jan I, Johns J, et al. SARS-CoV-2 nosocomial infection: Real-world results of environmental surface testing from a large tertiary cancer center. *Cancer*. 2021;127(11):1926-1932. doi: 10.1002/cncr.33453
- Piana A, Colucci ME, Valeriani F, et al. Monitoring COVID-19 transmission risks by quantitative real-time PCR tracing of droplets in hospital and living environments. *mSphere*. 2021;6(1):e01070-20. doi: 10.1128/mSphere.01070-20
- Chia PY, Coleman KK, Tan YK, et al. Detection of air and surface contamination by SARS-CoV-2 in hospital rooms of infected patients. *Nat Commun*. 2020;11(1):2800. doi: 10.1038/s41467-020-16670-2
- Lv J, Yang J, Xue J, Zhu P, Liu L, Li S. Detection of SARS-CoV-2 RNA residue on object surfaces in nucleic acid testing laboratory using droplet digital PCR. *Sci Total Environ*. 2020;742:140370. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140370
- Ong SWX, Tan YK, Chia PY, et al. Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *JAMA*. 2020;323(16):1610-1612. doi: 10.1001/jama.2020.3227
- Троценко О.Е., Бондаренко А.П., Пшеничная Н.Ю. и др. Оценка потенциальной опасности внешней среды двух больничных стационаров г. Хабаровска в период новой коронавирусной инфекции (декабрь 2020 г. – март 2021 г.) // Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12. № 3. С. 535–542. doi: 10.15789/2220-7619-EOT-1844
- Gavaldà-Mestre L, Ramírez-Tarruella D, Gutiérrez-Milla C, et al. Nondetection of SARS-CoV-2 on high-touch surfaces of public areas next to COVID-19 hospitalization units. *Am J Infect Control*. 2021;49(6):840-842. doi: 10.1016/j.ajic.2021.01.007
- Marotz C, Belda-Ferre P, Ali F, et al. SARS-CoV-2 detection status associates with bacterial community composition in patients and the hospital environment. *Microbiome*. 2021;9(1):132. doi: 10.1186/s40168-021-01083-0
- Zapka C, Leff J, Henley J, et al. Comparison of standard culture-based method to culture-independent method for evaluation of hygiene effects on the hand microbiome. *mBio*. 2017;8(2):e00093-17. doi: 10.1128/mBio.00093-17

REFERENCES

- Meditsinskiy Al'manakh*. 2018;(4(55)):42-46. (In Russ.) doi: 10.21145/2499-9954-2018-4-42-46
10. Turnage NL, Gibson KE. Sampling methods for recovery of human enteric viruses from environmental surfaces. *J Virol Methods*. 2017;248:31-38. doi: 10.1016/j.jviromet.2017.06.008
 11. Egorov IA, Smirnova SS, Mishchenko VA, et al. Characteristic of viral and bacterial contaminations objects of the infection hospital environment of the hospital for the treatment of patients with COVID-19 during the pandemic period. *Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika*. 2022;21(6):13-23. (In Russ.) doi: 10.31631/2073-3046-2022-21-6-13-23
 12. Cheng VC, Wong SC, Chan VW, et al. Air and environmental sampling for SARS-CoV-2 around hospitalized patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2020;41(11):1258-1265. doi: 10.1017/ice.2020.282
 13. Elbadawy HM, Khattab A, Alalawi A, et al. The detection of SARS-CoV-2 in outpatient clinics and public facilities during the COVID-19 pandemic. *J Med Virol*. 2021;93(5):2955-2961. doi: 10.1002/jmv.26819
 14. Shah MR, Jan I, Johns J, et al. SARS-CoV-2 nosocomial infection: Real-world results of environmental surface testing from a large tertiary cancer center. *Cancer*. 2021;127(11):1926-1932. doi: 10.1002/cncr.33453
 15. Piana A, Colucci ME, Valeriani F, et al. Monitoring COVID-19 transmission risks by quantitative real-time PCR tracing of droplets in hospital and living environments. *mSphere*. 2021;6(1):e01070-20. doi: 10.1128/mSphere.01070-20
 16. Chia PY, Coleman KK, Tan YK, et al. Detection of air and surface contamination by SARS-CoV-2 in hospital rooms of infected patients. *Nat Commun*. 2020;11(1):2800. doi: 10.1038/s41467-020-16670-2
 17. Lv J, Yang J, Xue J, Zhu P, Liu L, Li S. Detection of SARS-CoV-2 RNA residue on object surfaces in nucleic acid testing laboratory using droplet digital PCR. *Sci Total Environ*. 2020;742:140370. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140370
 18. Ong SWX, Tan YK, Chia PY, et al. Air, surface environmental, and personal protective equipment contamination by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) from a symptomatic patient. *JAMA*. 2020;323(16):1610-1612. doi: 10.1001/jama.2020.3227
 19. Trotsenko OE, Bondarenko AP, Pshenichnaya NY, et al. Evaluation of the two in-patient hospitals on potential environmental hazard during the period of new coronavirus infection in the Khabarovsk city (December 2020 – March 2021). *Infektsiya i Immunitet*. 2022;12(3):535-542. (In Russ.) doi: 10.15789/2220-7619-EOT-1844
 20. Gavalda-Mestre L, Ramirez-Tarruella D, Gutierrez-Milla C, et al. Nondetection of SARS-CoV-2 on high-touch surfaces of public areas next to COVID-19 hospitalization units. *Am J Infect Control*. 2021;49(6):840-842. doi: 10.1016/j.ajic.2021.01.007
 21. Marotz C, Belda-Ferre P, Ali F, et al. SARS-CoV-2 detection status associates with bacterial community composition in patients and the hospital environment. *Microbiome*. 2021;9(1):132. doi: 10.1186/s40168-021-01083-0
 22. Zapka C, Leff J, Henley J, et al. Comparison of standard culture-based method to culture-independent method for evaluation of hygiene effects on the hand microbiome. *mBio*. 2017;8(2):e00093-17. doi: 10.1128/mBio.00093-17

Сведения об авторах:

Смирнова Светлана Сергеевна – к.м.н., ведущий научный сотрудник, руководитель Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора, доцент кафедры эпидемиологии, социальной гигиены и организации госзаказов ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России; e-mail: smirnova_ss@eniivi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9749-4611>.

✉ **Жуйков** Николай Николаевич – научный сотрудник Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора; e-mail: zhuykov_nn@eniivi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7018-7582>.

Егоров Иван Андреевич – младший научный сотрудник Урало-Сибирского научно-методического центра по профилактике инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора; e-mail: egorov_ia@eniivi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7153-2827>.

Пушкарёва Наталия Александровна – заведующая лабораторией контроля биологических факторов филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Свердловской области»; e-mail: mail_08@66.rospotrebnadzor.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4992-8570>.

Семенов Александр Владимирович – д.б.н., директор ФБУН ФНИИВИ «Виром» Роспотребнадзора, профессор кафедры экспериментальной биологии и биотехнологии Института естественных наук и математики Уральского федерального университета имени Первого президента России Б.Н. Ельцина; e-mail: semenov_av@eniivi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>.

Информация о вкладе авторов: концепция и дизайн исследования: Смирнова С.С.; сбор данных: Жуйков Н. Н.; анализ и интерпретация результатов: Егоров И.А.; литературный обзор: Пушкарёва Н.А.; подготовка рукописи: Семенов А. В. Все авторы ознакомились с результатами работы и одобрили окончательный вариант рукописи.

Соблюдение этических стандартов: исследование одобрено на заседании Локального этического комитета ФНИИВИ ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (Протокол № 3 от 24.06.2022).

Финансирование: НИР «Изучение эпидемического процесса и профилактики вирусных ИСМП», Рег. № НИОКТР 121040500099-5.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Статья получена: 27.01/23 / Принята к публикации: 12.04.23 / Опубликовано: 28.04.23

Author information:

Svetlana S. Smirnova, Cand. Sci. (Med.), Leading Researcher, Head of the Ural-Siberian Research and Methodology Center for Prevention of Healthcare-Associated Infections, Federal Research Institute of Viral Infections "Virome"; Assoc. Prof., Department of Epidemiology, Social Hygiene and Organization of Sanitary and Epidemiological Service, Ural State Medical University; e-mail: smirnova_ss@eniivi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9749-4611>.

✉ Nikolai N. Zhuykov, Researcher, Ural-Siberian Research and Methodology Center for Prevention of Healthcare-Associated Infections, Federal Research Institute of Viral Infections "Virome"; e-mail: zhuykov_nn@eniivi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7018-7582>.

Ivan A. Egorov, Junior Researcher, Ural-Siberian Research and Methodology Center for Prevention of Healthcare-Associated Infections, Federal Research Institute of Viral Infections "Virome"; e-mail: egorov_ia@eniivi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7153-2827>.

Nataliya A. Pushkareva, Head of the Biology Laboratory, Branch of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Sverdlovsk Region in Leninsky, Verkh-Issetsky, Oktyabrsky and Kirovsky Districts of Yekaterinburg; e-mail: mail_08@66.rospotrebnadzor.ru; ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-4992-8570>.

Aleksandr V. Semenov, Dr. Sci. (Biol.), Director, Federal Research Institute of Viral Infections "Virome"; Professor, Department of Experimental Biology and Biotechnology, Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the First President of Russia B.N. Yeltsin; e-mail: semenov_av@eniivi.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3223-8219>.

Author contributions: study conception and design: Smirnova S.S.; data collection: Zhuykov N.N.; analysis and interpretation of results: Egorov I.A.; literature review: Pushkareva N.A.; draft manuscript preparation: Semenov A.V. All authors reviewed the results and approved the final version of the manuscript.

Compliance with ethical standards: Study approval was provided by the Local Ethical Committee of the Research Center for Virology and Biotechnology "Vector" (Protocol No. 3 of June 24, 2022).

Funding: The authors received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

Conflict of interest: The authors have no conflicts of interest to declare.

Received: January 27, 2023 / Accepted: April 12, 2023 / Published: April 28, 2023