

**УСПЕХИ  
МЕДИЦИНСКОЙ  
МИКОЛОГИИ**

Под общей научной редакцией академика РАЕН  
Ю.В. Сергеева

**Том IX**

**МАТЕРИАЛЫ ПЯТОГО ВСЕРОССИЙСКОГО КОНГРЕССА  
ПО МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ**

Москва  
Национальная Академия Микологии  
2007

ББК 28.591  
УДК 58-616.5  
У78

**Редакционная коллегия:**

Сергеев Ю. В. (главный редактор)  
Лещенко В. М. (ответственный секретарь)  
Бурова С. А.  
Иванов О. Л.  
Караулов Г. И.  
Клясова Г. А.  
Кулагин В. И.  
Кунгуров Н. В.  
Липницкий А. В.  
Потекаев Н. С.  
Сергеев А. Ю.  
Тутельян В. А.  
Шпигель Б. И.

У78      Успехи медицинской микологии.—Т.9.—М.: Национальная академия  
микологии, 2007. — 376 с.

ББК 28.591  
УДК 58-616.5  
У78

*Издано в Российской Федерации в рамках программы  
Национальной академии микологии*

## Глава 1

---

# **БИОХИМИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ГЕНЕТИКА ГРИБОВ, ИМЕЮЩИХ ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ. ПАТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ МИКОЗОВ**

## **ИЗМЕНЕНИЕ ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КЛЕТОК *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* ПРИ СЛАБЫХ ГРАВИТАЦИОННЫХ ВАРИАЦИЯХ ВЫЗВАННЫХ ПРОЦЕДУРОЙ ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЯ**

**Войчук С.И., Громозова Е.Н.**

*Институт микробиологии и вирусологии  
им. Д.К. Заболотного НАН Украины  
Киев*

Гипергравитационные воздействия на биологические объекты, возникающие при их центрифугировании – один из широко исследованных стрессовых факторов. Нами изучено влияние центрифугирования скоростью 1000 и 5000 оборотов/минуту (что не превышает 2000 g) на общие физиолого-биохимические показатели дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Отмечено, что в отсутствие дополнительных физико-химических стрессовых факторов жизнеспособность клеток подвергавшихся процедуре центрифугирования не отличается от контроля, в то время как активность ферментов дегидрогеназного комплекса значительно возрастает. Эти данные свидетельствуют об усилении метаболической и пролиферативной активности опытных образцов дрожжей. Методом совместного действия, подразумевающего параллельное либо последовательное воздействие на биологические системы нескольких стрессовых факторов наряду с основным, показано значительное снижение жизнеспособности клеток данного микроорганизма, по сравнению с контролем, под действием фунгицидного антибиотика нистатина в концентрации 20 мкг/мл. Полученные данные указывают на стрессовый характер даже слабого гравитационного воздействия выше природного фонового, способный существенно изменить физико-химические свойства и соответственно жизнеспособность клеток исследуемого микроорганизма. Этот факт должен быть учтен при проведении медико-биологических исследований в лабораторных условиях с использованием процедуры центрифугирования и соответствующим образом нивелирован для получения достоверных результатов.

## **ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА АДГЕЗИВНУЮ СПОСОБНОСТЬ *CANDIDA ALBICANS***

**Лисовская С.А., Глушко Н.И., Халдеева Е.В.**  
*Казанский НИИ эпидемиологии и микробиологии*

Развитие факторов патогенности грибов тесно связано с условиями обитания и состоянием макроорганизма. *Candida albicans*, являясь представителями нормальной микрофлоры, могут не проявлять своих потенциаль-

но-патогенных свойств и вести себя фактически как сапрофиты, однако при изменении условий способны становиться возбудителями болезни. Ранее нами была разработана лабораторная модель для определения адгезивной способности грибов с помощью нитроцеллюлозной матрицы с иммобилизованным гемоглобином. Данная модель применяется в лаборатории для дифференциальной диагностики кандиданосительства и кандидоза. Исследования показали зависимость адгезивных свойств гриба от условий культивирования (качество питательной среды, температуры, время инкубирования и количества пассажей проведенных после выделения гриба). В связи с этим представляет интерес изучить факторы, способствующие активизации и уменьшению патогенных свойств грибов.

Чтобы выяснить возможность влияния различных факторов на адгезию гриба, были изучены культуры различных штаммов гриба *C. albicans*, выделенных от 16 больных и кандиданосителей, и выращенных на стандартной среде Сабуро.

Исследуя адгезивную способность как патогенных, так и непатогенных штаммов было отмечено, что наибольший процент адгезии характерен для только что выделенной культуры гриба. Оказалось, что увеличение количества проведенных пересевов (пассажей) на среду уменьшал процент адгезии в 1,5-3 раза. Трех-четырёх кратный пересев способствовал тому, что степень адгезии у штаммов, выделенных от больных и здоровых лиц, приближалась к одинаково низкому значению. По-видимому, это связано с доступностью питательных веществ и отсутствием факторов агрессии. Как следствие при многочисленных пересевах грибы уменьшают свою адгезивную способность. При проведении долгосрочных исследований для восстановления нативных свойств штамма необходимо использование стимуляторов биосинтетической активности. Так, при пересеве гриба на более богатые среды, кровяные или с добавлением гемоглобина, уровень адгезии патогенных штаммов значительно возрос, в отличие от непатогенных штаммов.

Не меньшее значение для роста грибов имеет температура. Выявлена зависимость интенсивности адгезии от температуры выращивания. При увеличении температуры с 20°C до 35°C наблюдался линейный рост адгезии. Максимальное значение адгезии получено при 37°C. Однако для дальнейших исследований выбрана температура 30°C, которая является оптимальной для всех видов штаммов (патогенных и непатогенных), причем адгезия в этом случае составляет до 80% от максимальных значений.

Также изучено влияние возраста штамма на адгезию клеток. При наблюдении 1-4 суточных культур штаммов установлено, что в течение 48 часов *C. albicans* достигает начала стационарной фазы, где все биохимические процессы достигают своего пика.

Полученные результаты подтверждают необходимость тщательно контролировать условия культивирования, поскольку от этого зависит воспроизводимость полученных данных и правильность их интерпретации. Таким

образом, дифференциация патогенных и непатогенных штаммов по проявляемому ими уровню адгезии к белкам (в частности, гемоглобину) возможна при сохранении постоянных свойств носителя (нитроцеллюлозной матрицы с иммобилизованным белком) и неизменных условиях культивирования штаммов, поскольку адгезия *Candida albicans* регулируется как условиями окружающей среды, так и вирулентными свойствами штамма.

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ГЕТЕРОГЕННОСТЬ БИОКОНТРОЛИРУЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ РОДА ZYGOWILLIOPSIS

*Наумов Г.И., Наумова Е.С., Кондратьева В.И., Газдиев Д.О.*  
Государственный научно-исследовательский институт генетики  
и селекции промышленных микроорганизмов  
Москва

Дрожжи *Zygowillipsis* привлекают к себе внимание прежде всего, как микроорганизмы, образующие токсины (микоцины/киллерные белки) достаточно широкого спектра действия (Вустин и др., 1988; Kimura et al., 1995). Они способны убивать клетки разнообразных дрожжевых организмов, в том числе и патогенных для млекопитающих и растений.

До недавнего времени род *Zygowillipsis* был монотипичен – состоял из одного вида *Z. californica*. Молекулярно-генетические исследования позволили установить в рамках этого вида три разновидности – *var. californica*, *var. dimennae* и *var. fukushimae* (Наумова и др., 2006).

Рестриктазный анализ амплифицированных ITS-фрагментов, анализ последовательностей ITS1-5.8S-ITS2 и домена D1/D2 26S рДНК шести японских штаммов *Zygowillipsis* (N 1-6) позволил нам установить два новых таксона в ранге видов (виды I и II). Два представителя вида I (штаммы №1 и №2) имеют идентичные последовательности районов D1/D2 и отличаются от типовой культуры *Z. californica* (CBS 252) 45 нуклеотидными заменами. Тогда как штамм №6, единственный представитель вида II, отличается от типовой культуры CBS 252 по 43 нуклеотидным позициям, а от штаммов №1 и №2 тридцатью нуклеотидными заменами в районе D1/D2 26S рДНК.

Филогенетический анализ свидетельствует, что род *Zygowillipsis* не является монотипичным и состоит по крайней мере из трех видов. Принадлежность двух новых видов к роду *Zygowillipsis* подтверждена их гибридизацией с типовым видом и между собой.

## БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ МИЦЕЛИЯ *LENTUNUS EDODES* В СОВМЕСТНОЙ КУЛЬТУРЕ С ДИАЗОТРОФНЫМИ БАКТЕРИЯМИ *AZOSPIRILLUM BRASILENSE*

**Никитина В.Е.<sup>1</sup>, Цивилева О.М.<sup>1</sup>, Лощинина Е.А.<sup>1</sup>, Макаров О.Е.<sup>1</sup>,  
Бабицкая В.Г.<sup>2</sup>, Щерба В.В.<sup>2</sup>, Пучкова Т.А.<sup>2</sup>**

*1* Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,  
Саратов, Россия

*2* Институт микробиологии НАН Беларуси,  
Минск, Беларусь

Микология и экология рассматривают симбиотические взаимодействия между базидиомицетами и бактериями как взаимовыгодные отношения типа протокооперации. Создание искусственных микробных ассоциаций – перспективное направление в разработке эффективных биопрепаратов, поскольку это один из путей повышения устойчивости монокультур в отношении конкурентов, возбудителей болезней и других факторов. Выдающиеся лечебно-профилактические свойства ксилотрофного базидиомицета *Lentinus edodes* (шиитакэ) делают актуальной разработку альтернативных вариантов технологии его выращивания. В частности, единичные исследования посвящены совместной ферментации природного субстрата высшими грибами и бактериальными культурами.

Бактерии рода *Azospirillum*, принадлежащие к группе diaзотрофных ризосферных бактерий, способны образовывать вещества фитогормональной природы. Это свойство позволяет рассматривать их как стимуляторы роста растений. Кроме того, азоспириллы способны подавлять рост фитопатогенных грибов и бактерий. Наиболее хорошо изучена ростостимулирующая способность азоспирилл во взаимодействии с высшими растениями и водорослями. Было показано, что совместное культивирование микроводоросли *Chlorella vulgaris* с азоспириллой значительно ускоряет рост последней: увеличивается сухой и влажный вес исследуемых колоний, общее количество клеток, размер колоний, размер клеток в них. Бактерии рода *Azospirillum* – самые распространенные из азотфиксирующих микроорганизмов, ассоциирующихся с микоризами и спорокарпами микоризных грибов в природных условиях. Однако до последнего времени совместная культура *Lentinus sp.* и *Azospirillum sp.* не изучалась.

На основании впервые проведенных исследований по стимуляции роста *L. edodes* при совместном культивировании с *Azospirillum brasilense* нами сделан вывод о явном преимуществе совместной культуры в плане подавления заражения посторонней микрофлорой. В настоящей работе высказано и подтверждено предположение, что возникновение положительных результатов от совместного роста с азоспириллой должно сопровождаться

определенными изменениями химического состава мицелия и его биологической активности.

В работе использован штамм *L. edodes* F-249 из коллекции высших базидиальных грибов кафедры микологии и альгологии Московского государственного университета и штамм *A. brasilense* Sp7, полученный из Института микробиологии РАН Москва. Культуру гриба поддерживали на сусло-агаре при 4°C, культуру бактерий – на агаризованной картофельной среде. При глубинном культивировании *L. edodes* использовали среды следующего состава: неохмеленное пивное сусло, 1,2° по Баллингу; синтетическая среда с дрожжевым экстрактом (глюкоза – 10 г/л; дрожжевой экстракт – 1 г/л;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 2 г/л;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 3 г/л;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 2,5 г/л;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,03 г/л;  $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,02 г/л); синтетические среды с D-глюкозой и L-аспарагином: глюкоза – 9 г/л; аспарагин – 1,5 г/л (среда I); глюкоза – 10 г/л; аспарагин – 1 г/л;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 2 г/л;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 3 г/л;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 2,5 г/л;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,03 г/л;  $\text{CaCl}_2 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  – 0,02 г/л (среда II). Для получения плотной питательной среды в 1,2°-ное пивное сусло добавляли 2% агара. Опилочно-зерновой субстрат готовили на основе зерна пшеницы и дубовых опилок в пропорции 1:4 по объему.

Индолил-3-уксусную кислоту (ИУК) добавляли в жидкие среды в виде раствора в 50%-ном этиловом спирте (конечная концентрация ИУК в среде культивирования составляла от 0.010, 0.050 или 0.100 г/л). В контрольном варианте опыта среда без ИУК содержала 50%-ный этанол. Температура выращивания 29°C как подходящая для роста обоих организмов. В качестве инокулята использовали 14-суточную культуру *L. edodes*, выращенную на агаризованном пивном сусле (4° по Баллингу). Способ дозирования посевной культуры состоял в засеве сред дисками сусло-агара, покрытыми мицелием (диаметр 5 мм), взятыми с помощью стерильного металлического пробойника из одной зоны растущего мицелия, из расчета 10 дисков на 100 мл жидкой среды или 1 диск на чашку Петри. На чашках Петри подсев суточной культуры гриба *A. brasilense* Sp7 осуществляли после пяти суток роста чистой культуры гриба методом штриха с помощью бактериальной петли. Пробирики с 40 мл агаризованной среды засевали 2 мл жидкой 14-суточной культуры шиитаке и 50 мкл суточной культуры *A. brasilense* на жидком сусле.

Состав пиридин-растворимой углеводной фракции мицелия *L. edodes* исследован методом капиллярной газовой хроматографии на неподвижной фазе SE-54, газ-носитель – гелий, в режиме программирования температуры от 150 до 280°C с предварительным получением силильных производных. Триметилсилиловые эфиры исследуемых проб и соединений-стандартов получали с использованием 1,1,1,3,3,3-гексаметилдисилазана и триметилхлорсилана в сухом пиридине.

Липиды экстрагировали методом, включающим обработку сухого мицелия смесями метанол-вода-хлороформ в объемном соотношении (1:2:3), высушивание в токе азота или аргона и экстракцию сухого остатка гексаном. Жирные кислоты анализировали методом газожидкостной хроматографии,

в виде метиловых эфиров, которые разделяли на кварцевой капиллярной колонке с неподвижной фазой SE-54. Использовали режим программирования температуры термостата колонки от 130 до 270°C со скоростью нагрева 4°/мин. Жирные кислоты идентифицировали по временам удерживания их метиловых эфиров. В качестве стандартов использовали метиловые эфиры ЖК (Sigma): 7:0, 8:0, 9:0, 10:0, 18:1, 20:2, 21:0, 22:1, 22:0, 23:0, 24:1, 24:0, и набор *Bacterial Acid Methyl Esters CP Mix (Supelco)*.

Обнаружено отсутствие заметного положительного воздействия *A. brasilense* на рост мицелия на чашках Петри, связанное, вероятно, с затруднением обмена веществ между бактерией и грибом по сравнению с жидкими средами. А при глубинном культивировании оказалось, что одной из наиболее благоприятных сред для нормального роста обеих культур является жидкая среда на основе пивного сусла. Сухая биомасса мицелия совместной культуры увеличилась по сравнению с монокультурой *L. edodes* более чем на 60% при росте на сусле и на 29% при росте на синтетической среде **I**.

Наблюдалось явное преимущество двойной культуры перед монокультурой гриба в плане подавления посторонней микрофлоры также и при жидкофазном способе выращивания, как это выявлено ранее на плотных питательных субстратах.

Можно предположить, что положительное влияние азоспириллы связано с одной стороны с ее фунгистатическим действием, с другой – с выделением в среду культивирования веществ фитогормональной природы. Действительно, в грибной монокультуре добавление к среде на основе пивного сусла в-индолил-3-уксусной кислоты – фитогормона ИУК – вызывало увеличение сухой биомассы мицелия почти на 30%. Однако на изученных синтетических средах **I**, **II** в том же интервале концентраций ИУК как компонента среды (0.010-0.100 г/л) не наблюдалось достоверного прироста сухой биомассы мицелия по сравнению с контрольным (без добавок ИУК) опытом. То есть действие фитогормона оказалось зависимым от состава питательной среды как исходного экспериментального условия. Очевидно, что биосинтетическая деятельность *A. brasilense* в смешанной культуре обеспечивала не только повышенный уровень ИУК, но и наличие других, важных для проявления ростостимулирующей способности фитогормона в отношении *L. edodes*, факторов. В частности, влияние эндогенной ИУК на развитие грибной культуры предположительно может быть более выражено на средах, химические свойства которых позволяют регулировать проявление (благоприятствуют ему или, наоборот, блокируют) определенной биологической активности глубинной микокультуры. Обнаруженная нами ярко выраженная способность ИУК взаимодействовать с препаратами внеклеточных лектинов шиитаке, регулировать их активность *in vitro*, позволяет считать перспективным исследование взаимосвязей фитогормональных свойств ИУК и внеклеточной лектиновой активности *L. edodes* в условиях погруженной культуры.

Обнаружено влияние совместного культивирования *L. edodes* F-249 с *A. brasilense* Sp7 на изменение углеводного и жирнокислотного состава мицелия. Состав углеводной фракции *L. edodes* изучен на разных стадиях морфогенеза гриба. Преобладающие углеводы пиридин-растворимых фракций *L. edodes*: лактоза, галактоза, рамноза, мальтоза, маннит, инозит. Ранее нами обнаружено, что в монокультуре гриба маннит накапливается, а инозит, наоборот, присутствует в минимальных количествах в белом мицелии перед плодоношением. В совместной культуре наблюдается значительное увеличение содержания маннита, на стадии коричневой мицелиальной пленки смешанной культуры его более чем в 30 раз больше по сравнению с чистой культурой.

Значимая часть компонентов химического состава мицелия базидиомицетов представлена липидами; погруженный мицелий шиитаке образует до 20% липидов (плодовые тела – 3-4%). Исследования жирнокислотного состава липидов *L. edodes* этими и другими авторами, более поздние исследования липидов других базидиомицетов обнаружили ряд закономерностей, распространение и, возможно, универсальность которых предстоит выяснить в дальнейшем.

Выявлены изменения жирнокислотного состава общих липидов шиитаке на разных стадиях морфогенетического развития гриба. Достаточно высокая для базидиальных грибов концентрация пальмитиновой кислоты С16:0 отличает *L. edodes* от других ксилотрофов. Появление пигментации мицелия и затем коричневой мицелиальной пленки в условиях нашего эксперимента с монокультурой *L. edodes* F-249 коррелирует с заметным (в 1,7 раза) увеличением уровня пальмитиновой кислоты. Степень насыщенности жирных кислот снижается при образовании спорофоров *L. edodes*, а основная массовая доля насыщенных жирных кислот мицелия приходится на С16:0 и С18:0. В совместной культуре содержание указанных соединений в 1,7 и 1,9 раз соответственно ниже. То есть изменения и углеводного, и жирнокислотного состава мицелия в двойной культуре по сравнению с монокультурой гриба оказались качественно схожи с соответствующими биохимическими изменениями мицелия перед плодоношением.

Таким образом, изучение совместной культуры *Lentinus edodes* и *Azospirillum brasilense* – диазотрофных бактерий, стимулирующих рост растений – позволило выявить некоторые особенности биохимического состава мицелия, характерные также для монокультуры шиитаке при переходе к генеративной стадии развития. Это явление может служить одним из аспектов объяснения положительного влияния *A. brasilense* Sp7 на рост *L. edodes* F-249, обнаруженного нами.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант 06-04-81042\_Бел-а.*

## ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ГРИБОВ РОДА *PSILOCYBE* (FR.) KUMM.

*Николаева О.С., Псурцева Н.В., Белова Н.В., Журкович И.К.*

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова  
Санкт-Петербург*

Галлюциногенные свойства грибов известны с глубокой древности. Культ грибов был распространен у племен Сибири, Древней Индии, Китая, Вьетнама, Центральной и Южной Америки. У индейцев Центральной Америки ритуалы с использованием галлюциногенных грибов сохранились вплоть до наших дней. Среди галлюциногенных грибов наиболее изучены виды *p. Psilocybe*, способные продуцировать психотропные вещества – псилоцин (ПС) и псилоцибин (ПСБ), производные 4-окси-диметилтриптамина. Эти вещества вызывают психофизические изменения и находят применение в медицинских целях. Из-за галлюциногенных свойств некоторые виды *p. Psilocybe*, малоизвестные основной массе населения Северо-Западного региона России, приобрели большую популярность среди молодежи, а сбор плодовых тел грибов приобрел столь массовый характер, что возникла большая социальная проблема.

Грибы *p. Psilocybe* и их вторичные метаболиты, обладающие психотропным, галлюциногенным эффектом, широко изучаются различными специалистами: микологами, биохимиками, фармакологами. Широкие исследования галлюциногенных веществ, в том числе псилоцибина и псилоцина (ПСБ и ПС), развернулись с середины прошлого века. Некоторые исследователи полагают, что эти индольные алкалоиды не токсичны для человека. Однако известно, что эффект действия сухих плодовых тел грибов зависит от многих факторов, прежде всего от используемого вида, индивидуальной чувствительности, переносимости производных триптамина, а также величины потребляемой дозы по отношению к весу тела.

Хороший рост на искусственных питательных средах дает возможность изучения грибов *p. Psilocybe* методом чистой культуры. Культуральные исследования псилоцибинсодержащих видов открывают возможность биотехнологического и медицинского использования культур галлюциногенных грибов. Штаммы разных видов *p. Psilocybe*, хранящиеся в отечественных и мировых коллекциях культур микроорганизмов и грибов, служат генетическим материалом для таких исследований. Показано, что плодовые тела *P. cubensis*, искусственно выращенные в чистой культуре, сохраняют способность к биосинтезу ПСБ и ПС, причем в шляпках ПСБ содержится в 2 раза больше, чем в ножках; при этом практически весь ПС сосредоточен в ножках. Источником ПСБ и ПС могут служить не только плодовые тела, но и вегетативный мицелий, выращенный в условиях как поверхностного, так и глубинного культивирования. Однако отмечено, что некоторые штаммы

ПСБ – содержащих видов – *P. pelliculosa* и *P. cyanescens*, не продуцируют его при искусственном культивировании.

Целью настоящей работы явилась сравнительная характеристика разных видов грибов *p. Psilocybe* на вегетативной стадии и выявление физиолого-биохимических особенностей при выращивании в условиях чистой культуры. Работу проводили на материале Коллекции культур базидиомицетов Ботанического института им. В.Л. Комарова (БИН РАН). Было изучено 15, в основном отечественных, штаммов 10 видов *p. Psilocybe*. Культуры выращивали на агаризованных и жидких питательных средах различного состава. Физиолого-биохимические особенности характеризовали при выращивании культур в стационарных условиях. Проводилась оценка основных показателей развития культур – ростовые параметры, степень накопления биомассы, расходование источника углерода и изменение кислотности среды.

Содержание псилоцибина определяли в сыром мицелии, выращенном поверхностным способом на жидкой питательной среде (сусло 2° по Баллингу) в биологических матрасах (150 мл среды). Отбор проб для хроматографического анализа осуществляли на 3 и 8 неделе роста. Количественное определение псилоцибина проводили методами высоко-эффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) и УФ-спектроскопии. В большинстве образцов анализ на присутствие псилоцибина проводили по хроматографическим параметрам удерживания без подтверждения данными сканирования вследствие низкого содержания определяемого компонента. Количественный анализ был выполнен методом абсолютной калибровки по отношению к стандартному образцу псилоцибина.

В процессе роста у видов: *P. cyanescens*, *P. cubensis*, *P. semilanceata* появлялась сине-зеленая пигментация мицелия, что связывают с образованием белок-индольных комплексов, характерных для псилоцибинсодержащих грибов. При исследовании мицелия ряда видов *Psilocybe* на наличие псилоцибина, последний не был обнаружен, в то же время в достаточно больших количествах было отмечено наличие неидентифицированного соединения у разных видов: *P. semilanceata* штамм – 0635 (на 22-е сутки культивирования – 30,4 мкг/г, на 62-е сутки 64,0 мкг/г), штамм – 0639 (на 22-е сутки – 28,0 мкг/г, на 62-е сутки 24,0 мкг/г) и *P. merdaria* только на 22 день – 74,0 мкг/г. Причем такие количества этого соединения отмечены у видов, рост мицелия которых не сопровождался появлением сине-зеленой пигментации, а *P. merdaria* вообще не являлся псилоцибинсодержащим видом. Содержание же обнаруженного вещества в пигментированном мицелии было невысокое.

Известно, что характерное окрашивание мицелия у псилоцибинсодержащих видов обусловлено окислением псилоцина (а не псилоцибина) до стабильного радикала синего цвета, структура которого не известна до сих пор. Поэтому появление пигментации, скорее всего, указывает на биохимические изменения, связанные с биосинтезом индольных метаболитов. Для соединения, обнаруженного у некоторых видов *Psilocybe* в значительных количествах, были получены УФ-спектры, сходные со спектром стандарт-

ного образца псилоцибина, но максимумы кривых не совпадали по длине волн. Этот факт позволил предположить, что обнаруженное соединение близко по структуре к псилоцибину, и являлось либо его аналогом, либо предшественником. Можно предположить, что это вещество у одних видов (*P. semilanceata*), участвует в образовании индольных метаболитов (в пигментированном мицелии его содержание невысокое), а у других видов (*P. merdaria*) – оно накапливается и не ведет к образованию ПСБ и ПС.

Выполненное исследование показало, что грибы *p. Psilocybe*, произрастающие на территории России, представлены разными видами. Для одних видов характерен синтез галлюциногенных метаболитов, другие их не продуцируют, а напротив, могут содержать вещества, характер биологического действия которых не известен. Правильно определить видовую принадлежность грибов *p. Psilocybe* способны лишь специалисты – микологи. Все это указывает на необходимость проведения широкой разъяснительной работы, прежде всего среди молодежи, о вреде употребления неидентифицированного грибного материала.

## ОЦЕНКА ВИРУЛЕНТНОСТИ КУЛЬТУР РОДА CANDIDA, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ СОТРУДНИКОВ БИБЛИОТЕЧНОГО ФОНДА

*Новицкая И.В., Вьючкова Н.В.,  
Липницкий А.В., Жукова С.И., Андрус В.Н.*  
ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский  
противочумный институт» Роспотребнадзора

Культуры дрожжеподобных грибов рода (*C. albicans*, *C. intermedia*, *C. clausenii*), выделенные нами из биоматериала, полученного при текущем обследовании сотрудников библиотеки, были изучены с целью определения их вирулентности.

Критерием вирулентности выделенных штаммов, с нашей точки зрения, могут служить такие показатели, как устойчивость культур к антимикотическим препаратам, цитотоксичность, антиинтерфероновая, антилизоцимная активность, а также чувствительность к дезинфектантам.

В клинической практике, как правило, наиболее тяжело протекают инфекции, вызванные микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью. Поэтому определение спектра антимикотической резистентности выделенных микромицетов, является косвенным показателем их вирулентности.

В своих исследованиях мы использовали такие антимикотики, как нистатин, амфотерицин В, азольные соединения – флуконазол, итраконазол, кетоконазол, а также метаминовый препарат тербинафин. Лекарственные средства титровали в питательной среде методом двукратных разведений.

Культуры грибов вносили в концентрации  $10^6$  КОЕ/мл в объеме 0,1 мл. Учет результатов проводили спустя 48 ч инкубации при  $37^\circ\text{C}$ .

Умеренная и высокая степени чувствительности ко всем препаратам отмечена в 23,1% наблюдений, резистентность к 1-3 изучаемым микоцидам обнаружена в 68,7% случаев, 8,2% культур были низкочувствительны к большинству лекарственных средств.

Цитотоксичность определяли на модели инфузорий *Paramecium caudatum*. Для этого взвесь инфузорий в среде RPMI 1640 в объемах по 20 мкл смешивали с изолятами грибных культур в убывающих концентрациях от  $10^9$  до  $10^4$  КОЕ/мл.

В контрольных лунках к инфузориям добавляли 0,15М раствор NaCl. Результаты учитывали при микроскопии на предметном стекле путем оценки сократительной способности простейших.

Тест цитотоксичности в данных исследованиях оказался недостаточно информативен. Присутствие живых культур *Candida sp.* в концентрациях от  $10^4$  до  $10^9$  КОЕ/мл не снижало жизнеспособности инфузорий. Дальнейшее увеличение концентрации грибов мы сочли нецелесообразным, так как это существенно затрудняло визуализацию результатов.

Для определения антилизоцимной активности использовали препарат лизоцима кристаллического, лиофилизированного, из яичного белка, производства «Реахим», в концентрациях 1 мкг/мл, 5 мкг/мл, 10 мкг/мл и 20 мкг/мл агаризированной питательной среды. На поверхность агара наносили взвесь изучаемого штамма *Candida sp.* ( $10^9$  КОЕ/мл – 50 мкл) и оставляли при  $37^\circ\text{C}$ . Спустя 24 ч экспозиции выросшие колонии обрабатывали парами хлороформа, после чего на поверхность наслаивали тест-культуру *Micrococcus luteus* в полужидком агаре. Рост *M. luteus* вокруг пятен изучаемых колоний гриба при определенной концентрации лизоцима свидетельствует о нейтрализации последнего и позволяет определить количественно антилизоцимную активность изучаемого микромицета.

В наших исследованиях антилизоцимная активность штаммов *Candida* составила 10 мкг/мл (26,6% культур), 20 мкг/мл (46,8%) и  $>20$  мкг/мл (26,6%), что достоверно превышало показатели контроля (референтный штамм *Candida albicans* 624).

Антиинтерфероновую активность изучали на чашках, содержащих интерферон (производство ОАО «Биомед» им.И.И.Мечникова) в концентрациях 10 МЕ/мл, 20 МЕ/мл и 30 МЕ/мл питательного агара. В качестве питательной среды использовали агаризованный гидролизат казеина, обеспечивающий рост тест-штамма *Corynebacterium xerosis*.

Во всех случаях антиинтерфероновая активность составляла 30 и выше МЕ/мл, что, наряду с тестом антилизоцимной активности, может свидетельствовать о высоких потенциальных возможностях изучаемых культур преодолевать механизмы иммунной защиты макроорганизма.

В качестве способа определения антимикотической активности дезинфицирующих средств нами апробирован метод лимитирующих разведений. До

настоящего времени в соответствии с существующими в РФ «Инструктивно-методическими указаниями 02.11.85 по изучению и отбору новых средств дезинфекции, стерилизации, безопасных для применения в практике» (М., 1985), определение антимикробной активности дезинфицирующих препаратов проводят методом батистовых тестов. В некоторых исследованиях используют метод определения D-объема. По нашим наблюдениям, метод лимитирующих разведений так же информативен, но менее трудоемок.

В качестве дезинфектанта нами использован широко употребляемый в микологии раствор пероксида водорода в двухкратно убывающих разведениях от 6% до 0,02% в бульоне Сабуро. Изучаемые штаммы в концентрации  $5 \cdot 10^6$  КОЕ/мл 0,15M NaCl в объеме 0,1 мл вносили в пробирки с раствором дезинфектанта. Контролем служили взвеси грибных культур в питательном бульоне. Результат учитывали после 48-часовой инкубации при 37°C. Оказалось, что минимальная фунгицидная концентрация (МФК) пероксида водорода для исследуемых штаммов *Candida sp.* составила 0,08% (26,6% наблюдений), 0,04% (66,7%) и 0,02% (6,7%) – при используемой в микологических исследованиях рабочей концентрации  $H_2O_2$  от 3% до 6%.

Таким образом, культуры дрожжеподобных микромицетов, выделенные от сотрудников предприятия «группы риска», отличались по показателям антиинтерфероновой и антилизоцимной активности, а также устойчивости к прогивогрибковым препаратам и дезинфектанту пероксиду водорода. С нашей точки зрения, это свидетельствует о потенциальной вирулентности ряда изолятов и необходимости «микологической настороженности» при обследовании и лечении таких пациентов.

## МЕЛАНИНОВЫЕ ПИГМЕНТЫ ГРИБОВ *LENTINUS EDODES* И *GANODERMA LUCIDUM*

*Пучкова Т.А.<sup>1</sup>, Филимонова Т.В.<sup>1</sup>, Бабицкая В.Г.<sup>1</sup>, Никитина В.Е.<sup>2</sup>,  
Цивилева О.М.<sup>2</sup>, Щерба В.В.<sup>1</sup>, Иконникова Н.В.<sup>1</sup>*

*1 Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, Беларусь*

*2 Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН,  
Саратов, Россия*

Известно, что природные меланины обладают широким спектром биологического действия: антиоксидантным, генопротекторным, фото- и радиопротекторным, могут быть использованы в качестве сорбентов ряда радионуклидов и тяжёлых металлов. Такие функции обусловлены способностью меланиновых пигментов стабилизировать уровень окислительно-восстановительного потенциала в клетках за счёт обратимого процесса своего окисления и восстановления.

При изучении культурально-морфологических признаков, а также при выращивании грибов в условиях стационарного и поверхностного культивирования установлено, что грибы синтезируют темно-коричневый

пигмент. Больше количество пигмента образуется при поверхностном выращивании (до 1,8 % грибы рода *Lentinus*, до 2,0 % – *Ganoderma*). При глубинном культивировании количество пигмента в мицелии уменьшается и составляет соответственно 0,6 % и 1,0 %.

Пигменты выделены общепринятыми методами, изучены их физико-химические свойства. Установлено, что пигменты грибов, образуемые при различных условиях культивирования, аналогичны меланинам базидиомицетов, растворяются в типичных для этих пигментов растворителях (NaOH, концентрированной  $H_2SO_4$  и  $HNO_3$ ), обесцвечиваются под воздействием  $H_2O_2$ , бромной воды,  $Na_2S_2O_4$  и  $KMnO_4$ , взаимодействуют с  $FeCl_3$ , образуя хлопьевидный осадок. Молекулярная масса пигмента рейши составляла 45-50 кДа, шиитаке – 60-70 кДа.

Более подробно изучены меланины гриба *L. edodes*. Исследование элементного состава пигмента показало, что в нём содержится 37,2 % С, 5,3 % Н, 54,1 % О и 3,4 % N. Исходя из того, что меланины, синтезируемые высшими грибами, относятся к пирокатехиновому типу, и, следовательно, не должны содержать в составе азот, было сделано предположение, что наличие его обусловлено присутствием белковых веществ, химически связанных с хромофором. Для доказательства выдвинутого предположения пигмент *L. edodes* гидролизовали 6 н HCl при 120°C в течение 24 ч с последующим анализом состава аминокислот. Непрогидролизованные остатки использовали для определения элементного состава и снятия ИК – спектра.

В элементном составе негидролизованного остатка пигмента установлены следовые (~0,2 %) количества азота. Гидролизат пигмента содержал семнадцать аминокислот. В ИК- спектре пигмента после гидролиза исчезли полосы поглощения в областях 1660 и 1550-1460  $cm^{-1}$ , свойственные деформационным колебаниям =NH- групп, входящих в состав аминокислот. Таким образом, можно заключить, что пигмент *L. edodes* является меланопротеином.

Спектр поглощения раствора исследуемого пигмента в УФ и видимой областях имеет форму наклонной прямой, характерную для меланинов грибного происхождения, и в частности, для меланинов макромицетов.

У исследуемого пигмента зарегистрирован характерный для меланинов немного ассиметричный синглетный сигнал ЭПР. Концентрация парамагнитных центров в пигменте *L. edodes* составила  $6,0 \times 10^{17}$  спин/г сухого вещества, что согласуется с порядком величин, приводимых другими авторами.

Важной идентификационной спектральной характеристикой пигментов, в том числе и меланинов, являются ИК- спектры. Общий вид ИК- спектра пигмента *L. edodes* типичен для меланинов: в нём присутствует интенсивная полоса (максимум) поглощения в области 3400  $cm^{-1}$ , обусловленная валентными колебаниями OH- и =NH- групп; полосы в следующих областях: 3100-3000  $cm^{-1}$  соответствуют СН- группам ароматических соединений и полифенольным гидроксилам; широкая полоса поглощения 3050-2500  $cm^{-1}$  показывает наличие карбоксильных групп, димерно связанных водородной

связью, полосы поглощения  $1400\text{ см}^{-1}$  свидетельствуют о присутствии амидных и аминных групп, а  $1250\text{--}1200\text{ см}^{-1}$  – С-О- кислотных, сложноэфирных и фенольных групп.

Полученные результаты дали основание утверждать, что тёмно-коричневый пигмент, образуемый грибом *L. edodes*, является меланином.

Функциональные группы в исследуемом меланине представлены следующим образом (% от массы пигмента): метоксильные – 0,56, общие гидроксильные – 10,0, в т. ч. алифатические – 5,38, фенольные – 4,62, карбонильные – 3,1, карбоксильные – 2,97.

Для подтверждения пирокатехиновой природы меланинового пигмента *L. edodes* было проведено ингибирование биосинтеза меланина и изучение его предшественников. Блокатором меланиногенеза для гриба *L. edodes*, также как и для грибов *I. obliquus* и *Phellinus robustus* (Бабицкая, Щерба, 2002), оказалась койевая кислота (0,1%).

В ацетоновом экстракте *L. edodes* без добавления ингибитора обнаружено 6 соединений. Одно из них с  $R_f 0,46$  соответствовало значению хроматографической подвижности п-оксибензойной кислоты. УФ-спектр выделенного соединения был идентичен со спектром химически чистой п-оксибензойной кислоты. В ацетоновом экстракте, полученном после выращивания гриба с добавлением койевой кислоты, п-оксибензойная кислота отсутствовала. По данным литературы (Fogarty, Tobin, 1996), высшие базидиальные грибы могут синтезировать меланин из  $\gamma$ -глутаминил-3,4-дигидроксибензальдегида (ГГБ), используя при этом тирозин или диоксифенилаланин. Наряду с этим ароматические соединения могут образовываться и при циклизации различных сахаров. Такие преобразования происходят по схеме: глюкоза  $\rightarrow$  дифосфорный эфир седогептулезы  $\rightarrow$  шикимовая кислота  $\rightarrow$  п-оксибензойная кислота с последующим образованием различных хинонов и меланина. Следовательно, ГГБ и п-оксибензойная кислота являются продуктами шикиматного пути. В связи с этим наличие п-оксибензойной кислоты в контроле и отсутствие таковой в опыте позволяет предположить, что койевая кислота ингибирует один из этапов шикиматного пути. Образование меланина у *L. edodes* происходит, видимо, по шикиматному пути, промежуточным продуктом которого является п-оксибензойная кислота.

Полученные данные подтверждаются результатами исследований продуктов щелочного плавления препарата. Основным продуктом оказалась протокатеховая кислота (соединение в той же системе растворителей с  $R_f = 0,23$ ).

На основании полученных результатов можно утверждать, что пигмент, синтезируемый грибом *L. edodes*, также как и пигменты других базидиальных грибов, относится к пирокатехиновому типу.

Присутствие в мицелии рейши и шиитаке высокомолекулярного пигмента – меланина наряду с другими физиологически активными соединениями обеспечивает более высокую биологическую активность грибов.

Доказано, что в условиях *in vitro* экстракты исследуемых грибов стимулируют фагоцитарную активность нейтрофилов, обладают высокой антиоксидантной активностью (до 95% по отношению к ионулу), в условиях *in vivo* обладают высоким иммуностропным и гепатопротекторным действием.

Работа выполнена при финансовой поддержке БРФФИ-РФФИ (проект №Б06Р-059).

## ОЦЕНКА АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ ГРИБОВ *CANDIDA ALBICANS* НА ПОВЕРХНОСТИ ВАГИНАЛЬНЫХ ЭПИТЕЛИОЦИТОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВАГИНАЛЬНОГО СЕКРЕТА

*Свиридов М.А., Долгушин И.И., Подлубная Л.В.*  
Челябинская государственная медицинская академия  
ГКБ №4, Челябинск

Кандидоз слизистых – наиболее распространённая форма заболеваний человека, вызываемых дрожжеподобными грибами рода *Candida*. В последние годы прослеживается чёткая тенденция к росту числа инфекционных заболеваний нижнего отдела гениталий, в частности кандидозной этиологии. Как у нас в стране, так и во многих странах мира кандидозный вульвовагинит прочно занимает одно из ведущих мест в структуре акушерско-гинекологической патологии. Вагинальный кандидоз составляет около 20-25% случаев вагинита, при этом основным патогеном является *Candida albicans* (75-90% случаев). Повысился интерес исследователей к эпителию слизистых оболочек, изучению взаимоотношений между эпителиоцитами и такими патогенами как кандиды, поскольку кандидоз является результатом нарушения баланса между механизмами клиренса в системе мукозального эпителия и условиями, обеспечивающими активное размножение и персистенцию грибов на слизистых оболочках. Первым и обязательным этапом развития кандидоза является адгезия *Candida albicans* на вагинальных эпителиоцитах. Однако до настоящего времени остаются не до конца изученными механизмы взаимодействия кандид с вагинальными эпителиоцитами.

Целью настоящего исследования явилась оценка адгезивной активности грибов *Candida albicans* на поверхности вагинальных эпителиоцитов под воздействием вагинального секрета.

Материалом для данной работы послужил штамм 601 *Candida albicans*. Грибы выращивали на агаре Сабуро (НПО «Питательные среды», Махачкала). Обследованы 22 здоровые женщины в 1 фазе менструального цикла, у которых забирали вагинальный эпителий с боковых стенок влагалища в пробирку с 5 мл раствора Хенкса и вагинальный секрет 0,2 мл в пробирку с 1,8 мл физиологического раствора хлорида натрия.

Влияние вагинального секрета на *Candida albicans* и вагинальные эпителиоциты изучали путём смешивания осадка суточной культуры *Candida albicans* ( $10^7$  клеток) или 0,5 мл взвеси вагинальных эпителиоцитов ( $10^6$  клеток/мл) с 0,5 мл вагинального секрета. Смесь инкубировали 30 мин при  $37^\circ\text{C}$ . В контроле вместо секрета использовали забуференный физиологический раствор. После отмывания десятикратным объёмом кандиды доводили до концентрации  $10^7$  клеток/мл, а эпителий до  $10^6$  клеток/мл и использовали для изучения адгезивных реакций с вагинальными клетками. Для удаления антител секрет истощали микробной взвесью в течение 30 мин при  $4^\circ\text{C}$ . Минимальная истощающая концентрация кандид была 109 клеток на 0,5 мл вагинального секрета. Истощённый вагинальный секрет использовали для изучения его влияния на адгезию.

Для определения адгезивной активности брали 0,5 мл взвеси *Candida albicans* ( $10^7$  клеток/мл) и вносили в пробирку с 0,5 мл взвеси вагинальных эпителиоцитов ( $10^6$  клеток/мл). Проводили 3 опыта:

1. *Candida albicans*, обработанные секретом/истощённым секретом + интактные эпителиоциты.
2. Эпителиоциты, обработанные секретом/истощённым секретом + интактные *Candida albicans*.
3. *Candida albicans*, обработанные секретом/истощённым секретом + эпителиоциты, обработанные секретом/истощённым секретом.
4. Интактные эпителиоциты + интактные *Candida albicans* – для контроля.

Каждую из перечисленных выше смесей инкубировали в течение 30 минут при температуре  $37^\circ\text{C}$ . После центрифугирования (1500 об/мин), готовили мазки, которые высушивали, фиксировали 96% этиловым спиртом, окрашивали спиртовым раствором генцианвиолета и исследовали с помощью световой микроскопии (объектив х90).

Результаты оценивали по трём показателям:

1. Активность адгезии (АА) – количество вагинальных эпителиоцитов с адгезированными кандидами из 100 посчитанных эпителиоцитов.
2. Интенсивность адгезии (ИА) – количество кандид, адгезированных на 100 вагинальных эпителиоцитах.
3. Адгезивное число (АЧ) – количество адгезированных кандид на одной эпителиальной клетке.

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии достоверного ( $p > 0,05$ ) изменения адгезивных характеристик вагинального эпителия, обработанного как нативным, так и истощённым вагинальным секретом. При воздействии на кандиды нативным и истощённым вагинальным секретом происходит достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение всех показателей адгезии. При совместной инкубации обработанных кандид и эпителия нативным вагинальным секретом имеет место достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение АА, ИА и АЧ. Истощённый секрет на адгезивные характеристики достоверного ( $p > 0,05$ ) влияния не оказывает.

Таким образом, можно предположить, что вагинальный секрет, оказывая антиадгезивный эффект, влияет только на кандиды, и тем самым препятствует их прикреплению и активному размножению на слизистой влагалища.

## СРАВНЕНИЕ АДГЕЗИВНОЙ АКТИВНОСТИ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ *CANDIDA ALBICANS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВЛАГАЛИЩА БОЛЬНЫХ ВУЛЬВОВАГИНАЛЬНЫМ КАНДИДОЗОМ И ЗДОРОВЫХ ЖЕНЩИН, С ПЕРСИСТЕНТНЫМИ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ ЭТИХ ШТАММОВ

*Свиридов М.А., Долгушин И.И., Плаксина Л.В.,  
Подлубная Л.В., Нечет В.А., Карташова О.Л.*  
Челябинская государственная медицинская академия  
ГКБ №2  
ГКБ №4  
ГКБ №7  
Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза  
ОНЦ УрО РАН, Оренбург

Дрожжеподобные грибы рода *Candida* являются ведущими причинными факторами развития заболеваний грибковой этиологии, в том числе гениталий – вульвовагинального кандидоза. Основным патогеном последнего служит *Candida albicans*. Первым и обязательным этапом развития кандидоза является адгезия *Candida albicans* на вагинальных эпителиоцитах. Однако до настоящего времени остаются не до конца изученными механизмы взаимодействия кандид с вагинальными эпителиоцитами.

Целью настоящего исследования явилось сравнение адгезивной активности различных штаммов *Candida albicans*, выделенных из влагалища больных вульвовагинальным кандидозом и здоровых женщин, с персистентными характеристиками этих штаммов.

Материалом для данной работы послужили 9 штаммов *Candida albicans*, выделенные из влагалища пациенток с клиническими признаками вагинального кандидоза (титр  $10^6$ - $10^7$  КОЕ/мл) и столько же штаммов от здоровых носителей (титр  $10^2$  КОЕ/мл). грибы выращивали на агаре Сабуро (НПО «Питательные среды», Махачкала).

Антилизоцимную активность (АЛА) *Candida albicans* определяли фотометрическим методом, антикомплементарную (АКА) – кинетическим (Бухарин О.В., 1999),

антилактоферриновую активность (АЛФА) – иммуноферментным анализом (Валышева И.В. и др. 2003).

Для определения адгезивной активности 0,5 мл взвеси суточной культуры *Candida albicans* ( $10^7$  клеток/мл) различных штаммов вносили в пробирку с 0,5

мл взвеси вагинальных эпителиоцитов ( $10^6$  клеток/мл), инкубировали в течение 30 минут при температуре 37°C. После центрифугирования (1500 об/мин), готовили мазки, которые высушивали, фиксировали 96° этиловым спиртом, окрашивали спиртовым раствором генцианвиолета и исследовали с помощью световой микроскопии (объектив x90).

Результаты оценивали по трём показателям:

1. Активность адгезии – количество вагинальных эпителиоцитов с адгезированными кандидами из 100 посчитанных эпителиоцитов.

2. Интенсивность адгезии – количество кандид, адгезированных на 100 вагинальных эпителиоцитах.

3. Адгезивное число – количество адгезированных кандид на одной эпителиальной клетке.

Нами обследованы 28 здоровых женщин в 1 фазе менструального цикла, у которых забирали вагинальный эпителий с боковых стенок влагалища в пробирку с 5 мл раствора Хенкса.

Полученные данные свидетельствуют о достоверном ( $p < 0,025$ ) снижении АЛА и повышении АЛФА у штаммов *Candida albicans*, выделенных из влагалища больных вульвовагинальным кандидозом, по сравнению со штаммами *Candida albicans*, выделенными из влагалища здоровых женщин. Показатели АКА повышались, не имея достоверных отличий.

Активность адгезии и интенсивность адгезии штаммов *Candida albicans*, выделенных из влагалища больных вульвовагинальным кандидозом женщин, были достоверно выше ( $p < 0,025$ ) показателей адгезии штаммов *Candida albicans*, выделенных у здоровых.

Таким образом, штаммы *Candida albicans*, выделенные из влагалища больных вульвовагинальным кандидозом женщин, обладают большей агрессивностью по отношению к вагинальным эпителиоцитам и отличаются способностью инактивировать лактоферрин. Штаммы здоровых носителей способны инактивировать лизоцим.

## **АДАПТАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА ЛИГНИНРАЗЛАГАЮЩЕГО КОМПЛЕКСА МИКРОМИЦЕТОВ, АКТИНОМИЦЕТОВ И БАКТЕРИЙ**

**Свиридова О.В.<sup>1</sup>, Воробьев Н.И.<sup>1</sup>, Петров В.Б.<sup>2</sup>, Ковалева Н.М.<sup>2</sup>**  
*1 ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии*  
*2 Санкт Петербургский государственный университет*  
*Санкт Петербург*

Исследования процессов разложения лигноцеллюлозных субстратов микроорганизмами в естественной среде обитания может пролить свет на особенности их структурной адаптации и межорганизменного сигналинга. Это позволит прогнозировать их поведение не только в почве, но и в иных

ситуациях (на кожных покровах человека и животных, в кишечнике животных и т.п.). Изучение этих процессов особенно актуально в настоящее время, так как появление новых технологий, затрагивающих генотип биотических компонентов экосистем, может необратимо изменить энергетический баланс и привести к снижению адаптационного потенциала экосистем в целом. В настоящее время к числу наиболее заметных негативных экологических явлений следует отнести: снижение плодородия почв, снижение разнообразия биотических компонентов экосистем и увеличение числа патогенных видов микромицетов и бактерий.

Разложение лигноцеллюлозных органических субстратов (соломы зерновых культур, древесных опилок и коры хвойных деревьев) в естественных условиях осуществляется путем объединения микромицетов, актиномицетов и бактерий в специальные комплексы. Каждая группа микроорганизмов в этом комплексе выполняет определенную трансформационную функцию. В результате образуются устойчивые трофические цепи между микроорганизмами лигнинразлагающего комплекса. Продукты метаболизма, которые получают на одних участках трофической цепи, могут использоваться микроорганизмами, расположенными на других участках цепи. Таким образом, структура трофических цепей, как правило, представляет собой сложную разветвленную цепь с обратными связями.

Трофические цепи микроорганизмов формируются в результате межорганизменного сигналинга. При изменении внешних условий микроорганизмы перестраиваются, выбирая наиболее оптимальную схему трансформации, как исходных органических субстратов, так и образующихся токсических веществ. В ряде случаев микроорганизмы могут индуцировать даже аутолизис клеток, то есть задействовать агрессивный сигналинг по отношению к живым объектам деструкции. Изучение структуры трофических цепей микробных комплексов и сопровождающего эти процессы межорганизменного сигналинга является чрезвычайно важной задачей, так как дает представления о причинах образования этих комплексов, а также, о факторах, препятствующих организующему сигналингу. В большинстве случаев один и тот же комплекс микроорганизмов может образовывать разные по структуре трофические цепи в зависимости от внешних условий. При этом основная деструктивная функция комплекса может оставаться неизменной. Это означает, что комплекс микроорганизмов обладает более высокими адаптационными свойствами, чем отдельные его компоненты.

Растительный опад является обычным возобновляемым органическим ресурсом для почвенных микроорганизмов. Лигноцеллюлоза является основным компонентом этого органического субстрата и играет важную роль в образовании гумуса в почве. Известно, что разложение лигноцеллюлозы осуществляется в первую очередь мицелиальными организмами (грибами и актиномицетами) по трем трофическим путям: 1 – целлюлозолитический (целлюлазы – целлодекстрины – олигосахариды), 2- лигнолитический (лигниназы, оксидазы – фенолы) и 3 – миколитический – вторичная биомасса

грибов (хитиназы – N – глюкозамин). Характерные виды микромицетов, которые участвуют в этих процессах, являются следующие: *Alternaria*, *Cladosporium* «*Mycelia sterilia*», *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*.

Математическая обработка данных экспериментов с использованием оригинальных компьютерных программ (Воробьев Н.И., Свиридова О.В., Кутузова Р.С., «Методические указания ...», 2006) и расширенного ГРАФ-анализа, позволили получить информацию о структуре трофических цепей специального лигнинразлагающего комплекса микромицетов и бактерий (биогумификатор БАРКОН). Биодеструктор БАРКОН содержит комплекс лигнинразлагающих грибов (родов *Penicillium*, *Trichoderma* и *Aspergillus*) и бактерий (родов *Pseudomonas*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Cellulomonas* и др.), настроенных на деструкцию древесных опилок и коры хвойных деревьев. Мицелиальные грибы этого комплекса зарегистрированы в коллекции ГНУ ВНИИСХМ и вошли в «Каталог культур микроорганизмов» (С.-Петербург, ГНУ ВНИИСХМ, 2005). Полученная этим анализом информация о потоках синтеза и деструкции гумусовых веществ обосновала системные принципы управления процессами биогумификации лигнинсодержащих субстратов. Было показано, что наиболее эффективно управлять комплексом микроорганизмов вначале в лабораторных условиях, создав им все необходимые условия для деструктивной деятельности. Только после этого, сформировавшийся комплекс действующих микроорганизмов вместе с органическим субстратом следует помещать в естественную среду (в нашем случае, почву), где в результате межорганизменного сигналинга происходит консолидация почвенной микрофлоры вокруг заданной нами, гумусообразующей функции.

Испытания биогумификатора БАРКОН по данной схеме показали, что образующиеся субстраты не содержали фитопатогенных грибов, и подавляли их развитие в почве (*Fusarium oxysporum* Schlechtendahl emend. Snyder et Hansen.). При этом устранялось токсическое действие древесных отходов и образовывались необходимые вещества гумусовых форм. Внесение в почву полученного биокомпоста стимулировало развитие озимой ржи, овса (на 8-15% относительно контроля), и рост саженцев сосны и ели. Использование этих биогумификаторов способствовало образованию и закреплению новообразованных гумусовых веществ в почве и обладало эффектом последействия. Через год после их внесения было обнаружено повышение содержания гумусовых веществ в выработанной почве до первоначального состояния.

Таким образом, исследования лигнинразлагающего комплекса микромицетов, актиномицетов и бактерий при гумификации органических субстратов демонстрируют важную роль информационных взаимодействий микроорганизмов, как на этапе образования трофических трансформационных цепей, так и на этапе перестройки этих цепей при изменении внешних условий (температура, влажность, кислотность, загрязняющие агенты, ксенобиотики). Учитывая то, что структура возникающих трофических

цепей может быть сложной разветвленной формы с обратными связями, для их исследований должны привлекаться новые системные приемы анализа (например, разработанный авторами ГРАФ-анализ). Результаты этих исследований могут быть использованы для разработки принципиально новых методов лечения микозов у человека и животных.

## ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АДАПТИВНЫХ СВОЙСТВ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*

**Тимохина Т.Х.<sup>1</sup>, Николенко М.В.<sup>1</sup>, Варницына В.В.<sup>1</sup>,  
Курлович Н.А.<sup>1</sup>, Перунова Н.Б.<sup>2</sup>, Паромова Я.И.<sup>1</sup>**

*1 Тюменская государственная медицинская академия, Тюмень*

*2 Институт клеточного и внутриклеточного симбиоза  
УрО РАН, Оренбург*

По данным ВОЗ, пятая часть населения Земли страдает различными формами кандидоза. Окончательно не выяснено, является ли причиной кандидоза исключительно ослабление защитных сил макроорганизма или специфические свойства отдельных штаммов грибов. Механизмы длительного персистирования грибов в организме хозяина изучены недостаточно.

При решении медико-биологических проблем широко привлекается информация о ритмичности биологических процессов. На наш взгляд, представляется актуальным исследование хронобиологических особенностей физиологии различных представителей грибов рода *Candida*, как маркеров патогенности и возможной принадлежности их к внутрибольничным вариантам.

Цель исследования – изучить суточную динамику пролиферативной активности грибов рода *Candida* эталонных вариантов и штаммов, выделенных из клинического материала.

Материалы и методы. Материалом для исследования служили эталонные штаммы *C. albicans* 24433 ATCC, *C. krusei* 105, а также штаммы, выделенные из клинического материала пациентов с иммунодефицитными состояниями: *C. albicans* 463, 203 и *C. krusei* 22. Суточная динамика пролиферативной активности определялась по оригинальной методике, предложенной авторами (Патент на изобретение № 2285258 от 10 октября 2006 г. «Способ диагностики госпитальных штаммов»). В опытах использовали культуры с 24-х часовой инкубацией в термостате при 37°C. Посевы делали в течение 2-х суток с 4-х часовым интервалом. Результаты статистически обработаны.

Результаты. У эталонных штаммов отмечался одинаково четкий профиль ритма, как в первые, так и во вторые сутки исследований с максимальными значениями в 12.00 часов. У *C. albicans* 24433 выявлен достоверно одинаковый вклад ультрадианного и циркадианного ритмов, у *C. krusei* 105 преобладал циркадианный ритм над ультрадианным.

У штаммов, выделенных из клинического материала, профиль ритма отличался от музейных. Максимум пролиферации смещался на вечерне – ночное время в первые сутки исследования. Анализ спектрального состава ритмов показал, что у штаммов *C. albicans* и *C. krusei*, выделенных из клинического материала выявлялся циркадианный ритм. Мезор и амплитуда статистически значимых изменений не давали.

**Обсуждение.** Выявление особенностей суточной динамики пролиферативной активности предполагают новый подход к изучению адаптивных возможностей грибов *Candida spp.* У микроорганизмов, выделенных из клинического материала, преобладающим является циркадианный ритм. Изменение профиля ритма у микроорганизмов, выделенных из клинического материала, позволяет предположить влияние на него ритмов – регуляторов макроорганизма или микробов – ассоциантов.

**Выводы:** различия суточной динамики пролиферативной активности могут служить критерием для идентификации грибов рода *Candida* и повысить эффективность ранней диагностики. Полученные данные необходимо проверить в микробных ассоциациях, что позволит детально прогнозировать исход колонизации *Candida spp.* при иммунодефицитных состояниях пациента.

## ФИТОТОКСИЧЕСКИЙ И ГЕРБИЦИДНЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ASPERGILLUS PARVULUS

**Цыганенко Е.С.**

*Институт микробиологии и вирусологии  
им. Д.К. Заболотного НАН Украины  
Киев*

Фитотоксические свойства представителей рода *Aspergillus* широко изучены и описаны для *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, *A. sulfureus*, *A. niger*, *A. sclerotiorum*. Известно также, что значительное число видов этого рода остается не исследованным. К таким видам, в частности, принадлежит и *A. parvulus*.

Ранее нами было установлено, что исследованные штаммы *A. parvulus* проявляют антибиотические свойства в отношении ряда тест-организмов. Среди них оказались штаммы как с широким спектром антибиотической активности, так и штаммы с узким спектром. Интересную группу составляли штаммы с избирательной активностью только к одному из тест-организмов.

Целью данной работы было изучение фитотоксических, в том числе гербицидных, свойств штаммов *A. parvulus* в отношении широкого набора семян культурных растений и сорняков.

Объектами исследования были 20 штаммов *A. parvulus*, выделенных из радиоактивной почвы и лесной подстилки зоны отчуждения Чернобыль-

ской АЭС. Штаммы культивировали в стационарных условиях в колбах Эрленмейера объемом 500 мл при 26°C в течение 12 суток на среде Чапека. Плотность засева составляла  $1 \times 10^8$  кл/мл.

Фитотоксическую активность исследуемых штаммов *A. parvulus* определяли методом биопробы на хлорелле, где в качестве тест-культур использовали зеленые водоросли рода *Chlorella*, а гербицидную активность – методом биопробы на семенах растений.

Установлено, что все исследуемые штаммы проявляют разной степени фитотоксическую активность. 10 штаммов вызывали задержку роста подавляющего большинства исследуемых зеленых водорослей, что может характеризовать их высокую фитотоксическую активность. Остальные штаммы проявляли незначительную фитотоксическую активность и были активными лишь в отношении некоторых тест-культур.

Гербицидная активность была изучена у штаммов *A. parvulus* 3142 и 1813. Культуральные фильтраты *A. parvulus* 3142 полностью ингибировали прорастание таких сорняков как мышей зеленый (*Setaria viridis*) и на 27 % прорастание семян амаранта обыкновенного (*Amaranthus retroflexus*), а также подавляли прорастание семян гороха посевного – на 25 % и огурца посевного – на 27 %. В то же время, культуральные фильтраты *A. parvulus* 1813 ингибировали на 27 % прорастание семян мышия зеленого и не оказывали влияния на прорастание семян таких сельскохозяйственных растений, как капуста полевая, горох посевной, редька белая и др.

Таким образом, полученные данные могут свидетельствовать о перспективности исследований физиологических особенностей штаммов *A. parvulus*. Выявленные антибиотическая, фитотоксическая и гербицидная активности характеризуют этот вид как перспективный для выделения биологически активных метаболитов с полезными свойствами для нужд медицины, ветеринарии и сельского хозяйства.

## **Глава 2**

---

# **ГРИБЫ В СОВРЕМЕННОМ ОКРУЖЕНИИ ЧЕЛОВЕКА**

## **МИКОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ**

## ВИДОВОЙ СОСТАВ МИКОБИОТЫ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ, ОБЪЕКТОВ РАЗЛИЧНОГО НАЗНАЧЕНИЯ И НЕГАТИВНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ, ВЫЗЫВАЕМЫЕ ИМИ

Абрамян Дж.Г., Нанагюлян С.Г.,  
Элюян И.М., Шахазизян И.В., Оганесян Е.Х.  
Ереванский государственный университет  
Армения

Колонизация различных материалов и деструктивная деятельность микроскопических почвенных грибов реализуется при наличии биоповреждающей ситуации. Благоприятные условия для их роста и развития создались в ряде жилых помещений и объектов различного назначения в условиях Армении, вследствие аварий водопроводов, нарушений отопительной системы, протечки кровли, недостаточно прочных внешних стен помещений, где высокая влажность, являющаяся стимулирующим фактором, способствует расширению ареала агрессивных популяций микодеструкторов.

Микологические обследования были проведены нами в помещениях, где сообщества различных видов грибов колонизировали потолки, стены, что естественно привело к заплеснению воздуха и явилось причиной болезни (симптомы бронхиальной астмы и аллергические явления), проживающих или по долгу службы пребывающих в подобных условиях людей. Результаты микологических анализов показали, что доминирующими контаминантами потолков и стен разных по назначению помещений являются виды родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Stemphylium*. Реже встречаются виды родов *Acremonium*, *Geotrichum*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Scopulariopsis*, *Rhizopus*, *Stachybotrys*, *Mucor*, *Pycnostysanus*, *Phialophora*, *Phoma*, *Sclerotium*.

На стенах и потолках обнаружена деструктивная деятельность не отдельных видов, а сообществ грибов, причем на идентичных материалах в различных помещениях ряд видов и сочетание компонентов весьма сходны. Так, на обоях разных жилых помещений было обнаружено сообщество *Aspergillus niger* и *A. flavus*, чреватое негативными последствиями для здоровья окружающих людей. На обоях часто адаптировались многокомпонентные сообщества грибов: *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*; *Aspergillus awamori*, *Penicillium viridicatum*, *Helminthosporium sp.*; *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Stemphylium botryosum* и др. Изредка выявлялись колонии *Stachybotrys chartarum*.

Соскобы со стен комнат выявили сочетания видов *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*, *P. viridicatum*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium linicola*; *Alternaria alternata*, *Cladosporium herbarum*, *Aspergillus niger*, *Penicillium crustosum* и др. В ванной на стенах, покрытых масляной краской, обнару-

жены виды *Aspergillus niger*, *Cladosporium herbarum*, *Phoma betae*, *Fusarium oxysporum*. В мастерской, где скорняки занимались обработкой меховых изделий, на стенах обнаружен интенсивный рост *Aspergillus niger*, *Sclerotium rolfii*, *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium*, *P. viridicatum*, *P. urticae*, *Mucor jansseni*. Соскобы со стен в парикмахерских выявили виды *Penicillium adametzioides*, *Fusarium moniliforme*, *Alternaria alternata*, *Stemphylium botryosum*, *Aspergillus flavus*; *Stemphylium botryosum*, *Aspergillus candidus*, *Penicillium crustosum*, *Fusarium gibbosum*, *Phoma betae*. Интенсивное об-растание плесневыми грибами обнаружено на стенах гаража. Отсюда были выделены *Geotrichum candidum*, *Cephalosporium humicola*, *Pyclostysanus resinae*, *Penicillium crustosum*, *Aspergillus niger*, *Scopulariopsis brevicaulis*.

Обилие диаспор различных видов грибов обнаружено в воздухе различных помещений. Заспорение воздуха было вызвано преимущественно видами *Aspergillus niger*, *A. candidus*, *A. ochraceus*, *Penicillium crustosum*, *Fusarium gibbosum*, *Trichoderma polysporum*, *Cladosporium brevi-compactum*. В настоящее время нет каких-либо общепринятых нормативов содержания грибов в воздушной среде жилых помещений, что справедливо, поскольку любое изменение влажности и температуры может стимулировать или ингибировать их распространение.

Неблагоприятная экологическая обстановка, ухудшение бытовых условий, высокая инфицированность микроскопическими грибами жилых помещений и объектов различного назначения привели к резкому возрастанию микотических заболеваний.

Так, планомерно проводимое микологическое обследование пациентов отделения оториноларингологии некоторых клинических больниц города Еревана выявило, что основными возбудителями грибковых заболеваний ЛОР-органов являются представители родов *Candida*, *Geotrichum*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Monilia*, *Mucor*.

Микологические анализы показали, что весьма часто поражение ЛОР-органов вызывали сообщества разных видов грибов. Микологические болезни, как правило, развиваются при хронических заболеваниях, ослабляющих защитные силы организма. Многокомпонентное сообщество микромицетов вызвало сильно выраженный отомикоз у больной с сахарным диабетом. Возбудителями отомикоза явились виды *Aspergillus niger*, *Penicillium verrucosum* var. *cyclopium* и *Alternaria alternata*. У другого пациента обнаружено сообщество *Aspergillus niger* и *Alternaria alternata*. Патологический процесс вызвало также сочетание *Alternaria alternata* и *Monilia sitophila*. Следует отметить, что основным возбудителем является высокоактивный вид *Aspergillus niger*, легко адаптирующий на всевозможных субстратах и весьма часто обнаруживаемый без сопутствующих компонентов.

## ГДЕ ПОРОГ ТОЛЕРАНТНОСТИ К МИКОТИЧЕСКОЙ КОНТАМИНАЦИИ ПОМЕЩЕНИЙ?

*Антонов В.Б.*

*НИИ медицинской микологии  
им. П.Н.Кашикина ГОУ ДПО СПб МАПО Росздрава  
Санкт-Петербург*

Человек рождается и живет в экосистеме, неперемнная составная часть которой – мицелиальные микромицеты. В концентрациях, свойственных природным условиям, плесневые грибы не вызывают заболевания у людей с интактной иммунной системой. В то же время, в антропогенных очагах микотической контаминации воздуха спорами грибов возможно развитие микозов и микогенной аллергии. Так, при микотическом загрязнении воздуха палат, в которых сконцентрированы больные с иммунной недостаточностью, у них вероятно возникновение острых инвазивных микозов, чаще других – острый аспергиллёз легких с тяжелым течением и летальным исходом. У здоровых жителей квартир, загрязненных мицелиальными грибами, развиваются аллергические болезни, наиболее тяжелая из них – бронхиальная астма.

Контаминация помещений плесневыми грибами происходит различными путями. Наиболее доказуемый и постоянно действующий путь – образование колоний грибов на стенах, потолках, под плитусами и пр. в результате увлажнения строительных конструкций помещения во время протечек через нарушенную кровлю, потери воды из неисправных водных коммуникаций или подъем грунтовой воды сквозь разрушенную гидроизоляцию от фундамента. Менее контролируемый путь контаминации – попадание в помещения спор грибов с потоками воздуха из вспомогательных помещений: подтопленных подвалов, мусоросборников, расположенных вблизи от зданий, с чердаков и запущенных лестничных пролетов, а также по каналам вентиляции с колоний, выросших на конденсате в самой вентиляционной системе. При «пропитывании» строительных конструкций дома водой, несущей колониобразующие единицы (КОЕ) микроорганизмов, на поверхности перекрытий сначала появляются «высолы» в виде изменения цвета покрытий (обои, краска, мраморная или керамическая плитка). Затем на их фоне вырастают колонии мицелиальных грибов и других биодеструкторов строительных материалов.

По нашим наблюдениям главными условиями клинической реализации сенсибилизации антигенами (АГ) плесневых грибов являются видимые колонии плесени в помещениях и повышенное по сравнению с природными условиями количество КОЕ в воздухе помещений. Ниже приведены зависимости вероятности заболевания от приведенных факторов.

Отсутствие видимых колоний плесени, контаминация воздуха  $<500$  КОЕ/1 м<sup>3</sup> – малая вероятность заболевания – обычные бытовые условия;

Отсутствие колоний, контаминация воздуха  $>500$  – высокая вероятность заболевания – возможна контаминация воздуха из каналов вентиляции;

Видимые колонии + контаминация воздуха  $>500$  – очень высокая вероятность заболевания – типичные условия после протечек;

Видимые колонии + контаминация воздуха  $<500$  – высокая вероятность заболевания; повторить пробу, возможно, она взята после проветривания помещений.

Бронхиальная астма развивается через 9-12 месяцев после протечки при условии перманентного влияния данных условий на человека, то есть у самих жителей квартир, а не у их гостей. Следовательно, главные условия развития аллергического заболевания под влиянием биодеструкторов – воздействие АГ плесневых грибов на надпороговых для человека уровнях содержания КОЕ в воздухе и экспозиция такого влияния, необходимая для формирования специфической сенсибилизации, сопровождающейся типичными клиническими признаками. Это дает основание утверждать, что для заключения о невозможности проживания в помещениях, достаточно одного из двух признаков их загрязнения спорами плесневых грибов (видимые колонии плесени и превышение порогового уровня КОЕ) или их сочетания.

Эпидемический процесс развития микозов у больных реанимационных, гематологических и онкологических отделений имеет свои особенности. Прежде всего, характер заболевания у этих больных – инвазивный микоз – определяется свойственным им вторичным иммунодефицитом. Заболевание развивается в сравнительно короткие сроки, исчисляемые днями. Пути передачи инфекции: воздушный, подобный описанному выше, и контактно-имплантационный: глубокое зондирование сосудов и полостей, использование постоянного интравенозного катетера, применение аппаратов ИВЛ, повторные операции на органах брюшной полости. Диагностика болезни у этих категорий больных всегда оказывается поздней, предпочтительно донологическое предвидение заболевания для принятия профилактических мер: микологический контроль состояния воздуха, выходных участков вентиляции, в том числе микологическое исследование воздушных фильтров, а также предметов ухода, инструментов и аппаратов для диагностики и лечения.

### **Заключение**

Каждое помещение, предназначенное для проживания, отдыха, трудовой деятельности или лечения человека следует рассматривать как вероятный антропогенный очаг спорадических или групповых микотических заболеваний, обусловленных патогенными или условно патогенными микромицетами, входящими в категорию биодеструкторов зданий и других сооружений

Устойчивая контаминация спорами мицелиальных грибов жилых помещений вызывает сенсибилизацию их жителей к АГ мицелиальных грибов и развитие микогенных аллергических заболеваний. Порогом толерантности

человека к мицелиальным микромицетам в жилых помещениях рекомендуется принять уровень контаминации до 500 КОЕ в 1 м<sup>3</sup>.

В целях предупреждения микотических осложнений в группах высокого риска их развития (операционные залы, предоперационные помещения, отделения гематологии, онкологии, родильные и для новорожденных, хирургической реанимации и интенсивной терапии) необходим мониторинг микологический контроль состояния воздуха, покрытия стен и пола, выходов вентиляционной системы, инструментария и аппаратуры для диагностики и лечения больных. При исследовании воздуха в перечисленных помещениях допустимо обнаружение единичных КОЕ грибов в 1 м<sup>3</sup>.

## МИКОБИОТА ДОМАШНЕЙ ПЫЛИ г. СОФИИ (БОЛГАРИЯ)

*Антропова А.Б.<sup>1</sup>, Биланенко Е.Н.<sup>2</sup>, Мокеева В.Л.<sup>2</sup>,  
Чекунова Л.Н.<sup>2</sup>, Желтикова Т.М.<sup>1</sup>*

*1 ГУ НИИ вакцин и сывороток  
им. И.И. Мечникова РАМН*

*2 МГУ, им. М.В. Ломоносова, Биологический факультет,  
Москва*

По данным разных авторов, частота выявления сенсибилизации к плесневым грибам среди больных различными аллергическими заболеваниями может превышать 60% (Migacheva et al., 2000). Экспозиция микогенных аллергенов определяется структурой микобиоты, которая зависит от климатических особенностей, типа почв, видового состава высших растений данного региона, а также социальных факторов (Gravesen, 1972).

Цель работы – изучить микобиоту домашней пыли и выявить таксоны, определяющие экспозицию микогенных аллергенов в жилых помещениях г. Софии.

Было исследовано 40 образцов домашней пыли из 40 жилых помещений г. Софии. Микромицеты выделяли методом разведений (1:1000).

Выделено 66 видов микромицетов, принадлежащих к 17 родам. Численность микромицетов варьировала от  $8,3 \times 10^3$  КОЕ/г до  $1,0 \times 10^6$  КОЕ/г пыли и в среднем составляла  $1,1 \times 10^5$  КОЕ/г пыли. Ядро микобиоты домашней пыли г. Софии формируют представители родов *Penicillium* и *Aspergillus*, встречаемость которых составляет 98 и 95%, а удельное обилие – 45,75 и 15,99% соответственно. К часто встречающимся относятся роды *Cladosporium* (45%) и *Alternaria* (45%). Далее в порядке уменьшения встречаемости следуют *Aureobasidium* (28%), *Phoma* (25%), *Mucor* (20%), *Trichoderma* (18%), *Ulocladium* (13%), *Rhizopus* (13%), *Wallemia* (10%). Частота выявления остальных микромицетов не превышает 8%. К наиболее часто встречающимся видам относятся *Penicillium chrysogenum* (78%), *Aspergillus repens* (75%), *A. niger* (65%), *A. versicolor* (53%), *Alternaria alternata* (45%), *P. cyclopium*

(35%), *P. variabile* (35%), *Cladosporium sphaerospermum* (30%). Высокие показатели встречаемости и обилия таксонов позволяют предположить их значимость в развитии сенсбилизации к микогенным аллергенам в условиях г. Софии.

Полученные данные следует учитывать при дифференциальной диагностике и лечении микогенной сенсбилизации, а также при планировании профилактических и элиминационных мероприятий.

## МОНИТОРИНГ АЭРОТЕХНОГЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ГОРОДСКОЙ СРЕДЫ г. БЛАГОВЕЩЕНСКА

*Березина О.В., Куимова Н.Г.*

*Амурский филиал Ботанического сада-института ДВО РАН  
Институт геологии и природопользования ДВО РАН*

Современные города – это особые экосистемы, существенно отличающиеся от природных зональных ценозов. Городские экосистемы занимают около 1,5% всей площади земного шара, в них сосредоточена значительная часть населения. Интенсивная производственная, хозяйственная и бытовая деятельность человека часто сопровождается нежелательными последствиями – ухудшением состояния окружающей среды и опасным воздействием на здоровье человека.

Город Благовещенск расположен в лесостепной зоне. В период сильных юго-западных ветров (февраль-март), когда скорость ветра достигает более 10 м/сек, со стороны Китая и Монголии приносится огромное количество пыли, выпадающей на территории Амурской области с осадками в виде грязного рыжего снега. Вместе с пылью переносится значительное количество поллютантов (оксиды серы, азота, тяжелые металлы.) , а также микроорганизмы (бактерии, споры грибов). К основным источниками загрязнения в городе относятся ТЭЦ, стационарные предприятия жилищно-коммунального хозяйства и автомобильный транспорт. Благовещенская ТЭЦ выбрасывает в среднем 18,8 тысяч тонн загрязняющих веществ в год, причем выбросы рассеиваются в направлении господствующих ветров с северо-запада на юго-восток (по розе ветров) на жилые кварталы города и тем самым определяют химический состав техногенных потоков загрязнения. Одним из показателей степени ежегодного аэротехногенного загрязнения городской территории может быть оценка химического и микробиологического состава снегового покрова.

Целью выполненных исследований явилось изучение комплекса микроорганизмов и химического состава снегового покрова в городских ландшафтах и сравнение этих показателей с фоновыми (снеговой покров заповедной территории пригорода).

Исследования снегового покрова проводили в наиболее напряженных участках городской территории: кольцевая автомагистраль в 1-ом микро-

районе – две точки отбора  $M_1, M_2$  в 3-5 м от дороги; район ТЭЦ – две точки отбора –  $T_1$  в 50 метрах,  $T_2$  – в 500 м. В качестве объектов исследования были выбраны также места отдыха населения – городской (ПГ) и Первомайский парки (ПП). Для контроля (фоновая территория) выбрана заповедная территория урочища «Мухинка», расположенного в 40 км к северу от города на берегу р. Зeya. На фоновой территории отобраны две пробы: одна – в распадке под сосновым лесом ( $\Phi_1$ ), другая – из снежных наносов у самого берега р. Зeya ( $\Phi_2$ ). Пробы снега отбирали в марте (03.03.06 г.) с площадки 20×20 см на всю глубину снежного покрова (20-30 см), чтобы установить степень химического и микробиологического загрязнения местности через атмосферные выпадения за весь зимний период. Для микробиологических исследований снег отбирали в стерильные стаканы ( $V=1$  л), для химического анализа – в пластмассовые емкости ( $V=10$  л).

Содержание тяжелых металлов в растворимой части и в твердом осадке снега определяли на атомно-абсорбционном спектрофотометре (Hitachi, модель 180-50). Для оценки накопления тяжелых металлов в твердом осадке снега и уровня их содержания использовали геохимические показатели  $K_c$  и  $Z_c$ :

$K_c = C_i \cdot C_{к1}$ , где  $K_c$  – коэффициент концентрации;  $C_i$  – концентрация элемента в твердом осадке снега, отобранного в черте города;  $C_{к1}$  – концентрация элемента в твердом осадке снега, отобранного в фоновом районе (К1) (Перельман, Касимов, 1999).

$Z_c = \sum K_{ci} - (n-1)$ , где  $Z_c$  – показатель суммарного загрязнения, который характеризует превышение уровня элементов в твердом осадке снега, отобранного в черте города над фоном,  $n$  – число определяемых тяжелых металлов [МУ 2.1.7.730-99].

Выделение микроорганизмов производили на средах МПА и Чапека в день отбора образцов из каждого варианта в 3-х кратной повторности. Посевы инкубировали при 22° С 3-7 суток, после чего определяли численность микроорганизмов подсчетом колоний на чашках и выражали в КОЕ (колониеобразующие единицы) в 1 мл талой воды. Для оценки встречаемости микроорганизмов в приземном слое воздуха посев производили методом седиментации, экспонируя открытые чашки Петри в течение 30 мин.

### Результаты и обсуждение

При химическом мониторинге снежного покрова исследованы две фазы: растворенная и минеральная (пыль). Наибольшее индикаторное значение имеет количество и химический состав пыли. По количеству твердого осадка снегового покрова в пределах города можно выделить два локальных участка сильного загрязнения: это район кольцевой автомагистрали (0,30%) и парк Первомайский (0,26%). Пылевое загрязнение снегового покрова на участке автомагистрали ( $M_1, M_2$ ) связано с интенсивным автомобильным движением и состоянием дорог. Большую долю в твердом осадке составляет песок (63,3%), содержание которого в 1,5 раза выше, чем для остальных точек

отбора. При поступлении больших количеств пыли в окружающую среду (цементная, строительная, теплоэнергетика), значительную часть которой составляют карбонаты кальция и магния, наблюдается подщелачивание снеговых вод pH 7,5-8,0, на фоновом участке pH 6,9.

Твердый осадок снега в районе ТЭЦ и второй аномальной точки (Первомайский парк) имеет высокие значения потерь при прокаливании (ППП) – 24,5-29,8 и 18,2% соответственно, что обусловлено неполным сгоранием угля и выбросами в атмосферу ТЭЦ и котельных кондитерской фабрики, нефтебазы, расположенных рядом с парком. Для Первомайского парка установлены также повышенные содержания Ti, Al, Fe, Mn, Ca, Mg.

Изучение микроэлементного состава твердых осадков показало, что максимальные концентрации таких тяжелых металлов, Pb, Cu и Zn характерны для проб, отобранных в местах наибольшего движения автомобильного транспорта. Наибольшее содержание Cr, высокое содержание Cd установлено в районе ТЭЦ. Максимальное содержание Co, Ni, Cd обнаружено в твердом осадке снегового покрова Первомайского парка (ПП), что объясняется соседством нефтебазы и нескольких котельных..

### Микологический анализ

Средняя численность микроскопических грибов в снеговом покрове составила: T( $0,7 \times 10^3$ ), ПП( $0,37 \times 10^3$ ), M( $0,32 \times 10^3$ ), ПГ( $0,30 \times 10^3$ ), Ф( $0,28 \times 10^3$ ). Максимальная численность микромицетов в районе ТЭЦ объясняется, по-видимому, большей адаптивной способностью микроскопических грибов к продуктам неполного сгорания углей, содержащихся в атмосфере и, соответственно, в снеговом покрове.

Для оценки количественного и качественного состава бактерий и микроскопических грибов в приземном слое воздуха проводили 30-минутное экспонирование открытых чашек Петри в местах отбора проб снега. Наибольшее число клеток и спор микроорганизмов в воздушной среде города, как и в снеговом покрове, установлено в Первомайском парке. В состав «воздушного аэропланктона» в парках города в большем количестве входили часто встречающиеся (эвритопные) виды бактерий (*Micrococcus luteus*, *Flavobacterium spp.*, *Bacillus spp.*), тогда как в районе ТЭЦ преобладали многочисленные споры грибов *Aspergillus niger*, который относят к условно патогенным видам.

Характерной особенностью комплекса микромицетов снегового покрова на городской территории является присутствие большого числа стерильных форм грибов. В литературе имеются некоторые данные о доминировании стерильного мицелия в снеговом покрове городской среды (Кулько, Марфенина, 1998).

Исследование состава комплекса микроскопических грибов и подсчет обилия видов в снеговом покрове города показали, что в районе ТЭЦ преобладали представители *p. Aspergillus (A. niger)* – 58% (рис. А). Далее по степени доминирования следуют *Penicillium sp.* (20%). *Mycelia sterilia*

(8%), *Cladosporium sp.*, *Alternaria sp.* отмечены в минорном количестве. Анализ химического состава снега показал присутствие здесь повышенного содержания Cr, Cd.

Рисунок А. Состав микромицетов в снеговом покрове на территории ТЭЦ

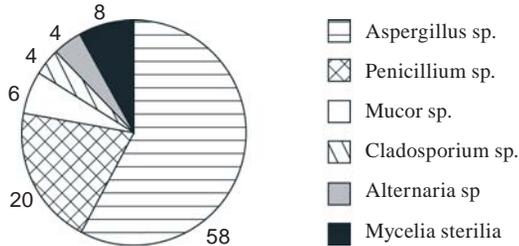
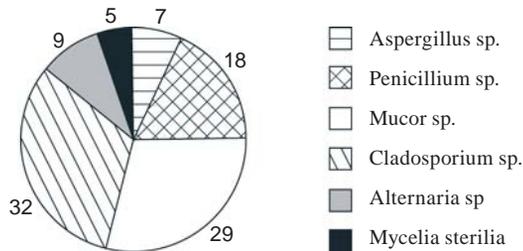


Рисунок Б. Состав микромицетов в снеговом покрове в районе автомагистрали



В районе кольцевой автомагистрали в снеговом покрове преобладали темноокрашенные формы (41%) – *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata* (рис. Б). В данном районе установлено наибольшее аэротехногенное загрязнение такими тяжелыми металлами, как Pb, Zn, Cu. Доминирование темноокрашенных микромицетов в снегу на загрязненных территориях объясняется большей резистентностью этих грибов к ТМ и ультрафиолетовому излучению за счет присутствия у них меланиновых пигментов. Подобная тенденция прослеживалась в элементах городской среды разных климатических зон и дает основание говорить о феномене «индустриального, городского меланизма» (Кулько, Марфенина, 1998). В районе автомагистрали присутствуют *A. niger*, *A. fumigatus*, хотя доля (обилие) в составе комплекса значительно снизилась – до 7%.

В зонах отдыха на городской территории (ПП, ПГ) доминируют представители *pp. Trichoderma sp.*, *Mucor sp.*, однако, встречаются условно патогенные представители *p. Aspergillus*. На фоновой территории с выделены только представители *pp. Penicillium*, *Mucor*, и *Mycelia sterilia*.

Таким образом, в снеговом покрове городских ландшафтов (промышленные районы, зоны отдыха) происходит смена группировок доминирующих и часто встречающихся видов, связанная с разной степенью техногенной нагрузки. Важным аспектом изучения микобиоты городской среды является прогнозы возможного влияния грибов на человека. В городских условиях отмечено присутствие потенциально патогенных видов *p. Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus*), причем обилие этих видов выше на территории, наиболее загрязненной такими тяжелыми металлами, как кадмий, свинец, цинк.

Наибольшая степень микологического загрязнения установлена в районе ТЭЦ и кольцевой автомагистрали. Здесь преобладают представители *p. Aspergillus*, не характерные для фоновой территории. Несмотря на то, что суммарный показатель химического загрязнения ( $Z_c$ ) в г. Благовещенске соответствует низкому уровню опасности загрязнения, присутствие в воздушной среде условно патогенных и токсинообразующих видов вызывает потенциальную угрозу для здоровья городского населения, в связи с чем считаем необходимым проведение микологического мониторинга территорий с повышенными антропогенными нагрузками.

## УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ КАК ПОКАЗАТЕЛИ САНИТАРНОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

*Васильев О.Д.*

*Государственная Медицинская Академия им. И.И. Мечникова  
Санкт Петербург*

Санитарная микология – это компонент санитарной микробиологии, оценивающий риск микологической опасности объектов окружающей среды, связанной с присутствием условно-патогенных грибов и их метаболитов.

Дрожжи, дрожжеподобные и мицелиальные (плесневые) грибы являются природными биодеградантами, основным резервуаром которых является почва, а воздух служит фактором распространения.

Условно-патогенные грибы вызывают аллергию, микотоксикозы и микозы у людей, а также микробную порчу пищевых продуктов, лекарств, косметики, строительных материалов, топлива, книг, музейных экспонатов и др.

В то же время определённые группы условно-патогенных грибов и их метаболиты служат санитарно-показательными микроорганизмами и индикаторами микробиологической опасности/безопасности объектов внешней среды.

**Цель работы:** представить и обсудить основные действующие в России нормативные документы по санитарно-микологическому контролю за объектами окружающей среды.

### Результаты:

1. Санитарно-показательными грибами внешней среды и микроорганизмами порчи пищевых продуктов считают суммарное количество плесневых грибов любых родов, и (или) суммарное количество дрожжей и дрожжеподобных грибов. Определение этих групп микроорганизмов производят путём высева материала на соответствующие питательные среды: (среду Сабуро, сусло-агар, среду Чапека, среду Релена, среду с метабисульфитом) с последующим подсчётом числа выросших колоний, их индикации и пересчёта на единицу измеряемого объекта ( $1\text{ м}^3$ , 1 гр,  $100\text{ см}^2$ ).

Помимо живых грибных клеток, показателями присутствия грибов в окружающей среде служат  $\beta$ -глюканы и эргостерол (для воздуха), а также микотоксины (для пищевых продуктов). Определение метаболитов требует применение физико-химических методов различной сложности.

2. Санитарно-микологический контроль пищевых продуктов и напитков детально изложен в СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов». В нем указан перечень продуктов, описаны методы выявления и приведены микробиологические ПДК для плесневых грибов (от<sup>5</sup> до 500 КОЕ/1 гр/мл), дрожжей (от 5 до 100 КОЕ/1 гр/мл).

Особые требования предъявляются к микробиологической безопасности (промышленной стерильности) консервов: для групп А и Б – полное отсутствие грибов, для группы Е плесневых грибов не более 50 КОЕ/см<sup>3</sup>, дрожжи не допускается в 1г/см<sup>3</sup> продукта.

Что касается микотоксинов, то афлатоксин В-1, дезоксиниваленол, зеараленон, Т-2 токсин и патулин нормируются в пищевых продуктах растительного происхождения, афлатоксин М1 – в молоке и молочных продуктах. Приоритетными загрязнителями являются: для зерновых продуктов – дезоксиниваленол, для орехов и семян масличных – афлатоксин В1, для продуктов переработки фруктов и овощей – патулин.

3. Детально разработаны нормативы и методы оценки наличия и количества грибов в готовых лекарственных формах: не более  $10^2$  аэробных бактерий и грибов в 1 г (1 мл) для нестерильных лекарственных препаратов. В субстанциях и вспомогательных веществах, используемых при производстве лекарственных препаратов общее число грибов не более  $10^2$  в 1 г (1 мл) («Микробиологическая чистота субстанций и вспомогательных веществ, используемых при производстве лекарственных препаратов», «Микробиологическая чистота готовых лекарств» изм. №3 Гос. фармакопеи, 2003 г.). По приказу № 309 «Требования к микробиологической чистоте готовых лекарственных средств» для детских лекарственных средств (от 0 до 1 года) норматив не более 50 бактерий и грибов суммарно в 1 г (1 мл) препарата.

Существует СанПин № 1.2.676-97 «Микробиологические требования к качеству средств гигиены полости рта» (от 0 до  $10^2$  плесневых грибов и грибов рода *Candida*) и СанПин № 1.2.681-97 «Микробиологические пока-

затели безопасности парфюмерно-косметической продукции» (от 0 до  $10^2$  1 гр/1мл плесневых грибов, дрожжей и дрожжеподобных грибов).

4. В 2006 г. созданы нормативные документы по защите строительных сооружений от биодеградации, связанной с воздействием плесневых грибов («Защита строительных конструкций, зданий и сооружений от агрессивных химических и биологических воздействий окружающей среды» РВСН 20-01-2006, Санкт-Петербург (ТСН 20-303-2006 Санкт-Петербург)). В этом документе описаны «Методы проведения микологического анализа» строительных материалов, а также «Методика определения биостойкости строительных материалов». Приведён видовой состав основных микробно-одеструктов в Санкт Петербурге.

5. Воздух является наиболее сложной средой для микологической оценки, учитывая постоянные изменения его микобиоты, разнообразие методов взятия проб, отсутствие единой стандартной методики выделения различных групп грибов. В России действуют нормативные документы по следующим объектам: ЛПУ («Допустимые уровни бактериальной обсемененности воздушной среды помещений лечебных учреждений в зависимости от их функционального назначения и класса чистоты» СанПин 2.1.3.1375-03) (отсутствие плесневых и дрожжевых грибов в  $1 \text{ м}^3$  воздухе), Микробиопром (ПДК для грибов-продуцентов ГОСТ 12.1.005-88 «Общие санитарно-гигиенические требования к воздуху рабочей зоны»), аптекам («Критерии оценки микробной обсемененности воздуха в аптеках» МУ № 3182-84), парикмахерским (СанПин 2.1.2.1199-03 «Парикмахерские. Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию»), а также животноводческим и птицеводческим производственным помещениям (ГН 2.2.6.709-98 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны», Дополнения №1, №2, №3).

Важным дополнением к вышеперечисленным нормативам по воздуху для закрытых помещений является документ ГН 2.1.6.1763-03 (введен в действие постановлением от 17 октября 2003 г., № 152) о санитарной охране атмосферного воздуха в основе которого лежит ПДК грибов, уменьшенные в 10 раз.

Методы микробиологического контроля воздуха наиболее полно и унифицировано приведены в МУ 4.2.734-99 «Микробиологический мониторинг производственной среды».

Наиболее острой проблемой, связанной с микрофлорой воздуха, является отсутствие рекомендуемых нормативов для воздуха жилых помещений. Это связано как с недостаточной стандартизацией отбора исследованных проб, значительной изменчивостью микрофлоры в течение дня и по сезонам, так и с возможными претензиями жильцов при нарушении нормативов. По данным многих экспертов и по нашим собственным наблюдениям ПДК плесневых грибов для жилых помещений, в которых не проживают лица с аллергией или иммунодефицитами можно считать  $10^3$  при отсутствии таких патогене-

нов как *Aspergillus fumigatus* и токсичных штаммов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Cladosporium* и *Scopulariopsis*.

### **Заключение:**

Условно-патогенные грибы и их компоненты (метаболиты) имеют большое значение в качестве индикаторов микробиологической опасности объектов внешней среды. Требуют уточнения и стандартизации методы определения грибов в воздухе жилых и производственных помещений.

## **ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОЦЕНОЗА БЛАГОВЕЩЕНСКОГО СОБОРА КАЗАНСКОГО КРЕМЛЯ**

*Глушко Н.И., Лисовская С.А., Паршаков В.Р., Халдеева Е.В.  
Казанский НИИЭМ*

Биоразрушение зданий, особенно старой постройки, проходит под действием различных групп микроорганизмов – грибов, бактерий, актиномицетов и др. Строительные работы, реставрация, ремонт и реконструкция зданий сами по себе являются источниками загрязнения воздуха и почвы, увеличивают количество материала для биодеструкции и таким образом способствуют интенсивному развитию микрофлоры.

Благовещенский собор Казанского Кремля является одним из старейших архитектурных сооружений, сохранившихся до настоящего времени практически без изменений. Собор представляет собой каменное здание, построенное на известковом растворе. Сооружение состоит из двух частей – северо-восточной (алтарной) части 16 века и центральной 18 века. Внутри и снаружи здание было оштукатурено. Внутри по известковой штукатурке произведена роспись масляными красками, снаружи – побелка, вероятно, известковым раствором, с применением солей меди (медный или железный купорос), для предотвращения грибковых поражений. Неправильная эксплуатация в последние десятилетия, механические повреждения, неоднократные протечки в шатровой кровле привели к обветшанию строения и появлению очагов биоразрушения. Реконструкция Собора столкнулась с рядом проблем, одной из которых стало повреждение и осыпание новых росписей внутри Собора.

Комплексное микологическое обследование показало присутствие различных видов грибов – биодеструкторов, актиномицетов и бактерий, соотношение которых зависело от точки отбора пробы. Изучение всех проб проводили одновременно на трех питательных средах: агаре Сабуро (для дрожжеподобных грибов и некоторых видов бактерий) и Чапека (для плесневых грибов и актиномицетов), а также на мясо-пептонном агаре для выделения бактерий. Для выделения домашних грибов и фузариумов использовали селективные среды. Пробы грунта и образцы строительных материалов

брали в стерильные пробирки с последующим суспендированием в воде и количественным высевом на среды. В ряде случаев использовали смывы с поверхностей. Количество выросших микроорганизмов пересчитывали на 1 грамм взятого материала или на 1 кв.дм площади. Культивирование проводили при 30°C в течение 14 суток. Определение микроорганизмов проводили по общепринятым морфологическим и микроскопическим методам.

Изучение микрофлоры фундамента (100 проб) показало наличие двух интенсивных очагов поражения наиболее агрессивными видами – домовым грибом (*Serpula*), *Fusarium spp.*, *Trichoderma spp.* и тионовыми бактериями. Все эти виды активно выделяют органические и неорганические кислоты, что привело к разрушению известкового раствора межкирпичных швов. Для микрофлоры оштукатуренных стен (100 проб) было характерно меньшее количество плесневых грибов, но значительное обсеменение дрожжеподобными грибами – *Candida spp.*, *Rhodotorula spp.* Во внутренних помещениях отмечено присутствие зеленых и черных плесеней (*Penicillium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Mucor spp.*, *Rhizopus spp.*). Во всех пробах с отреставрированных поверхностей и с трещин на них выявлено значительное количество дрожжеподобных грибов, т.ч. черные и красные дрожжи (*Aureobasidium spp.*, *Rhodotorula spp.*). Подобное обсеменение дрожжеподобными грибами, по-видимому, связано с использованием при строительстве разнообразных органических субстратов, которые обеспечили питание этих грибов. Использование при реставрации современных акриловых и масляных красок, образующих воздухопроницаемую пленку, привело к возникновению процессов брожения, сопровождающихся интенсивным выделением CO<sub>2</sub>, что привело к вздутию и растрескиванию красочных покрытий. Для решения и предотвращения подобных проблем требуется проведение комплексного биологического обследования и подбор соответствующих препаратов для обработки. Таким образом, при проведении реставрации старинных сооружений необходимо учитывать их характерные особенности, а также совместимость современных и старинных технологий и материалов.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ В ЦЕЛЯХ ПРОИЗВОДСТВА СУДЕБНОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ

Градусова О.Б.<sup>1</sup>, Кочкина Г.А.<sup>2</sup>, Иванушкина Н.Е.<sup>2</sup>, Озерская С.М.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российский федеральный центр судебной экспертизы  
при Минюсте России

<sup>2</sup> Всероссийская коллекция микроорганизмов, Институт биохимии  
и физиологии микроорганизмов им. Г.К.Скрябина, РАН

Повышение качества жизни населения страны – одна из приоритетных задач правительства, обозначенная Президентом РФ. Одним из важнейших условий решения этой задачи является повышение и регламентация

(разработка нормативной базы) требований к среде обитания человека, в том числе и по загрязненности жилых и производственных помещений микроскопическими грибами.

Своеобразие объектов исследования (микроскопических грибов) делает возможным развитие их изучения в рамках судебно-биологических экспертиз, как отдельного рода – судебно-микологической экспертизы или экспертизы по исследованию микроскопических грибов.

Исследование микромицетов может проводиться для решения различных задач, как по уголовным, так и по гражданским делам. По уголовным делам это задачи по установлению факта пребывания человека на определенном участке местности, а также при решении задач по установлению единой массы или общего источника происхождения, например, наркотикосодержащих растений.

Однако наиболее перспективным представляется направление исследования микромицетов для решения задач гражданского судопроизводства, а именно в жилых помещениях. Решение этих задач часто проводится в комплексе со строительно-технической экспертизой, например, для определения ущерба при заливах квартир, связанных с дефектами кровли, авариями водопровода и другими протечками. В данном случае экспертные исследования микромицетов должны проводиться для решения задач по установлению наличия и степени грибного поражения. Важной составляющей экспертизы должно быть выявление микромицетов, являющихся потенциально опасными для человека, относящихся как к патогенным, так и аллергенным видам, известным так же в качестве активных биодеструкторов различных промышленных материалов (виды родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Stachybotrys*, *Exophiala*, *Absidia*, *Mucor*, *Rhizopus* и другие).

## **НАЛИЧИЕ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ И ТОКСИГЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ НА ПОВЕРХНОСТЯХ КОНСТРУКЦИОННЫХ МАТЕРИАЛОВ КОСМИЧЕСКИХ ОБЪЕКТОВ**

*Дешевая Е.А.<sup>1</sup>, Новикова Н.Д.<sup>1</sup>, Мелик-Осипова Л.Е.<sup>1</sup>,  
Озерская С.М.<sup>2</sup>, Кураков А.В.<sup>3</sup>*

*1 Государственный научный центр Российской Федерации –  
Институт медико-биологических проблем РАН, Москва*

*2 Институт биохимии и физиологии микроорганизмов  
им. Г.К. Скрыбина РАН, г. Пуцино, Калужская область*

*3 Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова,  
Международный биотехнологический центр  
и кафедры биологии почв факультета почвоведения*

При многолетних сроках эксплуатации космической техники периодически на поверхностях конструкционных и декоративно – отделочных

материалах выявляют зоны видимого роста микромицетов. В процесс контаминации материалов могут вовлекаться условно – патогенные грибы, потенциально способные вызывать различные патологические состояния и заболевания у людей.

Целью работы являлось определение наличия условно – патогенных и токсигенных микроскопических грибов в очагах биоповреждений орбитальной станции МИР и на поверхностях Международной космической станции (МКС) и оценка степени риска, вызываемого их развитием.

Для исследований были выбраны микромицеты изолированные с поверхностей прибора, вышедшего из строя в период эксплуатации станции МИР и с образцов конструкционных материалов, экспонируемых во внутреннем объеме МКС в рамках эксперимента «Биориск». Выделение микроскопических грибов проводили методами посева смывов и отпечатков на плотные питательные среды, а также использовали метод накопительных культур. Идентификацию микроскопических грибов осуществляли по культурально-морфологическим и физиологическим признакам с использованием современных определителей.

Сопоставление видов, выявленных с поверхностей полимерных материалов, с известными списками условно-патогенных и токсигенных видов грибов проводили по обобщающим публикациям. У ряда выделенных штаммов грибов изучали токсическое действие культуральной жидкости на личинки тутового шелкопряда. Для получения культуральной жидкости грибы культивировали на жидкой питательной среде Чапека с добавлением 0,5% дрожжевого экстракта в течение 14-суток при 28°C. Молодые листья шелковицы обильно смачивали культуральной жидкостью, слегка подсушивали и вскармливали гусеницам тутового шелкопряда один раз в сутки. Учет результатов проводили ежедневно, подсчитывая количество погибших, ослабленных и изменивших цвет гусениц.

Из исследованных образцов синтетических полимеров были выделены представители 11 видов микроскопических грибов, включающие более 40 штаммов.

Для проведения сопоставительного анализа перечня микромицетов, изолированных с конструкционных материалов космических объектов, использовали списки патогенных грибов, утвержденные официально в разных странах и приведенные в различных медицинских руководствах. По разнообразию представленных в них патогенных видов эти списки значительно различаются и имеются существенные расхождения в оценке уровня биологической опасности одних тех же видов грибов. Так, по классификации микроорганизмов по группам патогенности, приведенной в последней редакции правил Госкомсанэпиднадзора МЗ РФ, *Aspergillus fumigatus* относится к III группе патогенности – это условно – патогенные организмы, вызывающие оппортунистические микозы (системные микозы) при понижении иммунного статуса человека, а по уровню биологического риска (BSL), принятого в Швейцарии, данный вид гриба относится к среднему уровню

риска для человека и животных. В эту группу входят основные возбудители подкожных микозов, дерматофиты и другие облигатно патогенные возбудители поверхностных микозов. К этому же уровню биологического риска относятся 7 видов микромицетов, выделенных с поверхностей конструкционных материалов, – *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *A. versicolor*, *Penicillium chrysogenum*, *P. decumbens*, *Phoma eupyrena*, *Ulocladium botrytis*. Был проведен сопоставительный анализ списков микромицетов по уровням биологического риска, принятым в разных странах Европы.

Среди грибов, выделенных с поверхностей конструкционных материалов, имеются виды способные, по данным литературы, продуцировать токсины. Так, 6 видов грибов – *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *A. versicolor*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. chrysogenum*, *P. expansum* способны продуцировать опасные и разнообразные по спектру токсины.

У ряда штаммов грибных культур была проведена оценка токсических свойств. В качестве тест-организма использовали гусениц тутового шелкопряда (см. табл.).

Данный тест часто проводится при первичном отборе продуцентов нетоксичных антибиотиков и других микробных метаболитов. Полученные результаты указывают на наличие в культуральной жидкости *Alternaria alternata* 12115, *Aspergillus fumigatus* 12041, *Aspergillus versicolor* 12134, *Penicillium expansum* 12135, *Ulocladium botrytis* 12037 веществ, вызывающих летальное действие на тест-организм.

Токсичность культуральных жидкостей  
грибных деградантов к гусеницам тутового шелкопряда

Виды, штаммы	Происхождение	Гибель личинок в %, через	
		3 дня	5 дней
<i>Alternaria alternata</i> 12115	МКС	60	100
<i>Aspergillus fumigatus</i> 12036	ОК Мир	0	0
<i>Aspergillus fumigatus</i> 12041	ОК Мир	0	40
<i>Aspergillus fumigatus</i> 12116	МКС	10	40
<i>Aspergillus versicolor</i> 12134	ОК Мир	0	20
<i>Aspergillus versicolor</i> 12042	ОК Мир	0	0
<i>Aspergillus versicolor</i> 12117	МКС	40	60
<i>Paecilomyces lilacinus</i> 8221	ОК МИР	0	0
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> 12044	ОК Мир	0	0
<i>Penicillium chrysogenum</i> 12045	ОК Мир	0	0
<i>Penicillium expansum</i> 12135	ОК Мир	0	20
<i>Penicillium melinii</i> 12046	ОК Мир	0	0
<i>Penicillium decumbens</i> (steckii) 8220	ОК МИР	0	0

Phoma eupyrena 12047	ОК Мир	0	0
Ulocladium botrytis 12037	ОК Мир	40	80
Контроль 1 (Среда Чапека)	-	0	0
Контроль 2 (Дистиллированная вода)	-	0	0

Таким образом, показано, что большинство исследованных видов грибов, выделенных с поверхностей конструкционных материалов орбитальных станций МИР и МКС, соответствуют разным уровням биологического риска, принятым в различных странах Европы, а также выявлена не только потенциальная, но и реальная возможность образования токсинов при развитии этих микромицетов.

## **КЕРАТИНОФИЛЬНЫЕ ГРИБЫ В ПОЧВАХ г. МОСКВЫ (НА ПРИМЕРЕ РАЙОНОВ ТУШИНО И КРЫЛАТСКОЕ)**

*Иванова А.Е., Суханова И.И., Марфенина О.Е.  
Факультет почвоведения МГУ им. М.В. Ломоносова  
Москва*

Для понимания степени опасности условий городской среды для заболевания человека микозами необходимо разносторонне оценивать экологическую ситуацию, складывающуюся в городах. Установлено [Марфенина, 2005], что при урбанизации в городских экосистемах может происходить накопление микроскопических грибов, потенциально опасных для человека. В целях экологического прогнозирования и охраны здоровья населения важно понимать, на каких объектах города и почему может происходить аккумуляция той или иной группы опасных грибов.

В большинстве городов верхние почвенные горизонты могут быть перекрыты газонами, при создании которых используются грунты и смеси, не проходящие санитарного контроля и включающие загрязняющие вещества, в том числе и органические, которые могут служить субстратом для развития ряда опасных групп грибов. Свободные участки городских почв активно используются для выгула и вычесывания домашних животных. Кроме того, вокруг мусоросборников могут накапливаться, волосы, пух, перья и т.д. Поэтому в городских почвах могут аккумулироваться кератинсодержащие субстраты, что, должно приводить и к накоплению группы кератинразлагающих грибов, опасных для человека, так как некоторые из них являются дерматофитами.

Нами на примере почв 2-х районов города Москвы в осенние периоды 2004-2006 гг. было проведено исследование группы кератинофильных грибов в городских почвах (техноземах, урбаноземах) разного времени

формирования: 1) район Крылатское (Осенний бульвар, 2-летний, 30-летний, 100-летний, 500-летний урбаноземы) и дерново-подзолистой почве лесопарка (Крылатский парк), и 2) район Тушино – (3-летний технозем, 30-летний, 300-летний, урбаноземы) и дерново-подзолистой почве лесопарка (Алешкинский лес).

Выделение кератинолитических и кератинофильных грибов проводили методом «приманок», для чего в образцы почвы вносили стерильные светлые детские волосы (Boolk, 1971). Заселение и деструкцию волос грибным мицелием описывали под контролем бинокюляра в течение 3-6 недель инкубации. Дальнейшую идентификацию грибов проводили при пересевах на питательные среды Сабуро и Чапека.

Проведенный анализ позволил выявить четкое отличие городских почв от природной, зональной почвы по степени заселения кератин-содержащего субстрата и составу кератинофильных микромицетов.

Интенсивность заселения грибами кератинового субстрата (волос) в урбаноземах различного возраста была на порядок выше, чем в почве лесопарков.

Видовое разнообразие кератинофильных микромицетов было значительно выше в городских почвах по сравнению с природной ненарушенной почвой лесопарка. Из городских почв обильно выделялись известные как кератинолитические и опасные для человека виды *Arthroderma grubyi*, *Cryosporium tropicum*, *Fusarium oxysporum*, *Arthroderma uncinatum*. В то же время, из природной почвы на кератиновом субстрате выделялись *Sordaria fimicola*, *Zygorhynchus heterogamus*, *Paecilomyces ghanensi*, *Absidia glauca*. Это виды, не рассматриваемые как опасные, не разлагающие кератин, а использующие продукты его разложения или использующие волосистой субстрат как механическую опору при развитии мицелия.

Присутствие группы грибов, разлагающих кератин, несколько различается для городских почв разного времени формирования. Известные как опасные для человека виды *Cryosporium tropicum*, *Fusarium oxysporum*, *Arthroderma uncinatum* доминируют в зрелых урбаноземах (30-100 летнего возраста). В то время как в более старых городских почвах (300-500 летнего возраста) значительную долю составляют типичные для зональных условий виды грибов, которые, как отмечалось выше, используют волосы не в качестве источника питания, а как опору. Во временном ряду формирования урбаноземов Крылатского интенсивность колонизации кератина грибами увеличивалась от молодого (2-летнего) урбанозема к зрелому (100-летнему) и снижалась в более старом (500-летнем). В почвах Тушино прослеживается та же тенденция в увеличении выделения кератинофильных грибов от молодого технозема (3-летнего) к зрелому урбанозему (30-летнему), с последующим снижением в старом (300 летнем) урбаноземе.

Время начала колонизации субстрата также отличалось для почв лесопарка и городских почв. Если для городских почв активная колонизация волосистых приманок отмечалась на 3-ю неделю эксперимента, то в зональ-

ных почвах лесопарка заселение волос наблюдалась существенно позже – на 5-6-ю неделю эксперимента.

Отличия в скорости развития кератинразлагающих грибов в зональных и городских почвах могут быть связаны фунгистатическим эффектом, то есть с задержкой прорастания спор грибов, вызванной физико-химическими свойствами почв или наличием в почвах микробных метаболитов, ингибирующих прорастание спор. В модельном эксперименте было выявлено более быстрое прорастание спор одного из основных выявленных кератинофильных микромицетов *Arthroderma grubyi* в городских урбаноземах и существенная задержка прорастания его спор в почве лесопарка. Стерилизация образцов исследованных почв снимала фунгистатический эффект в образцах почвы лесопарка, но напротив, в образцах урбанозема при стерилизации происходило снижение прорастания спор *A. grubyia*. Таким образом, можно предположить, что в исследованных природных почвах эффект задержки прорастания спор кератинофильных грибов, в первую очередь, определяется микробиологическими свойствами почв и жизнедеятельностью почвенных микроорганизмов, а в городских почвах ингибирующие свойства почвенной микробиоты по отношению к кератинофильным грибам не столь выражены.

Информация о распространении кератинразлагающих грибов в городской среде может помочь жителям избегать прямых и частых контактов с резервуарами потенциально опасных видов и в результате способствовать снижению риска заболеваний, вызываемых грибами этой группы.

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 06-04-49636а.*

## **РАЗВИТИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫХ ВИДОВ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ ПРИ НЕФТЯНОМ ЗАГРЯЗНЕНИИ ПОЧВЫ**

*Киреева Н.А., Рафикова Г.Ф.*

*Башкирский государственный университет, Россия, г. Уфа,*

В последнее время в медицине все чаще сталкиваются с заболеваниями, вызываемыми оппортунистическими (условно патогенными) видами микромицетов. Такие виды микроскопических грибов развиваются в окружающей среде и способны вызывать микозы у людей с ослабленным иммунитетом. Поэтому возникает необходимость более детального изучения влияния различных факторов, в том числе и антропогенных, на накопление данных видов микроскопических грибов в окружающей среде.

Целью работы является изучение влияния нефтяного загрязнения на структуру комплексов микромицетов и на накопление условно патогенных видов микроскопических грибов серой лесной почвы Арланского месторож-

дения Республики Башкортостан. Исследования проводились в 2004-2006 гг. в лабораторных и полевых условиях на вариантах чистой и загрязненной нефтью серой лесной почвы. Отбор почвенных образцов проводили с глубины 0-10 см. Выделение микромицетов проводили по общепринятой методике на среде Чапека, идентификацию видов – по определителям. Видовую принадлежность условно патогенных микромицетов уточняли по соответствующим определителям.

Из образцов незагрязненных и загрязненных нефтью серых лесных почв, отобранных на территории Арланского нефтяного месторождения Краснокамского района республики Башкортостан, было выделено 25 видов микромицетов, относящихся к 5 родам класса *Hyphomycetes*. Как показали наши исследования нефтяное загрязнение почвы приводит к перестройке микробного сообщества, при этом наблюдается исчезновение или появление видов микромицетов, изменяется степень их представленности. При изучении видового состава почвенных микромицетов серой лесной почвы нами были обнаружены оппортунистические виды, такие как *Aspergillus fumigatus*, *A. fumigatus var albus*, *A. nidulans*, *A. niger*, *A. restrictus*, *A. terreus* и *Trichoderma viride*. Данные виды микроскопических грибов в незагрязненной почве отсутствуют, либо степень их представленности в большинстве случаев в фоновых почвах невелика. Оценивая частоту встречаемости условно патогенных видов, можно отметить, что при загрязнении нефтью этот показатель, как правило, увеличивается. Особенно хорошо это прослеживается для *A. terreus*, поскольку при загрязнении нефтью этот вид переходит из класса случайных в класс типичных редких и типично частых. Что касается степени доминирования оппортунистических видов микромицетов, то показатель обилия видов изменяется аналогично – большинство из них переходят из доминантов II ранга в доминанты I ранга. Высокая степень содержания условно патогенных форм в нефтезагрязненной почве по сравнению с фоновыми аналогами, вероятно, связана с высокой углеводородоусваивающей активностью, что в свою очередь может быть обусловлено высокой конкурентоспособностью данных видов за счет выделения ими в окружающую среду токсинов. Наличие же условно патогенных видов в фоновой почве (*A. restrictus*), довольно богатой гумусом (серая лесная почва) также, вероятно обуславливается способностью данных видов к окислению углеводородов, так как известно, что некоторые соединения гумуса по своей структуре сходны с углеводородами нефти. Нами также был определен индекс комплексной микологической опасности ( $I_m$ ). Значение индекса в исследованных нами нефтезагрязненных почвах колебалось от 1,3 до 5. Таким образом, можно говорить о средней силе влияния нефтяного загрязнения на развитие условно патогенных видов микромицетов изученных нами почв. Однако изменения в комплексе микроскопических грибов в образце сильно загрязненной нефтью почве следует относить к экологически опасным ситуациям ( $I_m > 4$ ). Последнее требует разработки

специфических методов рекультивации, направленных на предотвращение развития условно патогенных микромицетов.

## **АЭРОМИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ НЕКОТОРЫХ МУЗЕЙНЫХ ПОМЕЩЕНИЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА**

*Кирицидели И.Ю., Богомолова Е.В.*

*Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН  
Санкт-Петербург*

Санкт-Петербург известен своим богатым культурным наследием. Многие исторические ценности хранятся в музеях и архивах сотни лет. Деструкция памятников искусства, музейных экспонатов, а также зданий и сооружений вызывается не только химическими и физическими воздействиями, но и различными микроорганизмами, среди которых приоритетное значение имеют микромицеты. Ухудшающаяся экологическая обстановка в городах ведет к увеличению численности микромицетов и повышению их роли не только в деструкционных процессах, но и в увеличении числа микотических заболеваний у людей, в частности у работников музейной сферы. В закрытых помещениях при нарушениях уровня влажности, температурного режима, и т.п., микроскопические грибы могут переходить к неконтролируемому массовому росту. Кроме того, активно посещаемые музейные залы постоянно контаминируются за счет привнесения новых штаммов грибов посетителями.

Увеличивающееся количество иммуноскомпрометированных людей приводит к росту числа микозов, вызванных ранее не зарегистрированными патогенными грибами, которые прежде были известны только как сапротрофы. Также растет число заболеваний, вызываемых оппортунистическими патогенами человека. Оппортунисты – потенциальные патогены, которые при определенных обстоятельствах, благоприятных для своего роста, могут вызывать или проявлять инфекционные заболевания у хозяина. Оппортунистический микоз – это инфекция, связанная с невысокой природной вирулентностью, что означает, что спектр возможных патогенов составляет потенциально неограниченное число видов (Niewerth, Korting, 2002).

Нами были рассмотрены показатели численности пропагул микроскопических грибов в различных музейных помещениях (Государственный Русский музей: Михайловский дворец, Инженерный замок, Мраморный дворец, летний дворец Петра I; Музей Академии Художеств; Военно-исторический музей артиллерии, инженерных войск и войск связи). Этот показатель отличался некоторой вариабельностью и колебался от 0,015 до  $0,50 \times 10^3$  пропагул в 1 куб м. воздуха.

Стоит отметить, что на численность микромицетов в воздухе помещений оказывала сильное влияние посещаемость залов. Так, в Михайловском дворце в летние и осенние месяцы численность микромицетов в залах, расположенных у входа в музей, была значительно выше, чем в отдаленных залах. Интересно отметить, что в весенние месяцы данная тенденция не прослеживалась. Аналогичные результаты снижения численности в более отдаленных залах получены и для Летнего Дворца Петра I. Во всех остальных исследованных музейных помещениях подобной тенденции не отмечено или колебания численности были незначительны, возможно, это связано с более равномерным посещением залов в данных музейных помещениях.

В целом численность микромицетов в исследованных экспозиционных помещениях не превышала нормы и соответствовала предельно допустимым значениям.

В пределах одного экспозиционного зала большое влияние на численность микромицетов оказывала сезонная смена климатических факторов. Как правило, численность микромицетов была значительно ниже в весенний и зимний период, увеличивалась в летние месяцы и несколько снижалась в осенний период. Тенденция сезонной динамики численности микромицетов не зависела от уровня посещаемости музейных помещений.

Отмечена также суточная динамика численности микромицетов в воздухе музейных помещений в течение рабочего дня. Численность микромицетов увеличивалась в течение дневных часов и снижалась в ночное время. В некоторых случаях в течение нескольких дневных часов численность микромицетов увеличивалась более чем в два раза. Это может объясняться постоянным притоком пропагул микромицетов из внешней среды, который осуществляется потоками воздуха (проточная вентиляция залов за счет активного движения воздуха в часы посещения музеев) и/или благодаря активному посещению залов посетителями. Стоит отметить, что суточная динамика отмечена во всех музейных помещениях, она не зависит от сезона года, однако наиболее значимо проявляется в летние месяцы. В ночные часы численность снижалась за счет работы вентиляционных систем, седиментации пропагул и влажной уборки.

Всего из исследованных образцов был выделено 45 видов микромицетов из 27 родов, которые относятся к 4 подотделам (*Zygomycotina*, *Ascomycotina*, *Basidiomycotina*, *Deuteromycotina*).

Количество видов в воздухе одного музейного зала варьировало от 2 до 19 видов и составляло в среднем около 7 видов. Ядро аэромикоты музейных помещений представляли микромицеты родов *Cladosporium* и *Penicillium*, доминирующих как по встречаемости, так и по обилию. Далее, в порядке уменьшения, следуют виды родов *Aspergillus*, *Alternaria*, *Torula*.

В воздухе исследуемых помещений, как правило, преобладали виды *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Cladosporium cladosporioides*, *C. herbarum*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium cyclopium*, *P. chrysogenum*, *Torula sp.*

В целом сообщества микромицетов, выделенные из воздуха музейных помещений, расположенных в разных частях города, имели достаточно высокие коэффициенты сходства видового состава доминирующих видов, но отличались по их обилию и видовому составу редких видов.

В весенний и летний периоды отмечено некоторое увеличение численности меланинсодержащих грибов в воздухе музейных помещений. В некоторых музейных помещениях в летние месяцы темноцветные микромицеты составляли более 50% всех выделенных изолятов. Увеличение численности темноокрашенных грибов в воздухе музейных помещений может быть связано с увеличением их численности в воздушной среде города в весенне-летний сезон и устойчивостью некоторых видов темноокрашенных микромицетов к различным типам загрязнений.

Интересно отметить появление видов родов *Botrytis* и *Fusarium* в воздухе помещения дворца Петра I в Летнем саду. Возможно, это связано с местоположением музея и проветриванием помещений в летние месяцы. В составе аэриобиоты других музейных помещений представители этих родов отсутствовали.

Как численность, так и видовой состав зависели также от общего состояния помещения, так, например, в экспозиционных залах Строгановского дворца численность микромицетов составляла более 103 пропагул в куб м. воздуха. При этом удельное обилие микромицетов *Cladosporium cladosporioides* составляло более 80%, а общее обилие темноцветных микромицетов – более 90%. Преобладание *Cladosporium cladosporioides* (известного своими свойствами активного биодеструктора, патогенностью и способностью вызывать аллергические реакции) свидетельствует о неблагоприятном состоянии помещения, что связано с наличием протечек и очагов биодеструкции строительных конструкций.

Важным фактом представляется то, что выявленные комплексы микромицетов воздушной среды музейных помещений на 56% состоят из видов, являющихся потенциальными источниками аллергенов и оппортунистическими патогенами. К ним относятся: *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. ustus*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporioides*, *Penicillium brevi-compactum*, *P.cyclopium*, *P. chrysogenum*, *P. funiculosum*.

Наличие значительного числа видов, являющихся продуцентами аллергенов в воздухе музейных помещений, следует рассматривать как фактор риска развития микогенной сенсибилизации и микозов. Следует также учитывать, что метаболиты плесневых грибов могут оказывать токсическое воздействие на организм человека.

## МИКОБИОТА ПОМЕЩЕНИЙ В ЗИМНИЙ ПЕРИОД ВРЕМЕНИ

*Лихачев А.Н.<sup>1</sup>, Горюнов А.В.<sup>2</sup>*

*1 Московский государственный университет им М.В. Ломоносова  
2 Научный центр здоровья детей РАМН*

В последние десятилетия изменения в окружающей среде привело к увеличению количества аллергических и других гиперсенситивных реакций у населения в разных странах. Аллергическими заболеваниями в нашей стране страдают от 10 до 15% населения. Особенно высок этот показатель у детей (25%) с преобладанием развития атопических болезней, таких как бронхиальная астма, атопический дерматит, аллергический ринит (Балаболкин и др., 2006). Однако, вероятно, этот показатель выше, т.к. симптомы болезни часто остаются не выявленными из-за сложности установления природы и источников аллергенов. Возрастание встречаемости этих реакций связана и с изменениями во внутренней среде помещений из-за контаминации и заселении подходящих субстратов оппортунистическими видами грибов, способных выделять и газообразные метаболиты. Комплекс микробиоты помещений, особенно в весенне-летний период, довольно лабилен и накапливается вместе с пылевыми частицами в системах вентиляции, на деталях радио и телеаппаратуры, вычислительной и другой оргтехники, детали которых несут электростатические заряды (Лихачев, Антропова, 2005). Концентрация спор грибов в воздухе носит сезонный характер и пик их распространения чаще приходится на июнь – июль месяцы до сентября-октября. В зависимости от конструктивных особенностей зданий внутри помещений видовой состав микробиоты и численность их проагул в воздухе очень лабильны. Высокая относительная влажность воздуха, аварийные ситуации (чаще протечках) способствуют их развитию, проявлению «синдрома больных зданий» и может служить источником аллергии. На содержание в воздухе помещений проагул микробиоты, включая и плесневые грибы, оказывают большое влияние наличие их колоний на различных материалах и конструкциях в местах течи водопроводных труб, плохой вентиляции, сопровождающейся повышением влажности и конденсацией влаги на холодных поверхностях и т.д. Не смотря на постановления Правительства Москвы №655-ПП от 17.04.2001 г. и № 1965 –ПП от 30.12.2003 г. о совершенствовании организации и проведения дезинфекционных, дезинсекционных и дератизационных мероприятий на объектах города Москвы, а также проведения очистки, дезинфекции систем вентиляции и кондиционирования воздуха, эта профилактическая работа не проводится в большинстве жилых, офисных и зданиях другого назначения.

В помещениях зданий различного назначения, вероятно, формируется, особенно в зимний период времени, своеобразный комплекс микробиоты, включая грибы, из-за специфики в них гидротермических условий, конта-

минируемых материалов, конвекционных потоков воздуха, вероятности длительного сохранения жизнеспособности пропагул и т.д.

Мониторинг аэрозоля воздуха ряда квартир, включая помещения, где проживают пациенты с проявлением симптомов аллергии, и рабочих аудиторий факультета, проведенных методом сендIMENTации, а также взятием образцов пыли, отпечатков, соскобов с разных поверхностей с последующим использованием метода разведений и высева их на среды Чапека, сусло-агар, Сабуро, показал, что в воздухе в этот период доминируют представители родов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*. Визуальный осмотр поверхностей помещений и шахт с трубопроводами, в частности факультета, показал в некоторых из них, при наличии протечек или увлажнения субстрата за счет капеллярной влаги, развитие колоний на изоляционных материалах, штукатурке, обоях *Aspergillus terreus Thom.*, *Penicillium chrysogenum Thom*, *Stachybotrys chartarum (Ehrenb.) Hughes*, на оконных рамах – *Ulocladium sp.* Наибольшее количество колониеобразующих единиц (КОЕ) проявляется на среде Сабуро и сусло-агаре. Учет колоний после 5 – 10 минутной экспозиции чашек проводили через трое суток после инкубации культур при 26°C. Перерасчет концентрации КОЕ грибов на 1 м<sup>3</sup> воздуха проводили исходя из данных В.Л. Омелянского о том, что при спокойном состоянии воздуха на 100 см<sup>2</sup> оседает столько пропагул, сколько содержится их в 10 л воздуха (Омелянский, 1940; Жарикова, Козмина. 2001). Анализ микобиоты воздуха в декабре – январе квартир пациентов с симптомами аллергии показал, что в отсутствии конвергентных потоков воздуха в большинстве из них не выявлено пропагул грибов. Из 29 обследованных квартир пациентов, проживающих в разных районах Москвы, только в семи было установлено присутствие пропагул грибов в воздухе в этот период. Соотношение и расчетное число КОЕ/м<sup>3</sup> представителей родов в большинстве помещений значительно варьирует от отсутствия их на всех взятых средах или наличие в отдельных квартирах до 11100 – *Penicillium*, 2400 – *Aspergillus*, 500 – *Mucor* на среде Сабуро и сусло-агаре. В это же время, в двух других квартирах жильцов, не подверженных аллергическим заболеваниям, после сильных протечек и не принятия профилактических мер в течение длительного времени, отмечено массовое развитие целого комплекса микобиоты на внутренней стороне обоев и конструкциях из гипсокартона. Это обстоятельство указывает на то, что пропагулы грибов, вероятно попавшие с материалом и при контаминации их в период строительства, могут находиться длительное время в этом изолированном пространстве в состоянии анабиоза, выходя из него при наличии капельножидкой влаги, образуя колонии со спороношением. В аудиторных помещениях факультета микобиота воздуха очень переменчива и определяется как частотой используемости, так и спецификой работ проводимых на кафедрах. Однако и здесь в этот период преобладают роды *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor*. Спородически выявляются заносимые, вероятно, с образцами почвы, гербарного материала и т.д. фитопатогенные виды родов *Alternaria*, *Botrytis*, *Fusarium*, *Helminthosporium*, а также почвоо-

битающих *Penicillium*, *Mucor*, *Neurospora* и др. Формирование спектра комплекса микобиоты и доминирующих родов в помещениях зданий различного назначения определяется и особенностями географического расположения, климатическими факторами, а также микобиотой конкретных регионов (Золубас, Лугаускас, 1987; Храмов, 1993; Богомолова, 1999)

Микроскопический анализ препаратов образцов пыли подкрашенных метиленовым синим и взятых с различных предметов, электротехнической аппаратуры, вентиляционных вытяжек показал, что грибы в основном представлены спорами в виде конидий. Это указывает на то, что конидии выявленных оппортунистических видов находятся в этих условиях в анабиозе. Метод разведений не выявил больших различий в комплексе состава микобиоты воздуха и пыли. Лишь в некоторых образцах пыли отмечено выделение видов рода *Alternaria*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, а также отсутствие представителей других родов, которые обнаруживаются в весенне-летний период. Увеличение видового разнообразия, численности спор в воздухе и накопление их с пылевыми частицами в вегетационный период времени связан репродуктивностью как фитопатогенных видов, так и активным развитием сапротрофов на различных субстратах, что также связывают с возможностью сенсибилизации к ним (Еланский С.Н., Лекмцева С.Н., 1998; Соболев А.В., Васильева Н.В. 2001; Nissen D., et al. 1998; Akiyama, 2000). Возможность их развития внутри помещений связана, вероятно, как физиолого-биохимическими свойствами видов, так и химическим своеобразием контаминируемых материалов.

Модельные опыты по определению переноса конидий – *Penicillium*, *Alternaria Stachybotyis* под влиянием разных скоростей горизонтального потока воздуха и их осаждения, а также в зависимости от времени экспозиции выросших колоний в разных условиях влажности воздуха, создаваемых в эксикаторах над насыщенными растворами разных солей и прокаленного  $\text{CaCl}_2$ , показали, что нахождение видов грибов в разных условиях влажности воздуха и времени экспозиции определяют как отчленение конидий при заданном минимальном потоке 0,2-0,3 м/сек., а также жизнеспособность – процент их прорастания при помещении в воду или высеве на среды. На перенос и отделение конидий оказывает влияние строение самих конидиеносцев, размеры конидий и их форма, а также склеивание их в виде отдельных конгломератов как у *Stachybotyis chartarum*. Нахождение колоний грибов при 10 суточной экспозиции при низкой относительной влажности воздуха создаваемой  $\text{CaCl}_2$  резко снижают процент прорастания конидии, но выявляют виды или клоны обладающие ксеротолерантностью.

Испытание *in vitro* растворов препаратов, приготовленных в 10мл стерильной дистиллированной воды, рузама, ксизала, кленила, сингуляра на рост колоний грибов (метод диффузии в агар) и прорастание конидий (препараты на стеклах с лунками) не оказывали на них фунгицидного или фунгистатического действия. Отмечена лишь слабая временная задержка

формирования ростковых трубок. Вероятно, что действие данных препаратов направлено только на активизацию иммунной системы.

Чистые культуры грибов более устойчивы к перенесению низких температур (-12-15°C), сохраняя жизнеспособность в течение года, чем при режиме хранения комнатной температуры и относительной влажности воздуха 50-65%. При этом большое внутривидовое разнообразие у митотических видов грибов по целому ряду физиолого-биохимических свойств определяет своеобразие структуры их популяций и формирование комплекса микобиоты помещений. Отсутствие пропагул при анализе аэрозоля воздуха и литературные данные относительно их численности могут не иметь прямой корреляции с проявлением симптомов проявления микогенной аллергии (Ковзель и др., 2003; Beaumont et al, 1985; Tarlo et al., 1988). Четких норм содержания пропагул грибов в воздухе способствующих развитию аллергии не существуют до настоящего времени. Имеются только отдельные нормативные документы, определяющие КОЕ грибов и других микроорганизмов для тех или иных производственных помещений, аптек и т.д., связанных со спецификой производства и контаминации ими выпускаемой продукции.

В связи с этим возникает необходимость проведения комплексных исследований по диагностике, проявлению IgE-опосредованной аллергии и выявления ответственных аллергенов.

## **ПОТЕНЦИАЛЬНО ПАТОГЕННЫЕ ГРИБЫ В СРЕДЕ ОБИТАНИЯ ЧЕЛОВЕКА (АНАЛИЗ СОВРЕМЕННЫХ ДАННЫХ)**

*Марфенина О.Е., Фомичева Г.М.*

*Московский государственный университет им. М.В.Ломоносова*

На основании литературных данных (более 200 публикаций) и результатов собственных исследований дано обобщение современных (данные 1996-2006 гг) сведений о закономерностях распространения и накопления потенциально патогенных (оппортунистических) грибов в среде обитания человека. Большинство наиболее детальных исследований, учитывающих численность и видовой состав микроскопических грибов, выполнено в странах Европы (Польша, Литва, Италия, Германия), в США, существенно меньше работ в Азии и практически нет в Африке. Основная часть работ (около 70%) посвящена анализу присутствия оппортунистических грибов в различного рода помещениях. До сих пор, однако, недостаточно данных о распространении грибов этой группы во внешней среде обитания человека, особенно, в зонах промышленных предприятий.

Во внешней среде (в воздухе, в почвах) более высокая численность и разнообразие оппортунистических видов отмечается в южных широтах по сравнению с умеренными, а в последних возрастает на антропогенно

преобразованных территориях, например, в городской среде, рекреационных зонах. Неоднократно показано, что в городах и прилегающих к ним территориях резервуаром потенциально патогенных и аллергенных грибов могут быть мусорные свалки, строительные площадки.

Накопление опасных грибов во внешней среде увеличивает риск их поступления в помещения. Уровень присутствия и состав микроскопических грибов в помещениях в условиях обычного проветривания коррелирует с грибными комплексами во внешней воздушной среде и зависит от сезона года. Численность плесневых грибов в воздушной среде обычно в несколько раз выше в теплые сезоны года, чем в холодный период. Сезонные пики присутствия грибов в воздухе могут быть несколько смещены по времени, в зависимости от региона исследования.

Однако, при анализе результатов исследований выявляется, что в воздухе помещений даже на разных континентах (в Северной Америке, Европе, Азии и Австралии) доминирующими обычно являются сходные группы грибов: а именно, виды родов *Cladosporium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*. В разных странах, в зависимости от климатических условий внешней среды и типа помещения, порядок доминирования этих грибов может различаться.

Важными факторами, определяющими состав и содержание микроскопических грибов в помещениях, являются и экологические условия самих помещений, способствующие развитию грибов.

Микологические обследования в настоящее время проводятся преимущественно для таких групп помещений как: лечебные учреждения, различные общественные (школы, библиотеки, офисы и др.), жилые и производственные помещения (различные фабрики, фермы и др.). Среди обследуемых объектов наибольший уровень обсемененности опасными плесневыми грибами воздуха обычно выявляется на производствах, связанных со складированием и переработкой растительной продукции (мукомольные фабрики, сыродельни, предприятия по переработке коры, фермы и др.), где он может составлять до 104 – 107 грибных зачатков в м<sup>3</sup> воздуха. Тем не менее, по опубликованным данным, обследование производственных помещений в настоящий момент, даже в развитых странах, проводится недостаточно и бессистемно.

Наименьший уровень присутствия оппортунистических грибов обычно выявляется в лечебных учреждениях, где имеется санитарный контроль состояния помещений. Несколько выше численность потенциально патогенных грибов в различных общественных и жилых помещениях. Для этих зданий наибольшая численность выявляется в старых домах и во влажных, не проветриваемых условиях.

Накоплению потенциально патогенных грибов в помещениях, может способствовать наличие гриборазрушаемых субстратов (бумаги, обоев, тканей, пластмасс и др.), напольных покрытий и ковров, домашней пыли, почво-смесей для комнатных растений, субстратов для содержания ряда

животных (например, грызунов). Используемые в помещениях системы кондиционирования также требуют специального микологического контроля.

Наряду с определением уровня грибов, присутствующих в воздухе во внешней среде и в помещениях, новым подходом непосредственной оценки состава и количества поступающих грибных зачатков в организм человека является использование индивидуальных фильтров. Такие подходы показали непосредственное попадание и присутствие спор грибов, прорастающих спор и фрагментов мицелия в носовых полостях людей в результате вдыхания.

В современной микозологии человека можно обозначить ряд проблем требующих быстрых и результативных исследований. В мировой практике пока отсутствуют четкие критерии безопасного уровня потенциально патогенных грибов в среде обитания человека. Как один из возможных показателей предлагается порог содержания грибов в 500 КОЕ/м<sup>3</sup> в воздухе, в сочетании с длительным пребыванием людей в помещениях. В первую очередь, попытки определения возможного риска и расчеты допустимого содержания должны быть выполнены для госпиталей и предприятий, на которых в силу специфики производства имеется высокий уровень грибной запыленности среды.

В связи с антропогенными изменениями биосферы, в первую очередь, в связи с потеплением климата (в результате чего ожидается рост количества осадков, расширение площадей заболоченных земель и увеличение числа подтопленных населенных пунктов), кроме дальнейшего исследования природных объектов среды обитания людей необходим прогноз развития потенциально опасных грибов в этих изменяющихся условиях.

Совместные работы микологов-экологов и медицинских микологов, безусловно, могут способствовать более четкой постановке исследований и результативному решению проблем микозологии человека в целях снижения риска вызываемых грибами заболеваний.

*Работа выполнена при частичной поддержке  
гранта РФФИ 06-04-49636а.*

## НЕГАТИВНЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ АНТРОПОГЕННЫХ ИЗМЕНЕНИЙ КОМПЛЕКСОВ ПОЧВЕННЫХ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ

*Мирошниченко И.И., Зачиняева А.В.,  
Соломенникова И.И., Зачиняев Я.В.  
Российская Военно-Медицинская Академия  
Санкт-Петербург*

Надежным индикатором биологического состояния почв, испытывающих антропогенные нагрузки, является характеристика их функциональной активности, так как именно функциональные свойства обуславливают стабильность сложившегося в почве микро-биоценоза. В целях мониторинга процесса трансформации органического вещества в биогеоценозах целесообразно слежение за представителями разных эколого-трофических групп грибов, например, разлагающие такие полисахариды как крахмал и целлюлозу.

Биологическое значение грибов – целлюлозодеструкторов заключается в обеспечении других групп микроорганизмов подвижными углеродсодержащими веществами.

С этим процессом связано образование в почве гумусовых веществ и формирование почвенной структуры. Эффективность гидролиза целлюлозы зависит от сбалансированности целлюлазного комплекса. Необходимо, чтобы он имел высокую эндогликканазную и целлюбиогидролазную активность, без которых невозможен глубокий гидролиз целлюлозы, а так же целлюбиазную активность для конверсии промежуточного растворимого продукта – целлюбиозы – в глюкозу, поскольку последняя является целевым продуктом гидролиза. Процесс разложения растительного материала – это результат синергизма комплекса почвенных грибов, который претерпевает сукцессионные изменения, отражающиеся на интенсивности и направленности процесса деструкции. Один из вариантов сукцессии экологических групп грибов при разложении растительного материала, предложенный И.П. Билай, представляет собой следующую последовательность: эпифиты → быстрорастущие целлюлозоразрушающие грибы → «сахарные грибы» → медленно растущие целлюлозоразрушающие; пектинразрушающие → разрушители лигнина.

Сравнительный анализ вариантов сукцессии почвенных микромицетов фоновой зоны и эпицентра загрязнения представляет несомненный интерес с точки зрения оценки влияния поллютантов на функциональное состояние почв. В представленном выше варианте сукцессии к быстрорастущим целлюлозодеструкторам можно отнести микромицеты, обладающие целлюбиазной активностью. «Сахарные грибы» – виды грибов, выделяемые только на среде Чапека с D-глюкозой. Медленно растущие целлюлозоразру-

шающие грибы – виды грибов, проявляющие активность по отношению к фильтровальной бумаге (ФБ) и карбоксиметилцеллюлозе (КМЦ). Поскольку ФБ по своей надмолекулярной структуре представляет собой чередование аморфных и кристаллических участков волокон целлюлозы, а КМЦ – это кристаллическая целлюлоза с остатками волокнистой структуры, то анализ активности по отношению к ФБ и КМЦ-азной активности позволяет оценить активность слабо и прочно сорбирующихся эндоглюконаз целлюлазного комплекса грибов и степень конверсии целлюлозы. Она составляет в случае преобладания слабо сорбирующихся эндоглюконаз – 5-7% и 90-98% в случае активности прочно сорбирующихся эндоглюконаз. Продуктами действия эндоглюконаз могут быть глюкоза и олигосахариды (целлобиоза, целлотриоза), т.е. субстраты для развития «сахарных» грибов. Пектин – разлагающие грибы – это микромицеты, выделяемые методом инициированного микробного сообщества на крахмале.

В ходе исследований была отмечена четкая корреляция между уровнем загрязнения почвы и составом микромицетов – целлюлозодеструкторов. Так почвы фоновой зоны Норильского промышленного района представлены «сахарными» и пектин – разрушающими грибами. Низкое содержание медленнорастущих целлюлозодеструкторов характерно для почв Крайнего Севера. За короткий период положительных температур опад разлагается медленно. В тундровых почвах основной вклад в обогащение почвы органическим веществом вносят цианобактерии как свободноживущие, так и симбиотические, входящие в состав лишайников.

В загрязненных почвах ее трансформационная активность обусловлена развитием быстрорастущих целлюлозодеструкторов: *Penicillium chrysogenum*, *Fusarium solani*, *Trichoderma viride*. Развитие этих грибов обусловлено значительным снижением бактериального пула под воздействием экотоксикантов в почве (30 км от эпицентра загрязнения).

В зоне эпицентра загрязнения доминирующее развитие получили грибы с высокой деструктивной активностью: *Penicillium aurantiogriseum*, *Pestalotia malorum*, *P. funiculosum*. Спектр разрушаемых ими субстратов: крахмал, ФБ, КМЦ показывает, что в загрязненных почвах деятельность комплекса грибов направлена не на гумификацию растительных остатков, а на адаптацию к условиям жесткого техногенного воздействия. Как правило, такие почвы лишены растительного покрова, поэтому, согласно С.Н. Виноградскому, они бедны зимогенной микробиотой, участвующей в трансформации растительных остатков. В результате низкой концентрации питательных веществ в техногенных почвах активизируется автохтонная микробиота, живущая за счет разложения труднодоступных органических компонентов и, в частности, гумуса. Этому процессу способствуют ионы таких тяжелых металлов как Cu, Pb, Fe, Ni (основные контаминанты почв этого района), участвующих в реакциях окисления гумусовых веществ. Экспериментальными работами показано участие в разрушении почвенного гумуса грибами рода *Aspergillus*, *Penicillium*.

Почвы фоновой и 15 км зон Мончегорского промышленного района (МПР) характеризуются присутствием таких целлюлозодеструкторов, как: *Chaetomium globosum*, *Aspergillus glaucus*, *Mortierella vinaceae*. Анализ ИК – спектров биомассы, полученной в результате биотрансформации целлюлозы грибом *Chaetomium globosum* показал, что данная культура способна синтезировать множественные формы эндогликоназ и целлобиогидролаз. В ИК- спектре трансформированной целлюлозы обнаружены полосы поглощения, отвечающие валентным колебаниям  $\nu$  (-ОН) ассоциир. в области  $3136\text{ см}^{-1}$ ,  $\nu$  (-CH<sub>2</sub>-) в области  $2860\text{ см}^{-1}$ , адсорбированной H<sub>2</sub>O в области  $1635\text{ см}^{-1}$ , внутрплоскостным деформационным колебаниям  $\delta$  (- OH) в области  $1370\text{ см}^{-1}$ , ассиметрическим валентным колебаниям  $\nu_{as}$  (C-O-C) мостиковые в области  $1162\text{ см}^{-1}$  и  $\nu$  (C-O) в области  $1085\text{ см}^{-1}$ .

Доминирующее положение в этих зонах занимают также «сахарные» и пектинразрушающие грибы. С приближением к эпицентру загрязнения (5 км зона) отмечается ингибирование ферментативной активности целлюлозодеструкторов почв фоновой зоны и инициирование развития устойчивых к воздействию поллютантов: *Aphanocladium aranearum*, *Penicillium funiculosum*, *P. decumbens*, *Trichoderma viride*, «добирающих» продукты ферментативного гидролиза целлюлозы грибами фоновых почв. В почвах эпицентра загрязнения доминируют микромицеты, проявляющие высокую целлюлозолитическую активность: *P. aurantiogriseum*, *A. fumigatus*, *Paecilomyces farinosus*. В каждой устойчивой экосистеме потребность ее компонентов в пище должна соответствовать имеющимся возможностям ее получения и максимально экономичному расходованию резервов плодородия. Так, в северных широтах, где продуктивность фитоценозов низкая, вялое течение микробиологических процессов экологически целесообразно. Бурное проявление деструкционной деятельности микромицетов неизбежно ведет к быстрому истощению почв. Доступные для растений продукты разложения целлюлозы выносятся из почвы раньше, чем фитоценоз способен ими воспользоваться.

В почвах фоновой зоны Череповецкого промышленного района (ЧПР) доминируют такие целлюлозодеструкторы, как *Cladosporium herbarum*, *Penicillium nigricans* наряду с пектинразлагающими и «сахарными» грибами: *Penicillium lanoso – coeruleum*, *Mycogone nigra*, *P. roqueforti*, *A. versicolor*. В 5 км зоне высокую ферментативную активность проявляли малочисленные в фоновых почвах целлюлозоразрушающие грибы: *Fusarium culmorum*, *Alternaria alternata*, *A. niger*. В почвах эпицентра загрязнения доминирующее развитие получили грибы с мультиферментативной активностью: *Aspergillus fumigatus*, *Curvularia lunata*, *P. aurantiogriseum*, *Torula convoluta*, *Paecilomyces farinosus*.

Таким образом, в почвах промышленных регионов северо-запада России (НПР, МПР, ЧПР) отмечается доминирование «агрессивных» по трансформационной активности видов грибов. Изучение экологии биодеструкторов, их адаптации к антропогенным условиям и потенциальным возможностям

расселения в другие регионы и биотопы является частью общей проблемы биоповреждений. Загрязненные почвы промышленных регионов представляют собой очаги развития грибов – основных контаминантов промышленных материалов, сырья, изделий и конструкций. Обладая мощной ферментной системой, а также продуцируя широкий спектр органических кислот, они вызывают быструю и глубокую деструкцию промышленных материалов.

Следствием кардинальных антропогенных изменений в окружающей среде является увеличение видового разнообразия грибов – биодеструкторов, характеризующихся полибиотрофностью, которые могут представлять опасность не только как разрушители материалов, сооружений и т.п., но и создавать значительную угрозу для безопасности и здоровья человека.

## **МОНИТОРИНГ МИКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ МУЗЕЙНЫХ ПРЕДМЕТОВ**

*Мицкевич А.Г.<sup>1</sup>, Капич А.Н.<sup>2</sup>*

*1 Институт микробиологии НАН Беларуси*

*2 Международный государственный  
экологический университет имени А.Д. Сахарова  
Минск, Беларусь*

Большинство музеев постоянно либо периодически сталкивается с трудностями в обеспечении оптимального температурно-влажностного режима экспозиционных помещений и фондовых хранилищ. Повышенная влажность воздуха и материалов приводит к появлению благоприятных условий для развития различных микроорганизмов, и в первую очередь мицелиальных грибов, что способствует ускоренной деградации материалов памятников и экспонатов. Особенно страдают при этом экспонаты, которые содержатся в неотапливаемых помещениях. В этих условиях грибная контаминация может принимать угрожающие размеры, при этом грибы не только разрушают материалы и изменяют их внешний вид, но и значительно ухудшают экологическую обстановку, подвергая риску здоровье посетителей и музейных работников. Во-первых, грибы создают угрозу для здоровья людей потому, что они могут вызывать аллергические заболевания. Во-вторых, в таких экосистемах возможно появление условно-патогенных видов грибов.

Целью нашего исследования было изучение и анализ видового состава микобиоты, контаминирующей памятники и предметы музейного значения при «экстремальных» условиях хранения и экспонирования. На протяжении ряда лет проводился микологический мониторинг в неотапливаемых памятниках в Белорусском государственном музее народной архитектуры и быта (г.

Минск), литературном музее Я.Коласа (г. Столбцы Минской обл.), этнографическом музее при костеле (д. Мосор Витебской обл.) и реставрируемом замке Радзивиллов (г. Несвиж Минской обл.). Отбор проб производился непосредственно из очагов грибного поражения в период 1999-2006 гг.

Большинство грибов из выделенных 977 изолятов принадлежало к классу Ascomycetes. В 40,2% проб доминировали грибы рода *Aspergillus*, в 32,3% – *Penicillium*, в 15,1% – темнокрашенные грибы родов *Alternaria*, *Cladosporium* и *Stemphyllium*, в 3,2% – *Paecilomyces* и *Verticillium*. К классу *Zygomycetes* относятся представители рода *Mucor*.

Наибольшим видовым разнообразием характеризовались 2 рода – *Aspergillus* (17 видов) и *Penicillium* (10 видов). Представители других родов грибов были представлены 1-2 видами. Анализ видового состава выявленной микобиоты показал, что из обнаруженных на обследованных музейных предметах 46 видов грибов 5 (*Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *A. versicolor*, *Cladosporium cladosporoides*, *Penicillium chrysogenum*) были выявлены на всех видах материалов и наиболее часто выделялись в чистую культуру (табл.).

Таблица. Микромитеты, выделенные из мест плесневого поражения материалов, входящих в состав музейных экспонатов

№	Вид	Материал						
		Камень	Металл	Кожа	Керамика	Текстиль	Древесина	Живопись
1	<i>Acremonium strictum</i>							+
2	<i>Alternaria alternata</i>	+	+	+	+	+	+	+
3	<i>A. oleracea</i>			+			+	+
4	<i>A. pluriseptata</i>						+	
5	<i>Aspergillus awamory</i>				+	+	+	
6	<i>A. candidus</i>	+		+			+	+
7	<i>A. cervinus</i>				+			
8	<i>A. clavatus</i>				+			
9	<i>A. flavus</i>						+	
10	<i>A. fumigatus</i>	+						
11	<i>A. glaucus</i>						+	
12	<i>A. niger</i>	+	+	+	+	+	+	+
13	<i>A. niveus</i>						+	
14	<i>A. ornatus</i>		+					
15	<i>A. proliferans</i>							+

16	<i>A. repens</i>			+				
17	<i>A. sclerotiorum</i>						+	
18	<i>A. sydowi</i>	+		+			+	+
19	<i>A. unguis</i>							+
20	<i>A. ustus</i>	+			+			
21	<i>A. versicolor</i>	+	+	+	+	+	+	+
22	<i>Auerbasidium pullulans</i>						+	
23	<i>Chaetomium globosum</i>					+	+	
24	<i>Cladosporium elatum</i>						+	
25	<i>Cl. cladosporoides</i>	+	+	+	+	+	+	+
26	<i>Cl. herbarum</i>							+
27	<i>Fusarium oxysporum</i>					+		
28	<i>Macrosporium bifurcum</i>							+
29	<i>Mucor</i> sp.	+		+	+			
30	<i>Mucor mucedo</i>						+	
31	<i>Paecilomices marguandii</i>						+	
32	<i>P. varioti</i>						+	+
33	<i>Penicillium chrysogenum</i>	+	+	+	+	+	+	+
34	<i>P. decumbens</i>			+				
35	<i>P. jensenii</i>			+				
36	<i>P. funiculosum</i>				+		+	
37	<i>P. lanosum</i>							+
38	<i>P. notatum</i>				+			
39	<i>P. paxilli</i>	+			+			
40	<i>P. purpurogenum</i>						+	
41	<i>P. tardum</i>							+
42	<i>P. verruculosum</i>				+			
43	<i>Stemphillium piriforme</i>	+						+
44	<i>Stachybotris hartarum</i>	+		+				
45	<i>Trichoderma viride</i>	+		+	+	+	+	+
46	<i>Verticillium lateritium</i>	+					+	+

Следует отметить выраженную субстратную специфичность некоторых штаммов грибов. Внутри одного вида гриба могут встречаться штаммы с узкой специализацией, способные развиваться на строго определенных материалах, либо на материалах, прошедших антифунгальную химическую обработку. В некоторых случаях наблюдали изменение культуральных, морфологических и физиологических особенностей выделенных изолятов.

Например, большинство из них характеризовались низкой требовательностью к ростовым факторам.

Скорость радиального роста колоний, значительно варьирующая в зависимости от вида, на богатом ростовыми факторами сусло-агаре была лишь незначительно выше, чем на минимальной среде Чапека-Докса. Также следует отметить наличие способности синтезировать экзопигменты у всех культур, выделенных с пораженной живописи, у 75% грибов, выделенных их текстиля, у 50% микромицетов – обрастателей изделий из древесины, керамики, кожи. Пигментные грибные пятна сильно искажают внешний вид музейных предметов и их удаление обычно является весьма проблематичной процедурой.

Большинство обнаруженных нами на музейных экспонатах грибов по экологической принадлежности относится к обычным сапротрофным видам, которые обитают в почве и упоминаются в литературе в качестве биодеструкторов широкого спектра природных и синтетических материалов. В то же время некоторые из них, в частности отдельные представители родов *Alternaria*, *Aspergillus*, *Chaetomium*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Stachybotris* и *Mucor* принадлежат к числу условно-патогенных и могут вызывать оппортунистические микозы, особенно у иммунодефицитных лиц. Поэтому своевременное выявление очагов плесневения в начальных стадиях является необходимым условием для превентивных мер по предотвращению биоповреждений музейных предметов и обеспечению безопасности здоровья посетителей и музейных сотрудников.

## **ГРИБЫ КАК БИОДЕСТРУКТОРЫ БИБЛИОТЕЧНОГО ФОНДА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ЗДОРОВЬЕ ЧЕЛОВЕКА**

*Новицкая И.В., Вьючнова Н.В.,  
Липницкий А.В., Алексеев В.В., Каплиев В.И.  
ФГУЗ «Волгоградский научно-исследовательский  
противочумный институт» Роспотребнадзора  
Волгоград*

Как известно, целлюлоза и другие продукты переработки древесины являются прекрасными питательными субстратами для неприхотливых в ростовых потребностях микромицетов. Микротрещины в книгах, особенно подержанного библиотечного фонда, тканевые и кожаные переплеты, клеевые основы и т.д., а также постоянные температура и влажность способствуют поддержанию грибных культур в жизнеспособном состоянии.

Волгоградская областная универсальная библиотека им.М.Горького является крупнейшим в своем роде научно-методическим учреждением. Построенное в 1983 г., здание имеет 4 этажа, цокольные помещения и занимает общую площадь 12000 кв.м.

В книгохранилищах содержится более 2 миллионов экземпляров печатных изданий. Ежедневно библиотеку посещают до 800 человек.

В помещении библиотеки были взяты смывы с объектов окружающей среды – книг, в том числе и их внутренних страниц, книжных стеллажей, столов, вентиляционных решеток, стен и т.д. (всего 60). Воздух прокачивали через микробиологический импактор Кротова (15 проб). Обследование сотрудников проводили путем взятия мазков из зева, носа, наружного слухового прохода, исследования проблемных участков кожи и пораженных ногтевых пластинок (50 анализов). Посевы осуществляли на стандартную среду Сабуро и культивировали при 37°C и 28°C в течение 7 и 14 сут соответственно. При исследовании с объектов библиотечного фонда в 50 пробах из 60 (85%) отмечен рост грибных культур. При этом наиболее контаминированными оказались смывы из отдела редких и ценных изданий и книгохранилища (до 7 видов грибов в одной пробе). Плесневые виды (*Mucor sp.*, *Penicillium sp.*, *Alternaria sp.* и т.д.) составили 85% наблюдений, дрожжеподобные – 50% проб. Среди нитчатых микромицетов были отмечены относительно редкие и неидентифицированные виды, что, по-видимому, отражает длительную и разнообразную историю представленных книжных изданий.

Пробы воздуха содержали грибные споры в 16% наблюдений.

Биопробы, полученные от сотрудников библиотеки, оказались положительными в 30 случаях из 50 (60%). Дрожжеподобные и нитчатые микромицеты составили 60% и 10% проб соответственно, преимущественно *C.intermedia* и *C.albicans* (зев, кожа) и *Aspergillus flavus* *A.niger* (ЛОП-органы, ногтевые пластинки).

В клинически значимых концентрациях (>103 КОЕ/мл) дрожжеподобные возбудители рода *Candida* отмечены в 9 пробах из 30 (30%). При этом количество и вирулентность выделенных грибов возрастали пропорционально возрасту обследованных и продолжительности их работы в библиотечных структурах. В 2 случаях у уже уволившихся работников анамнестически была выявлена бронхиальная астма неустановленной этиологии, которая не исключает производственной микосенсибилизации этих больных.

Культуры дрожжеподобных грибов были идентифицированы до вида и оценены по вирулентности. Оказалось, что вид *Candida albicans* составил 26% наблюдений, *C.intermedia* – 43%, *C.claussenii* – 16%, *Rhodotirula sp.*, *Geotrichum sp.*, а также другие виды *Candida* – 6%. Вирулентность микромицетов оценивали по таким показателям как способность к образованию РВ-трубок, определение DCL для *Paramecium caudatum*, выявление спектра устойчивости к антимикотическим препаратам (амфотерицин – Б, итраконазол, кетоконазол, тербинафин, дифлюкан, нистатин) и дезинфектантам (септодору-форте, перекиси водорода) характеристика антилизоцимной и антиинтерфероновой активности выделенных культур. По данным критериям высоковирулентные штаммы составили 16% наблюдений. Наименее патогенными оказались *C.intermedia* и *R.rubra* (29,4% изолированных дрожжеподобных культур).

Плесневые виды получены из смывов с объектов внешней среды, воздуха, а также кожи и ногтевых пластинок работающего контингента. Дерматомицеты не выделены, однако этот факт не исключает диагноза онихомикоза (Сергеев А.Ю. с соавт., 2006). Нитчатые грибы были представлены, в основном, представителями родов *Aspergillus*, *Mucor*, *Alternaria*, *Fusarium sp.* (67%). В отдельных случаях были получены *Nigrospora sp.*, *Paecilomyces sp.*, а также не идентифицированные нами виды (9,2% исследований).

Таким образом, в помещении библиотеки формируется специфическая экосистема, микобиота которой может существенно отличаться от широко распространенных в данном регионе видов и оказывать значительное влияние на качество жизни работающего контингента сотрудников.

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ВОЗДУШНОЙ МИКОФЛОРЫ ГОРОДА САМАРА

*Овчинникова Т.А., Серендеева Е.В., Чаплашкина Н.А.*  
*Самарский государственный университет*

Настоящая работа представляет продолжение исследований аэромикофлоры города Самары, проводимых нашей лабораторией экологии микроорганизмов с 1999 года.

Целью настоящей работы было выявление качественного и количественного состава аэромикофлоры мониторинговых площадок на парковых и припарковых территориях города (7 точек) в течение летнее-осеннего (июнь-октябрь) периода 2004 и 2005 годов седиментационным методом, а также изучение особенностей грибной микрофлоры в 5 пунктах города, наиболее загрязненных зонах в месте расположения стационарных экологических лабораторий по контролю за состоянием атмосферного воздуха (отбор проб воздуха проводился седиментационным и аспирационным способом) в зимнее-весенний период 2006 года.

Сравнение двух методов отбора проб воздуха обнаружило близкие данные качественного и количественного состава микрофлоры в зимнее-осенний период. Так численность грибов грибов, учитываемых на агаре Чапека аспирационным методом была выше на 20%

В летнее-осенний период 2005 года доля грибов составляла от 18 до 33% от численности колоний на агаре Чапека, а численность грибных пропагул в 1 куб.метре колебалась от 420 – 2100, максимальное значение приходилась на сентябрь. В зимний период резко изменялся качественный состав, а численность падала в 2-9 раз. Так в январе в разных точках города численность грибов в 1 куб. метре воздуха колебалась от 930 до 1100 единиц. После трехнедельного 30-градусного мороза в феврале она упала до 90-520. Особенностью посевов смывов февральской микрофлоры городского воздуха является резкое снижение численности бактерий на агаре Чапека, высокая

скорость роста грибных колоний. В марте показатели грибной микрофлоры приближаются к уровню январских показателей.

В летне-осенний период 2005 года на территории города разнообразие родов грибов было относительно высоким от единичных до 65% от грибной флоры составляли грибы рода *Alternaria*, численность представителей рода *Aspergillus* достигала 29%, рода *Penicillium* -27%, мукоральные грибы -11%. Представители *Oospora* и *Cladosporium* обнаруживались в единичных экземплярах колоний.

В зимний-весенний период на территории города Самары обнаруживались представители только трех родов всегда доминировали *аспергиллы* (37-до 48%), *Rhizopus* (32-41%) меньшую треть составляли пенициллы. Интересно отметить, что соотношение показателей численности трех вышеуказанных родов грибов было сходным во всех 5 пунктах исследования воздуха городской территории. Показатели общей численности грибов, обнаруженные на исследуемых пунктах города в январе, коррелировали с данными, полученными в феврале. Встает вопрос об источнике поступления спор грибов в городской воздух. Обогащение городского воздуха зимой идет двумя путями: первый – антропогенная среда самого города, второй- поступление за счет выпадения осадков из более высоких слоев атмосферного воздуха. Прежде всего, важно отметить, что высокое единообразие количественного и качественного состава грибов в воздухе города зимой, вероятно, определяется выживаем наиболее морозоустойчивых форм грибов. Обращает внимание относительно высокие показатели численности микофлоры, обнаруженные нами методом посева в зимний период по сравнению с летними. Возможно, что с одной стороны это определяется метеоусловиями, особой синоптической ситуацией застоя воздуха, с другой стороны, это может быть связано с особенностями прорастания проросших грибных спор на агаре.

## МИКОАЭРОМИКОТА ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ ГОРОДА МИНСКА

*Ровбель Н.М., Грек Д.С.*  
*Институт микробиологии НАН*  
*Минск*  
*Беларусь*

Биоповреждение строительных материалов и инженерных конструкций является одним из основных факторов, определяющих скорость износа зданий и других инженерных сооружений (наряду с воздействием агрессивных газов, кислотных дождей, промерзанием, выветриванием и др.).

Процессу биокоррозии материалов способствуют перепады температуры и относительной влажности воздуха, что в свою очередь вызывают увлажнение строительных конструкций и образование конденсата на их

поверхности. Загрязнение воздуха окислами азота, серы, углерода, хлоридами и сажей создает условия для атмосферной коррозии. Используя перечисленные вещества в качестве источника питания, микроорганизмы существенно ускоряют процесс коррозии. Некоторые грибы-агенты биоповреждения могут быть причиной аллергических заболеваний вследствие попадания значительного количества грибных конидий (экзоспор) в дыхательные пути.

Проводя значительную часть времени в помещении, городские жители подвергаются воздействию аллергенов определенного комплекса микромицетов. В связи с этим интерес к изучению микобиоты жилых помещений велик как в странах Западной Европы, так и США и Канады. В жилых помещениях в условиях относительной замкнутости пространства, постоянного температурно-влажностного режима, ряда специфических для антропогенных сообществ формируется весьма своеобразная микробиота, имеющая значительные различия в природными популяциями микромицетов.

Для эффективной борьбы с плесенью рекомендуется целая система мероприятий. Использование биоцидов показано только в крайних случаях, если развитие грибов нельзя остановить иными более безопасными средствами (очисткой, ликвидацией источника инфекции, стабилизацией температурно-влажностного режима). Не контролируемое и не всегда адекватное использование антисептиков приводит к тому, что появились более устойчивые к действию биоцидов грибы и их разрушающая способность повысилась. Традиционные биозащитные составы с высокой токсичностью для человека запрещены экологами, а к малотоксичным – грибы сами адаптируются. И для их своевременной ликвидации уже недостаточно просто использовать повышенные концентрации традиционных антисептиков.

Цель работы – изучение микоаэрофлоры жилых помещений города Минска и ее устойчивости к действию широко используемого коммерческого фунгицида катамин АБ.

Исследования проводили с октября по ноябрь 2006 г. Пробы были взяты из 25 квартир, в которых в различные периоды проводили антисептическую обработку или в процессе ремонт использовались материалы, содержащие различные биоцидные составы. Квартиры находились в современных многоэтажных жилых домах с центральным отоплением.

Пробы воздуха собирали методом седиментации на чашки Петри с агаризованной средой. В каждой комнате ставили по 9 чашек: 3 со стандартной средой Чапека и по 3 со средой с катамином АБ в концентрации 0,001% и 0,005%. Время экспозиции – 1ч; на этот период из комнаты удаляли людей и животных, закрывали окна и двери. Параллельно аналогичным методом были взяты 5 проб микобиоты атмосферного воздуха. Все посевы инкубировали при 28°C в течение 7 дней. Затем учитывали количество выросших колоний грибов и проводили их идентификацию.

Результаты пересчитывали на кубический метр воздуха по формуле Омелянского. К доминирующим относили виды, численность которых была выше 40% от общего числа.

Установлено, что лишь в половине обследованных квартир количество спор не превышало 500 в 1 м<sup>3</sup>, в 4 квартирах данный показатель был превышен более, чем в 2 раза, а в 1 – более чем в 3 раза. По данным некоторых авторов, концентрация более 500 спор микромицетов в 1 м<sup>3</sup> воздуха может оказывать вредное воздействие на организм человека.

Выявлено значительное содержание в воздухе жилых помещений грибных спор устойчивых в токсическому действию фунгицида катамин АБ в концентрации 0,001%, данный биоцид относится к группе четвертичных аммонийных соединений и входит в состав многих коммерческих антисептиков. Количество катаминустойчивых спор в воздухе лишь незначительно отличается от значений полученных к контрольной группе и в 6 из обследованных квартир превышает 500 в 1 м<sup>3</sup>, а в 1 – 1000 в 1 м<sup>3</sup>.

Количество колоний на среде с 0,005% катамина АБ в 2-6 раз ниже по сравнению с контролем. Однако лишь в 2 квартирах не выявлено катаминустойчивых штаммов плесневых грибов, и именно в этих квартирах минимальная концентрация спор в воздухе. В 2 квартирах концентрация катаминустойчивых спор превышает 500 в 1 м<sup>3</sup>.

В пробах атмосферного воздуха количество спор не превышает аналогичные показатели полученные для аэромикоты квартир и на чашках с 0,005% катамина АБ не были выявлены биоцидустойчивые штаммы, что говорит о том, что в жилых помещениях с постоянным воздействием различных химических соединений для подавления роста грибов развиваются особые биоцидустойчивые грибные сообщества и популяция одного гриба.

Самыми распространенными контаминантами воздуха жилых помещений были грибы из родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Cladosporium*. Реже встречались другие микромицеты (*Alternaria*, *Paecilomyces* sp., *Trichoderma* sp.). Известно, что грибы именно родов *Cladosporium*, *Penicillium* и *Aspergillus* формируют ядро микобиоты в жилых помещениях Москвы и Санкт-Петербурга, а также городов Европы и Северной Америки. Для квартир с высоким уровнем содержания спор в воздухе (больше 1000 в 1 м<sup>3</sup>) отмечено доминирование 1-2 видов микромицетов, и в большинстве вариантов – это *Cladosporium* sp. Именно этот меланинсинтезирующий грибок признается одним из наиболее активных агентов микробиологической деструкции и изменения цвета субстрата. Среди катаминустойчивых изолятов встречались лишь доминирующие микромицеты.

В квартирах минимальным уровнем спор в воздухе выявлено наличие 4-7 видов грибов, чаще всего это были представители родов *Penicillium* и *Aspergillus*, реже *Cladosporium* и неидентифицированные культуры и не было выявлено явно доминирующий микромицетов. Реже встречались микромицеты *Alternaria*, *Paecilomyces* sp., *Trichoderma* sp.

В пробах атмосферного воздуха выделены представители родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Cladosporium*, но явно доминирующего микромицета или группы грибов не было выявлено. Катаминустойчивым также как и в случае исследования квартир являлся грибок рода *Cladosporium*, но из воздушной среды были выделены светлоокрашенные формы.

Таким образом, в жилых помещениях города Минска происходит формирование самостоятельного микоценоза со своеобразными чертами структурной организации, отличающимися от природных микоценозов (доминирование 1-2 видов, высокое содержание биоцидустойчивых микромицетов). Установлено, что доминирующие штаммы являлись устойчивыми к токсическому действию биоцида катамина АБ, наиболее часто среди катаминустойчивых культур встречались меланинсинтезирующие грибы *Cladosporium*. Высокая концентрация спор плесневых грибов в воздухе жилых помещений, явное доминирование в микоценозе биоцидсодержащих штаммов увеличивает риск развития плесени на различных материалах и поверхностях в случае нарушения температурно-влажностного режима и как следствие повышению содержания спор в воздухе до уровня угрожающего здоровью проживающих людей.

## КРИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР ВИДОВ МИКРОМИЦЕТОВ В КНИГОХРАНИЛИЩАХ

*Сергеева Л.Е.*

*Российская Национальная библиотека  
Санкт-Петербург*

Многочисленные работы, появившиеся в последние годы, свидетельствуют о возрастании интереса к изучению разнообразия микромицетов в различных экосистемах. Исключительно важное значение в системах книгохранилищ составляют микромицеты, которые с одной стороны способны участвовать в сапротрофном процессе деструкции бумаги, но в то же время могут быть достаточно сильными аллергенами, а в ряде случаев и провоцировать серьезные заболевания. Исследование их структуры является определяющим фактором для прогнозирования возможных последствий при профессиональном контакте с микромицетами.

На основе вертикально-ярусного и сукцессионного подхода нами ранее было показано, что существуют различия в структуре микосообществ и динамике численности составляющих видов. В результате корреляционного анализа получено представление о мультифакторных взаимосвязях. Регрессионный подсчет подтвердил данные в пользу концепции множественности и детерминирующих факторов и их тесной сопряженности.

Задачей настоящего исследования был детальный анализ видового состава в помещениях с известными случаями аллергических заболеваний. В результате лабораторного изучения проб, полученных в различных типоло-

гических точках, выделено 63 вида относящихся к 23 родам, 6 семействам, 3 классам. Наибольшее количество представленных здесь видов отнесено к классу *Hyphomycetes*, порядку *Hyphomycetales*, семейству *Moniliaceae*. Выявленный состав обследованного фонда специфичен и лишь частично совпадает с другими фондами (13%).

В пробах воздуха выделено 46, а на поверхностях документов – 36 видов грибов. Причем, потенциальные патогены составляют значительную долю (45%) полученного видового списка.

## **ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И КОНЦЕНТРАЦИЯ МИКРОМИЦЕТОВ В ВОЗДУХЕ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ, ПОСТРАДАВШИХ ОТ АВАРИЙ**

*Суббота А.Г.*

*Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного  
НАН Украины  
Киев*

В последнее время население г. Киева все чаще обращается в Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины по поводу микологического повреждения строительных конструкций и интерьеров, которые возникают после различного рода аварий в жилых помещениях. Во многих случаях пострадавшие пытаются в судебном порядке добиться компенсации причиненного ущерба, в результате чего ликвидация последствий аварии затягивается на длительный период, что способствует увеличению масштабов повреждений и времени их пребывания в помещении, зараженном микромицетами. Из обратившихся, те, кто находились все это время в тех же помещениях, как правило, жаловались на ухудшение здоровья, появление аллергии и различные заболевания легких. В связи с этим, изучение микобиоты жилых помещений в поставарийной ситуации требует особого внимания.

В 2005-06 годах было обследовано 10 квартир с разной степенью микологического повреждения и различными причинами аварий: в новостройках – несоблюдение требований стандартов строительства при использовании новых технологий и материалов; в старых домах – неисправности системы центрального отопления, недостатка работы вентиляционных систем и обшего обветшания трубопроводов подачи и отведения воды. После аварий нарушался температурно-влажностный режим внутри помещений. Во всех обследованных помещениях в переувлажненных местах – на паркетном полу, стенах, потолке, обоях, окрашенных бетонных стенах и в стыках между кафельными плитками, наблюдалось появление воздушного мицелия и пигментных пятен различного цвета. Как следствие микологического

воздействия, зафиксированы на штукатурных поверхностях кратероподобные образования и разрыхление штукатурного слоя.

Микобиоту воздуха исследовали методом седиментации. С поврежденных поверхностей строительных конструкций, их облицовочных материалов и интерьеров пробы отбирали стерильными инструментами. Выделение микромицетов проводили с помощью метода прямого посева, метода накопления и метода разведения. Во всех случаях использовали агаризованные питательные среды Чапека и сусло.

В результате проведенных исследований выявлено, что в каждой из квартир формируется микоценоз, характерный только для данного помещения. Из воздуха и внутренних поверхностей поврежденных строительных конструкций исследованных квартир были выделены и идентифицированы культуры микроскопических грибов, которые относились к 69 видам 30 родов, 9 семейств, 4 классов. Из них по частоте встречаемости преобладали представители класса *Hyphomycetes* 79,2%.

Класс *Zygomycetes* представлен 6 видами из 2 родов. Наиболее многочисленным представлен род *Mucor* (5 видов), род *Rhizopus* представлен одним видом.

Класс *Euscomycetes* представлен 5 видами: 2 вида из сем. *Chaetomiaceae*, 2 вида из сем. *Trichocomaceae* и 1 вид из сем. *Hypocreaceae*.

Класс *Coelomycetes* представлен 2 видами из рода *Phoma*.

Класс *Hyphomycetes* представлен 56 видами из 25 родов, 5 семейств, 3 порядков.

Наибольшим количеством родов и разнообразием видов представлен порядок *Hyphomycetales*, а именно семейства *Dematiaceae* (27 видов из 13 родов) и *Moniliaceae* (27 видов из 9 родов). Всего 2 видами из 1 рода представлен порядок *Sphaeropsidales*, также незначительно представлен порядок *Tuberulariales* – 3 вида из 1 рода.

Редкими для микобиоты жилых помещений были: вид *Monodictys castanea* (Wallk.), выделенный из фанеры; виды *Doratomyces stemonitis* (Pers. ex Fr.) Morton et Smith и *Doratomyces microsporus* (Sacc.) Morton et Smith, выделенные из пораженных обоев; вид *Dicyna olivaceae* (Emoto: Tuba-ki) von Arx, выделенный из строительного материала «сухая штукатурка».

На сырой штукатурке часто встречались токсигенные грибы из рода *Aspergillus*, а на гипсокартоне виды рода *Stachybotrys*.

Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) микромицетов в 1 куб.м. воздуха было в пределах от 2 025 до 54 438. Нормативы по предельно допустимой концентрации (ПДК) микромицетов в воздухе жилых помещений отсутствуют. Однако, если взять во внимание ПДК для рабочей зоны микробиологических предприятий (500 КОЕ/ куб.м) и сравнить с полученными нами результатами, то заспоренность воздуха помещении в поставарийном периоде превышает эту норму в 4 – 109 раз.

Таким образом, необходимо проводить микологические обследования подвергшихся аварии жилых помещений для создания соответствующего

нормативного документа, четко регламентирующего санитарно-гигиенические нормы предельно допустимой концентрации КОЕ микромицетов в кубометре воздуха и максимально допустимые сроки ликвидации аварий с целью предупреждения массового развития микодеструкторов.

## **ГРИБЫ В РИЗОСФЕРЕ ВЫСШИХ РАСТЕНИЙ УКРАИНСКОГО СТЕПНОГО ПРИРОДНОГО ЗАПОВЕДНИКА**

*Элланская Н.Э.*

*Национальный ботанический сад им. Н.Н. Гришко НАН Украины  
Киев*

В условиях активного антропогенного влияния на природу особо значимыми являются исследования естественного многообразия микромицетов целинных почв, изучение комплексов почвенных грибов, адаптированных к конкретным экологическим условиям. Известно, что грибы играют важную роль как индикаторы стабильности экосистем. Деграция черноземов, безвозвратное исчезновение естественных степных ландшафтов, загрязнение окружающей среды химическими соединениями и радионуклидами усугубляют упадок степной биоты. Все, что удалось сохранить на Украине – это уникальные заповедные участки степи: Аскания – Нова, Стрелецкая и Провальская степь, а также Украинский степной природный заповедник (УСПЗ), общая площадь которых составляет меньше 1% территорий степной зоны.

В задачу наших исследований входило изучение видового состава грибных комплексов ризосферы растительных сообществ трех отделений (УСПЗ) – Михайловской целины, Хомутовской степи, Каменных Могилах, находящихся в разных природно-климатических зонах (Лесостепь и Степь), что обуславливает специфику их природных условий и отражает зональные особенности растительности. Оценку заселенности грибами ризосферной почвы степных растений проводили традиционным методом посева на агаризованные питательные среды.

Результаты показали, что исследуемые почвенные экотопы количественно и качественно различаются по видовому составу микроскопических грибов. Так в Михайловской целине выделено 65 видов (317 изолятов), в Хомутовской степи – 56 видов (260 изолятов), в Каменных Могилах – 51 вид (209 изолятов), которые относятся к 25 родам 3 отделов (*Zygomycota*, *Ascomycota*, *Mitosporic fungi*).

Для Михайловской целины характерным было наличие большого многообразия видов, относящихся ко всем категориям, кроме случайных, в то время, как в других отделениях наиболее распространенными были виды, которые часто и постоянно встречаются. В ризосфере степных растений

этого отделения наблюдается значительное количество родов (6) и видов (11) отдела *Zygomycota*. Из них наибольшим видовым многообразием отличалось семейство *Mucoraceae*, (представители этого семейства составляли в Михайловской целине – 52,8%, Хомутовской степи – 10,5%, Каменных Могилах – 9,2%). Видовой состав наиболее характерных родов в отделениях заповедника существенно не менялся. Это касается видов родов *Acremonium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Penicillium* и *Trichoderma*. Относительно представителей отдела *Zygomycota*, то в более южных отделениях – Хомутовской степи и Каменных Могилах, – значительно сузился их видовой спектр. Незначительным во всех отделениях УСПЗ оставался видовой состав представителей отдела *Ascomycota*. Во всех трех вариантах не отмечены случайные виды (с частотой встречаемости <1%).

Состав доминирующих видов изменялся в сторону уменьшения по мере передвижения с севера на юг (с 6 до 3 видов), но постоянно высокая частота встречаемости была присуща видам: *Fusarium oxysporum* Schl.: Fr., *Gliocladium roseum* Bainier и *Trichoderma viride* Pers.: Fr.

Количество меланинсодержащих видов существенно не отличалось: в Михайловской целине они составляли 19%, Хомутовской степи – 17,8%, в Каменных Могилах – 15,7%. Поскольку показатель промышленной меланизации микобиоты составляет 40% и больше, полученные нами данные свидетельствуют о незначительном антропогенном прессинге в данном заповеднике.

## **Глава 3**

---

# **МИКОТОКСИКОЗЫ И ОТРАВЛЕНИЯ ГРИБАМИ**

# **ТОКСИГЕННЫЕ ГРИБЫ В НАРОДНОМ ХОЗЯЙСТВЕ**

## **ОЦЕНКА РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ РФ, СВЯЗАННОГО С ЗАГРЯЗНЕНИЕМ МИКОТОКСИНОМ ОХРАТОКСИНОМ А ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО СЫРЬЯ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ**

*Аксёнов И.В., Эллер К.И., Тутельян В.А.  
ГУ НИИ питания РАМН  
Москва*

Микотоксины – токсические метаболиты плесневых грибов являются одними из наиболее опасных контаминантов пищи. К числу приоритетных микотоксинов относится обладающий выраженным нефротоксическим действием охратоксин А, повсеместно выявляемый в разных группах пищевых продуктов. В то же время в Российской Федерации содержание охратоксина А в продовольственном сырье и пищевых продуктах до настоящего времени не было оценено с позиций вероятного риска для здоровья населения.

В связи с этим была определена основная цель настоящей работы: оценить риск для здоровья населения РФ загрязнения охратоксином А продовольственного сырья и пищевых продуктов.

В ходе работы с использованием оптимизированного метода ВЭЖХ анализа было изучено содержание охратоксина А в продовольственном сырье, пищевых продуктах, плазме крови и на основании полученных данных с учетом структуры питания дана оценка риска для здоровья населения РФ поступления охратоксина А с пищей.

Для установления частоты и уровня контаминации охратоксином А продовольственного сырья было изучено содержание охратоксина А в основных видах продовольственного зерна (пшеница, рожь, ячмень, овес) из районов РФ, являющихся главными их производителями. Охратоксин А был обнаружен в 13,8% из 282 исследованных проб в диапазоне концентраций 0,2-33,3 мкг/кг. С наибольшей частотой охратоксин А был выявлен в зерне ржи и ячменя.

В результате изучения продуктов питания детей первого года жизни на зерновой основе (каши) охратоксин А был выявлен в 18,5% из 54 изученных проб в диапазоне концентраций 0,2-1,2 мкг/кг. Наиболее часто охратоксин А обнаруживался в кашах на основе овсяной муки.

Учитывая реальную возможность поступления охратоксина А с рационом было изучено содержание охратоксина А в плазме крови случайной выборки населения РФ. Охратоксин А был выявлен во всех 50 исследованных образцах в диапазоне 0,4-7,4 мкг/л.

С использованием разных методик расчета было установлено вероятное суточное поступление охратоксина А с рационом, которое составило 2,7 -3,0 нг/кг массы тела. Коэффициент опасности при этом был меньше

единицы, что свидетельствует о малом риске для здоровья населения РФ, связанном с загрязнением охратоксином А продовольственного сырья и пищевых продуктов.

## ИММУНОАНАЛИЗ МИКОТОКСИНОВ В ЗЕРНОВОМ СЫРЬЕ И ПРОДУКЦИИ ПИВОВАРЕНИЯ

*Буркин А.А., Кононенко Г.П.*

*ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН  
Москва*

По сообщениям российских исследователей в отечественной пивоваренной отрасли нередки случаи использования сырья, неблагоприятного по микологическим показателям, а также загрязненного фузариотоксинами и афлатоксином В1 (Волкова и др., 2000; Волкова, Исаева, 2002, 2003). Подобные ситуации, как известно, могут быть причиной попадания микотоксинов в продукцию (Scott, 1996).

По типовой процедуре непрямого конкурентного ИФА на образцах пива, разбавленных фосфатно-солевым буфером рН 7,5, нами проведено определение фузариотоксинов (Т-2 токсин, диацетоксисцирпенол, зеараленон, фумонизин В1) и токсинов «плесеней хранения» (афлатоксин В1, стеригматоцистин, охратоксин А, цитринин, циклопиазоновая кислота, PR-токсин). Образцы различных марок и изготовителей были отобраны в торговой сети г. Москвы в октябре-ноябре 2006 года.

Среди фузариотоксинов наибольшая встречаемость выявлена для Т-2 токсина (21 положительный образец из 29, 72,4%) и меньшая – для зеараленона (7/29, 24,1%). Количества Т-2 токсина находились в интервале от 0,16 до 1,2 нг/мл, а зеараленона – у нижнего порога обнаружения – 0,16-0,19 нг/мл. Диацетоксисцирпенол при чувствительности анализа 0,8 нг/мл в образцах обнаружить не удалось. Эти результаты вполне согласовывались с данными микотоксикологического обследования 1997-2006 гг. в основных регионах возделывания ячменя, согласно которым Т-2 токсин встречался в зерне с частотой 33,9% (246 положительных из 725 образцов) и гораздо реже – зеараленон (3,6%, 26/725) и диацетоксисцирпенол (4,3%, 4/94). Диапазон уровней контаминации Т-2 токсином был достаточно широк – от 20 до 625 мкг/кг.

В этом обследовании случаи обнаружения в зерне токсинов грибов, относящихся к родам *Aspergillus* и *Penicillium*, были редкими или отсутствовали вовсе. Частота выявления охратоксина А составила 3,9% (22/560), цитринина – 1,7% (4/240), стеригматоцистина – 1,3% (3/240), циклопиазоновой кислоты – 1,3% (1/76), афлатоксин В1 и PR-токсин вообще не были найдены.

В пиве афлатоксин В1 и охратоксин А также оказались в числе редких контаминантов, только единичные образцы содержали их в количествах 0,08 нг/мл и 0,2 нг/мл, соответственно. Однако все другие представители этой

группы токсинов «плесеней хранения» имели высокую частоту встречаемости. Циклопиазоновая кислота была обнаружена во всех из 28 исследованных образцов и, более того, в значительных количествах – от 2,5 до 12,0 нг/мл. Цитринин и стеригматоцистин присутствовали в 26 образцах из этой выборки (92,8%) с диапазонами содержаний 0,16-0,67 нг/мл и 0,04-0,16 нг/мл, соответственно. Таким образом, совместную контаминацию этими тремя токсинами имели 85,7% образцов пива. В 11 из 20 таких образцов им также сопутствовал PR-токсин в количествах от 0,61 до 1,52 нг/мл. Фумонизин В1 был обнаружен в количестве, соответствующем пределу определения 0,8 нг/мл только в 1 образце пива из 18 исследованных, что, по-видимому, связано с редким использованием зерна кукурузы.

Полученные результаты определенно свидетельствуют о том, что риск загрязнения пива микотоксинами связан не столько с исходной контаминацией ячменя или зерновых добавок, но в существенной степени с потенциалом токсинообразования у грибов, способных к активному развитию в условиях его соложения и далее хранения и сбраживания солода.

## МИКОЛОГИЧЕСКАЯ И МИКОТОКСИКОЛОГИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА СУШЕНОГО ЧАБРЕЦА

*Григорян К.М., Осипян Л.Л., Саргсян М.П., Исаакян Г.Л.*  
*Ереванский государственный университет*  
*Армения*

В Армении чабрец (тимьян) по праву относится к числу этнических растений. Он весьма популярен у населения в качестве лекарственного, напиточного, пряно-ароматического, пряно-вкусового растения и ингридиента при производстве национального сыра. В республике произрастают пять видов чабреца, среди которых наибольшее применение имеет *Thymus kotschyanus* Boiss. et Hohen. В период вегетации чабрец поражается в основном ржавчинным грибом *Puccinia sehneiden* Schroet. и мучнисто-росяными видами *Golovinomyces biocellatus* (Ehrenb.) Gel. и *Leveillula duriaei* (Lev.) U.Braun. Являясь облигатными паразитами, грибы эти не продолжают свое развитие в сушеном сырье.

В период хранения сырья, при неправильной сушке и нарушениях условий хранения, чабрец часто контаминируется мицелиальными грибами. Состав микобиоты чабреца зависит от качества и условий хранения сырья, технологии сушки, санитарно-гигиенического состояния производства.

Микологическому анализу подвергнуты 17 образцов сушеного чабреца. Выделено 22 вида мицелиальных грибов, которые относятся к 2 классам – *Deuteromycetes* и *Zygomycetes*. При относительной влажности сушеного чабреца равной 11% и при значении  $a_w$  – 0.59-0.61, наблюдается развитие грибов в основном из рода *Aspergillus*. Содержание влаги выше 16% (при  $a_w$  0.79-0.83) приводит к увеличению как степени заспоренности, так и

состава грибов, загрязняющих чабрец. Микромицеты, изолированные из сушеной травы с повышенной влажностью, относятся к родам – *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, *Alternaria*, *Stemphyllium*. Во всех проанализированных образцах чабреца обнаружены виды *A. niger* v. *Tiegh.* и *A. carbonarius* (*Bain*) *Thom.* Вид *A. flavus* *Link* зарегистрирован в 12 образцах из 17 проанализированных.

Методом ТСХ-флуориметрии изучена потенциальная способность выделенных штаммов к биосинтезу следующих микотоксинов – афлатоксина В1 (*A. flavus*), охратоксина А (*A. carbonarius*), стеригматоцистина (*A. nidulans*). Из исследованных 12 шт. *A. flavus* афлатоксин В1 обнаружен в 6 шт, в количестве от 7 до 80 мкг/кг. В экстрактах четырех проанализированных штаммов *A. carbonarius* охратоксин А не обнаружен. Стеригматоцистин выявлен в одном штамме *A. nidulans* из 5 исследованных, в количестве 74 мкг/кг.

Известно, что чабрец и его эфирные масла находят широкое применение в пищевой индустрии в качестве биоконсервантов. В состав чабреца входит тимьяновое масло, которое может содержать до 60% тимола с высоким фенольным коэффициентом. Нами изучен ингибирующий эффект этанольных и водных экстрактов сушеного чабреца относительно грибных видов, обладающих высокой частотой встречаемости. Результаты показали, что испытуемые экстракты чабреца не обладают ингибирующим эффектом на проверенных 3 афлатоксигенных шт. *A. flavus*, 2 шт. *A. carbonarius* и одного токсигенного шт. *A. nidulans*.

На основании полученных результатов желательно пересмотреть используемую технологию сушки и хранения чабреца, с целью улучшения гигиенического состояния сырья.

## **ВСТРЕЧАЕМОСТЬ ВИДА *A. FLAVUS* В НЕКОТОРЫХ ВИДАХ ПРЯНОСТЕЙ**

*Григорян К.М., Овсепян В.В.*

*Ереванский государственный университет  
Армения*

Среди грибов, продуцирующих микотоксины, ведущая роль отводится микромицетам из рода *Aspergillus*, в частности *A. flavus*. Токсигенные штаммы указанного вида широко распространены в природе и при неблагоприятных условиях способны поражать растительное сырье и готовые продукты, нанося существенный вред как производителю, так и потребителю.

Многочисленные исследования последних лет, показали актуальность проблемы загрязнения пряностей токсинообразующими мицелиальными грибами. Цель представленной работы – изучение встречаемости и токсичности *A. flavus* в некоторых видах пряностей, широко используемых в пищевой промышленности.

Отбор образцов для анализа производился в соответствии с ГОСТом 6888-91, согласно ISTA (International Seed Testing Association, 2001) и ГОСТ 26668 (1985).

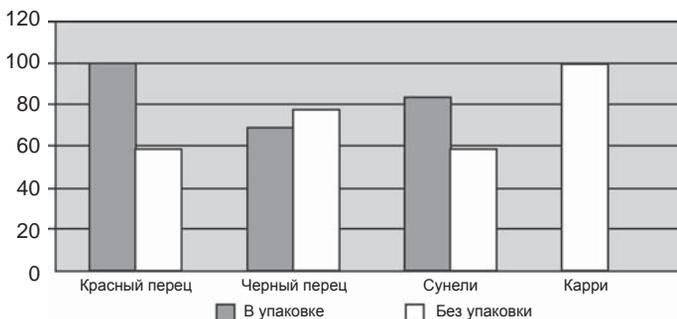
При проведении микологического анализа отобранных образцов были использованы методы влажных камер, непосредственного посева на твердые питательные среды и метод разведения (ISO7954-1993). Количественный учет диаспор плеснеобразующих грибов проводили с использованием пластин PetriFilm в соответствии с АОАС 988.18-2004.

Изучена связь между активностью воды (aw) и поражением пряностей мицелиальными грибами (Acott, К. 1995).

Токсичность культуральной жидкости и экстрактов штаммов *A.flavus*, полученных при их инкубировании на жидкой питательной среде Чапек-Докса определялась на личинках жабраного рачка *Artemia salina*. (Watson, 1985). Изучена бактерицидная активность экстрактов по отношению к *B.subtilis* (Hacking A., 1977). Идентификацию афлатоксина В1 проводили методом ТСХ-флуориметрии согласно (Руководство по методам..., 1998).

Проведен анализ 87 образцов пряностей – сушеный красный перец (26 образцов), черный перец (30), сунели (30), карри (5). В результате микологического анализа выделено 1460 штаммов мицелиальных грибов, идентифицированных как 30 видов и разновидностей из классов *Zygomycetes* и *Deuteromycetes*. 21 вид из 30 выделенных относится к семейству *Moniliaceae*. По видовому разнообразию и частоте встречаемости среди представителей указанного семейства выделяется род *Aspergillus*, к которому относятся 12 видов. Большинство выделенных видов являются потенциальными продуцентами микотоксинов – афлатоксинов, охратоксина А, стеригмато-цистина, фумитреморгеннов. Высокой частотой встречаемости среди выделенных видов рода *Aspergillus*, отмечается вид *A. flavus*. Степень заспоренности пряностей указанным видом в основном не зависит от фактора упаковки (диаграмма).

Диаграмма. Сравнительный анализ частоты встречаемости *A. flavus* в зависимости от упаковки



Контаминация пряностей мицелиальными грибами зависит от качества сырья, значения активности воды ( $a_w$ ), относительной влажности субстрата. Из пряностей со значением активности воды 0.65-0.68 были выделены исключительно ксерофитные виды *A. amstelodami*, *A. crustatus*.

В 30% проанализированных образцов красного перца степень заспоренности микромицетами превышала предельно допустимые значения и составляла более  $5 \times 10^4$  КОЕ/г. Загрязненность видом *A. flavus* большинства образцов красного перца, карри и черного перца находилась в пределах  $3 \times 10^2$ - $5 \times 10^3$  КОЕ/г.

На личинках жаброного рачка *Artemia salina* испытаны грибные экстракты 17 штаммов *A. flavus*. 12 штаммов (70.5%) проявили токсичные свойства в разной степени. Экстракты штаммов *A. flavus*, изолированных из карри проявили высокую бактериоцидную активность относительно грамположительных бактерий *Bacillus subtilis*.

При хроматографическом анализе экстрактов 21 шт. на афлатоксины – афлатоксин В1 обнаружен в 8 шт., из которых 7 шт. были выделены из красного перца. Максимальное содержание афлатоксина В1 составляло 24 мкг/кг. Выявление афлатоксигенных штаммов в красном перце не всегда взаимосвязано с присутствием афлатоксина В1 в субстрате.

Полученные результаты показывают о существовании фактора риска при использовании пряностей, контаминированных диаспорами *A. flavus*.

## МИКРОМИЦЕТЫ – КОНТАМИНАНТЫ ЗЕРНА ХЛЕБНЫХ ЗЛАКОВ В УСЛОВИЯХ ПРИМОРСКОГО КРАЯ

**Егорова Л.Н.**

Биолого-почвенный институт ДВО РАН  
Владивосток

Известно, что среди грибов, контаминирующих зерно хлебных злаков, наибольшую опасность для человека и животных представляют две группы токсинообразующих микромицетов. Первая – факультативные паразиты из родов *Fusarium*, *Alternaria*, *Helminthosporium s.l.*, поражающие растения в период вегетации и способные к дальнейшему развитию в период хранения зерна, вторая – складские грибы, к которым относятся, в основном, сапротрофы из родов *Aspergillus* и *Penicillium* (Билай, Курбацкая, 1990).

По результатам исследований, проведенных в Приморском крае (Егорова, Оксенюк, 1987; Егорова, Калантаевская, 2000, 2003), в состав микромицетов – контаминантов зерна включено 44 вида из 15 родов. На зерне пшеницы отмечено 27 видов из 9 родов, на зерне риса – 40 видов из 15 родов.

Группа факультативных паразитов представлена 11 видами рода *Fusarium*, 2 – *Alternaria*, 3 – *Bipolaris*. Фузариоз колоса является одним

из наиболее распространенных и вредоносных заболеваний пшеницы в Приморском крае. Все районированные сорта в той или иной степени подвержены данному заболеванию. Вредоносность его заключается не только в потере урожая, но и в накоплении микотоксинов в пораженном зерне. Явление «пьяного хлеба», обусловленное поражением колоса и зерна пшеницы фузариозом, известно в Приморье уже более 100 лет. Вследствие того, что природно-климатические условия вегетационного периода в крае, как правило, благоприятны для развития грибных заболеваний (влажное, теплое лето с частыми туманами и продолжительными росами) фузариоз колоса пшеницы нередко принимает характер эпифитотии. Доминирует на зерне пшеницы в крае вид *Fusarium graminearum* Schwabe – 63,8%. Виды *F. culmorum* (W.G. Sm.) Sacc. и *F. avenaceum* (Fr.) Sacc. составляют 8,8 и 10,8% соответственно, *F. poae* (Peck.) Wollenweb.– 3,3%, *F. sporotrichioides* Sherb.– 2,9%. Симптомы поражения зерна этими видами одинаковы: зерно белесое, крупное, с крошащимся эндоспермом или наоборот – щуплое, с розовыми пятнами, легковесное. Имеет место и скрытое поражение зерна.

При анализе ряда сортов пшеницы на способность накапливать микотоксины выяснилось, что *F. graminearum* продуцирует микотоксины трихотеценового ряда – дезоксиниваленол (ДОН) и зеараленон (ЗЕА). Большое количество ДОН способны накапливать сорта Приморская-21 и Хабаровчанка – 6,7 и 7,5 мг/кг соответственно, ЗЕА – сорт Приморская-21 – 1,6 мг/кг. Устойчивый к фузариозу сорт *Nobeoka bozu* способен накапливать ДОН до 3,9 мг/кг. Наименьшее количество токсинов – 2,58 мг/кг, выявлено у сорта Приморская-14.

Среди грибов рода *Fusarium*, контаминирующих зерно риса в Приморском крае, наиболее часто встречаются *F. moniliforme* J. Sheld. и *F. graminearum*. Вид *F. moniliforme* является возбудителем болезни «баканаэ» – гигантизма риса. В годы с прохладным летом болезнь получает значительное развитие. Наиболее обильное спороношение *F. moniliforme* совпадает с цветением и созреванием риса, в результате чего происходит массовое заражение семян. Употребление в пищу зерна, пораженного возбудителем «пьяного риса» *F. graminearum*, вызывает тяжелые фузариотоксикозы.

Из возбудителей гельминтоспориоза злаков наиболее широко распространен в крае вид *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker. На зерне риса, кроме того, отмечены *B. oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker и *B. hawaiiensis* (M.B. Ellis) Ushida et Aragaki.

Альтернариоз (возбудители – *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl., *A. oryzae* Hara), наряду с фузариозом и гельминтоспориозом, отмечается в посевах злаков в крае ежегодно.

Одним из признаков поражения зерна складскими грибами при хранении является изменение его цвета или обесцвечивание. Различную окраску зерна – от шоколадно-коричневой до черной – вызывает *Curvularia lunata* (Wakk.) Boedijn; обесцвечивание – виды родов *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor*; черный налет на зерне – *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Vuill., *Aspergillus niger* Tiegh.,

*Periconia byssoides* Pers.: Fr., *P. digitata* (Cooke) Sacc., *Pithomyces chartarum* (Berk. et M.A. Curtis) M.B. Ellis, *Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries, *Nigrospora oryzae* (Berk. et Br.) Petch, *Epicoccum nigrum* Link; розовый налет – *Trichothecium roseum* (Pers.) Link и виды рода *Fusarium*; зеленый – многочисленные виды рода *Penicillium*: *P. brevicompactum* Dierckx, *P. canescens* Sopp, *P. chrysogenum* Thom, *P. citrinum* Thom, *P. expansum* Link, *P. funiculosum* Thom, *P. puberulum* Bainier, *P. oxalicum* Currie et Thom, *P. aurantiogriseum* Dierckx, *P. rasile* J.I. Pitt, *P. miczynskii* Zaleski, *P. lehmanii* J.I. Pitt, *P. dangeardii* J.I. Pitt. Большинство выявленных в процессе исследования видов складских грибов относится к группе повсеместно распространённых микромицетов, развивающихся в широком диапазоне температуры и влажности. Кроме хлебных злаков, они обнаружены на самых разнообразных растительных субстратах, в почве и воздухе помещений.

## ФУЗАРИОЗЫ ЗЕРНОВЫХ КОЛОСОВЫХ В УСЛОВИЯХ КРАСНОДАРСКОГО КРАЯ

**Жалиева Л.Д.**

*Государственное научное учреждение  
Краснодарский КНИИСХ им. П.П. Лукьяненко*

Патогенные почвообитающие грибы рода *Fusarium* Link. стали мощным стрессорным фактором, поражающим растения зерновых колосовых. В условиях Краснодарского края при инфицировании растений они могут вызывать корневые и прикорневые гнили, поражение стеблевых междоузлий, «ожег» листьев и поражение колосьев и зерна. Одной из задач наших исследований являлся мониторинг видового состава грибов рода *Fusarium* в агроценозе посевов озимой пшеницы в течение 1978 -2006 гг. Вредоносность видов и их влияние на патогенез гнилей. пятнистостей и фузариоза колоса (ФК) обусловлены, в значительной степени, погодными условиями периода вегетации. Соотношение видов менялось по годам. Обобщенные данные, полученные в ходе проведения фитосанитарного мониторинга, показали, что наиболее встречаемыми видами были *F. graminearum*, *F. verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. nivale*, *F.heterosporium* и *F. sporotrichiella*.

Грибы- возбудители фузариоза образуют в пораженном зерне высокотоксичные, канцерогенные МТ, опасность которых увеличивается способностью продуцентов продолжать развитие и поражать пищевые продукты на любом этапе их производства и переработки. Особую опасность в силу токсических свойств и повсеместного распространения представляют трихотециновые МТ и зеараленон (ЗЛ).

Исходя из вышеизложенного, представляли интерес исследование динамики и условий, способствующих заболеваемости озимой пшеницы ФК. На территории Краснодарского края, масштабов заражения фузариотоксинами зерна и производимых из него продуктов питания, анализ потенциальной

опасности для здоровья населения. А также перспектив интегрированной защиты озимой пшеницы в крае приемами агротехники и химическими средствами защиты растений, что позволило сформулировать следующие положения.

– Заболеваемость озимой пшеницы ФК в Краснодарском крае в период 1978-2006 гг. носила неоднородный характер. Максимальные по площади поражения посевов. Показателям распространения и развития болезни масштабы она принимала в 1992-1993 гг и 1998 г. Наиболее высокий уровень распространения ФК выявлен в Центральной (1992, 1993 гг), Северной (1993 г.), Западно-Дельтовой (1998г.) и Южно-предгорной (1992, 1993, 2006 гг) агроклиматических зонах края.

– Факторами риска развития ФК являются теплая сырая или нестабильная осень. Мягкие неустойчивые погодные условия зимой. В годы эпифитотийного поражения посевов в Краснодарском крае преобладала сырая, дождливая погода с повышением относительной влажности воздуха и влагозапасов в почве. Особенно во время колошения- налива зерна.

– На территории Краснодарского края превалирует заражение зерна озимой пшеницы вомитоксином. ЗЛ и Т-2 токсин встречаются значительно реже. Так, в зараженном зерне 1993 г. концентрации вомитаксина превышали ПДК на территории Калининского, Высел-ковского, Кореновского, Каневского. Курганенского, Ленинградского. Успенского и Тбилисского районов края, а также в некоторых районах Республики Адыгея. В 1994-1995 гг после самой масштабной эпифитотии ФК в Краснодарском крае наметилась тенденция снижения показателей содержания МТ до следов, достигнув минимума в 1996-1999 гг.

– В пробах муки и изделий из зерна озимой пшеницы в 1993-1995 гг. широко встречался вомитоксин в концентрациях, не превышающих в большинстве случаев ПДК. ЗЛ и Т-2 токсины встречались редко.

Полученные данные о качественной и количественной характеристиках масштабам заражения зерна озимой пшеницы и продуктов питания в Краснодарском крае позволяет оценить реальную картину вероятной опасности микотоксикозов и угрозу состоянию здоровья как важнейшего составляющего звена качества жизни населения Кубани. Результаты исследований обосновывают необходимость в практическом плане наиболее пристальное внимание уделять на территории края контролю за содержанием в продуктах питания вомитоксина и технологическим приемам его детоксикации. Для работников сельского хозяйства имеют практическое значение данные о восприимчивости различных сортов озимой пшеницы к ФК (возделывание относительно устойчивых сортов селекции КНИИСХ – Дельта, Дея и Москвич). Рекомендуются приемы интегрированной защиты растений агротехническими приемами (соблюдение правильного севооборота культур, чередование разнотрубных обработок почвы, рекомендованные зональные сроки сева, сбалансированное минеральное питание и др.) и химической защиты призваны сократить показатели заболеваемости посевов пшеницы

и оздоровление рациона питания населения края. Но проблема не исчерпала себя и требует дальнейших углубленных исследований в интересах сдерживания эпифитотийного распространения фузариозов, эффективного прогнозирования и сокращения масштабов заболеваемости посевов, разработки алгоритмов интегрированной защиты растений в зависимости от условий, складывающихся на полях.

## **АНАЛИЗ РЕЗУЛЬТАТОВ КОНТРОЛЯ ЗА ЗАГРЯЗНЕНИЕМ ПРОДОВОЛЬСТВЕННОГО ЗЕРНА ФУЗАРИОТОКСИНАМИ ДЕЗОКСИНИВАЛЕНОМ И ЗЕАРАЛЕНОНОМ**

*Захарова Л.П., Седова И.Б.*

*ГУ НИИ питания РАМН*

*Москва*

Одними из наиболее опасных и распространенных природных биотоксикантов, загрязнителей пищевых продуктов являются токсины микроскопических плесневых грибов – микотоксины, обладающие широким спектром токсического действия. Наибольший риск для здоровья человека связан прежде всего с хроническим поступлением малых количеств микотоксинов с пищевыми продуктами. Фузариотоксины являются самыми распространенными в мире микотоксинами, а среди них - дезоксиниваленол (ДОН, vomitоксин) и зеараленон (ЗЛ). Основными продуцентами ДОН и ЗЛ являются *F. graminearum* и *F. culmorum*, которые поражают злаковые культуры в период созревания колоса и интенсивность их синтеза зависит от климатических и погодных условий. Мониторинг, проводимый нами на протяжении многих лет, показал, что в отдельные годы частота обнаружения ДОН в пшенице в основном регионе фузариоза – Северо-Кавказском, может достигать 100%. В связи с высокой стабильностью и биологической активностью ДОН и ЗЛ в ряде стран введены регламенты на их содержание в продовольственном сырье. В нашей стране установлены гигиенические нормативы: ПДК для ДОН - 0,7 мг/кг (для пшеницы) и 1,0 мг/кг (для ячменя), ПДК для ЗЛ – 1,0 мг/кг (для кукурузы, пшеницы, ячменя) и 0,2 мг/кг (для продуктов переработки кукурузы, пшеницы, ячменя).

Целью настоящей работы явилось изучение содержания ДОН и ЗЛ в продовольственном зерне пшеницы, ячменя, кукурузы, овса и ржи урожая 2003-2006 гг. из разных регионов России.

Всего было проанализировано 1196 средних проб наиболее потребляемых видов зерна урожая 2003-2006 гг. из разных регионов России (Северо-Кавказский, Центральный, Поволжский, Волго-Вятский, Центрально-Черноземный, Западно-Сибирский, Уральский, Восточно-Сибирский, Дальневосточный, Северо-Западный), из них 794 пробы пшеницы, 147 – кукурузы,

157 – ржи, 187 – ячменя т 68 – овса. Содержание ДОН и ЗЛ определяли методом обращеннофазной и нормальнофазной ВЭЖХ с использованием УФ- и флуориметрического детектора.

В среднем за весь период исследований ДОН был обнаружен в 3% из 794 образцов продовольственной пшеницы. Количество образцов содержащих ДОН варьировало в отдельные годы от 1 до 12%, в концентрациях не превышающих ПДК. Среднее содержание ДОН при этом варьировало от 0,001 мг/кг (2003, 2004 гг.) и 0,023 мг/кг (2005 г). Содержание ДОН в контаминированных образцах составило в разные годы 0,05 до 0,69 мг/кг.

Частота обнаружения ДОН в ячмене составляла в среднем за этот период 2% для изученных 187 партий, в концентрации не превышающей ПДК.

Ни в одной из 157 партий зерна ржи, 33 партий кукурузы и 68 партий овса ДОН обнаружен не был.

Результаты исследований установили также наличие в 3% исследованных образцов зерна пшеницы из ареала фузариоза урожая 2005-2006 гг. наряду с ДОН второго фузариотоксина – ЗЛ (206 партий). Количество образцов содержащих ЗЛ в эти годы варьировало от 2% (2005 г) до 5% (2006). Величина среднего содержания ЗЛ составила 0,0003 и 0,003 мг/кг.

Анализ результатов определения ЗЛ в зерне кукурузы показал, что 6% от общего числа исследованных партий содержали ЗЛ. Величина содержания токсина в контаминированных образцах варьировала от 0,05 до 0,11 мг/кг

Более подробный анализ данных по частоте и уровням загрязнения ДОН и ЗЛ в зерне пшеницы за эти годы показал, что наибольшее число проб содержащих ДОН и ЗЛ были получены из Северо-Кавказского региона.

Таким образом, результаты мониторинга содержания ДОН и ЗЛ в продовольственном зерне свидетельствуют о значительном снижении частоты и уровня его контаминации в период 2003-2006 гг. по сравнению с предыдущими годами.

## **ЭМОДИН: КОНТАМИНАЦИЯ ЗЕРНОВЫХ КОРМОВ**

**Кононенко Г.П., Буркин А.А.**

*ВНИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии РАСХН  
Москва*

Эмодин [1,3,8-тригидрокси-6-метилантрахинон], физиологически активный компонент отдельных видов высших растений, стал объектом пристального внимания токсикологов после обнаружения в составе «токсина желтого риса», продуцируемых грибом *Penicillium islandicum* Sopp. (Ghosh et al., 1977). Вещество ингибирует деление клеток *Tetrahymena pyriformis* (Wells et al., 1975), приводит к нарушению дыхания у митохондрий (Kawai et al., 1984) и *Escherichia coli* (Ubbink-Kok et al., 1986), имеет мутагенную активность (Bruggeman et al., 1984), высокую токсичность per os для 1-суточных цыплят (Wells et al., 1975) и утят (Rabie et al., 1986), а

также обладает выраженным эффектом угнетения клеточного иммунитета (Itoh et al., 1994).

Нами разработан иммуноферментный анализ (ИФА) эмодина на основе антител к спонтанному конъюгату с бычьим сывороточным альбумином и твердофазного антигена, синтезированного методом формальдегидной конденсации. Порог чувствительности обнаружения вещества в водно-органической среде, состоящей из буферного раствора с 10% водного ацетонитрила, составил 40 пг. При анализе кормосмесей, зерна, продуктов переработки сои и подсолнечника сопутствующие экстрактивные вещества, в том числе и другие микотоксины (Т-2 токсин, дезоксиниваленол, охратоксин А), не создавали каких-либо препятствий функционированию тест-системы. Предел количественного измерения составил 0,02 мг/кг (ppm).

Аналитическое обследование 237 образцов зерновых кормов показали, что эмодин относится к числу распространенных контаминантов. В полнорационных кормосмесях, предназначенных для сельскохозяйственных животных и птицы, частота его обнаружения оказалась весьма значительной – 37,9% (11/29) и уровни контаминации соответствовали диапазону в два порядка от 0,02 до 1,6 мг/кг. По разным видам агропродукции, входящих в их состав, встречаемость была неодинаковой. Ни в одном из 13 взятых в анализ образцов кукурузного зерна вещество не было обнаружено. Из колосовых культур наиболее частым было обнаружение в ячмене – в 31 образце из 37 (83,8%) с диапазоном количеств от 0,02-1,4 мг/кг, который, как и в кормосмесях, охватывал два порядка. В зерне ржи, пшеницы и овса при частоте встречаемости 63,6% (7/11), 40,0% (32/80) и 23,9% (11/46) количества эмодина не превышали 0,4 мг/кг. Доля контаминированных образцов соевых шротов и жмыхов была невысока (3 положительных образца из 13), но в двух из них уровни содержания вещества составили 0,2 и 0,9 мг/кг. Эмодин был найден в 4 из 7 образцов жмыхов и шротов из подсолнечника в количествах 0,02-0,03 мг/кг. Таким образом, применение ИФА, чувствительность которого оказалась значительно выше ранее предложенных хроматографических методов – 1-2 мг/кг (ТСХ) и 0,2-0,3 мг/кг (ВЭЖХ) (Danilovic, Naumovic-Stevanovic, 1965; Rai et al., 1975; Matthees, 1983) – позволило впервые получить подтверждение факта контаминации эмодином агропродукции, составляющей основу рационов продуктивных животных и птицы, а также выявить объекты и масштабы его распространения.

ИФА мицелия (сусловый агар, 25оС, 7 сут) показана способность образовывать эмодин изолятами следующих видов рода *Aspergillus*: *A.fumigatus* (10/10, 288-5000 нг/мл), *A.nidulans* (5/5, 4-126 нг/мл), *A.versicolor* (7/8, 4-100 нг/мл), *A.wentii* (9/13, 8-425 нг/мл), *A.glaucus* (3/6, 7-117 нг/мл), *A.niger* (5/10, 6-28 нг/мл) и *A.candidus* (1/10, 12 нг/мл). Изоляты *A.flavus* (10), *Monascus ruber* (3) и *Scopulariopsis sp.* (10) не были продуцентами.

## ЯДОВИТЫЕ ГРИБЫ ЗАПАДНОЙ ЧАСТИ ЦЕНТРАЛЬНОГО КAVKAZA

*Крапивина Е.А., Шхагапсоев С.Х., Геуков М.А.*  
*Кабардино-Балкарский государственный*  
*университет им. Х.М. Бербекова*  
*Нальчик*

В лесных экосистемах (от 500 до 1800 м н. ур. м.) с 1999 по настоящие время проводится планомерная инвентаризация видового состава макромицетов (Шхагапсоев, Крапивина, 2004), в настоящие время реестр содержит 542 вида, относящихся к 21 порядку, 59 семействам, 158 родам.

Ресурсное значение грибов состоит в употреблении их в качестве пищевых продуктов и лекарственных средств. Агарикоидные грибы являются ценным пищевым продуктом. В последнее время у населения возрос интерес к грибам. В связи с этим вероятность грибных отравлений резко возрастает и возникает необходимость мониторинга биоразнообразия ядовитых и съедобных дикорастущих грибов. Выявлены съедобные и ядовитые виды.

На основе собственных сборов и опроса грибников-любителей, выявлено 117 видов съедобных грибов из 48 родов и 28 семейств.

Ядовитые грибы в лесных экосистемах представлены 37 видами из 17 родов и 11 семейств, из них 6 видов являются условно съедобными (виды родов *Gyromitra* и *Helvella*, *Coprinus*).

Эколого-трофический анализ показал, что наиболее представлены микоризообразователи (симбиотрофы) 35,18%, также большим объемом характеризуется наличие сапротрофов опада и подстилки 27,07%, ксилотрофы составляют 21,62%, а видовой состав гумусовых сапротрофов 16,2%.

Грибы играют важную роль в лесных экосистемах, входя в состав гетеротрофного блока, включающиеся в круговорот веществ и энергии.

Среди ядовитых грибов наиболее опасна бледная поганка, токсины которой оказывают необратимое воздействие на печень и кроветворные органы человека и ее легко можно спутать со съедобными сыроежками и шампиньонами. Смертельная доза для человека 0,02-0,03 грамма ядовитых веществ, которые содержится уже в половине плодового тела гриба.

Ядовитые грибы отличаются по характеру воздействия на организм человека, что связано с их химическим составом. Обычно их можно разделить на 3 группы.

К первой группе причислены смертельно ядовитые грибы, в них содержатся ядовитые вещества – фаллоидин, фаллоин, фалоцин, фаллизин, и др. (*Amanita phalloides*, *A. virosa* и др.). Как показывают исследования, аманитины – это сложные химические соединения белковой природы. Токсическое действие аманитотоксинов происходит за счет ингибирования РНК-полимеразы типа II, фермента, участвующего в синтезе предшественника информационной РНК, ответственной за синтез внутриклеточного

белка. В первую очередь страдают гепатоциты и энтероциты, что и лежит в основе всех проявлений интоксикации.

Во вторую группу включают грибы, воздействующие на ЦНС. В состав этих грибов входят такие ядовитые соединения – мускарин, мускаринин – с нейротропным действием (*Amanita muscaria*, *A. pantherina*, *Clitocybe dealbata*, *Muscena rosea*). Проявляется развитием психических расстройств (депрессией, атаксией, оглушенностью) и галлюцинаций зрительных, слуховых и зрительно-слуховых, истероидным поведением, гиперкинезами.

Таблица. Таксономическая характеристика биоты ядовитых грибов Западной части Центрального Кавказа

Семейство видов	Род	Кол-во
Helvellaceae	Gyromitra	3
	Helvella	3
Agaricaceae	Agaricus	2
	Lepiota	2
Amanitaceae	Amanita	7
Coprinaceae	Coprinus	2
Entolomataceae	Entoloma	3
Hygrophoraceae	Hygrocybe	1
Strophariaceae	Hypholoma	2
Tricholomataceae	Clitocybe	2
	Muscena	1
	Tricholoma	1
Paxillaceae	Paxillus	2
Cortinariaceae	Cortinarius	1
	Hebeloma	1
	Inocybe	3
Ramariaceae	Ramaria	1
Всего:		37

К третьей группе относят грибы, употребление которых приводит к легким пищевым отравлениям, сопровождающимися нарушениями функций пищеварения (*Hypholoma fasciculare*, *H. laterium*). Рядом ученых к этой группе причислены «условно съедобные» грибы, в нашем случае это грибы рода *Gyromitra*, *Helvella*, *Coprinus*, для которых требуется предварительная обработка. И хочется отметить, что они могут стать ядовитыми при одновременном употреблении алкоголя. В литературе имеются сведения, что «коприновый» синдром развивается при употреблении *Clitocybe clavipes* и *Boletus luridus*.

Как показали наши исследования, отравления происходят от употребления грибов собственного сбора. Вместе с тем, с повышением спроса на грибы и расширением ассортимента, возникает необходимость специального надзора со стороны государственных учреждений за качеством грибной продукции, поступающей как на рынок, так и в другие места продажи дикорастущих видов съедобных грибов. В связи с этим, важным, в профилактики отравлений ядовитыми грибами, является усиление пропаганды правил сбора и использования съедобных грибов, опубликование популярных брошюр и постеров, проведения разъяснительной работы среди населения.

*Исследования выполняются при поддержке гранта РФФИ № 06-04-96675.*

## **СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД И ОСОБЕННОСТИ ЗАЩИТЫ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ОТ ПОРАЖЕНИЯ МИЦЕЛИАЛЬНЫМИ ГРИБАМИ**

*Кузнецова Л.С., Михеева Н.В., Нагула М.Н.,  
Казакова Е.В., Кудрякова Г.Х., Кузнецова Н.В.*

*Московский государственный университет прикладной биотехнологии*

Обеспечение максимальной сохранности пищевого сырья и готовых продуктов питания тесно связано с их защитой от негативного воздействия микроорганизмов. Ведущая роль в поражении поверхности сырья и пищевых продуктов принадлежит мицелиальным грибам. Именно эти микроорганизмы ухудшают товарный вид продукции, снижают её вкусовые качества, вызывают изменения белков, жиров, продуцируют высокотоксичные вещества и создают благоприятные условия для развития бактерий, в том числе и болезнетворных. Кроме того, потери только от повреждающего действия мицелиальных грибов по некоторым оценкам могут составлять от 15 до 25% от производимого в мире продовольствия. Однако, в ряде случаев убытки от потерь пищевой продукции отходят на второй план, уступая место вопросу её биологической безопасности, а именно – уменьшению и предотвращению биологического риска, связанного с воздействием на человека токсинообразующих микроорганизмов.

Современная научная литература располагает большим объемом информации, свидетельствующим, что мицелиальные грибы могут быть не только инициаторами микробной порчи продовольственного сырья и готовых продуктов питания, но и причиной тяжелых пищевых отравлений, микотоксикозов, микогенных аллергических заболеваний, широко распространенных в настоящее время микозов и т.д. В результате стремительного развития в XX веке новой отрасли науки – микотоксикологии убедительно показано, что вторичные метаболиты мицелиальных грибов – микотоксины характеризуются иммунодепрессивными, мутагенными и канцерогенными свойствами. Указанные продукты жизнедеятельности мицелиальных гри-

бов считаются одними из ведущих и чрезвычайно опасных загрязнителей продуктов питания и пищевого сырья. С микотоксинами в настоящее время связано до 36% заболеваний людей в развивающихся странах.

Существенный вклад в безопасность питания и здоровье людей может внести целенаправленное, квалифицированное и рациональное применение при производстве и хранении пищевой продукции специальных средств защиты, обладающих выраженным фунгицидным действием, предупреждающих поражение продуктов питания и продовольственного сырья мицелиальными грибами и предотвращающих таким образом наличие в них высокотоксичных микотоксинов.

В представленном сообщении рассматривается комплексный подход к пролонгированной защите продуктов питания от контаминации и поражения мицелиальными грибами, основанный на сочетании мероприятий по снижению микробной нагрузки в производственных помещениях с применением средств локальной защиты поверхности пищевых продуктов в процессе производства и хранения. Этот подход в настоящее время широко используется при производстве различного рода колбас, мясной деликатесной продукции, твердых сычужных сыров, не требует изменения существующих технологий их производства и позволяет получать продукты с гарантированным уровнем микробиологической безопасности.

Для обеспечения биологической безопасности пищевой продукции в проблемной лаборатории полимеров МГУ прикладной биотехнологии разработан широкий ассортимент комплексных пищевых добавок, специальных упаковочных материалов, в том числе и съедобных, обладающих выраженным фунгицидным эффектом, позволяющих предотвратить развитие нежелательных микроорганизмов, сохранить качество и увеличить срок годности разнообразных продуктов питания.

## **ПОДАВЛЕНИЕ ГРИБОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КОРНЕВЫХ ГНИЛЕЙ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР С ПОМОЩЬЮ ФУНГИЦИДОВ**

*Кузьмина Л.Ю.<sup>1</sup>, Струнина Т.Б.<sup>2</sup>*

*1 Институт биологии, Уфимский научный центр РАН*

*2 Уфимский государственный нефтяной технический университет*

Грибы самая многочисленная группа возбудителей инфекционных болезней растений. На территории России основными возбудителями корневых гнилей зерновых культур являются представители из 28 видов рода *Fusarium* и гриб *Bipolaris sorokiniana* Sacc. Большинство видов рода *Fusarium* обладают высокой степенью паразитизма и вызывают гниль корней, семян, плодов, сеянцев, увядание, задержку роста, бесплодие, пигментацию. Патогенные свойства грибов обусловлены также выделяемыми им токсинами

Концентрация и специализация зернового хозяйства способствует также повышению вредоносности почвенных (корневых) инфекций. Недобор урожая зерновых колосовых культур от корневых гнилей в основных зерносеющих районах России составляет ежегодно 12-17%, а в отдельных случаях 50% и более при одновременном ухудшении качества зерна.

Актуальной задачей современного земледелия считается поиск высокоэффективных и безопасных препаратов обладающих широким спектром действия против возбудителей болезней растений. Химический метод борьбы по объему применения занимает одно из ведущих мест в системе защиты растений, он эффективен и прост в применении.

В настоящей работе была поставлена задача сравнить по эффективности фунгициды контактного и системного действия для подавления корневых гнилей яровой пшеницы в опытах *in vitro*. Определения антигрибной активности фунгицидов к тест – грибам производили методом лунок.

Объектом исследований служили химические протравители: контактного действия ТМТД и системного — Азорол. В качестве тест – системы были выбраны 8 штаммов фитопатогенных грибов (*Bipolaris sorokiniana* Sacc. Subram. и *poda Fusarium*) из коллекций (ВКМ) и Института биологии УНЦ РАН.

При сравнении фунгицидного действия химических пестицидов Азорол и ТМТД на культуры почвенных микромицетов показало, что ТМТД активнее подавлял рост почвенных микромицетов. Если активность ТМТД принять за 100%, при концентрации препаратов в лунке 1%, то у препарата Азорол она составляла 58-64% на культурах грибов *B. sorokiniana*, *F. avenaceum* и 9-20% — *F. culmorum*, *F. gibbosum*, *F. moniliforme*, *F. solani*. Препарат ТМТД совершенно не подавлял культуры грибов *F. gibbosum* и *F. oxysporum*, тогда как Азорол успешно подавлял их даже при концентрации 0,1%. Препараты ТМТД и Азорол проявляли активность в дозах 1 и 0,1%, но не имели антигрибного действия в дозе 0,01%.

Таким образом, химический фунгицид системного действия Азорол, предназначенный в основном для борьбы против биотрофных инфекций — ржавчины, головни, мучнистой росы, ложной мучнистой росы, обнаруживал ранее не отмеченную для него способность подавлять рост грибов, вызывающих корневые гнили пшеницы, несмотря на то, что его действие и было менее эффективным по сравнению с фунгицидом контактного действия ТМТД.

## ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ОХРАТОКСИНА-А С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ

*Кузьмина Н.С.<sup>1</sup>, Ju-Mi Choe<sup>2</sup>,  
Won-Bo Shim<sup>2</sup>, Duck-Hwa Chung<sup>2</sup>, Еремин С.А.<sup>3</sup>*

*1 НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, Россия*

*2 Национальный Гёонгсанский университет, Чинджу, Южная Корея*

*3 Московский государственный университет  
им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Охратоксин А (ОТА) принадлежит к токсичным микотоксинам, образующимся в результате жизнедеятельности плесневых грибов рода *Aspergillus* и *Penicillium*. Наряду с выраженной нефротоксичностью, охратоксин А обладает гепатотоксичностью, тератогенными, канцерогенными и иммунодепрессивными свойствами. ОТА обнаруживается в зерновых культурах, кормах для животных, пиве, кофе, а также в сыворотке крови и почках человека. География распространения ОТА охватывает большинство стран и континентов, и, прежде всего страны с жарким и влажным климатом. В целях профилактики неблагоприятных последствий для здоровья человека введено официальное нормирование содержания ОТА в продуктах питания. В странах европейского сообщества предельно допустимая концентрация ОТА в зерновых и кофе составляет 5 мкг/кг, в продуктах на основе злаков – 3 мкг/кг, а в продуктах питания для детей не более 0,5 мкг/мл. Это обуславливает применение высокочувствительных методов определения охратоксина А, среди которых доминирующим является высокоэффективная жидкостная хроматография с флуориметрической системой детекции (чувствительность – 0,01-0,2 нг/мл). Однако этот метод требует наличия дорогостоящего оборудования, и специально подготовленного персонала. В последние годы интенсивно разрабатываются иммунохимические методы, такие как иммуноферментный анализ (ИФА). Высокая чувствительность ИФА, быстрота и простота выполнения операций сделали его наиболее распространенным при скрининговых исследованиях.

Целью нашей работы являлось создание высокочувствительного конкурентного иммуноферментного анализа ОТА на основе моноклональных антител (МкАт) и его оценка для контроля уровня микотоксина в реальных объектах.

Моноклональные антитела были получены по стандартной гибридомной технологии. Для иммунизации мышей использовали конъюгат ОТА с бычьим сывороточным альбумином (БСА) приготовленным по методу Langone & Vunakis. Аналогично синтезировали конъюгат охратоксина А с овалбумином (ОТА-ОВА) и пероксидазой хрена (ОТА-ПХ). МкАт к ОТА были очищены методом аффинной хроматографии на сорбенте сефароза-CL-4В-

белок А из сульфатных фракций асцитов. Титр антител, соответствующий 50%-ному связыванию с ОТА-ОВА, сорбированном на поверхности лунок планшета, по данным ИФА, составлял 4000. Перекрестная реактивность МкАт с охратоксином В составила менее 1%, а с другими микотоксинами (ниваленолом, дезоксиниваленолом, цитринином, афлатоксином В1, патулином, зеараленоном, Т-2 токсином) < 0,1%. Таким образом, полученные МкАт распознавали исключительно ОТА и были использованы для создания иммуноферментного теста.

При определении ОТА методом конкурентного ИФА в качестве твердой фазы использовали 96-луночные микропланшеты (Nunc, Дания), сенсibilизированные МкАт к ОТА в концентрации 1 мкг/мл. Предварительная сенсibilизация планшетов антимициновыми антителами с последующей сорбцией специфических антител повышала предел детекции ОТА с  $0,15 \pm 0,05$  нг/мл до  $0,06 \pm 0,02$  нг/мл. Для исключения интерференции матрикса экстракты анализируемых проб разводили в 10 раз ФСБТ-М. Для проведения анализа в лунки планшета одновременно вносили 50 мкл калибровочных проб (или образцов) и 100 мкл конъюгата ОТА-ПХ в рабочем разведении (1:20000 в ФСБТ). В качестве субстратно-хромогенной смеси использовали однокомпонентный раствор 3,3',5',5'-тетраметилбензидина. Учет результатов реакции проводили с помощью иммуноферментного анализатора фирмы BioRad (США) при длине волны 450 нм. Время проведения анализа составляло 30 мин при комнатной температуре. Градуировочные графики для анализа ОТА, приготовленные на основе экстрактов из образцов риса, ячменя, кормов для животных, были идентичны контрольному графику на основе проб в ФСБТ-М. Пределом определения (ПО) метода считали ту концентрацию, которая вызывала 20%-ное подавление связывания антител по сравнению с контролем (лунки, в которые не вносили антиген). Минимальная определяемая концентрация ОТА разработанным методом ИФА составила 3 мкг/кг в образцах зерна и кормах.

Экстракцию ОТА из образцов зерна и продуктов питания для животных проводили 60% водным раствором метанола с добавлением 1% хлорида натрия. Для анализа полученные экстракты разводили в 10 раз ФСБТ. Тест на «открытие» выполняли при конечной концентрации ОТА равной 5, 10 50 мкг/г образца. Степень извлечения ОТА из искусственно контаминированных образцов, содержащих микотоксин в концентрациях 5, 10, 50 мкг/мл, варьировала в диапазоне 80,8% – 111,3%. Анализ результатов определения ОТА в реальных образцах риса, ячменя и кормов для животных из различных регионов Южной Кореи, собранных в 2005 г., представлен в таблице.

По результатам ИФА 11% образцов риса и 27% ячменя содержат ОТА в небольшой концентрации, не было выявлено проб с высокой (выше ПДК) контаминацией ОТА. С другой стороны по данным ИФА, 3% образцов кормов содержали ОТА выше ПДК, а 11% содержали ОТА выше ПО. Эти положительные образцы кормов были дополнительно проанализированы методом ВЭЖХ. Среди 11 образцов, в которых по данным ИФА

концентрация ОТА была выше ПО, но ниже ПДК уровня, 2 образца были отрицательными, в двух содержание ОТА составляло 1,13 и 1,74 мкг/кг, а в остальных 7 образцах был найден ОТА, но в концентрации ниже 0,73 мкг/мл. В трех положительных образца по данным ИФА уровень микотоксина равнялся 15,12; 6,85; 8,23 мкг/кг, а по результатам ВЭЖХ – 1,62; 1,23 и 13,92 мкг/кг, соответственно. То есть, разработанный метод ИФА не дает ложно-отрицательных результатов, но примерно 2% результатов могут быть ложно-положительными. Выявленные отличия связаны с различной чувствительностью используемых методов ИФА и ВЭЖХ, различными способами экстракции ОТА и обусловлены влиянием компонентов матрикса при низких концентрациях микотоксина.

Таблица. Содержание ОТА в различных образцах злаков и корме для животных по данным разработанного метода иммуноферментного анализа

Объект анализа	Количество образцов			
	Всего	Отрицательных. Концентрация ОТА выше ПО, но ниже ПДК	Концентрация ОТА ниже ПО (0,73 мкг/кг) (3<[ОТА]<5 мкг/кг)	Положительных. Концентрация ОТА выше ПДК (5 мкг/кг)
Рис	80	71 (89%)	9 (11%)	-
Ячмень	55	40 (73%)	15 (27%)	-
Корм	101	87 (86%)	11 (11%)	3 (3%)

Несмотря на низкую контаминацию микотоксином различных злаков, нам представлялось целесообразным провести анализ ОТА в сыворотке крови человека. Предварительно были подобраны условия выполнения ИФА в образцах сыворотки. Была проанализирована 251 сыворотка человека от различных групп людей. В 5 образцах (2%) сыворотки человека был обнаружен ОТА в невысокой концентрации и средний уровень составил 0,43 (0,26 ч 0,71) нг/мл. Данная работа по определению ОТА в сыворотке крови челове требует дополнительных исследований и будет продолжена.

Таким образом, в результате проведенных исследований был разработан высокочувствительный метод иммуноферментного анализа ОТА, позволяющий проводить детекцию микотоксина в реальных образцах зерна, кормов и сыворотки крови человека без проведения специальной пробоподготовки.

*Работа выполнена в Korean Gyeongsang National University (в лаборатории профессора D.-H. Chung) при финансовой поддержке Ministry of Education and the Environmental Biotechnology National Core Research Centre (grant N 042-4-9) from KOSEF/MOST, Korea (BK 21 program).*

## ФУМОНИЗИН В1 КАК РЕГУЛЯТОР СТРЕССОВЫХ СИГНАЛОВ В КЛЕТКЕ

*Мартынова Е.А.  
ГУ НИИ питания РАМН  
Москва*

### Общие вопросы.

Стресс может быть вызван окислителями, тяжелыми металлами, лекарствами, вирусами, контактом с бактериями, резким повышением температуры и другими факторами. Согласно многочисленным литературным данным микотоксин Фумонизин В1 вызывает окислительный стресс. Ответ клетки на стресс – это комплексный процесс, в котором участвуют сигнальные белки, молекулярные шапероны, каспазы, протеасомы и другие молекулы, основной задачей которых является поддержание функциональной активности клетки в изменившихся условиях. Классическим механизмом, которым стрессовые факторы изменяют экспрессию стресс – зависимых генов, является передача сигналов от белков теплового шока (HSP – Heat Shock Proteins). В физиологическом состоянии белки теплового шока обнаружены во всех клеточных компартментах, где они контролируют фолдинг вновь образованных пептидов, предотвращают агрегацию белков, способствуют транспорту белков через мембраны, то есть выполняют функции молекулярных шаперонов. Многие стресс – зависимые белки принимают участие в регуляции иммунного ответа, в частности, сигнальный путь антиген-специфического рецептора Т-лимфоцитов –TCR/CD3 комплекса, ассоциирован с HSP-90. Другой белок – HSP-70, непосредственно связывается с протеинкиназой С (PKC) и регулирует сигнальные пути ростовых факторов. При стрессе, вызванном вирусами, в эндоплазматическом ретикулуме повышается экспрессия молекулярного шаперона GRP-78 (Glucose Regulated ER stress Protein) и снижается экспрессия GRP-58. HSP тесно взаимодействуют с молекулярными шаперонами других классов, в частности, в митохондриях. Этот факт может объяснить, как первоначальные перемещения митохондриальных белков и открытие пор влияют на активацию молекулярных шаперонов в эндоплазматическом ретикулуме.

### Известные эффекты Фумонизина В1.

Контаминация злаковых фумонизинами (токсинами, продуцируемыми микроскопическими грибами рода *Fusarium moniliforme, proliferatum, anthophilum, dlatini, napiforme, nuyatai* и другими родственными видами) является проблемой для многих стран мира, включая Россию. Среди фумонизинов группы В наиболее распространен фумонизин В1 (C<sub>34</sub>H<sub>59</sub>NO<sub>15</sub>, M721), который по своей структуре относится к сфинголипидам. Основной молекулярный механизм действия фумонизина В1 связан с нарушением синтеза церамида (N-Acyl-Sphingosine) – ключевой молекулы синтеза комплексных сфинголипидов,

ответственных за структурные и сигнальные функции в клетке. Фумонизин В1 блокирует активность церамидсинтазы, в результате в клетке накапливаются предшественники синтеза церамида – сфинганин и сфингозин. Другие механизмы действия фумонизина В1 связаны с изменением активности фосфолипаз. Мы впервые установили, что фумонизин В1 активирует нейтральную сфингомиелиназу плазматической мембраны лимфоцитов, обуславливает распад сфингомиелина и накопление определенного пула церамида [Мартынова и др., 1995]. По нашим данным [Мастернак и др., 2003] в нейтрофилах человека фумонизин В1 дозо-зависимо ингибирует уровень спонтанной и стимулированной зимозаном хемилуминесценции. Это происходит параллельно с угнетением функциональной активности клеток и снижением экспрессии рецепторов CD16. Мы впервые установили, что основной мишенью действия фумонизина В1 при апоптозе являются митохондрии. Ингибиторы митохондриального окисления (DNP и СССР) практически полностью блокируют апоптотные эффекты фумонизина на клетках K562 [Martinoва, 1999]. Однако многие эффекты фумонизина В1 нельзя объяснить только с точки зрения ингибирования синтеза церамида или влияния на процессы окисления в организме. Одним из альтернативных механизмов действия фумонизина В1 в клетке является его влияние на сигнальные пути стресса, ассоциированные с эндоплазматическим ретикулумом.

### **Регуляция экспрессии белков теплового шока Фумонизином В1.**

Стресс обуславливает экспрессию белков теплового шока и молекулярных шаперонов. Мы показали, что фумонизин В1 повышает экспрессию HSP-70 в макрофагах, нейтрофилах и цитотоксических лимфоцитах. Этот эффект носит бимодальный характер и зависит от стадии активации клеток иммунной системы. Нашими прежними опытами, проведенными на клетках HL-60, установлено, что эффекты фумонизина определяются фазой клеточного цикла [Мартынова и др, 2003]. Последние наши работы указывают на зависимость уровня экспрессии HSP в мононуклеарах под действием фумонизина В1 от фазы клеточного цикла. Известно, что в клетках млекопитающих через 24–72 часа после начала развития стресса повышается уровень церамида, синтезированного *de novo*, что необходимо для проведения сигналов HSP [Jenkins et al., 2002]. Нарушение синтеза церамида под действием фумонизина В1 должно, теоретически, прерывать сигналы HSP. Однако в наших экспериментах в диапазоне концентраций [2 нм – 10 мкм] в период от 2 до 6 часов фумонизин В1 повышал экспрессию HSP-70 – основного молекулярного шаперона эндоплазматического ретикула при стрессе. В связи с тем, что у фумонизина есть несколько известных мишеней в клетке, можно говорить об ином, чем ингибирование синтеза церамида, пути регуляции стресса.

### **Фумонизин В1 регулирует экспрессию каспазы 12 при окислительном стрессе.**

Ранее мы показали, что фумонизин В1 повышает активность каспазы-3 в клеточной линии HL-60 [Мартынова и др., 2003]. Каспазы – это цистеиновые аспаргат-специфичные протеазы, гидролизующие структурные и функциональные цитоплазматические и ядерные белки при апоптозе (программированной гибели клеток), а каспаза-3 – это основная эффекторная каспаза апоптоза. Каспаза-3 активирует IL-1 $\beta$ , который, в свою очередь, активирует нейтральную сфингомиелиназу плазматической мембраны, инициирует распад сфингомиелина и образование церамида. Все известные к настоящему времени сигнальные пути каспаз взаимодействуют с церамидом. В результате активации каспаз и сфингомиелинового цикла образуются вторичные мессенджеры, регулирующие активность сигнальных путей друг друга. При локализации первичного сигнала в эндоплазматическом ретикулуме ведущей является каспаза-12, которая инициирует собственный сигнальный путь, сопряженный с АТФ-зависимым протеолизом [Rao et al., 2002]. Мы показали, что введение мышам DBA фумонизина В1 повышает экспрессию каспазы-12 в макрофагах и нейтрофилах. При инкубации клеток тимуса и селезенки с фумонизином В1 *in vitro* экспрессия каспазы-12 повышается в некоторых субпопуляциях лимфоцитов. Это приоритетные данные, впервые полученные для фумонизина В1. В сигнальном пути каспазы-12 в эндоплазматическом ретикулуме участвуют молекулярные шапероны. GRP78 образует комплекс с каспазой-12 и каспазой-7, который диссоциирует только при повышении внутриклеточной концентрации АТФ. Этот сигнальный путь регулируется особым пулом белка Bcl-2, связанного с эндоплазматическим ретикулумом, который передает сигнал стресса на митохондрии.

### **Фумонизин В1 регулирует экспрессию Lon протеазы.**

При стрессе повышается активность АТФ-зависимой протеолитической системы, к которой относятся 26S протеасомы, а также AAA белки, включая Lon протеазу. В наших экспериментах установлено, что фумонизин В1 регулирует экспрессию Lon протеазы – уникального фермента, локализованного в митохондриях и пероксисомах клеток млекопитающих, который сопрягает процессы в эндоплазматическом ретикулуме с митохондриальными изменениями при апоптозе. Lon протеаза в клетках эукариот регулирует биогенез пероксисом [Kikuchi et al., 2004]. В клетках человека Lon протеаза катализирует деградацию окисленных и модифицированных белков матрикса митохондрий, шаперонов, регулирует сборку белкового комплекса внутренней мембраны митохондрий, регулирует экспрессию генов и интеграцию генома митохондрий. Нокаут гена Lon протеазы в линии фибробластов человека приводит к снижению массы митохондрий, переходу клеток на анаэробный метаболизм и к гибели клеток [Bota et al., 2005]. Мы установили, что действия фумонизина В1 на Lon протеазу в клетке зависит

от количества митохондрий в клетке, регулируется ингибиторами митохондриального окисления и универсальным ингибитором каспаз.

### **Выводы.**

В клетках иммунной системы Фумонизин В1 взаимодействует с сигналами стресса, проводимыми белками теплового шока и Lon протеазой, что зависит от стадии активации клеток, фазы клеточного цикла, а также регулируется ингибиторами митохондриального окисления и универсальным ингибитором каспаз.

## **СЪЕДОБНЫЕ ГРИБЫ КАК ИСТОЧНИК ПОСТУПЛЕНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ОРГАНИЗМ ЧЕЛОВЕКА (НА ПРИМЕРЕ МАКРОМИЦЕТОВ ЛЕСОПАРКОВ г. ТВЕРИ)**

*Медведев А.Г., Курочкин С.А., Алексеев В.Г.*

*Тверской институт экологии и права  
Тверской государственной университет*

В последнее время значительная доля населения города Твери употребляет в пищу съедобные грибы, приобретаемые на стихийных рынках или на улице у случайных продавцов. Возросший спрос на такую продукцию объясняется значительным сокращением вокруг города богатых грибными ресурсами лесных сообществ по причине массовых лесных пожаров, незаконных вырубок и использования территории под застройку. На фоне этого, людям, привыкшим употреблять в пищу дикорастущие съедобные грибы, сегодня гораздо проще и выгоднее приобрести их за небольшую сумму на рынках, чем самостоятельно собирать в природе.

Часто сборщики грибов собирают плодовые тела в городских лесопарках, на обочинах дорог и в других местах, где базидиомы могут накапливать токсичные химические вещества. Употреблять в пищу такие грибы сами сборщики не рискуют, зато охотно выставляют их на продажу. Ситуация усугубляется тем, что в последние годы вокруг Твери колоссально возросло количество несанкционированных свалок, где часто захоранивают опасные отходы, в том числе и ртутьсодержащие лампы.

Вместе с тем, хорошо известна способность грибов, произрастающих на загрязненных территориях, аккумулировать радионуклиды и тяжелые металлы. Большая площадь соприкосновения поверхности гиф с частичками субстрата обеспечивают способность грибного мицелия к накоплению избыточного количества загрязняющих веществ из окружающей среды. По сравнению с другими организмами грибы характеризуются относительно высокой устойчивостью к токсическому воздействию загрязняющих веществ. Это может объясняться хорошей способностью этих организмов к

регенерации, выделением органических кислот, способных нейтрализовать действие токсикантов и образовывать с ними комплексы, менее токсичные, чем свободные ионы, а также высокой сорбционной способностью клеточной стенки грибов. Т.е. высокие концентрации тяжелых металлов могут накапливаться в мицелии и базидиомах гриба, не причиняя грибному организму существенного вреда.

Люди, употребляющие в пищу плодовые тела таких грибов, рискуют получить высокие концентрации токсичных веществ. При этом острого отравления грибами может не наблюдаться, если полученная разовая доза токсиканта окажется не слишком большой, чтобы вызвать немедленную реакцию. Отсутствие острой реакции провоцирует потребителей на повторное приобретение опасного продукта, в результате чего количество тяжелых металлов в организме человека будет накапливаться.

Нами проводился анализ базидиом некоторых видов съедобных грибов, распространенных в лесопарковых массивах Твери и прилегающей к городу территории на наличие в них тяжелых металлов. Всего было исследовано около 200 образцов разных видов. Среди них *Suillus luteus*, *Leccinum testaceoscabrum*, *L. scabrum*, *Boletus edulis*, *Lactarius camphorates*, *L. mitissimus*, *L. torminosus*, *L. necator*, *Agaricus campester*, *Flammulina velutipes*, *Russula aeruginea* и др.

Исследование образцов осуществлялось рентген-флуоресцентным методом в режиме качественного элементного анализа с использованием РФС-спектрометра «Спек-троскан МАКС G» («Спектрон», Санкт-Петербург), оснащенного рентгеновской трубкой БХ-7 (Ag) и кристалл-анализатором LiF в лаборатории неорганической химии ТвГУ. Спектральный диапазон прибора составляет от 850 до 2000 миллиангстрем. Программа обработки данных обеспечивает в автоматическом режиме определение элементного состава образцов от Ca до U.

Методика подготовки проб включала измельчение базидиом в порошок в фарфоровой ступке. Далее из порошка на гидравлическом прессе готовили диски («таблетки») диаметром 6 мм и толщиной 2 мм. Затем диски помещали в кювету прибора, и записывали в спектры в диапазоне от 850 до 2000 миллиангстрем с шагом 5 миллиангстрем. Материал кюветы содержал примесь меди, поэтому линии Cu обнаруживаются во всех спектрах.

РСФ-спектры записывались в двух порядках отражения с целью исключения ошибок при значительных различиях в интенсивности спектральных линий элементов и возможности фиксации присутствия элемента в низких концентрациях. При неуверенном определении программой элементов в спектрах первого порядка отражения, спектры второго порядка отражения иногда оказывались весьма полезными.

Сравнительный анализа спектров образцов показал, что в грибах уверенно обнаруживаются высокие концентрации Rb, Br, Fe, Zn. Содержание этих агентов в базидиомах отличается от их содержания в почве биотопа. При этом во всех случаях наблюдается следующая устойчивая закономерность:

содержание железа резко уменьшается при переходе от почвы к базидиомам грибов, а для цинка ситуация противоположная. Что касается рубидия и сопутствующего ему брома, то в почве этот элемент либо не обнаруживается вовсе, либо обнаруживается в очень небольших количествах. В силу чего можно с уверенностью утверждать о селективной аккумуляции трутовыми грибами этого элемента.

Рубидий (Rb), химический элемент I группы периодической системы Менделеева; атомный номер 37, относится к щелочным металлам, в природе распространен рассеянно. Несмотря на сравнительно высокое содержание в земной коре (кларк  $1,5 \cdot 10^{-2}\%$  по массе, т.е. больше, чем у Cu, Pb, Zn и многих других металлов), собственных минералов рубидий не образует, зато постоянно присутствует в тканях растений, животных и грибов. Биологическая роль рубидия изучена слабо.

В ряде случаев отмечено присутствие различных концентраций Hg (около 20% образцов), Pb (8% образцов), Sr (5%). При этом свинец, стронций и ртуть в небольших количествах обнаруживаются как в некоторых образцах почвы, так и в базидиомах.

Серьезнейшую опасность, на наш взгляд, представляет широкое распространение в базидиомах ртути. Ртуть применяется в синтезе пластмасс, в электротехнической промышленности, в качестве фунгицидов для протравливания посевного материала. Ежегодно до 80 тыс. т. ртути в виде паров и аэрозолей выбрасывается в атмосферу, откуда она и ее соединения мигрируют в почву и в водоемы. В результате деятельности микроорганизмов в условиях повышенной влажности происходит метилирование ртути, которая в дальнейшем в виде метилртути включается в продвижение по трофическим путям наземных и водных экосистем. Как известно, именно шляпочные грибы являются основными аккумуляторами ртути в природных экосистемах.

Таким образом, употребление в пищу плодовых тел даже хорошо известных видов съедобных грибов, приобретаемых у частных продавцов, товар которых не проходит соответствующую санитарно-эпидемиологическую экспертизу, в современной экологической обстановке может представлять значительную угрозу здоровью человека.

## ГРИБНЫЕ ОТРАВЛЕНИЯ В АРМЕНИИ И ЯДОВИТЫЕ ВИДЫ РОДА *INOCYBE*

Нанагюлян С.Г.<sup>1</sup>, Басилисян М.С.<sup>2</sup>,  
Шахазизян И.В.<sup>1</sup>, Пароникян А.Е.<sup>1</sup>, Авакян А.А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ереванский государственный университет, кафедра ботаники

<sup>2</sup> Инспекция гигиены и противоэпидемиологического надзора  
Армения

В последние годы в Армении отмечается повышенный интерес к грибам как к продуктам питания. К сожалению, несмотря на широкое проведение разъяснительной работы среди населения о ядовитых свойствах некоторых грибов, в республике отмечается множество случаев отравлений.

Общеизвестно, что характер отравления зависит от химического состава и механизма действия конкретных токсинов грибов. Особенно чувствительны к действию токсинов дети, беременные женщины, старики, а также люди со слабым здоровьем, хроническими заболеваниями печени и желудочно-кишечного тракта или недавно перенесшие тяжелые заболевания.

По данным инспекции гигиены и противоэпидемиологического надзора Минздрава РА на 01.02.2007 г., в течение 2000-2006 г.г. в Армении зарегистрировано 202 случая острых пищевых отравлений шляпочными грибами. В результате пострадало 357 человек, из которых 15 человек скончались. Ежегодное количество пострадавших от отравления ядовитыми грибами далеко неодинаково.

Анализ статистических данных показал, что за последние четыре года наибольшее число отравлений было зафиксировано в 2006 г.: 52 случая, 84 пострадавших, из коих 7 – с летальным исходом, что по сравнению с предыдущими годами значительно возросло (в 2003 и 2005 г.г. – по 2 человека). В основном пострадало сельское население из различных регионов республики: в Лорийском регионе (марзе) Армении зарегистрировано 13 случаев, 18 пострадавших, в Котайкском – 11 и 20, в Араратском – 10 и 19, в Армавирском – 9 и 13 соответственно. Три случая отмечено в городе Ереване. Самый низкий показатель зарегистрирован в 2004 году (12 случаев, 16 пострадавших, без смертных случаев). По данным на 2005 г. самый высокий показатель отравлений зафиксирован в Лорийском регионе: 21 случай, 41 пострадавший. По одному случаю с летальным исходом отмечены в Котайкском и Вайоцзорском регионах.

В Армении зарегистрировано около 60 видов ядовитых грибов, причем почти все виды, за некоторым исключением, относятся к агарикоидным базидиомицетам (*Agaricales s.l.*). Наибольшее количество ядовитых видов относится к роду *Inocybe* (волоконницы). В условиях Армении зарегистрировано 17 видов ядовитых грибов рода *Inocybe* (*I. amethystina*, *I. asterospora*, *I. brunnea*, *I. calamistrata*, *I. cervicolor*, *I. cincinnata*, *I. cookei*,

*I. eutheles*, *I. fastigiata*, *I. flocculosa*, *I. geophylla*, *I. geophylla* var. *lilacina*, *I. godeyi*, *I. lacera*, *I. patouillardii*, *I. posterula*, *I. praetervisa*).

В мире насчитывается несколько сот видов рода *Inocybe*, из коих 41 вид обнаружен в Закавказье. В Европе все виды волоконниц (более 140) считаются ядовитыми. В результате исследования таксономического состава грибов рода *Inocybe* в Армении выявлено 29 видов. Многие виды этого рода относятся к ядовитым, встречаются и смертельно ядовитые виды. Большая их часть содержит токсичные вещества мускарин и мускаридин, причем их дозы у видов этого рода намного выше, чем в мухоморах. Некоторые виды являются источниками алкалоида – псилоцибина, который обладает галлюциногенным действием.

Нами был проведен микологический анализ случаев отравления грибами в некоторых регионах республики. По нашим данным отравления с летальным исходом были зарегистрированы при употреблении видов рода *Inocybe*: *I. patouillardii* (волоконница Патуйара), *I. geophylla* (волоконница землисто-пластинковая), *I. fastigiata* (волоконница волокнистая). Эти виды оказывают сильное воздействие на нервную систему. Все они относятся к смертельно опасным грибам, при приеме которых развивается судорожный синдром. Поскольку в грибах, вызывающих этот синдром содержится большее количество мускарина, чем в отдельных видах мухоморов, волоконницам соответствует также определение «мускариновый синдром». Как выяснилось из бесед с семьями пострадавших, во всех случаях отравление наступало при ошибочном употреблении ядовитых видов волоконниц со съедобными грибами.

Смертные случаи были зарегистрированы также после употребления *Tricholoma pardinum* (рядовка тигровая), с локальным возбуждающим действием и вызывающим желудочно-кишечные расстройства. При приеме этого гриба развивается резинOIDный синдром – синдром желудочно-кишечного тракта. Гриб относится к высокотоксичным видам, вызывающим тяжелое отравление.

Особого внимания заслуживает *Lepiota helveolla* (лепиота кирпично-красная), относящаяся к грибам с резко выраженным плазматоксическим действием. По литературным данным, при приеме этих грибов наблюдается тяжелое отравление, сравниваемое по степени тяжести с отравлением бледной поганкой. Приведенный вид относится к токсичным грибам, вызывающим фаллоидиновый синдром. В августе прошлого года был зарегистрирован смертный случай от употребления лепиоты кирпично-красной, которая является новым видом для Республики Армения. Отравления в республике носят сезонный характер. Известно, что при высокой температуре ядовитые качества грибов проявляются сильнее и случаи острых отравлений ядовитыми грибами встречались с наибольшей частотой в жаркие месяцы. Так, указанный гриб был собран в приусадебном участке, в самый жаркий период лета, когда температура воздуха превышала 40°C. В сентябре, когда

отмечается максимальное плодоношение грибов, в отдельные годы отравления приобретали массовый характер.

В остальных случаях основной причиной отравлений явилось употребление в пищу смеси съедобных и несъедобных видов. Отмечались случаи отравления и съедобными видами, которые при долгом и неправильном хранении содержали продукты разложения белков, пагубно влияющих на организм человека. Результаты опроса населения показали, что большинство отравлений является следствием употребления грибов собственных сборов, на приусадебных участках, а не приобретенных на рынках или у случайных лиц. В основном сборы проводились в сельской местности. Возможно, причиной отравления съедобными грибами становится обработка полей и приусадебных участков пестицидами и гербицидами, предназначенными для уничтожения насекомых-вредителей и сорняков, опасных для человека. Следует также отметить, что порой бывает трудно понять какой вид вызвал отравление, поскольку весьма часто определение того или иного вида приходится устанавливать лишь со слов пострадавшего или членов его семьи.

Таким образом, одной из самых распространенных причин отравлений грибами является незнание характерных особенностей их строения, в связи с чем ядовитые виды довольно часто принимают за съедобные. Во избежание грибных отравлений необходимо помочь населению научиться различать съедобные и ядовитые виды, усилить пропаганду правил сбора и использования съедобных грибов.

*Работа частично выполнена при поддержке NFSAT (grant ARB-1-3230-YE-04).*

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОХРАТОКСИНА А В СПЕЦИЯХ И ЛАКРИЦЕ МЕТОДОМ ТРЕХСТАДИЙНОГО ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

*Нестеренко И.С.<sup>1</sup>, Горячева И.Ю.<sup>2</sup>, Sarah De Saeger<sup>3</sup>,  
Еремин С.А.<sup>1</sup>, Carlos Van Peteghem<sup>3</sup>*

*1 Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова  
2 Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского  
3 Университет г. Гента, Бельгия*

Охратоксин А (ОТА) принадлежит к токсичным микотоксинам, образующимся в результате жизнедеятельности плесневых грибов рода *Aspergillus* и *Penicillium*. Наряду с выраженной нефротоксичностью, охратоксин А обладает гепатотоксичностью, тератогенными, канцерогенными и иммунодепрессивными свойствами. ОТА обнаруживается в зерновых культурах, кормах для животных, пиве, кофе, а также в специях, различных лекарственных растениях и биологических жидкостях. В странах европейского



Полученные в работе данные показали хорошее соответствие с результатами анализа этих образцов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масспектральной детекцией. Данный метод может быть применен для быстрого полуколичественного определения охратоксина в специях и лакрице.

## **ПОРАЖЕНИЕ ПАТОГЕННОЙ МИКОБИОТОЙ ДИКОРАСТУЩИХ РАСТЕНИЙ АРМЕНИИ, ИСПОЛЗУЕМЫХ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЧАЯ**

*Осипян Л.Л., Тер-Восканян А.П.*

*Ереванский государственный университет  
Армения*

В последнее время дикорастущие напитокочные, в частности чаевые растения, вновь стали привлекать внимание широких слоев населения. Доступность, экономичность и экологическая чистота этой продукции делают ее востребованной на мировом рынке. Цветочно-травяные и плодово-ягодные чаи не только утоляют жажду, но и обеспечивают организм многими биологически активными веществами, макро- и микроэлементами, минеральными солями. Они служат прекрасным лечебно-профилактическим средством. Для приготовления чая из дикорастущих растений используют свежие или засушенные цветки, плоды, листья, побеги, корни одного или смесь нескольких растений. Травяные смеси могут добавляться и к классическим культурным сортам черного и зеленого чая. Травяные чаи в настоящее время относятся к группе товаров повышенного спроса. Качество чаевого сырья зависит не только от безошибочного определения вида растения, но и от правильного учета экологии среды произрастания, оценки фитопатологического состояния, соблюдения технологии сбора, сушки и хранения сырья. Среди перечисленного оценка фитопатологического состояния вегетирующих растений требует определенных специализированных знаний.

В полевых условиях дикорастущие растения подвержены поражению грибными возбудителями болезней. Вызываемые ими заболевания, при массовом сборе растительного сырья, часто остаются незамеченными или нередко игнорируются сборщиком. Между тем к моменту сбора дикорастущего сырья многие возбудители успевают сформировать не только эндофитный или эктофитный мицелий, но и обильное спороношение. Известно, что большинство грибов является токсинообразователями. Несмотря на то, что это свойство недостаточно изучено у паразитных грибов, в частности облигатных паразитов, степень риска, связанного с потреблением контаминированного грибами чайного сырья, ничуть нельзя недооценивать. При этом следует учесть также, что, в отличие от технологии приготовления отваров и настоев, чаи меньше подвергаются термическому воздействию.

В период хранения при неблагоприятных условиях сырье травяных сборов поражается сапротрофными плесеньобразующими грибами, токсигенность которых достаточно известна, а деструкция растений настолько бывает очевидной, что отбраковка сырья становится необходимостью.

Флора Армении издревле богата популярными у населения дикорастущими видами растений чайного типа. Эти растения в последние годы приобрели ресурсную значимость и в большом количестве экспортируются в виде сырья или расфасованной чайной продукции.

Нами исследована поражаемость грибами 30 видов вегетирующих чаевых растений из 10 семейств. Значительная часть растений многофункциональна и имеет лекарственное значение, причисляется к группам пряно-ароматических, пряно-вкусовых или других напиточных растений.

Выявлено 114 патогенных грибов из классов *Ascomycetes*, *Basidiomycetes* и *Deuteromycetes*, повреждающих разные органы растений, используемые для приготовления чая. Больше всего выявлено анаморфных дейтеромицетных грибов – 79 видов. Из них 54 вида относится к классу *Coelomycetes*, для которых характерен эндомицелий и образование на листьях спороношения в виде прорывающихся через эпидермис подушечек или пикнид. Среди них наиболее часто отмечаются виды родов *Septoria*, *Phyllosticta*, *Gloeosporium*, *Cylindrosporium*. Относящиеся к классу *Hyphomycetes* 25 видов в основном, как и целомицеты, листовые эндопаразиты, вызывающие образование некротических пятен. Их спороношение формируется на поверхности пятен в виде конидиального налета, светлого для представителей семейства *Moniliaceae* и темного, характерного для семейства *Dematiaceae*. Часто встречающиеся виды представлены родами *Ramularia*, *Cercospora*, *Botrytis*.

Из сумчатых наибольшее распространение имеют облигатные эктопаразитные мучнисторосяные грибы порядка *Erysiphales* – 23 вида, массово поражающие все надземные части растений. Они покрывают поверхность растений в разной степени заметным мучнистым спороносным налетом. К вредоносным следует отнести все виды родов *Erysiphe*, *Golovinomyces*, *Podosphaera*, *Leveillula*.

Из базидиальных грибов вредоносны эндофитные ржавчинные грибы порядка *Uredinales*, подушковидные спороношения ранних стадий которых светло окрашены и располагаются в основном на нижней стороне листовой пластинки, отчего могут остаться незамеченными. Широко распространены и вредоносны виды родов *Puccinia*, *Phragmidium*, *Gymnosporangium*.

Таким образом, при сборе и сортировке дикорастущих чаевых растений следует обращать внимание на их зараженность патогенными грибами. Забота о безопасности популярных у населения травяных чаев из дикорастущих растений диктует необходимость исключения попадания в сырье грибных возбудителей болезней.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ОПАСНОСТИ ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ ДЕТЕЙ РАННЕГО И ДОШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА, СВЯЗАННОЙ С ФУМОНИЗИНАМИ

*Седова И.Б., Тутельян В.А.*  
ГУ НИИ питания РАМН  
Москва

Фумонизины В1 и В2 – микотоксины, продуцируемые микроскопическими грибами рода *Fusarium*. Установлено, что *Fusarium verticillioides* является основным доминирующим грибом микрофлоры зерна кукурузы и продуктов ее переработки, а фумонизины ФВ1, ФВ2 являются одними из приоритетных загрязнителей этих продуктов во всех странах мира.

В экспериментах на животных показано гепатотоксическое, нефротоксическое и нейротоксическое действие. Международное агентство по изучению рака классифицирует фумонизины, как соединения, потенциально канцерогенное для человека (группа 2В).

Исходя из широкой распространенности фумонизинов в зерне кукурузы, их опасности для здоровья населения, а также высокой чувствительности детей к ксенобиотикам, целью данной работы явилось изучение потребления детьми продуктов детского питания на основе кукурузы, а также оценка возможного поступления фумонизинов В1 и В2.

Количественное определение фумонизинов В1 и В2 проводили методом ВЭЖХ по «Методическим указаниям по определению фумонизинов В1 и В2 в кукурузе (зерно, крупа, мука) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии» (МУК 4.1.1962-05, М.: Роспотребнадзор, 2005). Предел обнаружения – 0,01 мг/кг для фумонизина В1 и 0,04 мг/кг для фумонизина В2.

В данном исследовании было изучено содержание фумонизинов в 129 образцах кукурузной крупы и муки; в 324 образцах продуктов детского питания на основе кукурузы отечественного производства и полученных по импорту.

Изучение фактического потребления детьми пищевых продуктов, основным компонентом которых является кукуруза, проведенное с помощью частотного метода путем анкетирования 166 детей разного возраста, проживающих в Москве и Московской области, показало достаточно частое потребление этих продуктов как детьми раннего (57%), так и дошкольного возраста (65%).

Полученные результаты выявили значительно более высокую частоту загрязнения кукурузной крупы и муки фумонизинами В1 и В2 – 95%, по сравнению с продуктами детского питания на основе кукурузы: для консервированных продуктов – 13%, для продуктов прикорма на основе кукурузы – 38% и для сухих завтраков – 59%. Среднее содержание суммы фумонизинов было также выше в кукурузной крупе и муке – 0,580 мг/кг и значительно ниже в продуктах прикорма на основе кукурузы – 0,280 мг/кг,

в сухих завтраках – 0,048 мг/кг и в консервированных продуктах – 0,026 мг/кг. Обнаружение высокой частоты загрязнения продуктов прикорма на основе кукурузы позволяет сделать вывод о целесообразности проведения контроля их на содержание фумонизинов.

На основании полученных данных о частоте и уровнях контаминации фумонизинами В1 и В2 продуктов детского питания и с учетом действующих рекомендаций по потреблению детьми этих продуктов были рассчитаны величины возможного поступления фумонизинов с продуктами детского питания для детей раннего и дошкольного возраста, которые не превысили величины условного переносимого поступления за неделю (УПНП), рекомендованного комитетом экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам – 14 мкг/кг массы тела. Расчетное недельное поступление фумонизинов с рационами детей составило в среднем для детей раннего возраста – 2,18 мкг/кг массы тела, для детей дошкольного возраста 0,87 мкг/кг массы тела, для детей раннего и дошкольного возраста, регулярно потребляющих продукты из кукурузы, – 3,47 и 1,28 мкг/кг массы тела. Однако в единичных случаях среди детей раннего возраста, «регулярных» потребителей больших количеств продуктов на кукурузной основе, недельное поступление фумонизинов может достигать уровня УПНП, что позволило отнести детей раннего возраста к группе риска.

Наличие у фумонизинов токсических и канцерогенных свойств (группа 2В), достаточно высокая частота контаминации этими токсинами продуктов детского питания на основе кукурузы, является объективным обоснованием необходимости введения гигиенического норматива (допустимого уровня) суммарного содержания фумонизинов В1 и В2 в молочных и безмолочных продуктах прикорма на основе кукурузы. При этом в целях гармонизации нормативной базы России с рекомендациями международных организаций целесообразно его введение на уровне 0,2 мг/кг. Проведенные расчеты показывают, что данный допустимый уровень суммарного содержания фумонизинов В1 и В2 надежно обеспечивает безопасность для здоровья детей.

На основании величины УПНП суммы фумонизинов В1 и В2, данных о потреблении детьми раннего возраста продуктов прикорма на основе кукурузы, а также среднего значения массы тела (МТ) ребенка был произведен расчет допустимого уровня (ДУ) фумонизинов в этих продуктах:

$$\text{ДУ} = \frac{\text{МТ} \times \text{УПНП}}{\text{П}} = \frac{10 \text{ кг} \times 0,014 \text{ мг/кг}}{0,28 \text{ кг}} = 0,5 \text{ мг/кг}$$

## ВИДОВОЙ СОСТАВ ГРИБОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БОЛЕЗНЕЙ ПШЕНИЦЫ В ЗАПАДНОЙ СИБИРИ

Скрипка О.В., Александров И.Н., Дудченко И.П., Сурина Т.А.

Всероссийский Центр карантина растений  
Московская область, Раменский район, п. Быково

Определение видового состава микроорганизмов, поражающих сельскохозяйственные культуры, является частью работы по изучению фитосанитарного состояния территории РФ, которая позволяет получить данные о разнообразии возбудителей болезней в различных регионах, их миграции и приживаемости.

С этой целью были исследованы 10 образцов семян товарной пшеницы, выращенной в степных районах Западной Сибири (Новосибирской, Омской областях, Красноярском крае) и Алтайском крае. Для выявления поверхностной и внутренней инфекции испытуемые пробы зерна анализировали методом смыва и центрифугирования, а также биологическим (посев семян на 2% картофельно-глюкозный агар и во влажной камере) и микроскопическим методами (Хохряков, 1976; Wiese, 1977; Zillinsky, 1983).

В результате проведенных опытов было обнаружено 25 видов грибов, относящихся к 18 родам, 6 семействам, 5 порядкам и 3 классам. Доминирующим комплексом грибов, встречаемым практически во всех образцах пшеницы явились патогены, вызывающие развитие черного зародыша *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler и *Cladosporium herbarum* (Pers) Lk., а также корневые гнили, вызываемые грибами родов *Helminthosporium sativum* P.King et Bakke и *Fusarium* sp., представленные пятью видами. Среди них основными патогенами были *Fusarium nivale* (Fr.) Ces и *Fusarium sporotrichiella* Bilai. Частое проявление возбудителей гельминтоспориоза, альтернариоза и фузариозов в образцах зерна, по видимому, связано с природно-климатическими условиями, способностью патогенов переносить резкие перепады температур, которые характерны для континентального климата этого региона. Установлено, что при сильном развитии гельминтоспориозной и фузариозной инфекций ухудшаются посевные качества семян, отмечается щуплость зерна, повышается содержание опасных для человека и животных микотоксинов, снижаются хлебопекарные качества муки.

В некоторых образцах пшеницы из Новосибирской, Омской областей и Алтайского края на картофельно-глюкозном агаре выявлены возбудители корневой гнили, вызываемые *Pythium* sp., *Sclerotium* sp. и *Curvularia lunata* (Wak.) Boed. В образцах семян из Омской области зафиксированы единичные споры стеблевой и бурой ржавчины (*Puccinia graminis* Pers. *P. triticina* Eriks.), а в образце из Красноярского края – пыльной головни (*Ustilago tritici* (Pers.) Jens.).

Помимо перечисленных патогенов были обнаружены *Aspergillus* sp., *Epicoccum tritici* P. Henn., *Epicoccum neglectum* Desm., *Fusidium viride* Grove,

*Penicillium sp.*, *Stemphyllium botryosum* Wallr., *Torula sp.*, *Verticillium sp.* и др. – грибы, приводящие к развитию разнообразных плесеней и пятнистостей, которые при благоприятных условиях могут существенно снижать хозяйственно-технологические качества зерна (Семенов, Федорова, 1984)

Таким образом, проведенные исследования показали, что патогенная микрофлора товарного зерна пшеницы характеризуется значительным видовым разнообразием.

## МИКОТОКСИКОЗЫ СВИНЕЙ

*Солдатенко Н.А., Фетисов Л.Н.<sup>1</sup>, Русанов В.А.<sup>1,2</sup>*

*1 ГНУ Северо-Кавказский зональный*

*научно-исследовательский ветеринарный институт, Новочеркасск*

*2 ГНОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону*

Среди множества заболеваний свиней диагностика микотоксикозов остается наиболее проблематичной.

В своей работе для определения микотоксинов в кормах мы используем ИФА, разработанный лабораторией микотоксикологии ВНИИВСГЭ. В течение 2004-2006 годов нами исследовано 493 пробы кормов из различных хозяйств Ростовской области, Краснодарского и Ставропольского краев. В 198 пробах кормов (40%) установили наличие микотоксинов превышающих ПДК (табл.).

Таблица. Результаты исследования кормов  
на наличие микотоксинов, в мкг/кг

N п/п	Наименование хозяйств	Количество микотоксинов в кормах				
		Т-2	Охра- токсин	Фумо- низин	Зеараленон	Стеригма- тоцистин
1	ООО «Экопром»	125,0-218,0	120,0-158,0	>5000,0	500,0-1655,0	240,0
2	СПК Родина	315,0-500,0	165,0-365,0		>5000,0	
3	СПК Зерносов- хоз Кущевский	131,0-397,0		1094,0- 5000,0	397,0	
4	Группа Агроком (ЗАО Батайское)		397,0	>5000		112,0-500,0
ПДК в мкг/кг		100,0	100,0	5000,0	1000,0	100,0

В четырех хозяйствах было установлено заболевание свиней с характерной клинической картиной. В ООО Экопром Зеленокумского района Ставропольского края длительное время причиной заболевания свиней дерматитами считали паразитарные заболевания, но проводимые лечебные обработки были не эффективны. Заболевание сначала было отмечено на маточном поголовье, затем на поросятах отъемышах, дорацивании и откорме.

В свиноводстве при клиническом проявлении заболевания симптомы микотоксикозов могут быть самыми разнообразными, поэтому в зависимости от правильности постановки диагноза зависит эффективность лечения. Особенно сложная дифференциальная диагностика гастроэнтероколитов, которые могут наблюдаться при заболевании свиней бактериальными инфекциями (колибактериоз, сальмонеллез, дизентерия, анаэробная энтеротоксемия, псевдомоноз).

У заболевших свиней на различных участках кожного покрова вначале отмечали гиперемию, точечные и обширные кровоизлияния с последующим некрозом пораженных участков, причем наиболее часто поражалась кожа ушных раковин, корня хвоста, промежности и ног, а дальнейшем все участки тела.

Животные были угнетены, кожный покров покрывался сплошными язвами, которые покрывались корками темного цвета. При обширных поражениях кожи свиньи погибали. У больных животных наблюдали диарею, иногда с примесью крови. Животные были угнетены, корм поедали плохо или полностью отказывались от него.

При патолого-анатомическом вскрытии павших животных установили наличие катарально-геморрагического и некротического гастроэнтероколита, дистрофические изменения в печени и почках, кровоизлияния в подкожной клетчатке. Кожные покровы с обширными зонами некроза, некроз ушных раковин и хвоста, а также вследствие сильной диареи выпадение прямой кишки.

Проведенные нами исследования показали значительное загрязнение кормов микотоксинами, наличие Т-2 с концентрацией, превышающей ПДК и ократоксина в пределах ПДК. Аналогичную картину наблюдали в СПК Родина Матвеево-Курганского района Ростовской области.

В ЗАО Батайское корма были загрязнены микотоксином зеараленоном и др. (см. таблица). Среди свиней этого хозяйства было отмечено нарушение функции воспроизводства у свиноматок, низкий процент оплодотворяемости, прохлосты, недоразвитие матки и яичников у молодых свинок. Среди молодняка 4-6 месяцев наблюдается набухание и покраснение наружных половых органов, повышенная возбудимость. Наличие в кормах ократоксина и скармливание таких кормов в течение длительного времени привело к недополучению 60% приплода и выбраковке более 50% свиноматок и ремонтных свинок.

Наличие микотоксинов в кормах, используемых для кормления животных в ООО Зерносовхоз Кушевский Краснодарского края, Т-2 токсина и фумонизина в количествах превышающих ПДК вызвало значительный падеж поросят в возрасте 2-4 мес. Клиническая картина: наличие диарей, некрозы ушных раковин хвоста и кожных покровов, выпадение прямой кишки. Характерным признаком отравления фумонизином считаем наличие массовых пневмоний и поражение печени у всех павших животных, даже среди поросят 3-5 дневного возраста наличие в печени очагов некроза. В

хозяйствах, где было установлено отравление свиней одним или несколькими микотоксинами на фоне характерных клинических признаков вследствие снижения иммунитета, отмечалось значительное увеличение заболевания сальмонеллезом, колибактериозом, псевдомонозом, дизентерией, пастереллезом и др. Иммунизация была малоэффективной.

Таким образом, нами установлено, что скармливание кормов, загрязненных различными микотоксинами, не только является причиной клинического проявления микотоксикозов, но приводят к значительному снижению резистентности организма и проявлению на фоне микотоксикозов других инфекционных болезней свиней.

## **МИКРОМИЦЕТЫ И ИХ ТОКСИНЫ В КОРМАХ СЕЛЬХОЗПРЕДПРИЯТИЙ ЮФО РОССИИ**

*Солдатенко Н.А., Фетисов Л.Н.<sup>1</sup>, Русанов В.А.<sup>1,2</sup>*

*1 ГНУ Северо-Кавказский зональный научно-исследовательский  
ветеринарный институт, Новочеркасск*

*2 ГНОУ ВПО Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону*

В данную работу вошли результаты микологических и микотоксикологических исследований, целью которых было изучение степени контаминации зерна пшеницы, ячменя, кукурузы и других кормов микромицетами, а также уровня загрязнения их токсинами.

Первичное выделение грибов из зерна и кормов осуществляли на сусло-агаре, видовую идентификацию их проводили с использованием традиционных методов (Билай, 1977; Билай, Коваль, 1988; Андреюк и др., 1980; Саттон, Фотергилл, Ринальди, 2001). Параллельно пробы зерна и кормов исследовали на содержание в них микотоксинов методом ИФА (Буркин, Кононенко, Ерошкин, 2002). В табл. 1 приведены результаты по соотношению основных таксонов микромицетов, выделенных из 10 видов кормов.

Таблица. Таксономическая структура микобиоты кормов

Вид корма	Исследовано проб (100%)	Процент проб, содержащих виды родов							
		<i>Aspergillus</i>	<i>Fusa-rium</i>	<i>Alter-naria</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Mucor</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Rhizopus</i>	<i>GlaDOSporium</i>
Ячмень	19	63	37	26	68	21	5	10,5	10,5
Пшеница	20	45	35	15	50	15	5	5	3
Кукуруза	30	36	63	3,3	17	46,6	0	10	0
Горох	9	78	55,5	11	100	33,3	0	0	11
Овес	10	0	100	100	0	0	0	0	0

Соя	15	60	20	60	60	0	20	20	40
Подсолнечник	6	33,3	16,6	0	16,6	50	0	0	0
Жмых подсолнечник	18	61	61	16,6	55	16,6	0	11	5,5
Дерть ячменная	13	77	92	31	25	23	0	7,6	0
Комбикорма	96	47	32	11,5	47	21	0	11,5	6,3

Данные таблицы 1 показывают, что преимущество в контаминации кормов (как цельного зерна, так и готовых кормов) принадлежит видам трех родов микромицетов: *Aspergillus*, *Fusarium* и *Penicillium*. Доминируют следующие виды микромицетов: *Aspergillus ustus*, *A.ochraceus*, *A.candidus*, *A.niger*, *A.oryzae*, *A.elegans*, *A.glaucus*, *A.flavus*, *A.clavatus*; *Fusarium sporotrichoides*, *F.graminearum*, *F.solani*, *F.moniliforme*, *F.gibbosum*, *F.lateritium*, *F.nivale*, *F.sambucinum*; *Penicillium cyclopium*, *P.brevi-compactum*, *P.notatum*, *P.chrysogenum*, *P.janthinellum*, *P.expansum* и *P.glaucum*.

Содержание микотоксинов определяли в 356 пробах кормов из 30 хозяйств Ростовской области, Краснодарского и Ставропольского краев (табл. 2).

Из таблицы 2 видно, что все виды представленных кормов содержат микотоксины:

43% от числа всех исследованных проб – два и более токсинов; 21% – Т-2 токсин в количествах от 100 до 800 мкг/кг; 7,5% – афлатоксин АВ1 в количествах 1,5 – 22,2 мкг/кг при МДУ 5 мкг/кг; 2,5% проб загрязнены стеригматоцистином в количествах от 100 до 500 мкг/кг.

Таблица. Частота контаминации кормов микотоксинами (МТ)

Вид корма	% полож. проб	% проб, загрязнен. 2 и более токсинами	% проб с превышением МДУ по отдельным МТ					
			Т-2 токсин	Афла-токсин АВ-1	Стеригматоцистин	Охра-токсин А1	Фумо-низин В1	Зеара-ленон
Пшеница	60	22	28	12	8	12	8	0
Кукуруза	73	24	27	12,5	0	27	21	9
Ячмень	90	14	38	10,5	0	28	5,3	0
Горох	50	25	12,5	0	0	37,5	0	0
Соя	83	50	0	16,6	16,6	33	0	0
Жмых подсолнечник	63	47	32	16	0	32	0	0

Отруби пшеничные	100	40	20	0	0	40	0	20
Дерть ячменная	66	50	16,6	8,3	0	16,6	8,3	16,6
Комбикорма для лактир. свиноматок	83	58	33	0	0	16,6	0	0
Комбикорма для поросят 0-2 мес.	72	64	4	8	4	40	0	16
Комбикорма для поросят старше 2 мес.	73	68	21	6	1,5	33	3	6
Комбикорма для холост. и супоросных свиноматок	93	60	26,6	0	0	6,6	0	13,3

Сравнивая эти данные с результатами исследований за 2004–2005 гг., мы отметили тенденцию к росту загрязнения кормов микотоксинами: возросло как общее загрязнение – 75% проб против 51% проб в 2005 году, так и загрязнение несколькими токсинами одного типа корма – 24% проб против 21% проб в 2005 году.

Анализ данных показывает, что зерновые (нативные) корма сильнее загрязнены фузариотоксинами (38% проб); и, напротив, готовые комбикорма в большей мере подвержены загрязнению аспергиллотоксинами (до 40% проб комбикормов содержат охратоксин А1).

Проводимые нами в течение ряда лет исследования свидетельствуют об опасном нарастании уровня присутствия микотоксинов в кормах сельхозпредприятий Южного федерального округа и необходимости принятия мер по своевременной их детоксикации.

## ТОКСИЧНОСТЬ НТ-2 ТОКСИНА В ОТНОШЕНИИ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA PSEUDOTROPICALIS* 44 ПК И АКВАРИУМНЫХ РЫБ *LEBISTIS* *RETICULATES*, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В МЕТОДАХ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

**Труфанов О.В.**

*Институт птицеводства УААН  
п. Борки, Харьковская область  
Украина*

НТ-2 токсин относится к трихотеценовым микотоксинам типа А и считается распространенным контаминантом зерна и зерновых продуктов. Нами показано, что на территории Украины в 2005-06 гг. НТ-2 токсином было загрязнено 19 и 4% исследованных образцов, соответственно [Труфанов О. В., 2005; Котик А. Н. и др., 2006]. В странах Евросоюза НТ-2 токсин был найден в 14% исследованных образцов ( $n = 3032$ ) [Schothorst R. С., van Egmond H. P., 2004], в России – в 7% ( $n = 1500$ ) [Тремасов М. Я. и др., 1997]. Для определения общей токсичности и загрязненности зерна и кормов микотоксинами, в том числе и НТ-2 токсином, используют дрожжи *Candida pseudotropicalis* 44 ПК и аквариумных рыб *Lebistis reticulates*. Однако чувствительность этих тест-организмов к НТ-2 токсину не была изучена.

Целью работы было определить чувствительность дрожжей *C. pseudotropicalis* 44 ПК, с помощью которых идентифицируют трихотеценовые микотоксины типа А биоавтографическим методом [Котик А. Н. и др., 2005], и рыб *L. reticulatus*, используемых в «Методике определения токсичности фуражного зерна, продуктов его переработки и комбикормов» [Курманов И. А., 1980], к НТ-2 токсину.

Было сформировано 10 экспериментальных и 1 контрольная группа рыб по 9-13 особей 8-недельного возраста. Каждую группу помещали в емкость с подготовленной водой, содержащей НТ-2 токсин в концентрации от 1 до 10 мкг/мл с шагом изменения концентрации 1 мкг/мл; вода для контрольной группы НТ-2 токсин не содержала. По прошествии 24 часов регистрировали процент погибших особей в каждой группе и вычисляли среднюю смертельную концентрацию (CL50) по методу Спирмена-Кербера.

Для изучения чувствительности *C. Pseudotropicalis* 44 ПК к НТ-2 токсину определяли зависимость оптической плотности суспензии дрожжей от его концентрации, а также, с целью сравнения, от концентрации Т-2 токсина и Т-2 тетраола. Суспензию *C. pseudotropicalis* 44 ПК высевали на жидкую питательную среду (сусло), содержащую Т-2 токсин, НТ-2 токсин или Т-2 тетраол в концентрациях 0,008-1, 0,01-10 и 0,1-100 мкг/мл, соответственно; контрольная среда не содержала микотоксинов. Культуры инкубировали при 32°C в течение 20 часов и измеряли оптическую плотность при длине волны

450 нм против стерильной среды. Строили кривые зависимости оптической плотности от концентрации микотоксинов.

Средняя смертельная концентрация НТ-2 токсина в воде при экспозиции 24 часа составила для рыб  $3,64 \pm 1,20$  мкг/мл ( $p < 0,05$ ), что в 60 раз выше, чем CL50 Т-2 токсина ( $0,060 \pm 0,002$  мкг/мл) [Рухляда, 1993]. Интересно, что значения средней смертельной дозы НТ-2 токсина и Т-2 токсина для цыплят (а также мышей и крыс) при различных типах введения различаются не более чем в 2 раза [Thompson W. L., 1986]. Причина различия в острой токсичности Т-2 токсина и НТ-2 токсина для рыб и цыплят, вероятно, заключается в том, что рыбы подвергались воздействию микотоксинов в течение суток при постоянной концентрации токсинов в среде, а цыплята – однократному воздействию, после которого, согласно [Schlatter, 2004], Т-2 токсин в течение короткого времени трансформируется в НТ-2 токсин, т. е. острый эффект Т-2 был обусловлен действием НТ-2 токсина.

Зависимость оптической плотности суспензий дрожжей от концентрации микотоксинов в питательной среде имела нелинейный характер. При изменении концентрации в начальном диапазоне оптическая плотность экспоненциально возрастала, достигая максимального значения при концентрациях 0,016, 0,1 и 0,8 мкг/мл для Т-2 токсина, НТ-2 токсина и Т-2 тетраола, соответственно. При дальнейшем увеличении концентрации микотоксинов оптическая плотность снижалась также по экспоненциальному закону. Поскольку известно, что оптическая плотность суспензии дрожжевых клеток прямо зависит от их концентрации [Engler K. H. et al., 1999], то можно предположить, что в низких концентрациях исследованные микотоксины стимулировали рост дрожжей. Уменьшение оптической плотности в 2 раза относительно контрольной среды наблюдалось при концентрации Т-2 токсина 0,22 мкг/мл, НТ-2 токсина 2,2 мкг/мл и Т-2 тетраола 56 мкг/мл (отношение концентраций – 1:10:250). Таким образом, исследованные тест-организмы чувствительны к НТ-2 токсину в одинаковой степени. Однако значительно более высокая чувствительность к Т-2 токсину делает затруднительной оценку вклада НТ-2 токсина в токсичность исследуемого образца при токсикологическом анализе, в связи с чем необходимо усовершенствовать указанные выше методы.

## ВОЗБУДИТЕЛИ КАГАТНЫХ ГНИЛЕЙ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ И МЕРЫ БОРЬБЫ С НИМИ

Широков А.В.<sup>1</sup>, Кудаярова Р.А.<sup>2</sup>, Кузнецов В.И.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Институт биологии УНЦ РАН

<sup>2</sup> НВП «Башинком»

Уфа

Одной из наиболее важных областей жизнедеятельности человека, где происходят систематические исследования почвенных микромицетов, и в первую очередь, фитопатогенных, является сельскохозяйственное производство. Почвенные грибы способны оказать негативное влияние на хозяйственную деятельность человека.

В основном это влияние сказывается в потере части урожая, изменение популяции ризосферных микромицетов в сторону преобладания фитопатогенных видов, значительные потери при хранении и транспортировке готовой продукции и сырья.

В настоящее время в растениеводстве России происходят существенные изменения структуры посевных площадей, насыщение севооборотов техническими культурами (в частности сахарной свеклой). При этом на фоне нарушения агротехники, изменения климатических условий меняется комплекс почвенных микромицетов, что приводит к усилению развития и распространности болезней сахарной свеклы.

Одной из самых острых проблем, возникающих при культивировании сахарной свеклы с целью получения сахарного песка, является проблема сохранности корнеплодов при хранении. При этом большое количество свеклы теряется из-за т.н. кагатных гнилей, при этом корнеплоды не только теряют сахаристые вещества, но и технологически становятся непригодными к переработке.

Большую роль в этом процессе играют бактерии родов *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Xantomonas*, а также некоторые виды *Bacillus*. Деятельность этих фитопатогенных бактерий приводит к обширным очагам поражения корнеплодов сахарной свеклы (мокрые гнили), в данных местах фиксируется увеличение температуры на 10-15°C по сравнению с температурой окружающей среды. Данные явления имеют место в основном в течение первых 2-3 недель после закладки корнеплодов в кагаты, в дальнейшем, с понижением температуры окружающей среды деятельность бактерий снижается. На последующем этапе в процесс разложения корнеплодов активно включаются фитопатогенные и паразитические микромицеты. На ранних сроках хранения свеклы они в силу своего более медленного метаболизма не могут конкурировать с бактериями, но по мере снижения активности последних, в силу большей устойчивости при низких температурах начинают доминировать в процессах гниения сахарной свеклы. Наибольшую опасность в этом

плане представляют виды *Fusarium*, *Alternaria*, *Mucor*, *Penicillium* и некоторые другие.

Эффективной мерой борьбы с возникновением кагатных гнилей, наряду с такими факторами как правильное внесение минеральных и органических удобрений, соблюдение агротехники и севооборота, протравливание семян и применение гербицидов, может стать применение различных микробиологических препаратов для биоконтроля фитопатогенных микромицетов и бактерий в почве. В настоящее время в лаборатории прикладной микробиологии Института биологии УНЦ РАН проводятся исследования эффективности применения нескольких микробных препаратов для повышения сохранности сахарной свеклы в кагатах. В ходе экспериментов было показано, что наибольшей активностью в подавлении фитопатогенных микромицетов и бактерий, обладает штамм *Bacillus subtilis* 26Д – основа препарата «Фитоспорин-М», представляющего собой жидкий или лиофилизированный продукт, содержащий  $\sim 10^9$  КОЕ/г в виде спор.

Эффективность данного препарата может быть увеличена за счет комплексной обработки как вегетирующих растений сахарной свеклы, так и корнеплодов, закладываемых на хранение в кагаты.

## РАЗРАБОТКА ПОЛЯРИЗАЦИОННОГО ФЛЮОРЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА ДЛЯ ЭКСПРЕСНОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИКОТОКСИНА ЗЕАРАЛЕНОНА

*Яковлева М.Е.<sup>1</sup>, Won-Bo Shim<sup>2</sup>, Еремин С.А.<sup>3</sup>*

*1 Московская Медицинская Академия имени И.М. Сеченова,  
Москва, Россия*

*2 Национальный Гёонгсанский университет, Чинджу, Южная Корея*

*3 Московский Государственный Университет  
имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия*

Зеараленон, продукт жизнедеятельности микроскопических грибов рода *Fusarium*, является представителем обширной группы экотоксикантов природного происхождения. Он повсеместно обнаруживается в пшенице, ячмене, овсе, ржи и других видах зерновой продукции. Благодаря устойчивой структуре зеараленон не разрушается в процессе хранения, под воздействием высоких температур. Таким образом, микотоксин с комбикормом и продуктами питания в неизменном виде поступает в организм животных и человека и вызывает у последних ряд токсических эффектов. Для повышения безопасности агропродукции и снижения риска возникновения фузариозов были установлены предельно допустимые нормы содержания зеараленона в различных видах сырья, а также разработаны методы его обнаружения

и количественной оценки. Следует особо отметить чувствительные и высокоспецифичные иммунные методы анализа. В настоящее время они вытесняют разработанные ранее дорогостоящие, длительные и технически сложные хроматографические методы. Однако, использование РИА ограничено из-за опасного воздействия радиации на человека, а применение ИФА требует стадий очистки и инкубации. Этих недостатков лишен поляризационный метод анализа (ПФИА), разработка которого и являлась целью нашей работы. ПФИА – гомогенный метод анализа, основанный на конкуренции определяемого вещества и вещества, меченого флюоресцентной меткой, за центры связывания специфических антител. В отсутствии определяемого антигена в образце поляризации флюоресценции имеет максимальное значение и снижается при повышении концентрации антигена.

Для определения зеараленона методом ПФИА была подобрана оптимальная пара иммуореагентов. Синтезированные трейсеры (конъюгаты зеараленона с несколькими флюоресцентными метками, отличающимися длиной углеродного мостика), были протестированы на предмет связывания со специфическими моноклональными антителами. Рабочая концентрация трейсера должна иметь минимальное значение поляризации флюоресценции, но в 10-20 раз выше значения поляризации фона – боратного буфера. В нашем случае она составила 2000. Наиболее специфическое связывание и высокий титр антитела дали с конъюгатом, меченым этилендиаминтиокарбамилфлюоресцеином. Рабочее разведение антител 1:1000 было выбрано равным 70% от максимального связывания трейсера с антителами и использовано при построении градуировочного графика. Для этого 50 мкл стандартных растворов зеараленона в концентрациях 0, 1, 3, 10, 30, 100, 300, 1000, 3000, 10000 нг/мл, приготовленных в метаноле, были смешаны с 500 мкл трейсера рабочей концентрации и 500 мкл антител в разведении 1:1000. Уменьшение поляризации флюоресценции при повышении концентрации зеараленона в стандарте детектировали при помощи прибора TDx фирмы Abbott. С целью оптимизации метода мы изучили влияние различных факторов на реакцию антиген-антительного взаимодействия. Для этого были построены градуировочные графики со стандартными растворами, приготовленными в воде, метаноле и смеси метанола с водой в соотношении 60:40. Хотя при увеличении концентрации органической фазы происходит тушение поляризации флюоресценции, 60%-е содержание метанола в аликвоте стандарта может быть использовано при дальнейшей экстракции зеараленона из реальных образцов зерна. Также было показано, что увеличение разведения антител более 1:1000 нецелесообразно, так как при этом происходит уменьшение точности определения концентрации микотоксина.

Предел обнаружения ПФИА для зеараленона составил 80 нг/мл, что несколько ниже по сравнению с другими иммунными методами. Тем не менее разработанный метод позволяет определять концентрацию микотоксина на уровне ПДК и выше, причем для анализа 10 образцов требуется всего 10 минут. Таким образом, дальнейшая апробация метода позволит

проводить экспрессное определение микотоксина после прямой экстракции его смесью метанола с водой (60:40) в объектах ветеринарно-санитарного и экологического надзора и обеспечит проведение эффективного микотоксикологического контроля.

*Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ и Фландрии 05-03-34828-МФ\_а «Стратегия экспрессной детекции микотоксинов в пищевых продуктах».*

## Глава 4

---

# **МИКОГЕННАЯ АЛЛЕРГИЯ. ГРИБЫ В ПАТОГЕНЕЗЕ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЧЕЛОВЕКА**

## РОЛЬ ГРИБКОВОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ У ДЕТЕЙ В ФОРМИРОВАНИИ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ И АЛЛЕРГИЧЕСКОГО РИНИТА.

*Караулов А.В., Сидоренко И.В., Купцова Н.В., Панкова Г.Ф.*

*Кафедра клинической аллергологии и иммунологии*

*ММА им. И.М. Сеченова*

*Детская инфекционная больница №12*

*Москва*

### **Цель:**

Оценить значение грибковой сенсibilизации в формировании бронхиальной астмы и аллергического ринита у детей.

Материалы и методы: За период 2005-2006 год были обследованы 46 детей с бронхиальной астмой и аллергическим ринитом. Возраст пациентов составлял от 2 до 16 лет (средний возраст составил 9,3). Из этой группы 30 детей были с тяжелым течением бронхиальной астмы, из них у 26 заболевание сочеталось с аллергическим ринитом, а у 11 детей и с атопическим дерматитом распространенной формы. У 11 детей наблюдалась бронхиальная астма средней тяжести, у 5 пациентов аллергический ринит.

Отбор пациентов для проведения кожных проб с грибковыми аллергенами и определения специфических IgE антител к аллергенам плесневых грибов в сыворотке крови осуществлялся после анализа анамнеза. Особое внимание обращалось на жилищно-бытовые условия проживания: проживание на первом и последнем этажах, повышенная влажность в помещении, наличие плесени в квартире, время возникновения приступов (ранняя весна – синдром таяния снега, поздняя осень – во время листопада), обострения заболевания в сырую погоду, ночные и предутренние приступы кашля.

Всем пациентам были выполнены следующие клинико-лабораторные исследования:

- Оценка уровня общего IgE в сыворотке крови.
- Оценка уровня специфических IgE антител к аллергенам плесневых грибов: *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum*, *Alternaria tenuis*.
- Постановка кожных проб с небактериальными аллергенами используя методы: прик-тест с аллергенами *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium herbarum*, *Penicillium notatum*, *Alternaria tenuis*, *Candida albicans* и внутрикожные пробы с 4 лет, используя диагностический тест для внутрикожных проб «Смесь плесеней наружных».

•

### **Результаты.**

Из 46 пациентов у 42 были выявлен высокий титр специфических IgE-антител в сыворотке крови к плесневым грибам, у 36 пациентов в воз-

расте от 3–16 лет положительные результаты при постановке кожных проб с грибковыми аллергенами.

Из 30 пациентов с тяжелым течением бронхиальной астмы у 22 клинико–лабораторные данные (высокий титр специфических IgE–антител и положительные результаты кожных проб с аллергенами плесневых грибов) четко коррелировали с клиническими проявлениями.

У одиннадцати пациентов при постановке кожных проб методом «прик-тест» были получены отрицательные результаты, данной группе вводился аллерген из смеси плесневых грибов внутрикожно в дозе 0,01 мл. Результаты оценивались в течение суток по размерам папул. Из 11 пациентов у 8 размер папул составлял от 5–10мм, из них у 5 отмечались местные реакции в виде опухания и разлитой гиперемии в месте укола.

### **Выводы.**

По данным результатам в 80% случаях данные анамнеза четко коррелировали с клинико–лабораторными данными у детей с наличием сенсибилизации к плесневым грибам. У 67% детей наблюдалось тяжелое течение бронхиальной астмы в сочетании с персистирующим аллергическим ринитом, у 15 % детей проявления атопического дерматита не были связаны с наличием аллергии к плесневым грибам.

Таким образом, как показали результаты наблюдений, важное место в формировании тяжелого течения бронхиальной астмы, круглогодичного аллергического ринита, у детей является наличие сенсибилизации к аллергенам плесневых грибов.

## **РУМИКОЗ В ТЕРАПИИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА**

*Митрофанов В.С.*

*НИИ медицинской микологии им. П.Н Кашикина, СПбМАПО  
Санкт-Петербург*

Аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) является следствием комбинированной аллергической реакции I, III и IV типов в ответ на колонизацию дыхательных путей плесневыми грибами рода *Aspergillus*. В клинической практике АБЛА обычно рассматривают как особую форму бронхиальной астмы (БА). Частота выявления АБЛА в группе больных БА оценивалась по отдельным выборкам, и в Москве и Петербурге составляет около 4% всех больных астмой, а в группе пациентов с тяжелой астмой до 30% (Кулешов А.В., 2005). АБЛА рассматривается как возможный вариант в группе больных тяжелой и плохо контролируемой БА при наличии эпизодов эозинофилии, высокого (более 416 ед/мл) уровня общего IgE. При АБЛА могут иметь место летучие инфильтраты в легких и центральные бронхоэктазы. Диагноз подтверждает выявление специфических IgE и IgG

к *Aspergillus fumigatus* (*A. fumigatus*). Для снятия обострения АБЛА обычно используют системные кортикостероиды (КС) в дозе 0,5-1 мг/кг. Поскольку патогенетическим фактором АБЛА предположительно является колонизация грибами дыхательных путей, обычно больным АБЛА проводят антифунгальную терапию, хотя роль ее в лечении АБЛА до сих пор дискутируется. Известно только два рандомизированных исследования, подтверждающих эффективность итраконазола для лечения АБЛА (Wark P.A. et al., 2003).

**Задачи исследования:** определить эффективность терапии АБЛА итраконазолом.

Материалы и методы: антифунгальная терапия была проведена 9 больным АБЛА в возрасте от 17 до 58 лет (6 женщин и 3 мужчины). Пациенты получали отечественный препарат РУМИКОЗ (итраконазол) в дозе 200 мг в сутки (в один прием утром во время завтрака) в течение 12 недель с последующей оценкой клиники заболевания, уровня общего IgE и специфических IgE и IgG к *A. fumigatus*. В группу сравнения вошли 10 больных АБЛА (5 женщин и 5 мужчин) в возрасте от 24 до 48 лет, не получавших терапии итраконазолом.

Результаты: уменьшение симптомов БА отмечали у 8 из 9 пролеченных пациентов и в этих случаях течение БА можно было определить как контролируемое. В одном случае симптомы тяжелой гормонозависимой БА сохранились. Снижение уровня общего IgE выявлено у 8, из них у 3 пациентов отмечалась нормализация этих показателей. Отмечалось также снижение уровней специфических IgE и IgG к *A. fumigatus*, однако влияние терапии на уровень IgG к *A. fumigatus* было более выражено, что может говорить о том, что именно этот показатель в большей степени отражает колонизацию грибами дыхательных путей. У 3 пациентов удалось полностью отменить системные КС пациентам, ранее получавших их постоянно. У одного пациента 45 лет даже при нормализации лабораторных показателей полностью отменить системные КС не удалось (диагноз: АБЛА стадия гормонозависимой бронхиальной астмы). Трое пациентов получали системные КС для купирования симптомов обструкции перед началом лечения итраконазолом. Двое пациентов вообще не получали системных КС, а лишь ингаляционные КС в средних дозах, однако следует отметить, что при наличии инфильтратов в легких показано назначение системных КС. В группе сравнения у пациентов, не получавших лечение итраконазолом, произошло лишь некоторое снижение уровня общего IgE, ни в одном случае до нормы, что связывается с применением системных КС, также отмечалось снижение уровня специфических IgG к *A. fumigatus*. Значительного влияния на уровень специфических IgE в этой группе больных не выявлено.

Выводы: лечение РУМИКОЗОМ в дозе 200 мг в сутки в течение 12 недель может быть использовано в патогенетической терапии АБЛА с получением достоверной клинического улучшения. Оценка уровня общего IgE и специфических IgG к *A. fumigatus* могут быть использованы для лабораторной оценки эффективности антифунгальной терапии у больных АБЛА в большей степени, чем специфических IgE.

## КЛИНИКО-ПАРАКЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЛЕРГИЧЕСКОГО БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА

**Павленко Т.Г.**

*Челябинская Государственная Мед. Академия*

Аллергический бронхолегочный аспергиллез (АБЛА) – состояние гиперчувствительности легких, индуцируемое грибами рода *Aspergillus*. У 7-14% пациентов со стероидозависимой астмой обнаруживаются признаки АБЛА (А.О. Soubani, 2002). По данным А.В. Кулешова, А.Г. Чучалина (1997) АБЛА встречается у больных бронхиальной астмой в 17-35%. Несмотря на то, что частота выявления случаев этого заболевания возрастает во всех странах, у практических врачей вызывает затруднение диагностика заболевания, что связано с недостаточно разработанными вопросами клинической диагностики и низкой осведомленностью врачей с данной патологией, что подтверждают наши наблюдения. Перечень диагнозов, с которыми наблюдались больные обследуемой группы до верификации диагноза АБЛА представлен в табл. 1

Таблица 1. Первоначальный диагноз до верификации  
аллергическим бронхолегочным аспергиллезом.

Диагноз	Число больных	
	Абс.	В дол. един
Бронхиальная астма	12	0,27
Бронхиальная астма, хронический бронхит	13	0,29
Бронхиальная астма, пневмония	2	0,04
Бронхиальная астма, микоз	1	0,02
Хронический бронхит	1	0,02
Хронический бронхит, пневмония	5	0,11
Хронический бронхит, силикоз	1	0,02
Хронический бронхит, субфебрилитет неясного генеза	1	0,02
ХОБЛ, бронхообструктивный синдром	2	0,04
ХОБЛ, бронхоэктатическая болезнь	2	0,04
Пневмония, гиперэозинофильный синдром	1	0,02
Двусторонняя пневмония	1	0,02
Интерстициальная болезнь неясной этиологии	1	0,02
Субфебрилитет неясного генеза	2	0,04

**Цель:** изучить клиническую и лабораторную симптоматику аллергического бронхолегочного аспергиллеза (АБЛА).

**Результаты.** Обследовано 45 больных с признаками АБЛА. Средний возраст больных составил  $42,18 \pm 2,04$  года. АБЛА развился на фоне хронических заболеваний различных органов, среди которых лидирующими были хронические воспалительные заболевания бронхолегочной системы (0,67) и ЛОР-органов (0,65). Были проанализированы факторы, которые могут быть расценены как предрасполагающие к возникновению грибковой патологии: контакт с плесневыми грибами, атопия, иммуносупрессивные воздействия. Контакт с плесенью в быту отмечен в 0,55 (в дол.ед.) случаях, на производстве – в 0,38 случаях (в дол.ед.). Наследственная предрасположенность к аллергическим заболеваниям отмечена у половины больных (0,49). Аллергические заболевания в группе больных АБЛА выявлены у 32 из 45 больных, в т.ч. бронхиальная астма (0,58), аллергический риноконъюнктивит (0,42), крапивница (0,27) и их сочетания. Отек Квинке и атопический дерматит встречались значительно реже (0,14). Факторы с иммуносупрессивным действием, такие как длительная ГКС-терапия выявлена более, чем у трети больных, воздействию ионизирующей радиации были подвергнуты 11 человек. В клинической симптоматологии основными проявлениями АБЛА были: бронхообструктивный синдром (41 чел.), инфильтративный синдром в виде «банальной» пневмонии (7 чел.) или эозинофильной пневмонии (2 чел.), а также сочетания бронхообструктивного и инфильтративного синдромов.

В клинической картине основными жалобами, которые предъявляли пациенты были: кашель (1,0), одышка (0,84), ежедневные приступы удушья (0,64), повышение температуры (0,67), мокрота желто-коричневого цвета (0,57). Физикальная картина мало специфична. Рентгенологически в 1-ой стадии АБЛА выявлена инфильтрация в 10 случаях, в 3-й стадии – в 16 случаях, во 2-й и 4 –й стадиях – не отмечалась.

В общем анализе крови содержание эозинофилов достоверно выше в сравнении с контрольной группой больных бронхиальной астмой ( $6,89 \pm 0,83\%$  и  $3,6 \pm 0,98\%$ ,  $p < 0,001$ ). При изучении показателей крови в различных стадиях АБЛА, отмечена эозинофилия, нейтрофильный сдвиг влево, ускорение СОЭ в 1-ой стадии. Во 2-ой стадии – положительная динамика гемограммы, количество эозинофилов и молодых нейтрофилов уменьшается. 3-я стадия отличается более яркими, чем в 1 –ой стадии признаками аллергического воспаления: вновь растет эозинофилия и нейтрофильный сдвиг. В 4-ой стадии сохраняется тенденция к эозинофилии, среднее содержание молодых нейтрофилов выше уровня здоровых, но ниже, чем при АБЛА в 1 и 3 стадии. В 5 стадии завершается цикл типичных изменений АБЛА: нормализуется количество эозинофилов и молодых нейтрофилов. При исследовании гуморального иммунитета выявлены высокие значения общего IgE, уровень его достоверно выше в 1-й и 3-й стадиях в сравнении с

контролем. В 1-ой стадии значения IgE превышали контрольные цифры в 7 раз, максимальных значений достигали в 3-й стадии, значительно снижались во 2-й и 4-й стадиях, незначительно повышались в 5-й стадии. Значения IgG с аспергиллезным антигеном наибольшего уровня достигали в 1-й и 3-й стадии АБЛА, несколько выше в 3-й стадии, умеренно повышенный уровень антителообразования оставался во 2-ой, снижлся до нормы в 4-й и 5-й стадиях. Таким образом, в 1-ой острой стадии отмечен высокий уровень специфических антител типа IgG, превышающий норму в среднем в 6 раз. Во 2-й стадии отмечено заметное снижение антителообразования, но сохранялось его увеличение более, чем вдвое. В 3-й стадии в разгар рецидива клинических проявлений отмечен максимальный уровень противоспергиллезных антител, т.е. выявлен параллелизм между лабораторными и клиническими признаками активности процесса. Далее активность антителообразования стихает, достигая в 5-стадии уровня здоровых лиц. У всех обследуемых больных обнаружен специфический IgE с аспергиллезными антигенами. Определялись антитела типа IgE к *A.niger* и *A. flavus* В 21 случае из 45 получен положительный результат с антигеном *A flavus*, в 24 случаях – с антигеном *A. niger*. Причем у 5 пациентов положительный результат получен к тому и другому.

При анализе данных спирометрии, можно заключить, что у наших пациентов постепенно, но неуклонно прогрессировало снижение легочных объемов и показателей бронхиальной проходимости.

#### **Выводы:**

- 1.АБЛА возникает у атопиков при наличии предрасполагающих факторов.
- 2.Клиническая картина проявляется в виде бронхообструктивного синдрома или рецидивирующих легочных инфильтратов, а также их сочетания.
- 3.Показатели лабораторных исследований надежны для верификации только в активной фазе заболевания.

## **ОСОБЕННОСТИ ПСИХИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ АТОПИЧЕСКИМ ДЕРМАТИТОМ, ОСЛОЖНЕННЫМ МИКОТИЧЕСКОЙ ИНФЕКЦИЕЙ**

*Павлова О.В.*

*Кафедра кожных и венерических болезней ГОУ ВПО РГМУ Росздрава  
Москва*

Известно, что микотическая инфекция встречается примерно у 5% больных атопическим дерматитом и утяжеляет его течение.

Цель нашего исследования было оценить взаимосвязь между иммунопатогенезом атопического дерматита, осложненного микотической инфекцией, и психическим состоянием больных.

Обследованы 12 больных (7 мужчин, 5 женщин) в возрасте от 18 до 35 лет, страдающих атопическим дерматитом с сопутствующей микотической инфекцией, вызванной *Trichophyton rubrum*. Оценивались основные показатели иммунитета и психическое состояние больных (по шкалам тревоги и депрессии Гамильтона). В качестве параметров для сравнения были использованы собственные данные о психическом статусе больных атопическим дерматитом без руброфитии, описанные нами в других публикациях.

У больных атопическим дерматитом, осложненным микотической инфекцией, вызванной *Trichophyton rubrum*, выраженность тревоги составила  $24,3 \pm 1,9$  балла и оказалась статистически значимо выше, чем у больных атопическим дерматитом без руброфитии; выраженность депрессии составила  $12,9 \pm 2,2$  балла (что сопоставимо с показателями у больных атопическим дерматитом, не осложненным микотической инфекцией). В иммунном статусе обследованных больных отмечено достоверное повышение уровня цитокинов Th2-профиля (ИЛ-4, ИЛ-10) без повышения уровня цитокинов Th1-профиля (ИФγ и ИЛ-2) — что свидетельствует о преобладании в иммунопатогенезе руброфитии Th2-реакций. При корреляционном анализе полученных результатов между уровнем ИЛ-10 и выраженностью тревоги выявлена прямая связь средней силы ( $r=0,68$ ); между уровнем ИЛ-10 и выраженностью депрессии — слабая обратная связь ( $r=-0,24$ ).

Полученные данные позволяют сделать вывод о том, что наличие микотической инфекции оказывает влияние не только на патогенез атопического дерматита, но и на психический статус больных, вызывая в первую очередь тревогу, а не депрессию. Результаты корреляционного анализа указывают на то, что тревога патогенетически связана главным образом с Th2-реакциями, а депрессия — с Th1-реакциями. Отношения между микотической инфекцией и атопическим дерматитом достаточно сложны. С одной стороны, наличие хронического поражения кожи при атопическом дерматите сопровождается иммунными нарушениями с преимущественным сдвигом в сторону Th2-реакций, что ведет к ослаблению иммунной защиты против инфекционных и, в частности, грибковых агентов. Вероятность грибкового поражения увеличивают и морфологические изменения кожи при атопическом дерматите, делающие ее входными воротами для инфекции. С другой стороны, микотическая инфекция сама сопровождается иммунными нарушениями, а кроме того, грибок может вызывать сенсибилизацию, способствуя развитию аллергии. Наконец, факт наличия микоза утяжеляет психическое состояние больных, способствуя развитию состояния тревоги, в иммунопатогенезе которой играют роль в основном Th2-реакции, что создает порочный круг, для «размыкания» которого требуется не только стандартное дерматологическое лечение, но и назначение противотревожных препаратов.

## ЛИПОФИЛЬНЫЕ ДРОЖЖИ РОДА *MALASSEZIA* ПРИ АТОПИЧЕСКОМ ДЕРМАТИТЕ

Соколова Т.В.<sup>1</sup>, Глушакова А.<sup>2</sup>, Чернов И.Ю.<sup>2</sup>,  
Мокроносова М.А.<sup>3</sup>, Айзикович Л.А.<sup>1</sup>

1 Государственный институт усовершенствования врачей МО РФ

2 МГУ им. М.В.Ломоносова

3 НИИ вакцин и сывороток им. И.И.Мечникова

Липофильные дрожжи рода *Malassezia*, являющиеся типичными представителями нормальной микрофлоры человека, могут быть источником аллергенов для больных атопическим дерматитом (АтД). Численность дрожжей рода *Malassezia* особенно высока на участках кожи, богатых салными железами. Колонизация кожи этими микроорганизмами происходит в первые годы жизни. Липазы этих дрожжей способны расщеплять триглицериды жирных кислот, продуцировать азелаиновую кислоту, ингибирующую синтез меланина в кератиноцитах и подавляющую жизнедеятельность стафилококка и пропионбактера. При АтД антигены дрожжей рода *Malassezia* способны индуцировать специфические IgE – АТ. Таким образом дрожжи рода *Malassezia* являются триггерным фактором АтД

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей колонизации кожи больных АтД липофильными дрожжами рода *Malassezia*, их видового состава и сопоставление клинических и бактериологических данных. Работа выполнялась на кафедрах дерматовенерологии ГИУВ МО РФ и почвоведения МГУ. Под наблюдением было 32 больных АтД в возрасте от 2,5 до 39 лет, женщин в 2 раза больше (21 против 11). Контрольную группу составили 22 человека с клинически здоровой кожей и без наличия дерматологической патологии в анамнезе.

Методы исследования. Для выделения дрожжей рода *Malassezia* образцы соскобов с кожи высевали в трехкратных повторностях на *Notman*-агар (LNA). Чашки с посевами инкубировали в термостате при температуре 32°C в течение двух недель. Видовую идентификацию представителей рода *Malassezia* проводили по морфологическим (морфология колоний, размер и форма клеток), физиологическим (рост при 37°C, 40°C) и хемотаксономическим (каталазная реакция, утилизация Tween-20, Tween-40, Tween-60, Tween-80) признакам. Тяжесть АтД оценивали по индексу SCORAD.

Результаты исследования. *Malassezia Spp.* обнаружены в контрольных образцах в 2/3 (68,2%) случаев. Их численность не превышала 102 КОЕ/см<sup>2</sup>. У больных АтД они выявлены в 100% случаев, при колебании численности от 10<sup>2</sup> до 10<sup>6</sup> КОЕ/см<sup>2</sup>, среднее значение составляло 10<sup>4</sup> КОЕ/см<sup>2</sup>. Существенно, что доля больных с численностью *Malassezia* 10<sup>4</sup>-10<sup>6</sup> КОЕ/см<sup>2</sup> значительно преобладала (62,5%). 10<sup>3</sup> КОЕ/см<sup>2</sup> составляла j (28,1%) выборки, а 10<sup>2</sup> КОЕ/см<sup>2</sup> – всего 9,4%. В контрольных и опытных образцах выделено три вида рода *Malassezia*. У больных АтД преобладал вид *M. sympodialis*

(87,5%), *M. globosa* (12,5%) и *M. furfur* (9,4%) встречались в единичных случаях. У 3 больных (9,4%) верифицированы одновременно два вида дрожжей рода *Malassezia*. В контрольных образцах дрожжи *M. furfur* отсутствовали и также резко преобладал *M. sympodialis*. Степень тяжести АД по шкале SCORAD при обсемененности кожи  $10^4$ - $10^6$  КОЕ/см<sup>2</sup> была в 1,6 раза выше, а непрерывное течение заболевания наблюдалось в 1,4 раза чаще. Поражения верхней части тела выявляли наиболее часто у пациентов с высокой степенью колонизации.

Обсуждение. Липофильные дрожжи рода *Malassezia* – значимый триггерный фактор АД. Их численность на коже больных АД значительно превышает таковую на коже здоровых. При численности выше  $10^3$  КОЕ/см<sup>2</sup> можно констатировать заболевание. Разнообразие видов рода *Malassezia* на коже больных и здоровых людей сходно. Доминирует *M. sympodialis*. *M. furfur* обнаружен только у больных АД. Уровень колонизации кожи *Malassezia* влияет на тяжесть течения АД.

## РОЛЬ ПЛЕСНЕВЫХ ГРИБОВ В ФОРМИРОВАНИИ АЛЛЕРГОДЕРМАТОЗОВ У ДЕТЕЙ

Хаертдинова Л.А., Маланичева Т.Г.

ГОУ ДПО «КГМА Росздрава»

ГОУ ВПО «КГМУ Росздрава»

Казань

В структуре аллергических заболеваний у детей значительный удельный вес занимают аллергодерматозы, среди которых преобладающей формой является атопический дерматит (АД). Одной из современных особенностей течения АД в детском возрасте является присоединение вторичной инфекции. В настоящее время отмечается рост осложненных форм АД микотической инфекцией, и особое значение в формировании данной патологии приобретают плесневые грибы.

Исходя из этого, целью работы явилось изучение роли плесневых грибов в формировании осложненных форм АД у детей для совершенствования методов терапии.

Нами обследовано 85 детей, страдающих АД, осложненным вторичной грибковой инфекцией, в возрасте от 6 месяцев до 15 лет. Из них мальчиков – 46,3%, девочек – 53,7%. Детей в возрасте 6 мес.-3 лет – 29,3%, 3-7 лет – 26,8%, 7-12 лет – 20,7%, 12-15 лет – 23,2%. Для диагностики вторичных осложнений проводили углубленное клиническое обследование, специфическое аллергологическое и культуральное микологическое обследование кожи с определением чувствительности к противогрибковому препарату.

У обследованных детей, больных осложненными микотической инфекцией формами АД, в 25,8% случаев обнаружена колонизация кожи плесневыми грибами, как в изолированном виде (39,8%), так и в ассоциациях (61,2%).

Из них в 11,8% случаев отмечался высев грибов рода *Aspergillus*, у 8,2% пациентов – *Rhizopus nigricans*, у 5,9% больных – *Penicillium*. В структуре плесневых грибов на первом месте – грибы рода *Aspergillus* (45,4%), на втором месте – грибы рода *Rhizopus* (31,8%), на последнем месте по частоте высева – грибы рода *Penicillium* (22,8%). Выявлены клинико-anamnestические особенности АД, осложненного вторичной грибковой инфекцией. Так, у обследуемой группы больных отмечалось упорное непрерывно-рецидивирующее течение (92,4%), резистентность к проводимой традиционной противоаллергической терапии (100%), процесс носил распространенный характер (67,5%), преобладало тяжелое (65,6%) и средне-тяжелое (31,2%) течение заболевания.

Лечение контрольной группы пациентов проводилось дифференцированно на основании результатов микологического исследования кожи с учетом морфологического характера высыпаний, остроты процесса, возраста и включало в себя наружную и системную этиотропную терапию. В качестве наружной терапии применялись местные средства, обладающие антимикотическим действием (скин-кап, тридерм, пимафуорт, травокорт) на 7-10 дней, при неэффективности наружной терапии и тяжелом персистирующем течении детям старшей возрастной группы назначалась системная противогрибковая терапия: интраконазол (орунгал) в дозе 100 мг в сутки длительностью 5-7 дней. После санации вторичных осложнений проводилась наружная противовоспалительная (адвантан, элоком, элидел) и длительная увлажняющая терапия космецевтиками.

Клиническая эффективность лечения оценивалась на основе общего и индивидуального терапевтического эффекта, а также по частоте обострений. Общий терапевтический эффект составил 79,6%. Индекс SCORAD снизился с 68,5 до 31 балла. Результаты культурального микологического обследования кожи после проведенного лечения были отрицательными в 74% случаев. Изучение отдаленных результатов по данным клинического наблюдения в течение 1,5-2 лет показало, что продолжительность ремиссии увеличилась в 3,5 раза и составила в среднем 8,5 месяцев.

Клинико-anamnestические критерии и результаты микологического обследования дают возможность установления точной этиологии вторичных осложнений АД, а предлагаемый подход к терапии детей, больных осложненными формами АД, позволяет своевременно купировать вторичную грибковую инфекцию, предотвратить тяжелое течение и достичь стойкой ремиссии заболевания.

## ГРИБКОВАЯ СЕНСИБИЛИЗАЦИЯ У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ

**Царев С.В.**

ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России»  
Москва

**Целью работы** было изучение частоты сочетания грибковой и латексной сенсibilизации у больных атопической бронхиальной астмой (АБА).

Использовались клиничко-лабораторные и аллергологические методы исследования. Кожные тесты были поставлены со стандартными атопическими и латексными аллергенами производства ALK ABELLO, Дания и Stallergen, Франция. Специфические IgE к латексу (ЛС-IgE) определяли с использованием Pharmacia UniCAP системы. При скрининговом обследовании амбулаторных больных с АБА были отобраны больные с латексной сенсibilизацией (всего 34 пациента – 16 мужчин и 18 женщин). Этим больным были поставлены кожные тесты с грибковыми аллергенами *Aspergillus mixt*, *Cladosporium*, *Penicillium*.

Грибковая сенсibilизация выявлена у 27 человек (13 мужчин и 14 женщин) из 34 пациентов, имевших ЛС-IgE и/или положительные кожные тесты с латексом. Во всех 27 случаях отмечалась сенсibilизация к нескольким (двум или трем) грибковым аллергенам. Кроме того, все больные с грибковой сенсibilизацией имели также положительные кожные тесты с другими атопическими аллергенами: бытовыми (26 человек), эпидермальными (4), пыльцевыми (21). Клинические проявления грибковой аллергии отмечались у 8 пациентов. В остальных 19 случаях грибковая сенсibilизация носила латентный характер. Необходимо отметить, что клинические проявления латексной аллергии также были лишь у 9 из 34 сенсibilизированных пациентов. Причем отмечалась корреляция между клиническими проявлениями грибковой и латексной аллергии: на момент обследования у 6 больных были клинические признаки аллергии и к грибам, и к латексу.

**Выводы:** у больных АБА с латексной сенсibilизацией в большинстве случаев выявлялась сенсibilизация (чаще – латентная) к плесневым грибам. Клинические проявления грибковой аллергии также сочетались с клиническими проявлениями аллергии к латексу. Один из возможных механизмов такой закономерности – наличие общих антигенов (аллергена Nev b 9 в частности) у латекса и грибов.