

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
РЕСПУБЛИКАНСКОЕ УНИТАРНОЕ ПРЕДПРИЯТИЕ
«НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЦЕНТР ГИГИЕНЫ»

УДК 615.371:[614.7:574.2]:606

НЕЖВИНСКАЯ
Ольга Евгеньевна

**ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ
МИКРООРГАНИЗМОВ КАК БИОМАРКЕРЫ ГИГИЕНИЧЕСКОЙ
ОЦЕНКИ ФАКТОРОВ И ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук
по специальности 14.02.01 – гигиена

Минск, 2022

Работа выполнена в республиканском унитарном предприятии «Научно-практический центр гигиены»

Научный руководитель **Дудчик Наталья Владимировна**,
доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией микробиологии республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены»

Официальные
оппоненты: **Алещенкова Зинаида Михайловна**,
доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории взаимоотношений микроорганизмов почвы и высших растений государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси»

Миклис Наталья Ивановна,
кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой общей гигиены и экологии учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Оппонирующая организация учреждение образования «Белорусский государственный медицинский университет»

Защита состоится « 29 » июня 2022 г. в 14.00 часов на заседании совета по защите диссертаций Д 03.01.01 при республиканском унитарном предприятии «Научно-практический центр гигиены» по адресу: 220012, г. Минск, ул. Академическая, 8, e-mail: rspch@rspch.by, тел. +375 17 347 73 70, факс +375 17 272 33 45.

Телефон ученого секретаря: +375 17 379 13 79.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке республиканского унитарного предприятия «Научно-практический центр гигиены».

Автореферат разослан «27» мая 2022 г.

Ученый секретарь
совета по защите диссертаций,
кандидат биологических наук



Т. Д. Гриценко

ВВЕДЕНИЕ

В области гигиенической оценки биологического фактора в настоящее время сформировалась самостоятельная медико-биологическая проблема, обусловленная феноменом модификации фенотипических признаков микробиоты в условиях антропогенных воздействий. В этих условиях технологическая среда пищевых производств, водные рекреационные объекты, объекты учреждений здравоохранения являются качественно новыми экологическими нишами для условно-патогенных микроорганизмов (далее – УПМ) [Г. Г. Онищенко, 2014; Н. В. Зайцева с соавт., 2010; Е. В. Анганова, 2012, 2014; Е. В. Дроздова с соавт., 2015; Y. Shan et al., 2019; A. M. Abdelhazer et al., 2010; H. E. Reed et al., 2007; Stubbendieck et al., 2016; G.-H. Kim et al., 2016; C. S. Lee et al., 2016; T. Nakayama et al., 2017]. Это приводит к формированию сложного комплекса модифицированных фенотипических признаков и усиливает санитарно-эпидемиологическую значимость биомаркеров УПМ, а также обуславливает риск неполной идентификации факторов опасности при гигиенической оценке объектов и факторов окружающей среды (далее – ОС).

Один из методических подходов комплексного изучения фенотипических признаков УПМ как эффективных инструментов оценки микробиологических рисков с учетом видовых и родовых особенностей постулируется в рамках концепции *Omic*s [О.В. Обухова, 2015; D. Krewski et al., 2014; A. Baranyi, 2015; N. Dudchik et al., 2008-2020; L. Cocolin et al., 2018]. В настоящее время экспериментальное изучение и сравнительная характеристика фенотипических признаков УПМ применяется весьма ограниченно, что обусловлено недостаточно разработанным научно-методическим обоснованием этого направления в гигиенической практике.

Штаммы УПМ с выраженными неспецифическими фенотипическими биомаркерами проявляют высокую устойчивость к внешним неблагоприятным воздействиям факторов ОС, что может быть положено в основу разработки инновационных тест-моделей для выявления и количественной оценки антимикробных воздействий факторов физической и химической природы [N. Dudchik et al., 2008; A. Kazak et al., 2017, 2021].

Таким образом, изучение биохимических, культуральных и морфологических признаков УПМ и их обоснование как биомаркеров для гигиенической оценки факторов и объектов ОС, основанное на анализе варибельности микробиоты в условиях антропогенных воздействий, оптимизация и разработка методов и алгоритма их определения является актуальной научно-методической и практикоориентированной задачей.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с научными программами и темами. Тема диссертационного исследования соответствует приоритетным направлениям научно-технической деятельности и научных исследований в Республике Беларусь согласно Указу Президента Республики Беларусь от 22.07.2010 № 378 «Об утверждении приоритетных направлений научно-технической деятельности в Республике Беларусь на 2011-2015 годы» – «Медицина, медицинская техника и технологии, фармацевтика»; постановлению Совета Министров Республики Беларусь от 19.04.2010 № 585 раздел 4 «Лечебные, диагностические, профилактические и реабилитационные технологии, клеточные и молекулярно-биологические технологии в медицине, аппараты и приборы медицинского назначения»; постановлению Совета Министров Республики Беларусь от 12.03.2015 № 190 «О приоритетных направлениях научных исследований Республики Беларусь на 2016-2020 годы» – «Биологические системы и технологии, медицина и фармацевтика» раздел 5: гигиеническая оценка и нормирование факторов ОС, выявление и предотвращение негативного воздействия вредных факторов среды, совершенствование методологии оценки риска воздействия на человека».

Диссертация выполнена в рамках задания 03.06 ОНТП «Современные условия жизнедеятельности и здоровьесбережение» на 2013-2017 гг. № ГР 20130935; задания 01.04. ОНТП «Современные условия жизнедеятельности и здоровьесбережение» на 2013-2017 гг. № ГР 20130908; задания 02.03 ОНТП «Здоровье и среда обитания» на 2016-2020 гг. № ГР 20162424; договора № Б-6/2016/2016-61-222 ГПНИ «Конвергенция-2020» на 2016-2020 гг. № ГР 20163662; гранта БРФФИ по договору Т06-326 № ГР 20062515; гранта БРФФИ «Беларусь – Молдова» по договору № Т08 МЛД-021 № ГР 20081536; программы «ГКНТ–Сербия-2014» на 2014-2016 гг. по договору № Б-7/2014 № ГР 20143137.

Цель исследования: изучить фенотипические признаки УПМ объектов учреждений здравоохранения, пищевых производств и водных поверхностных источников в зонах рекреации, дать их обоснование как биомаркеров с целью гигиенической оценки факторов и объектов ОС, разработать тест-модели для количественного определения антимикробной активности физических и химических факторов.

Задачи исследования:

1 Дать сравнительную оценку микробной контаминации объектов пищевых производств, поверхностных водных объектов в зонах рекреации, учреждений здравоохранения по качественным и количественным показателям УПМ и их консорциумов.

2 Оптимизировать методы изучения и установить особенности культуральных, тинкториально-морфологических и биохимических признаков выделенных из объектов ОС штаммов УПМ, обосновать алгоритм и критерии оценки значимых фенотипических биомаркеров.

3 Обосновать выбор штаммов и консорциумов УПМ с выраженными фенотипическими биомаркерами как тест-моделей и определить их эффективность для определения антимикробной активности (далее – АМА) физических и химических факторов ОС с целью гигиенической оценки.

Научная новизна состоит в том, что впервые:

- с целью проведения сравнительной оценки микробиоты объектов ОС определены количественные показатели и проведена оценка таксономической принадлежности УПМ пищевых производств, водных поверхностных источников и учреждений здравоохранения. Проведено экспериментальное изучение и выявлены особенности бактериальных профилей УПМ этих объектов;

- оптимизирован комплекс методов изучения неспецифических фенотипических признаков: пленкообразования (далее – ПО), антибиотикорезистентности (далее – АБР), способности к персистенции (далее – СП), гемолиза, лецитовителлазной активности, способности к модификации факторов патогенности (далее – МФП), антагонистической активности (далее – АГА). Обоснованы алгоритм и критерии определения значимых биомаркеров УПМ для проведения гигиенической оценки факторов и объектов ОС;

- разработан инструментальный экспресс-метод с импедиметрическим принципом детекции для экспериментальной оценки АБР штаммов, а также метод определения потенциальной эпидемической опасности поверхностного водного объекта, основанный на выявлении АГА штаммов;

- в рамках концепции *Omic* дана характеристика фенотипических биомаркеров УПМ, выделенных из объектов ОС, обоснована гигиеническая значимость совокупности фенотипических биомаркеров для оценки санитарно-эпидемического потенциала УПМ объектов ОС как факторов опасности в условиях антропогенной нагрузки;

- обосновано использование фенотипических биомаркеров УПМ как эффективных инструментов для концептуального развития методологического подхода гигиенической оценки факторов и объектов ОС.

Дано обоснование использования УПМ с оцененным потенциалом фенотипических биомаркеров, а также консорциумов УПМ, являющихся целостными структурами и обладающих повышенной устойчивостью к внешним воздействиям, в качестве тест-моделей для оценки АМА. Проведено экспериментальное моделирование в условиях *in vitro* и количественно определены показатели АМА физических и химических факторов. Научно-техническая новизна результатов исследований защищена 2 патентами Республики Беларусь, получено 7 удостоверений на рационализаторские предложения.

Положения, выносимые на защиту

1. Условно-патогенные микроорганизмы родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* и *Serratia* являются биоконтаминантами объектов окружающей среды, общими для пищевых

производств, поверхностных водных объектов в зонах рекреации, учреждений здравоохранения. При этом в воздушной среде лечебных учреждений 1–4 класса чистоты стафилококки составляют 45 %, в смывах с объектов производства и учреждений здравоохранения бактерии семейства *Enterobacteriaceae* составляют 64 % и 69 %, соответственно, в водных объектах бактерии рода *Pseudomonas* составляют 46 %.

2. Неспецифические фенотипические признаки (способность к образованию биопленок, антибиотикорезистентность, способность к персистенции, гемолизу, лецитовителлазная активность, способность к модификации факторов патогенности, антагонистическая активность) выявлены у более чем 90 % условно-патогенных микроорганизмов и являются критериально-значимыми биомаркерами для гигиенической оценки факторов и объектов окружающей среды. Структура и выраженность биомаркеров гетерогенна в пределах условно-патогенных микроорганизмов родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* и *Serratia*.

3. Выделенные из объектов окружающей среды условно-патогенные микроорганизмы с выраженными биомаркерами являются эффективными тест-моделями для оценки антимикробной активности физических и химических факторов с целью их гигиенической оценки. Устойчивость условно-патогенных микроорганизмов к биологическому действию ультрафиолетового излучения в 1,2–3,2 раза выше, к воздействию холодной плазмы в 1,4–2,5 раз выше, а к дезинфектантам на основе изопропилового спирта/производного гуанидина и на основе бензалкония хлорида в 1,1–3,0 раза выше, чем типовых штаммов условно-патогенных микроорганизмов, являющихся стандартными для данных видов тестирования.

Личный вклад соискателя. Соискатель принял непосредственное участие в выполнении экспериментальных исследований по всем разделам диссертации, самостоятельно выполнил анализ научной литературы, обобщение и статистическую обработку данных, в соавторстве опубликовал основные научные результаты исследований. Обоснование темы, цели и задач, планирование исследований, теоретическое обсуждение их результатов осуществлены совместно с научным руководителем. Соавторы совместных научных исследований указаны в диссертации, публикациях и разработках.

Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов. Основные положения диссертации представлены на международной научно-практической конференции «Здоровье и окружающая среда» (Минск, 2011, 2015, 2016, 2019–2021); международной конференции СРРА-2010, Румыния, 2010; международной научной конференции «Сахаровские чтения: экологические проблемы XXI века» (Минск, 2013); VIII международной конференции «Plasma Physics and Plasma Technology» (Минск, 2015); V конгрессе физиков Беларуси «Methods of non-Euclidean geometry in Physics and Mathematics» (Минск, 2015),

научной сессии БГМУ (Минск, 2016), Евразийской научной конференции «Донозоология-2016» (Санкт-Петербург, 2016); XI Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Анализ риска здоровью-2021» (Пермь, 2021). Результаты исследований использованы для разработки 3 инструкций по применению, утвержденных в установленном порядке и внедренных в практику (25 актов о внедрении).

Опубликованность результатов диссертации. По материалам исследования опубликованы 18 печатных работ в рецензируемых журналах и сборниках научных трудов, 13 статей и тезисов в материалах конференций и съездов, 2 патента. Разработаны и утверждены 3 инструкции по применению. Общий объем опубликованных материалов – 6,56 а.л., из них 4,9 а.л. (14 статей) соответствуют п.18 Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий Республики Беларусь.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания материалов, объектов и методов исследований, 3 глав собственных исследований, заключения, библиографического списка, включающего список использованных источников (43 источника на русском языке, 169 источников на английском языке и 36 работ автора, 7 рационализаторских предложений), 3 приложений. Работа изложена на 161 странице машинописного текста, иллюстрирована 8 рисунками, содержит 29 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ

В главе 1 приводится аналитический обзор отечественной и зарубежной литературы по теме исследования, включающий анализ основных тенденций проблемы, основанный на изучении экологических, физиологических и популяционных аспектов микробиоты объектов ОС, наличия и степени выраженности неспецифических факторов выживания микроорганизмов в ОС при проведении гигиенической оценки безопасности объектов по микробиологическим показателям. Проведен анализ методологии использования принципов концепции *Omic* для эффективного гигиенического регламентирования биологического фактора, в т.ч. процесса формирования потенциала гигиенической значимости природных штаммов УПМ под воздействием антропогенных биотических и абиотических факторов ОС. Проведен обзор методологии моделирования АМА физических (плазменных сред, ультрафиолетового излучения (УФИ)) и химических (дезинфектанты, антисептики) факторов с использованием штаммов УПМ и их устойчивых сообществ, выделенных из ОС. На основе анализа литературных данных обоснованы цель, задачи и направления диссертационного исследования.

В главе 2 «Материалы, объекты и методы исследования» приведены объекты, дизайн, использованные методы и приемы исследования.

Объектами исследования были более 300 штаммов и полимикробных консорциумов УПМ, в т.ч. родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* и *Serratia* и др., выделенные из объектов ОС в период 2010-2017 гг. Определение микробного статуса проводили методом смывов, прямого посева, мембранной фильтрации, аспирационным методом (таблица 1). Идентификацию изолятов проводили культуральными методами на питательных и дифференциально-диагностических средах, а также с использованием анализатора VITEK 2 Compact (*Biomérieux*) с последующей верификацией методом ПЦР *real time*. Биохимические, культуральные и морфологические биомаркеры изучали разработанными и оптимизированными методами [34, 35, 1рп-7рп].

Таблица 1. – Методы оценки биомаркеров и объем исследований

Объект ОС / изоляты	Методы исследований и их количество	Биомаркеры и количество исследований
Водные объекты в зонах рекреации: 72 пробы; 30 изолятов	Метод смывов - 98, прямого посева - 87, мембранной фильтрации - 65, аспирационный метод - 70. Идентификация изолятов: культуральные методы - 77, с использованием анализатора - 80, метод ПЦР <i>real time</i> - 25 Биохимические методы: 350. Модельные эксперименты: АМА плазмы, УФИ - 35. АМА дезинфектантов - 28.	ПО - 53. АБР - 50.
Пищевые продукты: 80 проб, 100 изолятов, 3 консорциума		СП (антилизоцимная и антиинтерфероновая активности) - 44.
Пищевые предприятия: Воздух - 50 проб, 27 изолятов; оборудование и др. - 93 пробы, 54 изолята, 15 консорциумов		Гемолиз - 120. Лецитовителлазная активность - 120.
Организации здравоохранения: воздух - 73 пробы, 38 изолятов; объекты внутренней среды - 52 пробы, 54 изолята, 12 консорциумов		МФП - 25. АГА - 32.

Способность штаммов к ПО изучали количественным оптическим методом по критерию *Stepanovic*. АМР оценивали импедиметрическим методом по [32], санитарно-эпидемическую значимость объектов ОС по [33]. Модельные эксперименты по оценке антимикробных эффектов плазмы, УФИ проводили путем прямого контакта с тест-моделями [36]. Оценку дезинфицирующей активности проводили количественным суспензионным методом с белковой нагрузкой по показателю *RF* (reduction factor).

В работе использовали средства измерений и испытательное оборудование, должным образом поверенное и калиброванное: экспериментальные установки по получению плазмы; анализаторы «ВасТрас 4300» (*SY-LAB*, Австрия) и VITEK 2 Compact (*Biomérieux*, Франция); аспиратор SAS SUPER100 (*PBI International*, Италия) и др.

Статистическая обработка результатов осуществлялась на персональном компьютере в пакете лицензионного статистического программного обеспечения Statistica 8.0 и STATISTICA 10 (for Windows) с использованием параметрических и

непараметрических методов медико-биологической статистики: описательной статистики с изучением статистических параметров распределения величин, а также t-критерия Стьюдента. Критический уровень значимости p при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

В главе 3 «Бактериальные профили микробиоты объектов окружающей среды» представлены результаты экспериментальной оценки бактериальных профилей объектов технологической среды пищевых производств, внутренней среды учреждений здравоохранения и водных объектов в зонах рекреации.

Проведены исследования микробного статуса проб пищевых продуктов и воздуха, смывов с технологического оборудования, рук персонала и спецодежды на предприятиях по переработке мяса птицы, производства рыбных пресервов, кулинарных цехов и др. При анализе таксономической принадлежности и частоты встречаемости УПМ установлено, что 34,0 % микроорганизмов в пробах воздуха относились к бактериям рода *Staphylococcus*, 10,0 % – к бактериям группы кишечной палочки (БГКП). Частота встречаемости бактерий в смывах составила: 64,0 % для БГКП, 36,6 % для стафилококков, по 1,1 % для бактерий родов *Salmonella* и *Listeria*. В пробах пищевых продуктов частота встречаемости составила: 26,3 % для БГКП, 38,8 % для стафилококков, 10,5 % для бактерий рода *Salmonella*, 5,3 % для бактерий рода *Listeria*. Установлено, что основными источниками вторичной контаминации готовых пищевых продуктов на предприятиях пищевой промышленности является инструментарий и технологическое оборудование, а также спецодежда и руки обслуживающего персонала.

Определены бактериальные профили 18 водных объектов Минского района в зонах рекреации в весенне-летний период 2013–2015 гг. Изучение культуральных признаков штаммов показано, что 69 % относились к психрофильным или мезофильным сапрофитным бактериям. Содержание психротрофной микробиоты значительно варьировало: от $1,2 \times 10^2$ КОЕ/мл до $2,5 \times 10^5$ КОЕ/мл, мезофильной микробиоты – в диапазоне от $2,6 \times 10^2$ КОЕ/мл до $8,6 \times 10^5$ КОЕ/мл, а индекс сапробности, рассчитанный как соотношение этих групп микроорганизмов, составлял 1,1–2,3, что может считаться приемлемым гигиеническим критерием состояния водоемов. По содержанию общих и термотолерантных колиформных бактерий образцы воды 6 объектов превышали гигиенические нормативы, количество общих колиформных бактерий, в т.ч. родов *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, составляло $2,2 \times 10^2$ – $7,7 \times 10^2$ КОЕ/100 см³. Во всех образцах воды выявлены кишечные энтерококки видов *E. faecalis*, *E. faecium* в диапазоне $1,1 \times 10^2$ – $2,9 \times 10^2$ КОЕ/100 см³, при этом не были выявлены возбудители кишечных инфекций и колифаги. Водные объекты являются экологической нишей для бактерий рода *Pseudomonas* (46 %), *Staphylococcus* (20 %) и *Escherichia* (15 %).

Микробный статус объектов помещений 1–4 классов чистоты учреждений здравоохранения г. Минска изучен в ходе мониторинга 2016 г. Среди

изолированных из воздуха штаммов более 70 % составляли психротрофные сапрофитные, менее значительную часть – мезофильные УПМ, ассоциированные с микробиотой кожных покровов и слизистых человека: бактерии родов *Staphylococcus*, достаточно часто – *Pseudomonas*, в смывах – бактерии рода *Escherichia*.

Таким образом, УПМ родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* и *Serratia* являются широко представленной частью микробиоты объектов пищевых производств, учреждений здравоохранения и водных объектов. По итогам мониторинга объектов ОС составлена рабочая коллекция, включающая более 100 изолятов, подготовлены их паспорта.

В главе 4 «Изучение фенотипических признаков УПМ и обоснование биомаркеров для гигиенической оценки объектов ОС» приведены результаты определения и оценки изолятов по показателям: ПО, АБР, СП (антилизоцимная и антиинтерфероновая активности), гемолиз, лецитовителлазная активность, МФП, АГА. Метод определения АБР и метод определения эпидемической опасности водных объектов защищены патентами [32, 33].

Инструментальный метод оценки АБР основан на регистрации изменений импеданса среды и включает параллельные стадии культивирования штамма в среде с антимикробным препаратом (АМП) в последовательно увеличивающихся концентрациях и без АМП. Оценку проводят по двум параметрам: время пересечения 4 % порогового значения по М-параметру менее чем за 1 ч; диапазон изменения импеданса по М-параметру за 2,5 ч, при этом в случае чувствительности к АМП наблюдается увеличение времени пересечения порогового значения по М-параметру и уменьшение масштаба изменения импеданса по М-параметру в сравнении с контролем (культура без внесения АМП). Экспресс-метод определения потенциальной эпидемической опасности водных объектов основан на оценке отсроченной антагонистической активности штаммов БГКП по отношению к тест-штаммам – *M. roseus* и *P. fluorescences*, что исключает стадию изучения биохимических показателей, сокращает время испытания и минимизирует риски нерелевантных результатов [35].

С целью обоснования критериев оценки гигиенической значимости проведено изучение биохимических и морфологических биомаркеров выделенных УПМ по приведенному алгоритму (рисунок 1). Тинкториально-морфологические и культуральные признаки не были интегрированы в алгоритм, т.к. демонстрировали стабильность типичных для рода признаков. Показано, что наиболее переменными биохимическими биомаркерами являются гемолитическая и лецитиназная активности. Оценку устойчивости УПМ к факторам внешней среды целесообразно проводить по неспецифическим признакам: ПО, СП, АГА и др., что подтверждено результатами экспериментов с целью обоснования критериально-значимых биомаркеров УПМ.



Рисунок 1. – Алгоритм определения критериально-значимых биомаркеров УПМ

Разработанный алгоритм определения значимых биомаркеров УПМ был использован для сравнительной оценки штаммов родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* и *Serratia* (таблица 2).

Таблица 2. – Фенотипические признаки УПМ, выделенных из объектов ОС

Род	Фенотипические признаки						
	Гемолиз	СП	МФП	Лецитиназа	ПО	АГА	АБР
<i>Escherichia</i>	γ	+/-	+/-	-	+/-	+/-	+/-
<i>Klebsiella</i>	γ	+/-	+/-	+/-	<i>max</i>	+/-	+/-
<i>Serratia</i>	γ	+/-	+/-	-	+/-	+/-	+/-
<i>Enterobacter</i>	γ	+/-	+/-	-	+/-	+/-	+/-
<i>Citrobacter</i>	γ	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
<i>Staphylococcus</i>	α/β	+/-	+/-	+	<i>min</i>	+/-	+/-
<i>Pseudomonas</i>	α/β	+/-	+/-	+/-	+	+/-	+/-

Штаммы демонстрировали значительный диапазон варибельности по критериально-значимым биомаркерам. Так, β -гемолитическая активность подтверждена для всех штаммов *S. aureus*, в то время как штаммы *S. warneri*, *S. saprophyticus* из воздушной среды демонстрировали неполный гемолиз.

Подтверждена α -гемолитическая активность штаммов *P. aeruginosa* из водных объектов и смывов пищевых производств, а 5 штаммов рода *Pseudomonas* проявили способность к полному гемолизу, в том числе при повышенной температуре, что может указывать на продуцирование гемолизинов как термолabileного, так и термостабильного типов.

Штаммы семейства *Enterobacteriaceae* демонстрировали γ -гемолитическую активность. Штаммы *S. aureus* проявляли лецитиназную активность, УПМ родов *Escherichia*, *Serratia*, *Enterobacter* не имели этой активности, а представители родов

Klebsiella, *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* были вариабельны в отношении этого биомаркера. Способность к персистенции наиболее полно проявлялась у штаммов рода *Staphylococcus*, при этом источник выделения существенным образом не влиял на выраженность биомаркера.

Из 39 штаммов *Staphylococcus* 15 проявили умеренную антилизоцимную активность, 3 штамма – слабую, 2 штамма – сильную, у остальных активность отсутствовала. В то же время большинство штаммов *Staphylococcus* демонстрировали умеренную антиинтерфероновую активность, 3 штамма – сильную, 7 штаммов – слабую или ее отсутствие. Сильная активность по маркерам персистенции выявлена у штамма *Staphylococcus* из смывов объектов пищевого производства.

Резистентность штаммов к антимикробным препаратам (далее – АМП) существенно различалась, при этом выявлены бактерии (*S. epidermidis*, *S. xylois*, *S. fonticola*), не имеющие устойчивости ни к одному из тестируемых АМП.

Наиболее высокая полирезистентность (к шести и более АМП) установлена для неферментирующих бактерий *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.* (таблица 3).

Таблица 3. – Антибиотикорезистентность грам-бактерий из объектов ОС

Вид микроорганизма	Антибиотики					
	Ампициллин	Цефазолин	Цефотаксим	Гентамицин	Амикацин	Ципрофлоксацин
<i>E. cloacae</i>	R / I	R	S	S	S	S
<i>E. coli</i>	S / R	R	S	S	I / S	S
<i>C. freundii</i>	R	R	R	S	S	I / S
<i>Acinetobacter spp.</i>	R	R	R	R	R	R
<i>Pseudomonas spp.</i>	R	R	R	R	R	R

Примечания: S - культура чувствительна, R – культура устойчива, I - культура умеренно устойчива.

Оценку гигиенической значимости биомаркеров УПМ предложено проводить по критериям выраженности фенотипических маркеров (таблица 4).

По результатам оценки установлено, что УПМ из смывов пищевых производств и объектов внутренней среды учреждений здравоохранения имеют наиболее выраженный потенциал гигиенической значимости.

Штаммы этих же родов, выделенные из водных объектов зон рекреации и воздушной среды, демонстрировали менее выраженную значимость по фенотипическим биомаркерам (таблица 5).

Таблица 4. – Критерии оценки гигиенической значимости биомаркеров УПМ

Биомаркеры	Выраженность биомаркеров и критерии оценки			
	отсутствие	$\leq 2 \times \text{ОП}_{\min}$ слабая	$2 \times \text{ОП}_{\min} - 4 \times \text{ОП}_{\min}$ умеренная	$> 4 \times \text{ОП}_{\min}$ сильная
Способность к пленкообразованию	отсутствие	$\leq 2 \times \text{ОП}_{\min}$ слабая	$2 \times \text{ОП}_{\min} - 4 \times \text{ОП}_{\min}$ умеренная	$> 4 \times \text{ОП}_{\min}$ сильная
Антибиотикорезистентность	отсутствие	к 1 группе АМП	к 2 группам АМП	к ≥ 3 группам АМП
Персистентные свойства:	0 мкг/мл отсутствие	1–2 мкг/мл слабая	3–4 мкг/мл умеренная	≥ 5 мкг/мл сильная
- антилизоцимная активность	0 у.е. отсутствие	1–2 у.е. слабая	3–5 у.е. умеренная	> 5 у.е. сильная
- антиинтерфероновая активность	отсутствие	наличие ($\alpha/\beta/\gamma$)	-	-
Гемолиз (тип)	отсутствие	наличие	-	-
Лецитиназа	отсутствие	наличие	-	-
Антагонистическая активность	отсутствие	1–2 Ig КОЕ/мл слабая	3–4 Ig КОЕ/мл умеренная	5–9 Ig КОЕ/мл сильная
Модификация факторов патогенности	отсутствие	наличие	-	-

Таким образом, обоснованные методические подходы определения выраженности фенотипических признаков УПМ и количественные критерии их оценки как биомаркеров могут использоваться в анализе микробиологического риска объектов ОС в условиях антропогенной нагрузки.

В главе 5 «Условно-патогенные микроорганизмы как тест-модели для изучения антимикробной активности физических и химических факторов» дано обоснование и получено экспериментальное подтверждение, что монокультуры УПМ с высоким уровнем критериально-значимых биомаркеров, а также их консорциумы являются релевантными тест-моделями для оценки АМА факторов физической и химической природы. Так, более высокая устойчивость к УФИ коррелировала со способностью микроорганизмов образовывать полимикробные биопленки.

Результаты оценки АМА воздушно-плазменной струи тлеющего разряда атмосферного давления представлены на рисунке 2, для чего использовали показатель D – время, в течение которого количество выживших микроорганизмов уменьшается в 10 раз. Показано, что консорциум ЦГ/Н-1, выделенный из смывов объектов хирургического стационара, более устойчив к воздействию плазменной струи, чем отдельные изоляты. Для монокультур *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* показатели D были практически одинаковыми и составляли около 3 мин, в то время как значение D превышало 5 мин для консорциума ЦГ/Н-1.

Таблица 5. – Оценка выраженности биомаркеров у штаммов родов *Escherichia* и *Staphylococcus* из объектов ОС

Объект ОС	Фенотипические биомаркеры						
	Гемолиз	СП	МФП	Лецитиназа	ПО	АГА	АБР, группы АМП
<i>Род Escherichia</i>							
Производственные объекты	наличие, γ	умеренная/ сильная	+	отсутствие	умеренная	умеренная	к ≥ 3 группам АМП
Воздух	наличие, γ	отсутствие/ слабая	-/+	отсутствие	слабая	отсутствие/ слабая	к 2–3 группам АМП
Водные объекты	наличие, γ	отсутствие/ слабая/ умеренная	-/+	отсутствие	слабая	отсутствие/ слабая	к 1–2 группам АМП
<i>Род Staphylococcus</i>							
Производственные объекты	наличие, β	умеренная/ сильная	+	наличие	умеренная	умеренная	к 2–3 группам АМП
Воздух	наличие, α/β	отсутствие/ слабая	-/+	наличие	слабая	отсутствие/ слабая	к 2–3 группам АМП
Водные объекты	наличие, α	слабая/ умеренная	-/+	наличие/ отсутствие	слабая	отсутствие/ слабая	к 2–3 группам АМП

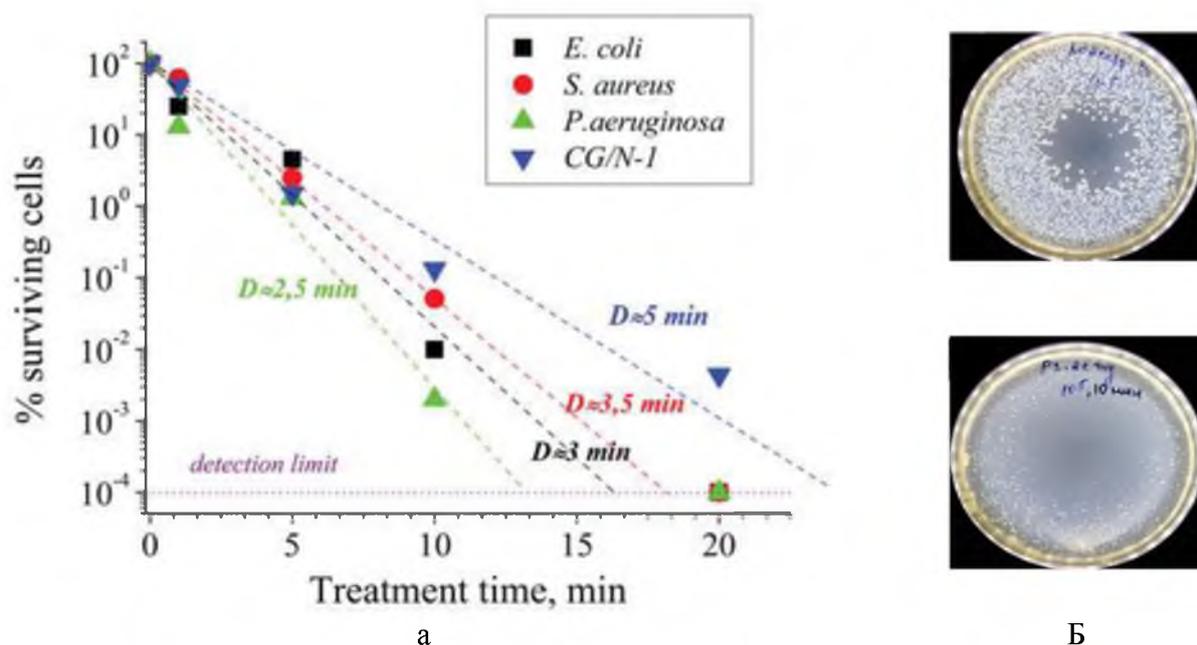


Рисунок 2. – Оценка АМА плазменной струи:

а – кривые выживаемости штаммов и консорциума ЦГ/Н-1, где по оси х – время воздействия (мин), по оси у – выживаемость микроорганизмов (%); б – результаты оценки в модельном эксперименте

Разработан метод количественной оценки АМА УФИ по степени ингибирования роста тест-культур микроорганизмов в стандартных условиях, при этом тест-культурами являются УПМ *E. coli*, *S. aureus*, исходная микробная нагрузка – 3 lg КОЕ/мл, предложены критерии оценки по показателю I: $100 \% \geq I > 90 \%$ – выраженное антимикробное действие; $89 \% \geq I > 50 \%$ – среднее антимикробное действие; $49 \% \geq I > 30 \%$ – незначительное антимикробное действие; $I \leq 30 \%$ – отсутствие антимикробного действия.

В результате экспериментальной оценки АМА установлено, что УФИ более эффективно в отношении бактериальных штаммов (более 99,9 %) по сравнению с эффективностью обработки консорциумов, которая находилась в диапазоне 95,6–98,8 %. Таким образом, использование полимикробных консорциумов УПМ расширяет арсенал тест-моделей для количественной оценки эффективности УФИ в аггравированных условиях.

Изучена АМА дезинфицирующих средств на основе изопропилового спирта/производного гуанидина и на основе бензалкония хлорида в отношении изолятов грам+ и грам- бактерий из объектов ОС и дана ее количественная оценка по 3-х уровневому значению критерия *RF*, позволяющего дифференцировать чувствительные, умеренно-устойчивые и устойчивые штаммы (рисунок 3).

Таким образом, для оценки АМА физических и химических факторов целесообразно использование УПМ и их стойких сообществ, выделенных из объектов ОС, т.к. эти тест-модели демонстрируют свойства устойчивости к воздействию неблагоприятных факторов. Их использование при моделировании

биологических эффектов химических и физических факторов позволяет проводить релевантную гигиеническую оценку эффективности процессов химической дезинфекции, УФИ и плазменного обеззараживания.

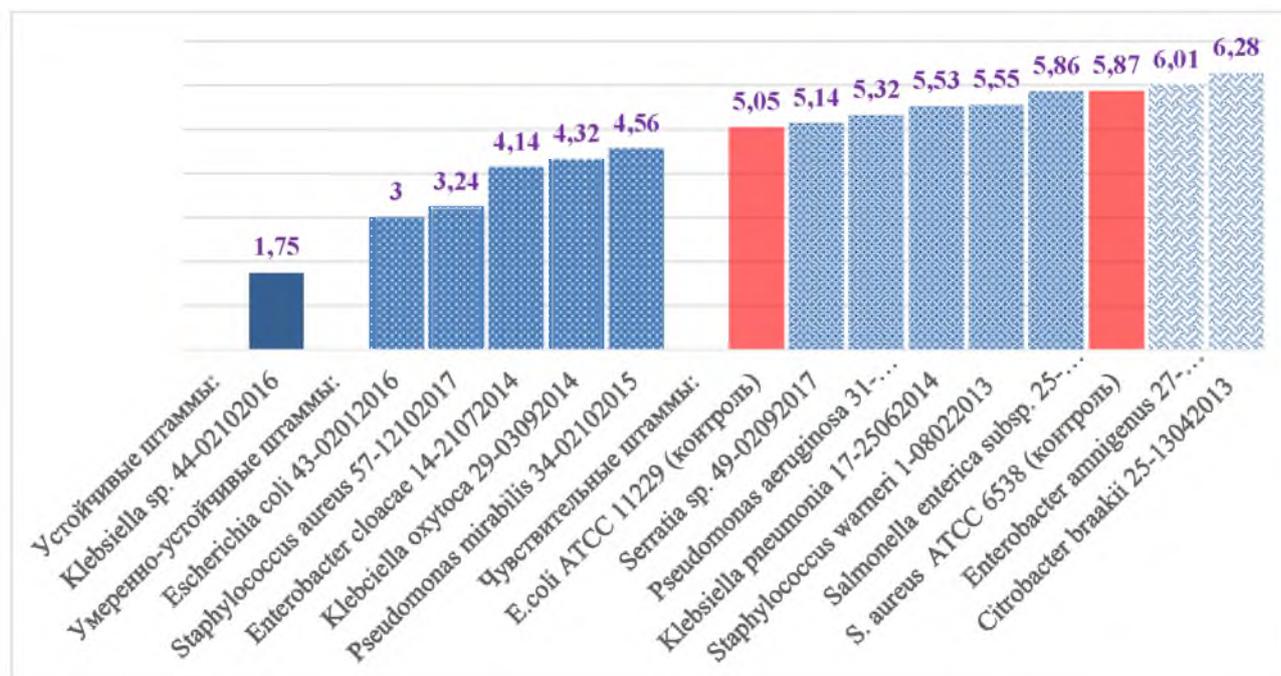


Рисунок 3. – Чувствительность/устойчивость изолятов к дезинфицирующему средству на основе изопропилового спирта/производного гуанидина по критерию RF

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Микробиота технологического оборудования пищевых производств, объектов внутренней среды учреждений здравоохранения и водных объектов в зонах рекреации представлена психротрофными, мезофильными бактериями, плесневыми и дрожжеподобными грибами, колифагами. Патогенные микроорганизмы составляли 1,1 % и были представлены родами *Salmonella* и *Listeria*. Основная доля микробиоты воздушной среды пищевых производств представлена бактериями семейства *Enterobacteriaceae* (10 %) и бактериями рода *Staphylococcus* (34 %), микробиота объектов среды технологического окружения представлена УПМ семейства *Enterobacteriaceae* (64 %) и рода *Staphylococcus* (36,6 %). В микробном профиле водных объектов преобладают УПМ рода *Pseudomonas*, которые были выявлены и идентифицированы в 46 % проб. Уровень микробной контаминации воздуха в учреждениях здравоохранения составлял 25,3–287,0 КОЕ/м³, при этом доминировали грамположительные кокки (*S. haemolyticus*, *S. lentus*, *K. rhizophila*, *K. varians* и *M. luteus*, *L. mesenteroides* ssp. *cremoris*). Основными контаминантами поверхностей, оборудования, инструментария в учреждениях здравоохранения были УПМ семейства *Enterobacteriaceae* (*E. cloacae*, *C. freundii*, *K. oxytoca*, *Serratia* spp., *E. coli*) [1, 3, 4, 13, 16, 21, 30].

2. Проведена оптимизация параметров тестирования и разработаны новые методы с целью валидной оценки выраженности биомаркеров УПМ. Инструментальный импедиметрический метод определения АБР основан на оценке двух параметров: время пересечения 4 % порогового значения и диапазону изменения М-параметра импеданса. Экспресс-метод определения потенциальной эпидемической опасности водных объектов основан на оценке отсроченной антагонистической активности штаммов БГКП по отношению к тест-штаммам – *M. roseus* и *P. fluorescences*. Технические решения методов обеспечивают сокращение времени испытания, минимизирует риски нерелевантных результатов и защищены патентами [32, 33, 34, 35].

3. Проведенные исследования показали, что УПМ родов *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Citrobacter* и *Serratia*, широко представленных в микробиоте объектов ОС, демонстрируют наличие по крайней мере нескольких неспецифических признаков (ПО, АБР, СП, гемолитическая и лецитовителлазная активности, способность к МФП, АГА активность). Анализ выраженности неспецифических признаков УПМ позволил обосновать комплекс критериально-значимых биомаркеров для гигиенической оценки факторов и объектов ОС [5, 7, 13, 16, 23, 25, 26, 27, 28, 30].

4. УПМ из объектов ОС демонстрировали значительный диапазон варибельности по критериально значимым биомаркерам. β -гемолитическая активность подтверждена для всех изолятов *S. aureus*, в то время как штаммы *S. warneri*, *S. saprophyticus* из воздушной среды демонстрировали неполный гемолиз. Подтверждена α -гемолитическая активность штаммов *P. aeruginosa* из водных объектов и смывов пищевых производств, а 5 штаммов рода *Pseudomonas* проявили способность к полному гемолизу. УПМ семейства *Enterobacteriaceae* демонстрировали γ -гемолитическую активность. Штаммы *S. aureus* проявляли лецитиназную активность, роды *Escherichia*, *Serratia*, *Enterobacter* не имели этой активности, а представители родов *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* были варибельны в отношении этого биомаркера. Способность к персистенции наиболее полно проявлялась у штаммов рода *Staphylococcus*, при этом источник выделения существенным образом не влиял на выраженность биомаркера. Из 39 штаммов *Staphylococcus* 15 проявили антилизоцимную активность (умеренная), 3 изолята – слабую, 2 штамма – сильную, у остальных активность не выявлена. В то же время 23 штамма рода *Staphylococcus* демонстрировали умеренную антиинтерфероновую активность, 3 штамма – слабую, 3 штамма – сильную. Сильная активность по маркерам персистенции выявлена у штамма *Staphylococcus sp.* из смывов объектов пищевого производства [9, 11, 13, 16, 19, 20, 22, 29, 32, 33, 34].

5. В модельных экспериментах проведена количественная оценка физических факторов по показателю АМА с целью их гигиенической регламентации. Установлено, что экспозиция УФИ дозой 324–972 Дж/м² в течение

45 мин на расстоянии 2,25 м приводит к 100 % гибели музейных штаммов, 98,1–98,6 % в отношении консорциума, сформированного природными штаммами *E. coli* и *S. aureus*. Более высокая устойчивость к УФИ коррелировала со способностью микроорганизмов образовывать полимикробные биопленки [2, 3, 8, 12, 25]. Оценка АМА воздушно-плазменной струи тлеющего разряда атмосферного давления по показателю D (время, в течение которого численность популяции уменьшается на порядок) показала, что консорциум ЦГ/Н-1 смывов объектов хирургического стационара, более устойчив к воздействию плазменной струи, чем отдельные изоляты. Для монокультур *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* показатели D были практически одинаковыми и составляли около 3 мин, в то время как значение D превышало 5 мин для консорциума ЦГ/Н-1 [2, 6, 8, 10, 15, 18, 24, 31, 36].

6. Проведена оценка устойчивости 15 штаммов УПМ к дезинфицирующим средствам на основе бензалкония хлорида и на основе изопропилового спирта и производного гуанидина с использованием трехуровневых критериев количественной оценки по показателю RF в количественном суспензионном тесте. Ряд УПМ проявлял более выраженную устойчивость к дезинфектантам, чем патогенный микроорганизм *Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium* 25-13042013, который был дифференцирован как чувствительный для обоих изученных дезинфектантов (RF 5,9 lg и RF 5,5 lg, соответственно). Штамм *Klebsiella sp.* 44-02102016 из смывов объектов внутренней среды учреждений здравоохранения проявил наибольшую устойчивость (RF 1,8 lg и RF 1,9 lg, соответственно) [12, 14].

Рекомендации по практическому использованию результатов

Экспериментальная оценка фенотипических биомаркеров позволила провести паспортизацию более 100 изолятов различной таксономической принадлежности и сформировать рабочую коллекцию УПМ, выделенных из различных биотопов и характеризующихся значительным потенциалом как инструментов для проведения гигиенической оценки факторов и объектов ОС.

Практическую значимость представляет использование оптимизированных методов выявления и количественной оценки фенотипических маркеров штаммов (ПО, АБР, СПС, гемолиз, лецитовителлаза, МФП, АГА) с целью оценки гигиенического потенциала УПМ по обоснованным критериям [34, 35, 1рп-7рп] (11 актов о внедрении).

Инструментальный импедиметрический метод определения АБР дает возможность провести тестирование в течение 2–6 часов и обеспечить эффективную и экспрессную оценку по предложенным критериям [34].

Использование изолятов УПМ и их консорциумов расширяет арсенал лабораторных тест-моделей оценки АМА факторов физической и химической природы, обеспечивая получение реальных оценок в аггравированных условиях. Такие подходы важны для количественного определения АМА дезинфицирующих средств, УФИ и плазменных сред.

Предложены методы оценки санитарно-эпидемической опасности поверхностных водных объектов, используемых в рекреационных целях, основанные на анализе микробного состава и наличия в пробах воды УПМ с высоким гигиеническим потенциалом, в том числе наличием антагонистической активности к аутохтонной микрофлоре водоема [33], что позволило провести гигиеническое нормирование микробного фактора (СанПиН от 05.12.2016 № 122 «Требования к содержанию поверхностных водных объектов при их рекреационном использовании» и гигиенический норматив «Допустимые значения показателей безопасности воды поверхностных водных объектов для рекреационного использования») (8 актов о внедрении). Метод определения потенциальной санитарно-эпидемической опасности поверхностного водного объекта, используемого в рекреационных целях, основанный на ускоренной технологии биохимической идентификации штаммов, является эффективным и рациональным по снижению трудозатрат, расхода материалов и значительному уменьшению времени исследования [33].

Методы оценки эффективности ультрафиолетового обеззараживания помещений в учреждениях здравоохранения обеспечивают получение результатов для разработки мер по снижению бактериальной загрязненности воздуха и поверхностей, профилактики инфекционных заболеваний, унификации условий применения ультрафиолетовых облучателей [36] (6 актов о внедрении).

Научное и практическое значение разработанных инструктивно-методических документов подтверждено 5 актами внедрения в учебный процесс учреждений образования, что способствует совершенствованию учебного процесса, углублению и расширению области профессиональных знаний специалистов.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях, соответствующих п. 18

Положения о присуждении ученых степеней и присвоения ученых званий Республики Беларусь

1. Микробиологический мониторинг поверхностных источников на примере г. Минска и Минской области / С. А. Янецкая, Л. А. Мельникова, Н. В. Дудчик, В. В. Бурая, Т. С. Трешкова, О. Е. Шедикова (О. Е. Нежвинская) // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2008. – Вып. 11. – С. 297–301.

2. Экспериментальное исследование стерилизующего действия низкотемпературной плазмы высокочастотного разряда / О. Е. Шедикова (О. Е. Нежвинская), Н. В. Дудчик, Л. А. Мельникова, Е. А. Будкина // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены, Белорус. науч. о-во гигиенистов. – Минск, 2010. – Вып. 15. – С. 211–217.

3. Козлова, Т. О. Мониторинг микробной контаминации объектов среды технологического окружения чистых помещений / Т. О. Козлова, Е. А. Будкина, О. Е. Шедикова, (О. Е. Нежвинская) // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены, Белорус. науч. о-во гигиенистов. – Минск, 2011. – Вып. 19. – С. 67–70.

4. Оценка микробной обсемененности воздуха на предприятиях пищевой промышленности / Н. В. Дудчик, Н. Д. Коломиец, О. Е. Нежвинская, О. В. Тонко, О. Н. Ханенко, Н. Н. Левшина, В. В. Жуковский, В. В. Гавриленко // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2013. – Вып. 22. – С. 43–46.

5. Методы оценки эпидемиологической значимости условно-патогенной микрофлоры / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик, Н. Д. Коломиец, О. В. Тонко, Е. В. Дроздова // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2015. – Т. 1, вып. 25. – С. 69–71.

6. Дудчик, Н. В. Воздействие газоразрядной плазмы атмосферного давления на консорциум микроорганизмов / Н. В. Дудчик, О. Е. Нежвинская, С. А. Янецкая // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2015. – Т. 1, вып. 25. – С. 26–28.

7. Гигиеническая регламентация факторов среды обитания на основе прокариотических тест-моделей / Н. В. Дудчик, В. В. Шевляков, О. А. Емельянова, О. Е. Нежвинская // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 18–20.

8. Исследования бактерицидной эффективности ультрафиолетового облучения на популяционной тест-модели / Р. Д. Клебанов, О. Е. Нежвинская, В. А. Коноплянко, Н. В. Дудчик, А. А. Грузин // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 23–26.

9. Нежвинская, О. Е. Фенотипические факторы агрессии условно-патогенных микроорганизмов / О. Е. Нежвинская // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2016. – Вып. 26. – С. 42–44.

10. Количественная оценка антимикробной активности ультрафиолетового излучения с использованием субпопуляционной тест-модели / Н. В. Дудчик, Р. Д. Клебанов, О. А. Емельянова, О. Е. Нежвинская, А. И. Жабровская // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2017. – Вып. 27. – С. 14–17.

11. Фенотипические признаки микроорганизмов как биомаркеры потенциала патогенности в рамках концепции OMICS / Н. В. Дудчик, Е. В. Дроздова, О. Е. Нежвинская, О. А. Емельянова, А. И. Жабровская, Д. С. Грек // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2020. – Вып. 30. – С. 22–28.

12. Оценка антимикробного действия фармацевтических субстанций в модельном эксперименте / О. А. Емельянова Н. В. Дудчик, А. И. Жабровская,

Т. В. Грищенко, О. Е. Нежвинская // Здоровье и окружающая среда : сб. науч. тр. / Науч.-практ. центр гигиены. – Минск, 2020. – Вып. 30. – С. 28–35.

13. Bacterial profiles and phenotypic biomarkers of microbiota isolates in habitat: hazard identification factors // N. V. Dudchik, S. I. Sychik, O. E. Nezhvinskaya, N. D. Kolomiets, E. V. Fedorenko, E. V. Drozdova, O. V. Tonko, O. A. Emel'yanova // Health Risk Analysis. – 2020. – № 2. – P. 92–100.

14. Дудчик, Н. В. Эффективные прокариотические тест-модели для количественной оценки антимикробной активности дезинфицирующих средств в целях гигиенической регламентации / Н. В. Дудчик, О. Е. Нежвинская // Новости мед.-биол. наук. – 2021. – Т. 21, № 1. – С. 64–69.

Статьи в журналах, рецензируемых сборниках научных работ

15. Non-thermal plasma sterilization in RF and MW discharges / V. Azharonok, I. Filatova, I. U. Bosneaga, M. Bologna, O. Shedikova (O. E. Nezhvinskaya) // Romanian J. in Physics. – 2011. – Vol. 56 (suppl.). – P. 62–68.

16. Нежвинская, О. Е. Пленкообразующие бактерии на предприятиях пищевой промышленности / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик // Современные проблемы гигиены, радиационной и экологической медицины : сб. науч. ст. / Гродн. гос. мед. ун-т. – Гродно, 2015. – Вып. 5. – С. 188–194.

17. Inactivation of consortiums of microorganisms by air plasma jet at atmospheric pressure / A. V. Kazak, A. A. Kirillov, L. V. Simonchik, O. E. Nezhvinskaya, N. V. Dudchik // Plasma Med. – 2017. – Vol. 7, iss 2. – P. 109–115.

18. Dudchik, N. V. Bacteriological profile and phenotypic signs of food-processing microbiota / N. V. Dudchik, S. I. Sychik, O. E. Nezhvinskaya // Intern. J. of Current Med. a. Pharmaceutical Research. – 2019. – Vol. 5, iss. 4. – P. 4131–4133.

Статьи в материалах научных форумов, тезисы докладов

19. Дудчик, Н. В. Мониторинг устойчивости к антимикробным препаратам микробиоты пищевых производств с целью проведения оценки риска для здоровья человека / Н. В. Дудчик, Н. Д. Коломиец, О. Е. Нежвинская // Сахаровские чтения 2013 года: экологические проблемы XXI века : материалы 13 междунар. науч. конф., Минск, 16–17 мая 2013 г. / Междунар. гос. экол. ун-т [и др.] ; под общ. ред. С. П. Кундаса, С. С. Позняка, Н. А. Лысухо. – Минск, 2013. – С. 104–105.

20. Изучение способности к пленкообразованию условно-патогенной микрофлоры пищевых производств / О. Е. Нежвинская, О. В. Тонко, Н. Д. Коломиец, Н. В. Дудчик // Сахаровские чтения 2014 года: экологические проблемы XXI века : материалы 14 междунар. науч. конф., Минск, 16–17 мая 2014 г. / Междунар. гос. экол. ун-т [и др.] ; под общ. ред. В. И. Дуная, С. С. Позняка, Н. А. Лысухо. – Минск, 2014. – С. 100–101.

21. Нежвинская, О. Е. Вторичная микробная контаминация пищевых продуктов на предприятиях пищевой промышленности / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик // Сахаровские чтения 2015 года: экологические проблемы XXI века : материалы 15-й междунар. науч. конф., Минск, 21–22 мая 2015 г. / Междунар. гос.

экол. ун-т [и др.] ; под общ. ред. С. С. Позняка, Н. А. Лысухо. – Минск, 2015. – С. 139.

22. Антибиотикорезистентность бактерий, выделенных из объектов технологического окружения пищевых производств / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик, Н. Д. Коломиец, О. В. Тонко // 90 лет в авангарде микробиологической науки Беларуси : сб. тр. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 125-летию со дня рожд. Б. Я. Эльберта, Минск, 18 дек. 2015 г. / Белорус. гос. мед. ун-т, каф. микробиологии, вирусологии, иммунологии ; под ред. Л. П. Титова. – Минск, 2015. – С. 71–74.

23. Нежвинская, О. Е. Факторы агрессии условно-патогенных энтеробактерий / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик // Актуальні питання гігієни та екологічної безпеки України (одинадцяті марзєєвські читання) 8–9 жовт. 2015 р. : зб. тез доповідей наук.-практ. конф. / Нац. акад. мед. наук України, Ін-т громад. здоров'я. – Івано-Франківськ, 2015. – Вип. 15. – С. 210–212.

24. Субпопуляционные тест-модели для оценки стерилизующего эффекта плазменных воздействий на основе ассоциаций микроорганизмов [Электронный ресурс] / Н. В. Дудчик, С. А. Янецкая, О. Е. Нежвинская, В. И. Архипенко, А. А. Кириллов, А. В. Павлова, Л. В. Симончик // Достижения медицинской науки Беларуси : рец. науч.-практ. ежегод. / Респ. науч. мед. б-ка. – Минск, 2015. – Вып. 20. – Режим доступа: http://med.by/dmn/book.php?book=15-8_16. – Дата доступа : 03.03.2022.

25. Нежвинская, О. Е. Характеристика потенциала агрессии условно-патогенных бактерий в оценке гигиенической безопасности объектов среды обитания / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик, С. А. Янецкая // Санитарно-эпидемиологическая служба Республики Беларусь: история, актуальные проблемы на современном этапе и перспективы развития : сб. науч. тр. Междунар. науч.-практ. конф. «Здоровье и окружающая среда», посвящ. 90-летию сан.-эпидемиол. службы Респ. Беларусь (Минск, 28 окт. 2016 г.) : в 2 т. / Белорус. гос. мед. ун-т ; редкол.: Н. П. Жукова [и др.]. – Минск, 2016. – Т. 2. – С. 7–9.

26. Нежвинская, О. Е. Особенности условно-патогенных бактерий, используемые в качестве биомаркеров потенциала агрессии в гигиенической оценке безопасности окружающей среды / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик // Современные методологические проблемы изучения, оценки и регламентирования факторов окружающей среды, влияющих на здоровье человека : материалы Междунар. Форума Науч. совета Рос. Федерации по экологии человека и гигиене окруж. среды, посвящ. 85-летию ФГБУ «Научно-исследовательский институт экологии человека и гигиены окружающей среды им. А. Н. Сысина» Минздрава России, Москва, 15–16 дек. 2016 г. : [в 2 т.] / Науч.-исслед. ин-т экологии человека и гигиены окруж. среды ; ред. Ю. А. Рахманин. – М., 2016. – Т. 2. – С. 81–83.

27. Нежвинская, О. Е. Обоснование биомаркеров потенциала агрессии условно-патогенных бактерий / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик // Гигиена, экология и риски здоровью в условиях современного производства : материалы

межрегион. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов, Саратов, 27 апр. 2016 г. / Саратов. науч.-исслед. ин-т сел. гигиены ; под ред. В. Ф. Спирина. – Саратов, 2016. – С. 90–94.

28. Нежвинская, О. Е. Значимость условно-патогенных бактерий в оценке гигиенической безопасности объектов среды обитания / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик // Биологический фактор и микробиологическая диагностика при формировании здорового образа жизни : материалы 12-й Евраз. науч. конф. «Донозоология-2016», 15–16 дек. 2016 г. / Науч.-исслед. ин-т гигиены, профпатологии и экологии человека» ФМБА России [и др.] ; под общ. ред. М. П. Захарченко. – СПб., 2016. – С. 53–55.

29. Экспериментальная оценка антибиотикорезистентности штаммов микроорганизмов-контаминантов пищевых продуктов и объектов среды технологического окружения пищевых производств / Н. В. Дудчик, О. Е. Нежвинская, Е. В. Федоренко, О. А. Емельянова, Н. Д. Коломиец, О. В. Тонко // Наука, питание и здоровье : материалы конгр. (Минск, 8–9 июня 2017 г.) / Нац. акад. наук Беларуси, Науч.-практ. центр Нац. акад. наук по продовольствию ; под общ. ред. З. В. Ловкиса. – Минск, 2017. – С. 427–430.

30. Дудчик, Н. В. Экспериментальное моделирование микробной контаминации объектов пищевых производств / Н. В. Дудчик, Д. С. Грек, О. Е. Нежвинская // Анализ риска здоровью – 2021. Внешнесредовые, социальные, медицинские и поведенческие аспекты: совместно с международной встречей по окружающей среде и здоровью RISE-2021 : материалы XI Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Пермь, 18–20 мая 2021 г.) : в 2 т. / Рос. акад. наук [и др.] ; под ред. А. Ю. Поповой, Н. В. Зайцевой. – Пермь, 2021. – Т. 1. – С. 422–424.

31. Оценка эффективности дезинфекции средств индивидуальной защиты и воздушной среды на основе генерирования аэрозолей кислородоактивных соединений и воздействия физических факторов / О. А. Емельянова, Н. В. Дудчик, Н. Н. Табелева, А. И. Жабровская, О. Е. Нежвинская, Т. В. Грищенко, С. А. Науменко // Актуальні питання громадського здоров'я та екологічної безпеки України : збірка тез доповідей наук.-практ. конф. (сімнадцяті марзесєвські читання), Київ, 21–22 жовт. 2021 р. / Нац. акад. мед. наук України [та ін.] ; редкол.: А. М. Сердюк (голов. ред.), Н. С. Полька, О. І. Турос. – Київ, 2021. – Вип. 21. – С. 247–250.

Патенты

32. Способ определения резистентности штамма микроорганизмов к антимикробному препарату импедансным методом : пат. 21580 Респ. Беларусь : МПК : С 12Q1/06 G01N 29/028/ О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик, Е. В. Федоренко, Н. Д. Коломиец, О. В. Тонко ; заявитель Респ. науч.-практ. центр гигиены. – № а 20140624 ; заявл. 21.11.2014.; опубл. 28.02.2018 // Афіц. бюл. / Нац. центр інтэлектуал. уласнасці. – 2018. – № 1 (120). – С. 130-131.

33. Способ определения потенциальной эпидемической опасности поверхностного водного объекта, используемого в рекреационных целях :

пат. 21866 Респ. Беларусь : МПК С 12Q1/10 G01N 33/18/ О. Е. Нежвинская, Е. В. Дроздова, Н. В. Дудчик, А. В. Фираго; заявитель Респ. науч.-практ. центр гигиены. – № а 20150297 ; заявл. 28.05.2015 ; опубл. 30.04.2018 // Афіц. бюл. / Нац. центр інтэлектуал. уласнасці. – 2018. – № 2 (121). – С. 105-106.

Инструкции по применению

34. Методы оценки эпидемиологической значимости патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [Электронный ресурс] : инструкция М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 19 июня 2015 г., № 005-0515 / разраб.: О. Е. Нежвинская О. Е. Нежвинская, О. В. Тонко, Н. В. Дудчик, Н. Д. Коломиец, Е. В. Федоренко, С. А. Янецкая, О. Н. Ханенко, Н. Н. Левшина // MedBY. – Режим доступа : <http://med.by/methods/pdf/005-0515.pdf>. – Дата доступа : 03.03.2022.

35. Методы санитарно-бактериологического анализа поверхностных вод, используемых в рекреационных целях [Электронный ресурс] : инструкция М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 21.03.2016 г., № 029-1215 / разраб.: Е. В. Дроздова, О. Е. Нежвинская, В. В. Бурая, Т. З. Суrowец, А. В. Фираго // MedBY. – Режим доступа : <http://med.by/methods/pdf/029-1215.pdf>. – Дата доступа : 03.03.2022.

36. Методы оценки безопасности и эффективности ультрафиолетового обеззараживания помещений [Электронный ресурс] : инструкция М-ва здравоохранения Респ. Беларусь, 31.08.2017 г., № 003-0617 / разраб.: Р. Д. Клебанов, Н. В. Дудчик, Г. Е. Косяченко, С. Л. Итпаева-Людчик, А. В. Гиндюк, О. А. Емельянова, А. А. Грузин, В. А. Коноплянко, О. Е. Нежвинская // MedBY. – Режим доступа : <http://med.by/methods/pdf/003-0617.pdf>. – Дата доступа : 03.03.2022.

Рационализаторские предложения

1рп. Метод выявления и идентификации микроорганизмов, входящих в состав биопленок : удостов. на рацпредложение № 1975 / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик ; выдано Респ. науч.-практ. центром гигиены 21.03.2013.

2рп. Метод определения резистентности сообщества микроорганизмов пищевых производств : удостов. на рацпредложение № 1976 / О. Е. Нежвинская ; выдано Респ. науч.-практ. центром гигиены 21.03.2013.

3рп. Метод количественного определения антагонистической активности бактериальных штаммов : удостов. на рацпредложение № 2034 / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик ; выдано Респ. науч.-практ. центром гигиены от 25.05.2014.

4рп. Дифференциально-диагностическая среда для определения лецитовителлазной активности условно-патогенных микроорганизмов : удостов. на рацпредложение № 2038 / О. Е. Нежвинская ; выдано Респ. науч.-практ. центром гигиены 25.05.2014.

5рп. Импедиметрический метод определения резистентности микроорганизмов к антимикробным препаратам удостов. на рацпредложение № 2099 / О. Е. Нежвинская, С. А. Янецкая ; выдано Респ. науч.-практ. центром гигиены 12.12.2014.

брп. Метод длительного хранения рабочей коллекции микроорганизмов: удостов. на рацпредложение № 2125 / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик ; выдано Респ. науч.-практ. цен-тром гигиены 03.12.2015.

7рп. Экспресс-способ выявления полиантибиотикорезистентных штаммов энтеробактерий, выделенных из объектов среды обитания : удостов. на рацпредложение № 2143 / О. Е. Нежвинская, Н. В. Дудчик ; выдано Респ. науч.-практ. цен-тром гигиены 07.04.2016.



РЭЗЮМЭ

Нежвінская Вольга Яўгеньеўна

Фенатыпічныя прыкметы умоўна-патагенных мікраарганізмаў як біямаркеры гігіенічнай ацэнкі фактараў і аб'ектаў навакольнага асяроддзя

Ключавыя словы: мікраарганізмы, фенатыпічныя прыкметы, крытэрыяльная ацэнка, гігіенічная бяспека, тэст-мадэлі, навакольнае асяроддзе.

Мэта работы: вывучыць фенатыпічныя прыкметы ўмоўна-патагенных мікраарганізмаў аб'ектаў устаноў аховы здароўя, харчовых вытворчасцей і водных паверхневых крыніц у зонах рэкрэацыі і даць іх абгрунтаванне як біямаркераў гігіенічнай ацэнкі фактараў і аб'ектаў навакольнага асяроддзя і тэст-мадэляў колькаснага вызначэння антымیکробнай актыўнасці.

Метады даследавання: культуральныя, імпедыметрычныя, біяхімічныя, марфалагічныя, тынктарыяльныя, біялагічнае мадэляванне.

Атрыманыя вынікі і іх навізна:

Праведзена эксперыментальнае вывучэнне бактэрыяльных профіляў мікрабіёты тэхналагічнага абсталявання харчовых вытворчасцей, аб'ектаў устаноў аховы здароўя і водных аб'ектаў у зонах рэкрэацыі. Упершыню вывучаны фенатыпічныя прыкметы ізалятаў ўмоўна-патагенных бактэрыяў як фактараў ідэнтыфікацыі небяспекі ў рамках канцэпцыі ацэнкі рызыкі, абгрунтавана значнасць ўмоўна-патагенных бактэрыяў як паказчыкаў мікробнага статусу аб'ектаў навакольнага асяроддзя. Аптымізаваны комплекс метадаў выяўлення і колькаснага вызначэння біямаркераў ўмоўна-патагенных бактэрыяў з аб'ектаў навакольнага асяроддзя. З улікам экалагічных, фізіялагічных і папуляцыйных аспектаў абгрунтаваны алгарытм вызначэння гігіенічнай значнасці ўмоўна-патагенных мікраарганізмаў для гігіенічнай ацэнкі фактараў і аб'ектаў навакольнага асяроддзя.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: выкарыстанне фенатыпічных прыкмет умоўна-патагенных мікраарганізмаў як біямаркераў гігіенічнай ацэнкі фактараў і аб'ектаў навакольнага асяроддзя.

Галіна выкарыстання: гігіенічная ацэнка фактараў і аб'ектаў навакольнага асяроддзя, дзяржаўны санітарны нагляд, навучальны працэс устаноў адукацыі гігіенічнага і экалагічнага профілю.

РЕЗЮМЕ

Нежвинская Ольга Евгеньевна

Фенотипические признаки условно-патогенных микроорганизмов как биомаркеры гигиенической оценки факторов и объектов окружающей среды

Ключевые слова: микроорганизмы, фенотипические признаки, критериальная оценка, гигиеническая безопасность, тест-модели, окружающая среда.

Цель работы: изучить фенотипические признаки условно-патогенных микроорганизмов объектов учреждений здравоохранения, пищевых производств и водных поверхностных источников в зонах рекреации и дать их обоснование как биомаркеров гигиенической оценки факторов и объектов окружающей среды и тест-моделей количественного определения антимикробной активности физических и химических факторов.

Методы исследования: культуральные, импедиметрические, биохимические, морфологические, тинкториальные, биологическое моделирование.

Полученные результаты и их новизна:

Проведено экспериментальное изучение бактериальных профилей микробиоты технологического оборудования пищевых производств, объектов учреждений здравоохранения и водных объектов в зонах рекреации. Впервые изучены фенотипические признаки изолятов условно-патогенных бактерий как факторов идентификации опасности в рамках концепции оценки риска, обоснована значимость условно-патогенных бактерий как показателей микробного статуса объектов окружающей среды. Оптимизирован комплекс методов выявления и количественного определения биомаркеров условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из окружающей среды. С учетом экологических, физиологических и популяционных аспектов микробиоты обоснован алгоритм определения значимости биомаркеров для гигиенической оценки факторов и объектов окружающей среды.

Рекомендации по использованию: использование фенотипических признаков условно-патогенных микроорганизмов как биомаркеров гигиенической оценки факторов и объектов окружающей среды.

Область применения: гигиеническая оценка факторов и объектов окружающей среды, государственный санитарный надзор, учебный процесс учреждений образования гигиенического и экологического профиля.

SUMMARY**Nezhvinskaya Olga****Phenotypic characteristics of opportunistic microorganisms as biomarkers of hygienic assessment of environmental factors and objects**

Key words: microorganisms, phenotypic characteristics, criteria-based assessment, hygienic safety, test models, environment.

The aim of research: to study the phenotypic characteristics of opportunistic microorganisms of health facilities, food facilities and water sources in recreation areas and give justification them as biomarkers of hygienic assessment of environmental factors and objects and test models for quantitative determination of antimicrobial activity of physical and chemical factors.

Methods of research: cultural, impedimetric, biochemical, morphological, tinctorial, biological modeling.

The received results and their novelty:

An experimental study of the bacterial profiles of the microbiota of the technological equipment and facilities of food production, equipment and facilities of healthcare organisations and water sources in recreation areas was performed. The phenotypic characteristics of opportunistic bacteria isolates were studied as hazard identification factors within risk assessment conception, the significance of opportunistic bacteria as indicators of the microbial status of environmental objects was substantiated. Complex of methods for detecting and quantifying biomarkers of opportunistic microorganisms isolated from the environment has been optimized. Taking into account the ecological, physiological and population aspects of the microbiota, an algorithm for determining the significance of biomarkers for the hygienic assessment of environmental factors and objects is substantiated.

Recommendations for use: the usage of phenotypic characteristics of opportunistic microorganisms as biomarkers of hygienic assessment of environmental factors and objects.

Field of application: hygienic assessment of environmental factors and objects, state sanitary control, training process of educational organisation of hygienic and ecological profile.

Подписано в печать 20.05.2022 Формат 60x84_{1/16} Бумага офсетная
Печать цифровая Усл.печ.л. 1,4 Уч.изд.л. 1,5 Тираж 60 экз. Заказ 4748
ИООО «Право и экономика» 220072 Минск Сурганова 1, корп. 2 Тел. 8 029 684 18 66
Отпечатано на издательской системе Gestetner в ИООО «Право и экономика»
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий, выданное
Министерством информации Республики Беларусь 17 февраля 2014 г.
в качестве издателя печатных изданий за № 1/185