УДК 528.029.67/.69:576.32

ВЛИЯНИЕ НЕКОГЕРЕНТНОГО ИМПУЛЬСНОГО ОПТИЧЕСКОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА ПРОПАГУЛЫ* УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРОМИЦЕТОВ

[1]Кряжев Д.В. (ассистент кафедры), [1]Ичеткина А.А. (аспирант), [1]Трофимова С.В. (аспирант), [1]Иванова И.П. (профессор кафедры), [2]Смирнов В.Ф. (профессор кафедры)**

ГОУ ВПО Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского (биологический факультет: [1]кафедра биомедицины, [2]кафедра биохимии и физиологии растений), Нижний Новгород, Россия

© Коллектив авторов, 2012

Исследовали влияние непосредственно некогерентного импульсного оптического излучения и в сочетании с цидными препаратами «Авансепт» и «Натрия гипохлорит» на пропагулы условно-патогенных микромицетов Aspergillus niger van Tieghem, Alternaria alternata (Fries) Keissler, Chaetomium globosum Kunze, Fusarium moniliforme Sheldon, Penicillium chrysogenum Thom. Показано, что некогерентное импульсное оптическое излучение способно оказывать на указанные тест-культуры фунгицидное действие. Выявили высокий синергический эффект в ингибирующем действии на пропагулы микроскопических грибов некогерентного импульсного оптического излучения и субфунгицидных концентраций вышеуказанных цидных препаратов.

Ключевые слова: микромицеты, некогерентное импульсное оптическое излучение, пропагулы, фунгицидное действие, цидные препараты

INFLUENCE OF INCOHERENT PULSE OPTICAL RADIATION AT REPRODUCING STRUCTURES OF OPPORTUNISTIC MICROMYCETES

[1]Kryazhev D.V. (assistance lecturer), [1]Ichotkina A.A. (postgraduate student), [1]Trofimova S.V. (postgraduate student), [1]Ivanova I.P. (professor of the chair), [2]Smirnov V.F. (professor of the chair)

Nizhniy Novgorod State University him. N.I. Lobachevsky (biological faculty: [1]chair of biomedicine, [2]chair of biochemistry and physiology of plants), Nizhni Novgorod, Russia

© Collective of authors, 2012

Influence of directly incoherent pulse optical radiation and in a combination with biocidal preparations of «Avansept» and «Sodium hypochlorite» on germ structures of opportunistic microscopic mold fungi Aspergillus niger van Tieghem, Alternaria alternata (Fries) Keissler, Chaetomium globosum Kunze, Fusarium moniliforme Sheldon, Penicillium chrysogenum Thom. have been investigated. It was shown that incoherent pulse optical radiation is capable to render on the specified test cultures fungicidal action. It is revealed high synergistic effect in inhibit action of incoherent pulse optical radiation and sub-antifungal concentration of the above-stated biocidal preparations on germ structures of microscopic mold fungi.

Key words: fungicides, incoherent pulse optical radiation, micromycetes, reproducing structures

ВВЕДЕНИЕ

Одним из способов защиты от биоповреждений заселенных микроорганизмами помещений являются физические методы с использованием различных физических факторов, в том числе импульсных электрических разрядов. Электрические разряды широко применяют в бактерицидных устройствах для стерилизации. Согласно данным из научной литературы, стерилизация электрическим разрядом высокоэффективна и сравнима с используемыми химическими методами (хлорирование или озонирование) и с УФ-облучением. Согласно накопленным теоретическим и экспериментальным данным [1], возможно применение излучения разрядов в качестве цидных факторов.

Цель данной работы – оценить эффективность фунгицидного действия некогерентного импульсного излучения (НКИИ) высокоэнергетических импульсных разрядов на пропагулы ряда условно-патогенных микромицетов – типичных представителей микобиоты жилых, производственных и больничных зданий. Также для нас представляло интерес оценить синергический фунгицидный эффект от совместного воздействия НКИИ и предельно низких (субфунгицидных) концентраций антимикробных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве тест-культур использовали следующие виды микромицетов: *Aspergillus niger* van Tieghem, *Alternaria alternata* (Fries) Keissler, *Chaetomium globosum* Kunze, *Fusarium moniliforme* Sheldon и *Penicillium chrysogenum* Thom.

Формирование импульсного искрового разряда, генерирующего некогерентное излучение оптического диапазона, осуществляли с помощью экспериментального устройства, разработанного в ФГУП РФЯЦ Всероссийского НИИ экспериментальной физики (г. Саров). Энергия, подводимая к разрядному промежутку, составляла 4 Дж в 1 импульсе, длительность импульса 1 – 10 микросекунд. Полный поток излучения 75 кВт/м^2 распределялся по диапазонам из-

* Части грибной структуры, воспроизводящие микромицет

** Контактное лицо: Кряжев Дмитрий Валерьевич
Тел.: (831) 465-60-30

лучения в следующих пропорциях: ультрафиолетовый диапазон (310-380 нм.) – 17% от полного потока излучения; видимый диапазон (600-700 нм.) – 49%; инфракрасный диапазон (более 700 нм.) – 33%. Световая энергия излучения составляла $0{,}9 \cdot 10^{-3}$ Дж/см^2, интенсивность светового потока – 0,9 кВт/см^2, мощность излучения – 11 кВт ($1{,}4 \cdot 10^{22}$ фотон/с). В пересчете на дозу полный поток НКИИ составляет 135 мДж/см^2, а с долей УФ спектра ~23 мДж/см^2.

Использовали следующие биоцидные препараты:

1. Дезинфицирующее средство – «Авансепт» с моющим эффектом, содержащее 6% полигексаметиленгуанидин гидрохлорида и 4,5% алкилдиметилбензиламмоний хлорида в качестве действующих веществ, а также вспомогательные компоненты – краситель, отдушку и воду. В экспериментах применяли водные растворы данного препарата с концентрацией 0,5%, которая в 6 раз ниже рабочей.

2. Водный раствор натрия гипохлорита (NaClO). Данное вещество используют для обеззараживания поверхностей, посуды, белья, выделений больных, санитарно-технического оборудования, уборочного инвентаря. В экспериментах применяли водные растворы данного препарата с концентрацией 0,1%, которая в 150 раз ниже рабочей.

По методике Хабриева [2] готовили два варианта (контроль и опыт) суспензий зародышевых структур микромицетов одинаковой мутности (с равным количеством грибковых тел). Во всех контрольных вариантах проводили имитацию облучения контактом с неработающим излучателем, в опытных вариантах осуществляли воздействие НКИИ, а также совместное воздействие НКИИ и фунгицида, согласно методике количественного определения микроорганизмов [3]. Затем 1 мл контрольной и опытной суспензий высевали на поверхность твёрдой питательной среды Чапека-Докса в чашках Петри, чашки выдерживали в термостате при 28±2 °С с последующим подсчетом колониеобразующих единиц (КОЕ). Эффект биоцидного действия в опыте в процентах к контролю (ΔТ) рассчитывали по формуле:

$$\Delta T = \frac{t_0 - t_1}{t_0} \times 100$$

t_0 – количество КОЕ в контроле; t_1 – количество КОЕ в опыте.

Измерения проводили в нормальных лабораторных условиях. Полученные данные статистически обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica 6.0 и представляли в виде средних арифметических значений (M±m). Для оценки значимости отличий между группами использовали критерий Стьюдента: $p < 0{,}05$; $n = 3$; $t = 4{,}303$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе работы нами было проведено облучение НКИИ зародышевых структур тест-культур микромицетов в течение 30 и 60 мин., что в пересчете на дозу составляет 135 и 270 мДж/см^2. Результаты данного эксперимента представлены в таблице 1.

Таблица 1

Обработка НКИИ в различных дозах пропагул микромицетов

Время воздействия	Вид гриба	количество КОЕ/мл				
		Alternaria alternata	*Aspergillus niger*	*Chaetomium globosum*	*Fusarium moniliforme*	*Penicillium chrysogenum*
30 мин. доза 135 мДж/см^2	контроль	32±6	74±13	148±5	178±15	108±11
	опыт	3±1	25±3	66±10	42±2	17±4
	ΔТ, %	**91**	**66**	55	76	84
60 мин. доза 270 мДж/см^2	контроль	111±25	141±3	35±4	110±7	180±7
	опыт	9±5	47±12	15±5	23±1	18±4
	ΔТ, %	**92**	**67**	**57**	79	90

Оптимальной фунгицидной активностью по отношению к тест-культурам микромицетов обладала доза НКИИ, равная 135 мДж/см^2, способная оказывать высокое ингибирующее действие на жизнеспособность пропагул тест-культур микромицетов, в особенности – на *A. alternata* (ΔТ=91%) и *P. chrysogenum* (ΔТ=84%). Увеличение данной дозы нецелесообразно, так как экспериментально было установлено, что даже ее возрастание в 2 раза не приводит к существенно большему ингибированию жизнеспособности зародышевых структур микромицетов. Процент ингибирования жизнеспособных КОЕ (ΔТ) у всех тест-культур возрастал всего лишь на несколько процентов.

По данным в таблице 1, дезинфекция высокого уровня, т.е. гибели микромицетов на уровне ~ 80-90%, при действии НКИИ в качестве единственного биоцидного фактора, удается достигнуть не для всех тест-культур, в особенности – для *A. niger* (ΔТ=66%) и *C. globosum* (ΔТ=55%).

Перспективным направлением защиты от микробиологических повреждений является комплексное использование химических и физических методов, т.к. при этом фунгицидный эффект достигается при более низкой концентрации токсических веществ. Примером такого сочетания является аэрозольное распыление препарата и облучение ультрафиолетом [4].

Поэтому, в дальнейших экспериментах, мы решили оценить ингибирующий эффект сочетанного воздействия НКИИ и фунгицидных препаратов в их субфунгицидных (в концентрациях, вызывающих гибель ~ 50% КОЕ тест-культур). Выбор подобного пути обусловлен необходимостью снижения экологической нагрузки от биозащитных мероприятий.

Результаты экспериментов по оценке сочетанного фунгицидного действия НКИИ и дезинфицирующего средства «Авансепт» в концентрации 0,5% представлены в таблице 2; НКИИ и натрия гипохлорита в концентрации 0,1% – в таблице 3.

Таблица 2

Сравнительная оценка изменения титра КОЕ у микромицетов при действии дезсредства «Авансепт» в концентрации 0,5% и совместном его действии с НКИИ (30 мин.)

Вид гриба	Количество КОЕ/мл					
	вариант: биоцид			вариант: облучение + биоцид		
	контроль	«Авансепт»	ΔТ, %	контроль	НКИИ + «Авансепт»	ΔТ, %
Alternaria alternata	18±2	9±1	50	68±2	3±1	96
Aspergillus niger	108±7	45±5	58	118±2	43±9	64
Chaetomium globosum	25±2	11±3	56	74±4	22±2	70
Fusarium moniliforme	54±4	2±1	96	69±4	0±0	100
Penicillium chrysogenum	112±4	52±2	54	127±6	0±0	100

Таблица 3

Сравнительная оценка изменения титра КОЕ у микромицетов при действии дезсредства натрия гипохлорит в концентрации 0,1% и совместном его действии с НКИИ (30 мин.)

Вид гриба	Количество КОЕ/мл					
	вариант: биоцид			вариант: облучение + биоцид		
	контроль	NaClO	ΔТ, %	контроль	НКИИ + NaClO	ΔТ, %
Alternaria alternata	43±2	8±3	81	43±2	3±1	93
Aspergillus niger	79±7	26±6	67	79±7	17±3	78
Chaetomium globosum	32±2	12±2	63	32±2	10±3	66
Fusarium moniliforme	55±8	20±4	64	59±7	0±0	100
Penicillium chrysogenum	73±6	42±3	42	49±7	9±1	82

Из таблиц видно, что от совместного применения НКИИ и дезсредств (даже и в их предельно малых концентрациях) фунгицидное действие данного вида излучения существенно усиливается, вплоть до полной инактивации жизнеспособности пропагул ряда тест-культур: *F. moniliforme* и *P. chrysogenum* в сочетании с «Авансептом» и *F. moniliforme* – с «натрия гипохлоритом». Результатами данных экспериментов показано, что, сочетая дезинфекцию воздуха и поверхностей в помещениях путем облучения НКИИ с аэрозольной обработкой биоцидными препаратами в низких экологически безопасных концентрациях, можно существенно повысить качество проводимых дезинфекционных мероприятий, при этом снизив их экологическую нагрузку.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что НКИИ способно оказывать фунгицидное действие на пропагулы микромицетов, следовательно, на основе генераторов НКИИ возможна разработка устройств для дезинфекции воздуха и поверхностей в помещениях.

2. Оптимальная (необходимая и достаточная) фунгицидная доза НКИИ – 135 мДж/см^2.

3. Показан высокий синергический эффект в ингибирующем действии на пропагулы микроскопических грибов НКИИ и сублетальных концентраций некоторых, широко применяемых в России, биоцидных препаратов таких, как «Авансепт» и «Натрия гипохлорит».

ЛИТЕРАТУРА

1. *Пискарев И.М.* Теоретические основы химической технологии. – М.: Изд-во МГУ, 2000. – 34 с.
2. *Хабриев Р.У.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Наука, 2005. – 827 с.
3. *Сливкин А.И., Семменев В.Ф., Суховерхова Е.А.* Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств. – Воронеж: Изд-во ВГУ, 1999. – 368 с.
4. *Иммиев Я.И., Закомырдин А.А.* Способ дезинфекции воздуха. Открытия. Изобретения. – М., 1990. – № 8. – С. 33.

Поступила в редакцию журнала 02.02.2012
Рецензент: О.В. Аак

