

УДК 543.94

Быстрое выявление микробной контаминации в закрытых помещениях биolumинесцентным методом

Ломакина Галина Юрьевна^{1, 2(*)}lomakinagalina@yahoo.com
SPIN-код: 8571-9657Данилова Екатерина Александровна²

katyusha.danilova.02@bk.ru

Мияссарова Альбина Фаритовна²

miassarowa.albina@yandex.ru

Хабибуллина Агата Евгеньевна²

agatakh2002@yandex.ru

¹ МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия² МГТУ им. Н.Э. Баумана, Москва, Россия

Аннотация. Апробация биolumинесцентного метода АТР-метрии для быстрого определения общего микробного числа (ОМЧ) в смывах с поверхностей проведена в учебных аудиториях, оборудованных системой кондиционирования воздуха. Показано, что концентрация внутриклеточного АТР_{in}, в отличие от общего содержания АТР_{tot}, коррелирует с классическим микробиологическим методом ($R = 0,90$) и позволяет определить ОМЧ объекта всего за несколько минут. Выработаны критерии для количественной оценки микробиологической чистоты помещения.

Ключевые слова: люцифераза светляков, биolumинесценция, АТР, общее микробное число (ОМЧ), смывы

Rapid detection of microbial contamination in closed spaces using the bioluminescent method

Lomakina Galina Yurievna^{1, 2(*)}lomakinagalina@yahoo.com
SPIN-code: 8571-9657Danilova Ekaterina Aleksandrovna²

katyusha.danilova.02@bk.ru

Miyassarova Albina Faritovna²

miassarowa.albina@yandex.ru

Habibullina Agata Evgenyevna²

agatakh2002@yandex.ru

¹ Lomonosov MSU, Moscow, Russia² BMSTU, Moscow, Russia

Abstract. The bioluminescent method of ATP-assay for rapid determination of total microbial count (TMC) in surface swabs was tested in classrooms. It was shown that the concentration of intracellular ATP_{in}, unlike the total content of ATP_{tot}, correlates with the classical microbiological method ($R=0.90$) and allows determining the TMC of an object in just a few minutes. Criteria for quantitative assessment of the microbiological purity of an object were developed.

Keywords: firefly luciferase, bioluminescence, ATP, total bacterial count (TBC), surface swab

Введение. Микробное загрязнение закрытых помещений — основная причина распространения бактериальных и вирусных заболеваний, передающихся воздушно-капельным путем. Патогенные микроорганизмы могут накапли-

ваться и распространяться внутри помещений через вентиляционные системы и системы кондиционирования воздуха, оседая на поверхностях. Микробиологический контроль смывов с поверхностей требует проведения длительных инкубаций, однако высокая контаминация объекта микроорганизмами требует быстрого реагирования и принятия соответствующих мер по обеззараживанию помещений. Биолуминесцентная АТФ-метрия — быстрый и удобный метод детекции микробных загрязнений в режиме реального времени, поскольку АТР играет центральную роль в метаболизме любых клеток и является чувствительным биоиндикатором жизнеспособности [1]. Различные фирмы-производители предлагают простые биолуминесцентные тест-системы для определения биологического загрязнения по содержанию общего $АТР_{tot}$, не разделяя на микробный и внеклеточный АТР. Этот качественный метод (в режиме чисто-грязно) удобен при проведении санитарного контроля и оценки эффективности обеззараживания технологических поверхностей, однако, он не дает реальной картины микробной контаминации образца [2]. Цель данной работы — быстрое определение общего микробного числа (ОМЧ) объекта по содержанию внутриклеточного АТР и выработка критериев для количественной оценки микробиологической чистоты помещения.

Методы и материалы; результаты. Разработан и апробирован на практике метод быстрой оценки микробной загрязненности проб смывов с поверхностей по содержанию $АТР_{in}$ с использованием универсального набора реагентов на основе термостабильной люциферазы светляков. При дифференцированном определении $АТР_{in}$ и $АТР_{ex}$ ($n = 25$) обнаружено, что уровень внеклеточного $АТР_{ex}$ существенно превышал уровень $АТР_{in}$, что свидетельствует о наличии остаточных биологических загрязнений. Присутствие $АТР_{ex}$ не представляет бактериальной опасности, однако такие поверхности не могут быть аттестованы как чистые. В нескольких образцах обнаружено высокое содержание $АТР_{in}$, в которых (методом посевов на агаризованной среде МПА) обнаружены грам-положительные микроорганизмы, характерные для воздушной среды, оседающие на поверхности.

Обсуждение. Показано, что концентрация $АТР_{in}$ коррелирует с классическим микробиологическим методом определения общего микробного числа ($R=0,90$), в отличие от $АТР_{tot}$ ($R=0,12$), и позволяет выявить наличие потенциально опасные живые микроорганизмы всего за несколько минут.

Заключение. Выработаны критерии для быстрой количественной оценки микробиологической чистоты объекта по содержанию $АТР_{in}$, который может служить альтернативой длительному микробиологическому тесту.

Список источников

- [1] Ефременко Е.Н., Угарова Н.Н., Ломакина Г.Ю., Сенько О.В., Степанов Н.А., Маслова О.В., Асланлы А.Г., Лягин И.В. *Биолуминесцентная АТФ-метрия: практические аспекты*. Москва, Научная библиотека, 2022, с. 376.
- [2] Lomakina G.Yu., Modestova Yu.A., Ugarova N.N. Bioluminescence Assay for Cell Viability, *Biochem. (Moscow)*, 2015, vol. 80, pp. 701–713.