

Оценка дезинфектантов против оппортунистических видов грибов, потенциальных возбудителей микогенной аллергии

А.В. Горюнов, И.И. Балаболкин¹, А.Н. Лихачев²

¹Научный центр здоровья детей, Москва

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова

Estimation disinfectants on opportunistic kinds of fungi, that are the potential pathogens of mycogenic allergy

A.V. Goryunov, I.I. Balabolkin, A.N. Likhachev

¹Scientific Health Center of RAMS, Moscow, Russia

²Moscow M.V. Lomonosov State University, Department of Biology

Аннотация

Целью работы является определение фунгистатических и фунгицидных свойств ряда дезинфектантов против оппортунистических видов грибов, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrisogenum*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma viride*, потенциальных возбудителей микогенной аллергии, и возможность их использования в комплексе профилактических мер. Определение фунгистатического и фунгицидного действия препаратов методом диффузии в агар Биопэг (5%); Вапусан (5%); Лизетол (5%); Самаровка (5%); Трилокс (5%); Хлоросепт (0,06%) показало наличие разной устойчивости к дезинфицирующим средствам. Только Самаровка (5%); Трилокс (5%) обладают пролонгированным фунгицидным действием практически на все используемые тест-культуры. Способы обработки и вид обрабатываемых материалов влияют на эффективность действия препаратов. Наиболее эффективен механический влажный способ обработки поверхностей, позволяющий резко снизить контаминацию материалов и ограничить распространение возбудителей аллергии.

Ключевые слова

Микогенная аллергия, дезинфектанты, оппортунистические виды грибов

Уровень заболеваемости внутрибольничными инфекциями (ВБИ), в частности по инфекциям с парентеральным путем передачи даже в Москве, в последние годы имеет устойчивую тенденцию к нарастанию (ПРИКАЗ, 30 августа 2001 г. N 158/147 Центр государствен-

Summary

The purpose of the study is the determination of fungicidal characteristics of a number of disinfectants against the opportunistic kinds of fungi *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrisogenum*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma viride*, that are the potential pathogens of mycogenic allergy and also the opportunities of their use as preventive measures.

The determination of fungicidal effect of the preparations using the method of diffusion into agar Biopag (5%), Vapusan (5%), Lizetol (5%), Samarovka (5%), Trilox (5%), Chlorosept (0,06%) has shown the presence of different resistance to disinfectants. Only Samarovka (5%) and Trilox (5%) produce the prolonged fungicidal effect on all the test-cultures used. The ways of processing and the type of materials processed influence the effectiveness of preparations. The mechanical way of processing the surface is the most efficient one, it allows to eliminate the contamination of materials greatly and limit the pathogens of allergy spreading.

Key words

Mycogenic allergy, determination, opportunistic kinds of fungi

ного санитарно-эпидемиологического надзора г.Москвы). В настоящее время возросло и число исследований связанных с ростом заболеваемости вызываемых патогенными и условно-патогенными грибами, особенно обусловленных иммунодефицитными состояниями и нейтро-

нениями. В связи с этим проведение своевременных и качественных дезинфекционно-стерилизационных мероприятий в комплексе профилактических мер, направленных на предупреждение и ликвидацию внутрибольничных инфекций в учреждениях различного профиля актуальна [1].

Широкий выбор препаратов для дезинфекции и стерилизации позволяет разработать рациональный подход к их использованию для ограничения распространения возбудителей. Однако и в этом случае появляются негативные тенденции связанные с появлением устойчивых форм микроорганизмов к применяемым не только к медикаментозным препаратам, но и к дезинфицирующим средствам [2, 3, 4].

Большинство исследований проводимых в этом направлении посвящено изучению действия антисептиков и дезинфектантов на подавление инфекционных возбудителей болезней в системе лечебно-профилактических учреждениях, и меньшее внимание уделено их действию на оппортунистические виды грибов, являющихся потенциальными возбудителями микогенной аллергии в жилых помещениях. Исключения составляют *Candida albicans* и *Trichophyton gypseum*, которые представляют серьезную опасность в ЛПУ [5, 6, 7, 8, 9, 10].

Выборочное обследование зданий различного назначения в разных регионах мира, показывает, что в аэрозоле помещений содержатся представители десятков родов микромицетов, ряд из которых способны развиваться на различных материалах и вызывать микогенную сенсibilизацию [11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24].

Наряду с этим, в России отсутствуют как стандартизация методов исследования микобиоты помещений, так и допустимые нормы контаминации оппортунистических грибов в них. На данный момент известны только гигиенические нормативы по содержанию пропагул, колониобразующих единиц (КОЕ) или предельно допустимая концентрация микроорганизмов – продуцентов (ПДК), ряда плесневых грибов в воздухе для помещений аптек, биотехнологических производств, животноводческих и птицеводческих хозяйств (ГОСТ 2.2.6709-98; 12.1.005-88; Гигиенические нормативы 2.2.6.709-98; МУ № 3182-841998).

Согласно данным эпидемиологических исследований от 15 до 35% населения различных стран страдают аллергическими болезнями. Эпидемиологические и клинические исследова-

ния указывают на высокую взаимозависимость и частоту выявления сенсibilизации к грибам при бронхиальной астме и варьирует от 30 до 60% случаев. Особую важность решения этих вопросов приобретают в педиатрии в связи с нарастанием этих болезней из группы часто болеющих детей.

Быстрый рост аллергических заболеваний отмечается в городах, что связано с антропогенным влиянием на экологические параметры среды, а также приводящих к изменению ассоциаций микобиоты в экосистемах, нарастанию токсигенных видов микромицетов в почве и заносу их воздушными потоками в помещения [1, 2, 3, 4].

В России зарегистрировано более 400 дезинфицирующих средств. В качестве биоцидов как профилактических средств при обработке материалов наиболее часто рекомендуются препараты на основе полигексахлорметилгуанидина (ПМГ) и четвертичных аммониевых соединений (ЧАС). К мероприятием профилактической направленности является также использование биоцидов в качестве композитных добавок в строительные материалы [5, 6, 7].

Как рекомендованные, так и оригинальные методы, способы определения активности различных медикаментозных препаратов, антисептиков и дезинфектантов, фунгицидов в отношении микроорганизмов имеют ряд своих достоинств и недостатков, связанных в основном из-за трудоемкости, времени получения результатов, сложности стандартизации и поддержания коллекции культур (в данном случае грибов) и т.д.

В микробиологии, микологии и фитопатологии для определения эффективности препаратов используется процент прорастания спор или конидий, нарастания биомассы в растворах или суспензиях препаратов относительно контроля, а также определение ингибирующего действия того или иного вещества на развитие колоний грибов, используя формулу Эббота, определение летальных доз пестицидов (LD_{50} и LD_{90}) на пропагулы грибов, учет зон подавления (фунгистатическое и фунгицидное действие) роста и развития газона тест-культур при диффузии активных веществ в агар с применением лунок, блоков, фильтровальных дисков и т.д. [8, 9].

Целью работы является определение фунгистатических и фунгицидных свойств ряда дезинфектантов против оппортунистических видов грибов, потенциальных возбудителей мико-

генной аллергии, и возможность их использования в комплексе профилактических мер, направленных на предупреждение их развития на различных материалах.

Материалы и методы

Используя метод диффузии биологически активных веществ в агар с применением лунок, нами проведено испытание ряда дезинфектантов на набор штаммов видов *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium chrisogenum*, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium purpurogenum*, *Penicillium sp.*, *Trichoderma viride*, рекомендованных ГОСТ для определения грибостойкости материалов и являющихся потенциальными аллергенами. В работе использованы концентрации препаратов, рекомендованные производителем для проведения профилактических мероприятий для обработки поверхностей: Биопаг (5%); Вапусан (5%); Лизетол (5%); Самаровка (5%); Трилокс (5%); Хлоросепт (0,06%).

В экспериментах определяли фунгистатическое и фунгицидное действие дезинфектантов на отдельно взятую культуру. Пропагулы культур в суспензиях после смыва их с косяков представлены как конидиями, так и фрагментами гиф грибов. В агаризованной среде сусло-агар, инокулированной суспензией тест-культур для получения газона, вырезали сверлом лунки, в которые вносили 0,3 мл препаратов. Инкубацию культур проводили при 26°С. На вторые сутки проводили замер диаметра общей зоны подавления роста культур, отмечая фунгистатическую активность в последующие двое суток по зарастанию зоны подавления, и выявляли фунгицидное действие по отсутствию развития тест-культур. Пролонгированное действие препаратов оценивали при наблюдении за зоной фунгицидного подавления развития культур в последующие 2-3 недели. Инокуляция поверхностей кафельных плиток, линолеума, ковролина с суспензиями с титром конидий 10^3 - 10^5 в 1 мл тест-культурами последующим подсушиванием и затем нанесением на них препаратов путем опрыскивания или протирания ветошью смоченной раствором, позволило определить время 30 и 60 минутной экспозиции препаратов на сохранение жизнеспособности пропагул при последующих высевах на питательную среду в смывах стерильной дистиллированной водой с обработанных материалов.

Результаты и их обсуждение

Оценка влияния препаратов с использованием их диффузии в агар показала, что подавление развития культур состоит из двух зон: первая с проявлением фунгистатического эффекта и временной задержкой роста, вторая - с фунгицидным действием на рост и развитие тест-культур. При этом тест-культуры проявляли разную степень устойчивости к препаратам, а также длительности фунгистатического и фунгицидного влияния (Табл.1)

Практически все исследуемые препараты обладают фунгистатическим действием на взятые тест-культуры. Однако эффективность этого действия различается по времени и чувствительности разных видов. Большое различие выявлено при оценке фунгицидного эффекта, что, вероятно, определяется как цели действия на элементы клетки, так и механизмом влияния на них разного по химическому составу препаратов. У ряда препаратов фунгицидное действие на некоторые виды грибов сохранялось на протяжении 2-3 недель. Наиболее выраженным фунгицидным эффектом обладали Самаровка и Трилокс.

Наличие разной устойчивости к дезинфицирующим средствам, различающихся химическим составом действующих веществ, отмечено не только у представителей разных родов бактерий, но и штаммов одного вида.

Инокуляция разных материалов тест-культурами с последующим способами нанесения препаратов распылом или протиркой влажной ветошью показала, что дезинфектанты, обладающие фунгицидным действием, более эффективно снижают жизнеспособность пропагул грибов при различных методах обработки. Как видно из данных таблиц 2 и 3 более действенным оказался влажный способ механического смыва ветошью для снижения контаминантов с кафеля и линолеума.

В отличие от кафельных плиток линолеума, материалов с плотной поверхностью, с ковролина при различных способах обработки не удается добиться значительного снижения численности контаминантов. (Табл. 4).

На эффективность действия препарата, помимо его химического действующего вещества, может влиять гидрофобность пропагул грибов, их степень адсорбции (адгезии) к тем или иным поверхностям и материалам. Адсорбция микроорганизмов к разным материалам может определять не

Таблица 1
Проявление фунгистатического и фунгицидного действия дезинфектантов на микромицеты

Виды грибов	Препарат, рекомендованные концентрации, диаметр зон подавления роста (мм) и время экспозиции (1 - общая зона на вторые сутки, 2 - фунгицидная зона на четвертые сутки)											
	Биопаг (5%)		Вапусан (5%)		Лизетол (5%)		Самаровка (5%)		Трилокс (5%)		Хлоросепт (0,06%)	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
<i>Alternaria alternata</i>	10	+++	10	+++	7	++	10	10++	5	+	7	+++
<i>Aspergillus niger</i>	10	+++	20	15++	10	+++	30	25++	30	25++	20	10++
<i>Aspergillus flavus</i>	10	+++	20	10++	10	+++	30	20++	10	7+	10	10+
<i>Penicillium chrisogenum</i>	10	+++	25	10+	20	10++	30	25+	20	17+	20	15++
<i>Penicillium cyclopium</i>	10	10++	25	20+	20	15++	30	25+	30	25+	20	15++
<i>Penicillium purpurogenum</i>	10	7+	10	++	10	10+	10	10+	10	10+	10	10+
<i>Penicillium sp.</i>	50	35++	40	20++	40	30++	50	35++	40	35+	10	10+
<i>Trichoderma viride</i>	10	+++	20	15+	10	10+	30	25++	30	25++	20	15++

Примечание: 1 – диаметр общей зоны, включая фунгистатическое, временное подавление роста, 2 – фунгицидный эффект и зона подавления роста на 4 сутки, +++ отсутствие фунгицидного действия препарата, полное зарастание первоначальной зоны; ++ сокращение первоначальной зоны подавления роста и фунгицидный эффект препарата с пролонгированным действием более 4 суток, + сокращении первоначальной зоны подавления роста на 5мм или пролонгированного действия к 4 суткам.

Таблица 2
Уровень эффективности действия дезинфектантов на жизнеспособность пропагул при разных способах обработки кафельных плиток

Виды грибов	Препарат, рекомендованные концентрации, время действия препарата (1- 30 мин., 2 - 60 мин.), эффективность действия дезинфектанта на жизнеспособность пропагул: в смывах – низкий, ± средний + высокий уровень действия препарата																							
	Биопаг (5%)				Вапусан (5%)				Лизетол (5%)				Самаровка (%)				Трилокс (5%)				Хлоросепт (0,06%)			
	1		2		1		2		1		2		1		2		1		2		1		2	
	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл		
<i>Alternaria alternata</i>	-	±	±	±	-	±	±	±	-	±	±	±	+	+	+	+	-	+	±	+	-	-	±	±
<i>Aspergillus niger</i>	-	±	±	±	-	+	±	±	-	+	±	+	±	+	+	+	-	±	±	+	-	-	±	±
<i>Aspergillus flavus</i>	-	±	±	±	-	±	±	±	-	±	±	+	±	+	+	+	-	±	+	+	-	±	±	±
<i>Penicillium chrisogenum</i>	-	±	±	+	-	±	-	±	-	±	±	±	±	+	+	+	±	±	±	+	-	±	±	±
<i>Penicillium cyclopium</i>	-	±	±	±	-	±	-	±	±	±	±	±	+	+	+	-	±	±	+	-	±	±	±	
<i>Penicillium purpurogenum</i>	-	±	±	±	-	-	±		±	+	+	±	+	+	+	±	+	±	+	-	±	±	±	
<i>Penicillium sp.</i>	-	±	-	+	-	±	-	±	±	±	+	+	±	+	+	+	±	±	+	±	-	±	±	±
<i>Trichoderma viride</i>	-	-	-	±	-	-	-	±	-	±	+	±	±	+	+	+	-	±	+	+	-	±	±	+

Примечание: Оп – опрыскивание инокулированного образца препаратом; Вл. – влажная механическая обработка инокулированного образца ветошью с пропитанной препаратом; ± - низкий уровень действия препарата, в смыве КОЕ достигает 30-50 на чашку; ± - средний уровень, в смыве КОЕ достигает от 20 до 30 на чашку; + высокий уровень, в смыве КОЕ составляет <20 на чашку.

Таблица 3

Уровень эффективности действия дезинфектантов на жизнеспособность пропагул при разных способах обработки линолеума

Виды грибов	Препарат, рекомендованные концентрации, время действия препарата (1- 30 мин., 2 - 60 мин.), эффективность действия дезинфектанта на жизнеспособность пропагул: в смывах –низкий, ± средний + высокий уровень действия препарата																							
	Биопаг (5%)				Вапусан (5%)				Лизетол (5%)				Самаровка (5 %)				Трилокс (5%)				Хлоросепт (0,06%)			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл		
Alternaria alternata	-	±	±	±	-	±	±	±	-	±	±	±	+	+	+	+	-	+	±	+	-	-	±	±
Aspergillus niger	-	±	±	±	-	+	±	±	-	+	±	±	±	+	+	+	-	±	±	+	-	-	±	±
Aspergillus flavus	-	±	-	±	-	±	±	±	-	±	±	±	+	±	±	+	±	-	±	+	-	±	±	±
Penicillium chrisogenum	-	±	-	+	-	±	-	±	-	±	±	±	±	+	+	+	±	±	±	+	-	±	±	±
Penicillium cyclopium	-	±	±	±	-	±	-	±	±	±	±	±	±	+	+	+	-	±	±	+	-	±	±	±
Penicillium purpurogenum	-	±	±	±	-	-	±		±	+	+	±	+	+	+	±	+	±	±	+	-	±	±	±
Penicillium sp.	-	±	-	+	-	±	-	±	±	±	+	±	+	+	+	±	±	±	+	±	-	±	±	±
Trichoderma viride	-	-	-	±	-	-	±	±	-	±	+	±	±	±	+	+	-	±	+	+	-	±	±	+

Примечание: см. табл. 2

Таблица 4

Уровень эффективности действия дезинфектантов на жизнеспособность пропагул при разных способах обработки ковровина

Виды грибов	Препарат, рекомендованные концентрации, время действия препарата (1- 30 мин., 2 - 60 мин.), эффективность действия дезинфектанта на жизнеспособность пропагул: в смывах –низкий, ± средний + высокий уровень действия препарата																							
	Биопаг (5%)				Вапусан (5%)				Лизетол (5%)				Самаровка (5 %)				Трилокс (5%)				Хлоросепт (0,06%)			
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2		
	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл	Оп	Вл		
Alternaria alternata	-	±	-	±	-	±	±	±	-	±	-	±	+	+	+	+	-	+	±	+	-	-	±	±
Aspergillus niger	-	±	-	±	-	+	±	±	-	+	-	+	±	+	+	+	-	±	±	+	-	-	±	±
Aspergillus flavus	-	±	-	±	-	±	±	±	-	±	-	+	±	±	+	±	-	±	+	+	-	±	±	±
Penicillium chrisogenum	-	±	-	+	-	±	-	±	-	±	±	±	±	+	+	+	±	±	±	+	-	±	±	±
Penicillium cyclopium	-	±	±	±	-	±	-	±	-	±	±	±	±	+	+	+	-	±	±	+	-	±	±	±
Penicillium purpurogenum	-	±	-	±	-	-	±		-	±	-	+	±	+	+	±	+	±	±	+	-	±	±	±
Penicillium sp.	-	±	-	+	-	±	-	±	-	±	-	+	±	+	+	±	±	±	+	±	-	±	±	±
Trichoderma viride	-	-	-	±	-	-	±	±	-	±	-	±	±	±	+	+	-	±	+	+	-	±	±	+

Примечание: см. табл. 2

только их контаминацию, но последующее развитие, размножения, скорость метаболизма и т.д. [10, 11]. В связи с этим проведение профилактических мероприятий очень затруднено в жилых помещениях насыщенных бытовой аппаратурой, предметами интерьера и т.д. В тоже время литературные данные и собственные результаты исследований микобиоты помещений, где проживают пациенты с atopическими заболеваниями, показывают довольно высокий уровень КОЕ в воздухе даже в зимний период времени. В первую очередь в таких помещениях необходимо проводить мероприятия, в том числе влажным механическим способом применения дезинфектантов, направленных на уборку бытовой пыли, основного источника сохранения и размножения организмов, продуцирующих аллергены.

Литература

1. Марфенина О.Е., Фомичева Г.М., Кулько А.Б. Экологические условия развития потенциально патогенных грибов. Успехи медицинской микологии 2005; т.5: 74-77.
2. Митрофанов В.С., Козлова Я.И. Плесени в доме. Проблемы медицинской микологии 2004; Т.6; №2: 10-18.
3. Шаповалов И.В. Биоповреждение строительных материалов плесневыми грибами: дисс...канд.техн.наук: 05.23.05 - Строительные материалы и изделия. БГТУ им. В.Г. Шухова; Белгород, 2003, 149 с.
4. Крыленков В.А., Д.Ю. Власов, Р.Э. Дашко, С.А. Старцев. Проблемы сохранения жилой и производственной инфраструктуры городов от биоразрушения. Инфстрой 2003; №5: 3-13.
5. Биоповреждения: учеб. пособие для биол. спец. Вузов /В.Д. Ильичев, Б.В. Бочаров, А.А. Анисимов и др. М., 1987, 352 с.
6. Биоповреждения в строительстве. М., 1984, 320 с.
7. Каневская И.Г. Биологическое повреждение строительных материалов. Л., 1984, 232 с.
8. Егоров Н.С. Микробы антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности. М., Высшая школа, 1965, 211 с.
9. Методы экспериментальной микологии /Под ред. В.И. Билай. Киев: Наук. думка, 1982, 550 с.
10. Звягинцев Д.Г. Взаимодействие микроорганизмов с твердыми поверхностями. М.МГУ, 175 с.
11. Казначеев И.В., Гумаргалиева К.З., Моисеев Ю.В., Миронова С.Н. Вероятностный характер адгезии конидий *Asp.niger* к поверхностям полимеров. Микробиол. журнал 1989; т.51; №5: 39-44.

Заключение

В системе лечебно- профилактических учреждений и жилых помещениях для проведения профилактических мероприятий, несмотря на широкий выбор дезинфектантов, следует обращать внимание на состав микобиоты, в первую очередь представителей ксерофильных и ксеротолерантных видов грибов из родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Wallemia*, а также на наличие клещей, возбудителей аллергических заболеваний. Исходя из этих данных к предварительной лабораторной оценке следует ориентироваться на выбор препаратов.

Таким образом, удачный подбор дезинфектантов и их использование для санитарно-профилактической обработки помещений, предметов интерьера, где проживают дети с atopическими заболеваниями, может вести к уменьшению обострений этих болезней.