

УДК 579.2-032.1:621.642.31:599.537.2

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОЗДУХА В ПОМЕЩЕНИИ БАСЕЙНА С ДЕЛЬФИНАМИ АФАЛИНАМИ

Копытина Н. И.¹, Андреева Н. А.²

¹ Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН, Севастополь, Россия, kopytina_n@mail.ru, nade.kopytina@yandex.ru

² Институт природно-технических систем, Севастополь, Россия, andreeva.54@list.ru

В течение двух периодов «осень – зима – весна» (октябрь 2011 г. – май 2012 г. и октябрь 2012 г. – июнь 2013 г.) изучали воздух в помещении закрытого бассейна с дельфинами афалинами на наличие бактериального и микотического загрязнения. Исследование воздуха проводили седиментационным методом. Средняя численность бактерий по сезонам 2011–2012 гг. и 2012–2013 гг. отличалась в 2 раза, составляя 570 и 1084 КОЕ/м³ соответственно. В 2011–2012 гг. численность грибов была 1780, а в 2012–2013 гг. – 1662 КОЕ/м³. Наибольшая общая численность микроорганизмов в период 2011–2012 гг. зарегистрирована в январе 2012 г. (7760 КОЕ/м³), в 2012 г. – в марте 2013 г. (6200 КОЕ/м³). В воздухе бассейна выявлено 69 видов микромицетов из 28 родов, 16 семейств, 8 классов, относящихся к отделам Ascomycota, Basidiomycota и Zygomycota, также установлена группа неидентифицированных грибов Fungi spp. По числу видов доминировали представители родов *Aspergillus* (14 видов), *Penicillium* (10), *Cladosporium* (9), *Cladophialophora* (6) и *Alternaria* (4), достигая ежемесячно 36,4–100,0 % (в среднем 67,2 %) видового состава. В составе микобиоты выявлены 13 (17,1 %) видов микромицетов из групп риска BSL-2 и BSL-3 и 45 (59,2 %) видов оппортунистических грибов из группы BSL-1. По месяцам сходство микокомплексов по видовому составу изменялось от 11,1 (октябрь 2011 ↔ ноябрь 2011 г. и октябрь 2011 г. ↔ февраль 2012) до 62,7 % (апрель 2012 г. ↔ май 2012 г.) (коэффициент Брея-Кертиса).

Ключевые слова: воздух помещения закрытого бассейна, дельфины афалины, бактерии, общее микробное число, микромицеты, группы риска BSL-2 и BSL-3, оппортунистические грибы, микотическая обсемененность воздуха.

ВВЕДЕНИЕ

В неволе иммунный статус дельфинов снижается вследствие непривычных условий существования и контакта с человеком. В воздухе помещения закрытого бассейна накапливается микрофлора, в том числе и патогенная, выделяющаяся через дыхательные пути людей (обслуживающего персонала, посетителей) и животных. Кроме того, в помещении бассейна постоянно сохраняется высокий уровень влажности и, следовательно, благоприятные условия для развития плесневых грибов, которые принято классифицировать как аллергены внешней среды. Повышенное содержание в воздухе опасных микроорганизмов может вызывать поражение респираторного тракта, кожных покровов человека и дельфинов, особенно индивидуумов с ослабленным иммунитетом, депрессией и наличием хронических заболеваний (Захарова и др., 1978; Олейник и др., 1982; Reidarson, et al., 1998; Higgins, 2000; Белозерова, 2005; Staggs et al., 2010; Takahashi, et al., 2010; Андреева, 2010, 2012; Сохар и др., 2012; Яковлев, 2015).

В России действуют нормативные документы, определяющие предельные концентрации микроорганизмов в воздухе лечебно-профилактических учреждений (СанПиН 2.1.3.1375-03), аптеках (МУК 3182-84), для производственной среды предприятий, выпускающих медицинские иммунобиологические препараты (МИБП) (МУК 4.2.734-99; ГН 2.2.6.709-98), для пищевой промышленности (Инструкция 5319-91) и др. В документах нормы обсемененности воздуха микроорганизмами различных производственных помещений значительно отличаются. Согласно СанПиНу 2.1.3.1375-03, общее микробное число (ОМЧ) в различных помещениях лечебных учреждений до начала работы должно быть не более 200–750, грибов – 0 КОЕ/м³, во время работы ОМЧ – не более 500–1000, грибов – 0 КОЕ/м³, а предельно допустимые концентрации (ПДК) в воздухе рабочей зоны на предприятиях, выпускающих бакпрепараты, для каждого из микроорганизмов варьирует: для бактерий от 1000 (*Bacillus megaterium* de Bary, шт. ВМ-11, *Corynebacterium glutamicum* Kinoshita et al.) до 50000 (*Micrococcus varians* Migula, 1900, шт. 80, *Propionibacterium aches* (Gilchrist) Douglas and

Gunter, шт. F3), для грибов от 100 (*Candida ethanolica* Rybářová, Štros & Kock.-Krat. 1980, шт. ВСБ-814) до 5000 КОЕ/м³ (*Acremonium chrysogenum* (Thurum. & Sukapure) W. Gams 1971) (ГН 2.2.6.709-98). Также пока нет установленной нормы обсемененности воздуха жилых помещений. В воздухе жилых помещений указывается предельное содержание грибов меньше или равное 500 КОЕ/м³ (Антонов, 2007; Марфенина, Фомичева 2007). Однако эколого-гигиенические исследования воздушной среды жилых помещений показали, что опасность обострения аллергических реакций у лиц, страдающих бронхиальной астмой, возникает, как правило, при уровне грибкового загрязнения свыше 1500 КОЕ/м³ (Чуприна, 2006).

В «Европейских правилах и нормах содержания дельфинов в искусственно созданной среде и "полувольном" содержании» (Европейские правила и нормы..., 2009) в перечне требований к параметрам воздушной среды не указана норма численности микроорганизмов. Производственный контроль и государственный надзор России над эпидемической безопасностью плавательных бассейнов и аквапарков заключается в оценке качества воды или различных поверхностей по бактериологическим показателям. В гигиенических требованиях к плавательным бассейнам и аквапаркам не указана норма обсемененности воздуха микроорганизмами, а грибы не входят в перечень исследуемых организмов (СанПиН 2.1.2.1188-03). В настоящее время отсутствуют единые подходы к проведению микологических исследований в плавательных бассейнах и аквапарках. Поэтому не представляется возможным оценить уровень опасности микробиологической контаминации воздуха в помещениях бассейнов.

Рост бактерий и грибов приводит к увеличению в воздухе помещений содержания спор, клеточных фрагментов, аллергенов, микотоксинов, эндотоксинов, β-глюканов и летучих органических соединений. Причинные факторы нарушений здоровья людей окончательно не определены, однако повышенное содержание любого из вышеперечисленных агентов представляет потенциальную опасность (Рекомендации ВОЗ, 2014). Тем не менее сведения о видовом составе микроорганизмов и динамике их численности можно использовать для профилактики заболеваний обслуживающего персонала, пациентов, принимающих лечебные сеансы дельфинотерапии, и самих животных, поскольку известно, что значительное ухудшение здоровья людей происходит в помещениях, в которых уровень загрязнения воздуха грибами соответствует или больше 1500–2000 КОЕ/м³ (Чуприна, 2006; Беляева, Чуприна, 2009; Губернский, и др., 2013).

Цель работы – изучить микроорганизмы (бактерии и микроскопические грибы) в воздухе помещения закрытого бассейна, в котором содержали дельфинов афалин – *Tursiops truncatus* (Montagu, 1821) и проводили сеансы дельфинотерапии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Микроорганизмы воздуха изучали в помещении одного из бассейнов с морской хлорированной водой на территории Крыма, в котором содержали трех дельфинов, участвующих в сеансах дельфинотерапии. Высота потолков бассейна – 6 м, одна стена полностью выполнена из пластиковых стеклопакетов. Помещение было снабжено системой принудительной вентиляции, температура воздуха – 23–25 °С, относительная влажность воздуха поддерживалась до 65 %. Ультрафиолетовое бактерицидное облучение помещения отсутствовало. Влажную уборку помещения делали ежедневно. Исследования проводили в течение двух периодов «осень – зима – весна»: октябрь 2011 – май 2012 и октябрь 2012 – июнь 2013 годов, когда животных переводили в здание из прибрежных вольеров. Пробы воздуха брали два раза в месяц (всего 34 съемки, 204 пробы). Численность микроорганизмов определяли седиментационным методом (метод Коха). Чашки Петри со средами устанавливали в 3-х местах на бортиках бассейна, в 30 см от пола и 100 см от поверхности воды, и оставляли открытыми в течение 20 минут. Пробы отбирали утром, до проведения сеансов дельфинотерапии, и в отсутствие сотрудников бассейна. В работе использовали микробиологические среды: мясопептонный агар (МПА), Чапека и Сабуро (по 2

повторности). Чашки с МПА инкубировали в термостате при температуре 30 °С, чашки со средами Чапека и Сабуро проращивали при температуре 22–25 °С в течение 5–15 дней. Численность КОЕ в 1 м³ рассчитывали по таблице В. Л. Омелянского (Инструкция по микробиологическому и биологическому контролю в аптеках [приложение № 2]).

Определение микробного загрязнения воздуха устанавливается по следующим показателям:

- общее микробное число (ОМЧ) (КОЕ/м³);
- наличие санитарно-показательных бактерий – представителей микрофлоры дыхательных путей (гемолитические стрептококки, золотистый стафилококк);
- количество плесневых и дрожжевых грибов (КОЕ/м³) (Ларионов и др., 2010; Николаева, 2013).

В наших исследованиях были определены:

- количество бактериальных колоний (без выделения санитарно-показательных),
- численность микроскопических грибов,
- общее число бактериальных и грибных колоний (ОМЧ).

Для идентификации грибов использовали работы (Саттон и др., 2001; De Hoog et al., 2000) и другие. Видовые названия грибов соответствуют международной электронной номенклатурной базе данных Index Fungorum.

Обработка результатов воздуха выполнена с применением пакета программ многомерного статистического анализа PRIMER® for WINDOWS® v. 5.2.8. (Warwick, Clarke, 2001).

В микологии нет четкого определения понятий «особь», «организм», «популяция», «сообщество», поэтому для описания группы грибов из одного места обитания используется нейтральный термин «комплекс» (микокомплекс), т. е. ассоциация независимых видов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали, что средняя численность бактерий по сезонам 2011–2012 годов и 2012–2013 годов отличалась в 2 раза и составляла 570±124 и 1084±166 КОЕ/м³ (± стандартная ошибка среднего) соответственно. В период 2011–2012 годов наибольшая численность бактерий отмечена в феврале – марте 2012 года, с максимальным пиком в феврале (640±254–1360±469 КОЕ/м³). В течение сезона 2012–2013 годов было зарегистрировано 4 пика увеличения численности, наибольшие из них зафиксированы в ноябре 2012 года и январе 2013 года – 1760±495 и 1600±480 КОЕ/м³ соответственно. В ходе исследования не выявлена закономерность изменения численности бактерий в воздухе по месяцам проведения анализа.

В 2011–2012 годах средняя численность грибов была 1780±326, а в 2012–2013 годах – 1662±193 КОЕ/м³. В период 2011–2012 годов увеличение контаминации воздуха грибами проявлялось постепенно с октября 2011 года по январь 2012 года (3760±439 КОЕ/м³), затем она скачкообразно понижалась. В 2012–2013 годах численность грибов изменялась по месяцам исследования незначительно. Повышение обсемененности воздуха в течение обоих периодов отмечено в декабре – марте (исключение – январь 2013 года).

Общая контаминация воздуха микроорганизмами в среднем составляла 3581±420 (по периодам 3554±785 и 3606±433) КОЕ/м³. Наибольшие значения ОМЧ в период 2011–2012 годов зарегистрированы в январе 2012 года (7760±1203 КОЕ·м⁻³), в 2012–2013 годах – в марте 2013 году (6200±987 КОЕ/м³).

В воздухе помещения бассейна выявлено 69 видов микромицетов из 28 родов, 16 семейств, 8 классов, относящихся к отделам Ascomycota, Basidiomycota и Zygomycota, также установлена группа неидентифицированных грибов Fungi spp. В видовом составе микромицетов доминировали представители родов *Aspergillus* (14 видов), *Penicillium* (10), *Cladosporium* (9), *Cladophialophora* (6) и *Alternaria* (4), достигая ежемесячно 36,4–100,0% (в среднем 67,2±3,9 %) от видового состава. На протяжении двух сезонов с наибольшей частотой

встречаемости выделяли неидентифицированные грибы *Fungi* spp. (82,4%), *Aspergillus* sp., *Acremonium* sp., дрожжи *Rhodotorula* sp., *Trichosporon* sp. (15,8–20,3%).

В качестве опасных для здоровья человека (medically important fungi) в настоящее время рассматриваются факультативно патогенные грибы, которые могут обладать: 1) патогенными, 2) токсичными, 3) аллергенными свойствами (Марфенина, Фомичева, 2007). Потенциально патогенные грибы подразделяются на несколько групп. Наиболее часто используется классификация De Hoog et al. (2000). Авторы выделяют несколько групп грибов в зависимости от их опасности для человека. BSL-1 (Biological Safety Level) – многочисленные, распространенные в природе виды, безопасные для здоровых людей, которые редко регистрируются как возбудители заболеваний. Этот класс также включает оппортунистические виды микроорганизмов, обладающие аллергенными свойствами. BSL-2 – виды грибов, обитающие в окружающей среде, которые, попадая в организм здорового человека, могут сохраняться и вызывать локализованные микозы. BSL-3 – небольшая группа наиболее опасных системных патогенов, представители этой группы могут сохраняться в природе (Озерская и др., 2007). В России классификация грибов по группам патогенности имеет обратную нумерацию (I–IV по убыванию опасности). Большинство возбудителей оппортунистических микозов относятся к IV группе патогенности (Марфенина, Фомичева, 2007).

В воздухе выявлены 12 видов грибов из групп патогенности BSL-2 и BSL-3 (табл. 1), но многие представители родов *Alternaria*, *Acremonium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* и др. являются возбудителями оппортунистических микозов и аллергических заболеваний (в наших исследованиях это дополнительно 45 видов), которые необходимо учитывать при анализе микологического риска.

Таблица 1

Видовой состав микромицетов в воздухе бассейна, их встречаемость и средняя численность по сезонам исследования

Вид гриба	Группа патогенности	Сезон 2011–2012 гг.		Сезон 2012–2013 гг.	
		Сезонная встречаемость, %	Средняя сезонная численность, КОЕ/м ³	Сезонная встречаемость, %	Средняя сезонная численность, КОЕ/м ³
1	2	3	4	5	6
Отдел Ascomycota					
<i>Acremonium hyalinulum</i> (Sacc.) W. Gams 1971	BSL-1	6,3	2	0	0
<i>A. spinosum</i> (Negrone) W. Gams 1971	BSL-1	0	0	5,6	2
<i>Acremonium</i> sp.	BSL-1	37,5	61	50	132
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl. 1912	BSL-1	18,8	29	22,2	43
<i>Al. chlamydospora</i> Mouch. 1973	BSL-1	18,8	22	16,7	33
<i>Al. longipes</i> (Ellis & Everh.) E. W. Mason 1928	BSL-1	18,8	12	5,6	2
<i>Alternaria</i> sp.	BSL-1	18,8	19	11,1	24
<i>Aspergillus aculeatus</i> Iizuka 1953	BSL-1	6,3	7	5,6	37
<i>As. avenaceus</i> G. Sm. 1943	BSL-1	12,5	12	11,1	20
<i>As. candidus</i> Link 1809	BSL-1	6,3	5	0	0
<i>As. carneus</i> Blochwitz 1933	BSL-1	12,5	12	0	0
<i>As. clavatonanicus</i> Bat., H. Maia & Alecrim 1955	BSL-1	12,5	39	0	0
<i>As. flavus</i> Link 1809	BSL-2	12,5	17	0	0
<i>As. fumigatus</i> Fresen. 1863	BSL-2	6,3	7	0	0

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
<i>As. granulosis</i> Raper & Thom 1944	BSL-1	12,5	46	5,6	13
<i>As. janus</i> Raper & Thom 1944	BSL-1	12,5	17	0	0
<i>As. japonicus</i> Saito 1906	BSL-1	6,3	7	0	0
<i>As. niger</i> Tiegh. 1867	BSL-1	0	0	5,6	4
<i>As. sclerotiorum</i> G.A. Huber 1933	BSL-1	6,3	7	0	0
<i>As. ustus</i> (Bainier) Thom & Church 1926	BSL-1	6,3	2	0	0
<i>Aspergillus</i> sp.	BSL-1	31,3	63	33,3	56
<i>Chrysosporium</i> sp.	BSL-1	6,3	2	16,7	7
<i>Cladophialophora boppii</i> (Borelli) de Hoog, Kwon-Chung & McGinnis 1995	BSL-2	25,0	5	5,6	2
<i>C. carrionii</i> (Trejos) de Hoog, Kwon-Chung & McGinnis 1995	BSL-2	6,3	7	0	0
<i>C. emmonsii</i> (A.A. Padhye, McGinnis & Ajello) de Hoog & A.A. Padhye 1999	BSL-2	12,5	5	0	0
<i>C. modesta</i> McGinnis, de Hoog & Haase 1999	BSL-2	0	0	11,1	6
<i>C. mycetomatis</i> Badali, de Hoog & Bonifaz, Stud. 1977	BSL-2	6,3	2	0	0
<i>C. subtilis</i> Badali & de Hoog 2008	BSL-1	6,3	5	0	0
<i>Cladosporium chubutense</i> K. Schub., Gresl. & Crous 2009	BSL-1	0	0	11,1	9
<i>Cl. delicatulum</i> Cooke 1876	BSL-1	12,5	7	5,6	2
<i>Cl. cladosporioides</i> (Fresen.) G.A. de Vries 1952	BSL-1	18,8	19	33,3	17
<i>Cl. herbarum</i> (Pers.) Link 1816	BSL-1	0	0	11,1	6
<i>Cl. hillianum</i> Bensch, Crous & U. Braun 2010	BSL-1	56,3	39	33,3	19
<i>Cl. oxysporum</i> Berk. & M.A. Curtis 1868	BSL-1	0	0	11,1	2
<i>Cl. ramotenellum</i> K. Schub., Zalar, Crous & U. Braun 2007	BSL-1	0	0	11,1	4
<i>Cl. sphaerospermum</i> Penz. 1882	BSL-1	12,5	5	0	0
<i>Cladosporium</i> sp.	BSL-1	25,0	17	44,4	43
<i>Coccidioides</i> sp.	BSL-2	6,3	24	0	0
<i>Ctenomyces serratus</i> Eidam 1880	BSL-1	0	0	5,6	7
<i>Emmonsia</i> sp.	BSL-1	6,3	48	27,8	78
<i>Fusarium oxysporum</i> Schltld. 1824	BSL-2	0	0	11,1	4
<i>Fusarium</i> sp.	BSL-1	0	0	5,6	2
<i>Gliomastix roseogrisea</i> (S.B. Saksena) Summerb. 2011	BSL-1	6,3	3	0	0
<i>Nattractia</i> sp.	BSL-1	6,3	5	0	0
<i>Neurospora sitophila</i> Shear & B. O. Dodge 1927	BSL-1	12,5	5	0	0
<i>Parengyodontium album</i> (Limber) C.C. Tsang, J.F.W. Chan, W.M. Pong, J.H.K. Chen, A.H.Y. Ngan, Cheung, C.K.C. Lai, D.N.C. Tsang, S.K.P. Lau, P.C.Y. Woo, 2016	BSL-1	6,3	2	16,7	6
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx 1901	BSL-1	18,8	24	11,1	4
<i>P. brevicompactum</i> Dierckx 1901	BSL-1	18,8	41	22,2	7
<i>P. chrysogenum</i> Thom 1910	BSL-1	12,5	7	5,6	4
<i>P. citrinum</i> Thom 1910	BSL-1	12,5	19	16,7	17
<i>P. decumbens</i> Thom 1910	BSL-1	18,8	199	38,9	17
<i>P. expansum</i> Link 1809	BSL-1	6,3	2	11,1	22

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6
<i>P. griseofulvum</i> Dierckx 1901	BSL-1	6,3	7	0	0
<i>P. piceae</i> Raper & Fennell 1948	BSL-1	6,3	2	11,1	22
<i>P. verruculosum</i> Peyronel 1913	BSL-1	0	0	5,6	4
<i>Penicillium</i> sp.	BSL-1	25,0	44	5,6	13
<i>Phialemonium atrogriseum</i> (Panas.) Dania García, Perdomo, Gené, Cano & Guarro 2013	BSL-1	18,8	29	5,6	50
<i>Sarocladium kiliense</i> (Grütz) Summerb. 2011	BSL-2	31,3	46	22,2	71
<i>S. strictum</i> (W. Gams) Summerb. 2011	BSL-1	0	0	5,6	192
<i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb.) S. Hughes 1958	BSL-3	6,3	5	5,6	2
<i>Stemphylium herbarum</i> E. G. Simmons 1986	BSL-1	6,3	15	0	0
<i>S. sarciniforme</i> (Cavara) Wiltshire 1938	BSL-1	0	0	5,6	2
<i>Stemphilium</i> sp.	BSL-1	6,3	10	22,2	7
Fungi sp	BSL-1	87,5	427	83,3	520
Отдел Ascomycota (аскомицетовые дрожжи)					
<i>Candida albicans</i> (C. P. Robin) Berkhout 1923	BSL-2	0	0	5,6	4
<i>Exophiala dermatitidis</i> (Kano) de Hoog 1977	BSL-2	0	0	11,1	6
<i>Rhodotorula</i> sp.	BSL-1	31,3	24	50	39
<i>Trichosporon</i> sp.	BSL-1	50,0	293	16,7	67
Отдел Basidiomycota (базидиомицетовые дрожжи)					
<i>Sporobolomyces</i> sp.	BSL-1	0	0	11,1	11
Отдел Zygomycota					
<i>Cunninghamella elegans</i> Lendn. 1905	BSL-2	0	0	5,6	4

В период 2011–2012 годов идентифицировано 53 вида грибов: 9 видов относились к группам BSL-2 и BSL-3 и 27 – к оппортунистическим. В 2012–2013 годах обнаружены 48 видов микромицетов: 8 видов из групп BSL-2 и BSL-3 и 20 – оппортунистический. Виды из групп BSL-2 и BSL-3 не выявлены в октябре 2011, октябре – декабре 2012, январе, феврале и мае 2013 года. В остальное время число патогенных видов изменялось от 1 до 6 (6,3–33,3 % от числа видов, обнаруженных в течение месяца), а численность не превышала 21,1 % от общей выявленной в течение месяца. Число оппортунистических видов варьировало в пределах 1–20 (33,3–71,4 %), а их численность – 40,0–83,0 % от общей. Численность потенциально патогенных видов грибов, оппортунистических, общая численность микромицетов, а также численность бактерий и ОМЧ показаны на рисунке 1.

Были проведены расчеты степени вариабельности средних значений ранговых сходств для двух периодов исследования (ANOSIM-тест: общая R-статистика = 0,227 при уровне значимости 0,1 %), которые свидетельствуют о незначительных различиях структуры микокомплексов (таксономический состав и численность) по периодам, но этот же анализ по месяцам показал различия, близкие к достоверным, между следующими парами микокомплексов: май 2012 ↔ март 2013 (R = 0,513), март 2012 ↔ октябрь 2012 (R = 0,515) и март 2012 ↔ май 2012 (R = 0,579). В данных комплексах средняя численность общих видов грибов отличалась в 2–15 раз.

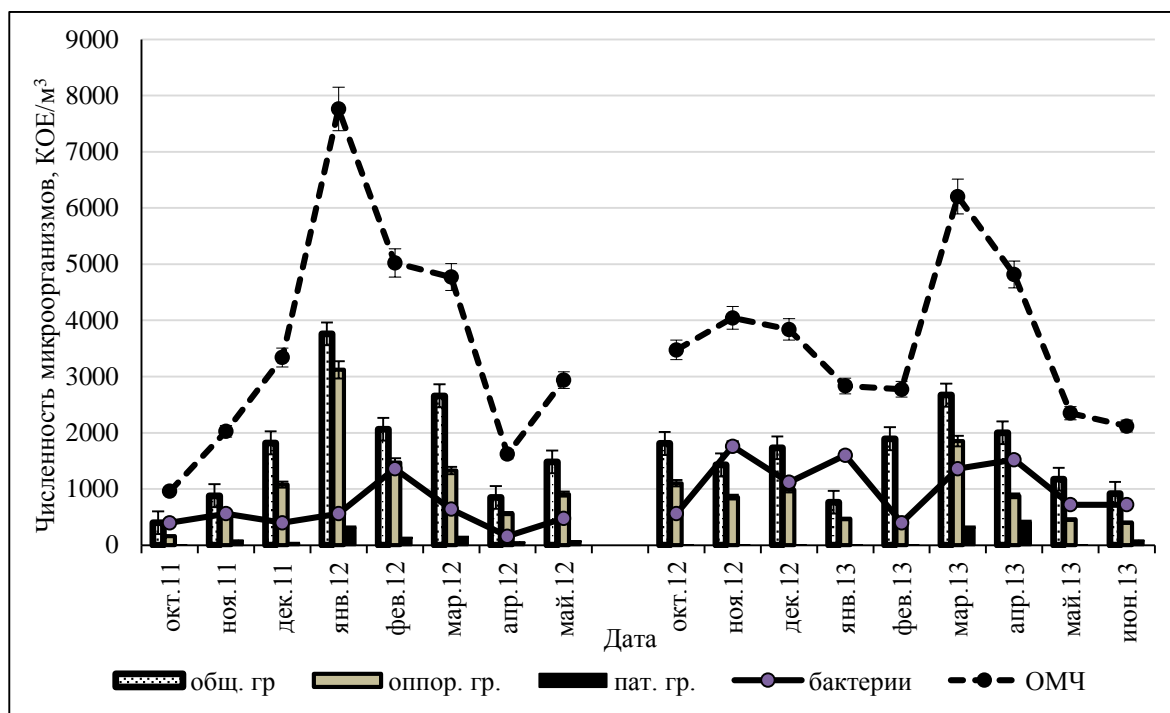


Рис. 1. Динамика значений общего микробного числа, численности бактерий и микромицетов в воздухе помещения закрытого бассейна с дельфинами
 Общ. гр. – общая численность грибов; оппор. гр. – численность оппортунистических грибов; пат. гр. – численность потенциально патогенных грибов; бактерии – численность бактерий; ОМЧ – общая численность микроорганизмов.

В микобиоте воздуха производственных и жилых помещений Северной Америки, Европы, Азии, Австралии, а также России доминируют виды родов *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, которые являются наиболее важными источниками аэроаллергенов (Егорова, Климова, 2006; Марфенина, Фомичева, 2007, 2007а; Богомоллова и др., 2009; Чуприна, 2006; Беляева, Чуприна, 2009; Градусова, и др., 2009). Представители этих родов также доминировали в воздухе бассейна и в наших исследованиях. Крупные споры (более 5,0 мкм) проникают в дыхательную систему не глубоко и опасны только для носоглотки; более мелкие (1,5–5,0 мкм, например у видов родов *Aspergillus* и *Penicillium*) в некоторых случаях могут служить причиной легочных микозов (Марфенина, Фомичева, 2007а). Мы установили, что зимой обсемененность воздуха грибами рода *Penicillium* повышалась до 582 ± 281 КОЕ/м³, а *Aspergillus* – до 278 ± 74 КОЕ/м³, весной численность падала – 79 ± 21 и 121 ± 35 КОЕ/м³ соответственно. Следовательно, вероятность возникновения глубоких микозов людей и животных повышалась зимой.

Выявлено, что наибольшая контаминация воздуха микромицетами обнаружена при одновременном выпадении атмосферных осадков и резких колебаниях температуры наружного воздуха. Так, 19.01.2012 выпал снег, температура воздуха на улице изменялась от –2 до –10 °С, 03.03.2012 также после снегопада потеплело от –12 до +1 °С, а 22.03.2013 – за 3 дня до исследования – прошел дождь, температура воздуха резко возросла от 9 до 22°С, что способствовало повышению микотической обсемененности воздуха: в январе 2012 года до 4920 ± 998 КОЕ/м³, а в марте 2012 года и 2013 года численность грибов составила 2123 ± 658 и 3840 ± 574 КОЕ/м³. Данная закономерность позволяет предположить, что, по-видимому, в холодную сырую погоду эксфильтрация теплого влажного воздуха из помещения через щели в стенах, потолках, окнах способствовала дополнительной конденсации влаги и развитию плесени на окнах и других поверхностях.

Таким образом, в условиях повышения влажности в бассейне на различных поверхностях могут активно развиваться микроорганизмы, что вызывает повышение обсемененности воздуха. Известно, что представители родов *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria* и некоторых других являются эвритопами и способны активно развиваться в водной среде (Копытина, Тарасюк, 2010; Смирнова и др., 2013). Следовательно, в помещении бассейна необходимо постоянно проводить микробиологический контроль воздуха, а также воды и поверхностей предметов в целях профилактики микозов людей и животных.

Авторы считают, что в помещении исследуемого бассейна необходимо принять меры по устранению образования конденсата на стеклопакетах, увеличить частоту санитарной обработки стен и потолка (высота которых затрудняет эту процедуру). Кроме того, можно снизить вероятность контаминации стеклопакетов, стен и воздуха микроорганизмами, установив бактерицидные лампы. В отличие от обычных кварцевых (УФ-ламп) бактерицидные лампы не образуют озон, так как стекло лампы отфильтровывает озonoобразующую спектральную линию 185 нм, что обуславливает их безопасность для органов дыхания людей и животных.

ВЫВОДЫ

1. В ходе исследования не выявлена закономерность изменения численности бактерий в воздухе по месяцам проведения анализа. Повышение микотической обсемененности воздуха в течение обоих периодов отмечено в декабре – марте (исключение – январь 2013 г.) Выявлено, что наибольшая контаминация воздуха микромицетами обнаружена при одновременном выпадении атмосферных осадков и резких изменениях температуры наружного воздуха. По-видимому, в холодную сырую погоду эксфильтрация теплого влажного воздуха из помещения через щели в стенах, потолках, окнах способствовала дополнительной конденсации влаги и развитию плесени на окнах и других поверхностях. Наибольшие значения общей микробной численности (ОМЧ) в период 2011–2012 годов зарегистрированы в январе 2012 года (7760 ± 1203 КОЕ/м³), в 2012–2013 гг. – в марте 2013 года (6200 ± 987 КОЕ/м³) за счет интенсивного развития грибов.

2. В воздухе помещения бассейна выявлено 69 вида микромицетов из 26 родов, 16 семейств, 8 классов, относящихся к отделам Ascomycota, Basidiomycota и Zygomycota, также установлена группа неидентифицированных грибов Fungi spp. В воздухе преобладали представители родов *Aspergillus* (14 видов), *Penicillium* (10), *Cladosporium* (9), *Cladophialophora* (6) и *Alternaria* (4), достигая ежемесячно 36,4–100,0 % (в среднем $67,2 \pm 3,9$ %) от видового состава, данные виды являются наиболее важными источниками аэроаллергенов. Также в воздухе выявлено 12 видов грибов из групп патогенности BSL-2 и BSL-3.

3. Установлено, что зимой обсемененность воздуха грибами рода *Penicillium* повышалась до 582 ± 281 КОЕ/м³, а *Aspergillus* – до 278 ± 74 КОЕ/м³, весной численность падала – 79 ± 21 и 121 ± 35 КОЕ/м³. Следовательно, вероятность возникновения глубоких микозов людей и животных повышалась зимой.

4. В помещении бассейна необходимо принять меры по устранению образования конденсата на стеклопакетах, а также увеличить частоту санитарной обработки стен и потолка.

Научно-исследовательская работа выполнена по госбюджетной теме ИМБИ РАН имени А. О. Ковалевского № 0828-2014-0016 «Развитие современных информационных технологий для систематизации гидробиологических данных и знаний. Создание методов и технологий оперативного контроля экологического состояния биоты, оценки и прогноза качества морской среды», № госрегистрации – 115081110012, руководитель – д. б. н., профессор Ю. Н. Токарев.

Список литературы

Андреева Н. А. Микрофлора прибрежной акватории Черного моря в присутствии морских животных и микробиологические заболевания дельфинов // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского. Серия «Биология, химия». – 2012. – Т. 25 (64), № 1. – С. 3–20.

Андреева Н. А. Многолетняя динамика общего состава и отдельных представителей микробных ценозов верхних дыхательных путей дельфинов афалин (*Tursiops truncatus*), содержащихся в севастопольском океанариуме // Ученые записки Таврического национального университета им. В. И. Вернадского Серия «Биология, химия». – 2010. – Т. 23 (62), № 4. – С. 25–33.

Антонов В. Б. Где порог толерантности к микотической контаминации помещений? // Успехи медицинской микологии: материалы пятого Всероссийского конгресса по медицинской микологии (Москва, 28–30 марта 2007 г.) – М.: Национальная академия микологии. – 2007. – Т. 9. – С. 32–34.

Белозерова И. Г. Кандидоз кожи у белухи, содержащейся в аквапарке Китая // Морские физиологические и биотехнические системы двойного назначения: тез. докл. Всерос. науч.-практ. конф. (Ростов-на-Дону, 15–17 июня 2005 г.). – 2005. – С. 15–17.

Беляева Н. Н., Чуприна О. В. Изменение цитологического статуса слизистых оболочек носа у человека при воздействии грибковой обсемененности жилой среды // Методологические проблемы изучения, оценки и регламентирования биологических факторов в гигиене окружающей среды: материалы пленума Научного совета по экологии человека и гигиене окружающей среды РАМН и Минздравсоцразвития Российской Федерации. (Москва, 16–17 декабря 2009 г.). – М., 2009. – С. 44–47.

Богомолова Е. В., Кирцидели И. Ю., Миненко Е. А. Потенциально опасные микромицеты жилых помещений // Микология и фитопатология. – 2009. – Т. 43, вып. 6. – С. 506–513.

ГН (Гигиенические нормативы) 2.2.6.709-98 Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны [Электронный ресурс]. Министерство здравоохранения Российской Федерации. 1999. – URL: http://ohranatruda.ru/ot_biblio/normativ/data_normativ/10/10448/ (дата обращения: 20.09.2016).

Градусова О. Б., Чуприна О. В., Мельникова А. И., Калинина Н. В., Губернский Ю. Д. Эколого-гигиенические исследования с целью разработки правовых основ по борьбе с грибковым поражением жилых помещений // Иммунопатология. Аллергология. Инфектология. – 2009. – Т. 2. – С. 9–10.

Губернский Ю. Д., Беляева Н. Н., Калинина Н. В., Мельникова А. И., Чуприна О. В. К вопросу распространения и проблемы гигиенического нормирования грибкового загрязнения воздушной среды жилых и общественных зданий // Гигиена и санитария. – 2013. – № 5. – С. 98–104.

Европейские правила и нормы содержания дельфинов в искусственно созданной среде и полувольном содержании [Электронный ресурс]. – URL: http://www.delfinariy.info/2009/11/blog-post_20.html (дата обращения: 10.02.2017).

Егорова Л. Н., Климова Ю. А. Микобиота воздуха в помещениях различного назначения г. Владивостока // Микология и фитопатология. – 2006. – Т. 40, вып. 6. – С. 487–493.

Захарова Т. И., Белецкая О. В., Дранишников В. Д., Петрук В. И., Макарова В. В. Некоторые поражения кожи китообразных // Морские млекопитающие: тез. докл. на VII Всесоюз. совещ. (Москва, 20–23 сентября 1978 г.). – М., 1978. – С. 132–133.

Инструкция 5319-91. Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения СССР, Министерство рыбного хозяйства СССР. 1991. – URL: <http://pravo.levonevsky.org/baza/soviet/sss0422.htm> (дата обращения: 18.09.2016).

Инструкция по микробиологическому и биологическому контролю в аптеках 01.12.2007 (приложение № 2) [Электронный ресурс] http://apteka.uz/regulirovanie_deyatelnosti_aptechnyh_uchrejdeniy_realizaciyi_lek_sredstv_i_inyh_med_tovarov/instrukciya_po_mikrobiologicheskomu_i_biologicheskomu_kontrolyu_v_aptekah (дата обращения: 18.02.2017).

Копытина Н. И., Тарасюк И. В. Водные грибы пелагиали авандельты реки Дунай // Микробиология і біотехнологія. – 2010. – № 1. – С. 37–43.

Ларионов М. В., Смирнова Е. Б., Ларионов Н. В., Кабанина С. В. Микробиологические исследования окружающей среды: учебное пособие для студентов специальности 050102 – «Биология» высших учебных заведений. – Саратов: Наука, 2010. – 109 с.

Марфенина О. Е., Фомичева Г. М. Потенциально патогенные грибы в среде обитания человека. (Анализ современных данных) // Успехи медицинской микологии: материалы пятого Всероссийского конгресса по медицинской микологии (Москва, 28–30 марта 2007 г.) – М.: Национальная академия микологии. – 2007. – Т. 9. – С. 57–59.

Марфенина О. Е., Фомичева Г. М. Потенциально патогенные мицелиальные грибы в среде обитания человека. Современные тенденции // Микология сегодня / Ю. Т. Дьяков, Ю. В. Сергеев (ред.). – М.: Национальная академия микологии. – 2007а. – Т. 1. – С. 235–266.

МУК 3182-84 Методические указания по микробиологическому контролю в аптеках [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения СССР. 1984. – URL: <http://www.webapteka.ru/phdocs/doc2970.html> (дата обращения: 10.07.2016).

МУК 4.2.734-99. Микробиологический мониторинг производственной среды [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения Российской Федерации. 1999. – URL: <http://aquaagroup.ru/normdocs/15817> (дата обращения: 18.09.2016).

Николаева Л. А. Гигиеническая оценка микробного загрязнения воздуха помещений: учебно-методическое пособие ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России. – Иркутск: ИГМУ, 2013. – 20 с.

Озерская С. М., Иванушкина Н. Е., Кочкина Г. А. Таксономическое разнообразие патогенных грибов // Микология сегодня / Ю. Т. Дьяков, Ю. В. Сергеев (ред.). – М.: Национальная академия микологии. – 2007. – Т. 1. – С. 268–282.

Олейник А. И., Харченко Г. И., Гулов В. П. Бронхопневмония, вызванная *Aspergillus fumigatus* у черноморской афалины // Изучение, охрана и рациональное использование морских млекопитающих: тез. докл. 8 Всесоюз. совещ. (Астрахань, 5–8 октября 1982 г.). – Астрахань, 1982. – С. 269–270.

Рекомендации ВОЗ по качеству воздуха в помещениях: сырость и плесень / пер. с англ. Копенгаген: Европейское региональное Бюро ВОЗ. – 2014. – 237 с.

СанПиН 2.1.2.1188-03 N 4219 Проектирование, строительство и эксплуатация жилых зданий, предприятий коммунально-бытового обслуживания, учреждений образования, культуры, отдыха, спорта плавательные бассейны. Гигиенические требования к устройству, эксплуатации и качеству воды. Контроль качества [Электронный ресурс] // Министерство юстиции РФ. 2003. – URL: http://ohranatruda.ru/ot_biblio/normativ/data_normativ/11/11719/index.php (дата обращения: 11.12.2016).

СанПиН 2.1.3.1375-03 Гигиенические требования к размещению, устройству, оборудованию и эксплуатации больниц, родильных домов и других лечебных стационаров [Электронный ресурс] // Министерство здравоохранения Российской Федерации. 2003. – URL: http://www.ohranatruda.ru/ot_biblio/normativ/data_normativ/39/39077/index.php (дата обращения: 10.09.2016).

Саттон Д., Фотергил А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. – М.: Мир, 2001. – 468 с.

Смирнова Л. Л., Копытина Н. И., Телига А. В. Микробиота кожи афалин (*Tursiops truncatus*), морской воды и донных отложений в прибрежных вольерах (Черное море, Севастополь) // Морские млекопитающие Голарктики: материалы VII Междунар. науч. конф. (Суздаль, 24–28 сентября 2012 г.). – Суздаль, 2012. – Т. 2. – С. 239–244.

Сохар С. А., Абдель М. В., Козловская В. В. Глубокие и системные микозы. – Гомель: ГомГМУ, 2012. – 48 с.

Чурина О. В. Эколого-гигиеническая оценка микологической обсемененности жилой среды: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2006. – 24 с.

Яковлев А. Б. К вопросу о совместимости отечественной и европейской классификаций клинических форм оникомикоза // Успехи медицинской микологии: материалы III Международного микологического форума (Москва, 14–15 апреля 2015). – М.: Национальная академия микологии. – 2015. – Т. 14. – С. 110–113.

De Hoog G. S., Guarro J., Gene J., Figueras M. J. Atlas of clinical fungi. – Utrecht: CBS; Spain: Reus. 2000. – 1126 p.

Higgins R. Bacteria and fungi of marine mammals // A review Can Vet J. – 2000. – Vol. 41. – P. 105–116.

Reidarson O. H., Harrell J. H., Rinaldi M. G., McBain J. Bronchoscopic and serologic diagnosis of *Aspergillus fumigatus* pulmonary infection in a bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) // Journal of Zoo and Wildlife Medicine. – 1998. – Vol. 29, N 4. – P. 451–455.

Staggs L., Leger St., Bossart G., Townsend F. I., Hicks Jr., Rinaldi C. M A novel case of *Fusarium oxysporum* infection in an atlantic bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) // Journal of Zoo and Wildlife Medicine. – 2010. – Vol. 41, N 2. – P. 287–290.

Warwick R. M., Clarke K. R. Practical measures of marine biodiversity based on relatedness of species // Oceanography and Marine Biology: An Annual Review. – 2001. – Vol. 39. – P. 207–231.

Kopytina N.I., Andreeva N.A. Microbiological studies of air in the pool premises for bottle-nosed dolphins // Ekosystemy. 2017. Iss. 9 (39). P. 57–66.

During two autumns-winter-spring periods (October 2011 – May 2012 and October 2012 – June 2013) the bacterial and mycotic contamination of air in the closed pool with dolphins have been conducted using sedimentation method. The average number of bacteria during the seasons 2011–2012 and 2012–2013 making almost double the difference, and accounted for 570 ± 124 and 1084 ± 166 CFU · m⁻³, respectively. In 2011–2012 the number of fungi was 1780 ± 326 , and in 2012–2013 – 1662 ± 193 CFU · m⁻³. The highest total number of microorganisms in 2011–2012 registered in January 2012 (7760 CFU · m⁻³), and of 2012–2013 – in March 2013 (6200 CFU · m⁻³). 73 micromycetes species from 26 genera, 16 families, 8 classes – representatives of Ascomycota, Basidiomycota and Zygomycota divisions have been identified in the pool air mycobiota, also established a group of unidentified fungi Fungi spp. In the microbiota composition were identified 13 species (17,1 %) micromycetes of the risk groups BSL-2 and BSL-3 and 45 species (59,2 %) of opportunistic fungi (BSL-1). According to a number of species the following families were dominated: Trichocomaceae (25 species), Davidiellaceae (9) and Pleosporaceae (8), in which representatives of genera *Aspergillus* (15 species), *Penicillium* (10), *Cladosporium* (9), *Cladophialophora* (8) and *Alternaria* (5) were in majority, reaching every month $36.4\text{--}100.0$ (67.2 ± 3.9 %) of the species composition. The monthly mycocomplex similarity in species composition varied from 11,1 (October 2011 ↔ November 2011 and in October 2011 ↔ February 2012) to 62,7% (April 2012 ↔ May 2012) (Bray-Curtis coefficient).

Key words: air of the closed pool premises, dolphins, bacteria, general microbial number, micromycetes, the risk groups BSL-2 and BSL-3, opportunistic fungi, mycotic contamination of air.

Поступила в редакцию 11.08.2017.