УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе

и инновациям ПГНИУ

_____ А.Л. Ветров

« 16 » мая 2017 г.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРОТИВОГРИБКОВЫХ СВОЙСТВ СРЕДСТВА ДЛЯ ПРОТИВОГРИБКОВОЙ ДЕЗИНФЕКЦИИ «ШАШКА «ФОМОР-АНТИПЛЕСЕНЬ»

1.1 Название организации, выполнявшей исследования: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Пермский государственный национальный исследовательский университет (ФГБОУ ВО ПГНИУ) 614990, Россия, Пермь, ул. Букирева,15. Тел.: (342) 239 64-37.

1.2 Сведения об аккредитации: Лицензия № 59.55.11.001.Л000031.05.08 Управление Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека по Пермскому краю.

2. Название организации, заказавшей исследования: Общество с ограниченной ответственностью «Санветпрепарат-плюс» 614046, Россия, Пермь, ул. 3-я Водопроводная, 5. Тел.:(342) 2361233

3. Исполнители научной работы: С.Ю. Баландина - зав. научно-исследовательской лаборатории «Бактерицид»; Г.А. Александрова – старший научный сотрудник лаборатории.

4. Лицо, утвердившее акт испытаний: А.Л. Ветров - проректор по научной работе и инновациям ПГНИУ.

5. Объект исследования: средство для противогрибковой дезинфекции «Шашка «ФОМОР-антиплесень» - дезинфицирующий препарат, в форме порошка, при поджиге, создающий дым, содержание действующего вещества (ДВ) – ортофенилфенола составляет 0,25 мг / 1м^3 (см. рецептуру в Приложении 1). Ортофенилфенол является сельскохозяйственным фунгицидом и используется для:

- обработки инвентаря и помещений до закладки на хранение и перевозки фруктов и овощей (ящики, поддоны);

- профилактики и дезинфекции от грибков и бактерий поверхностей в больницах, сельскохозяйственных помещениях и прочих объектах ветеринарного надзора, хранилищ и складов;

- так же применяется в прачечных, на пищевых и промышленных предприятиях, в общественных банях и саунах и прочих местах в отсутствии животных, людей и продуктов питания.

6. Цель научной работы: выявление фунгицидного воздействия средства «Шашка «ФОМОР-антиплесень», производства компании «Санветпрепарат-Плюс», на плесневые грибы, выделенные с объекта заказчика (см. Приложение 2): *Aspergillus fumigatus, Penicillium cyclopium* и *Mucor spp.*

7. Основание для проведения исследований: договор №28/2017 от 03 апреля 2017г, протокол №60.

8. Материалы и методы исследований: В эксперименте использовали 7-ми суточные культуры плесневых грибов *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium cyclopium* и *Mucor spp.* Определение родовой и видовой принадлежности плесневых грибов проведено методом микроскопирования путем изучения морфологических признаков с использованием современных определителей.

В качестве питательных сред использовали селективные среды Чапека-Докса, Сабуро. Суспензию спор грибов готовили по ГОСТ 9.048-89. Концентрацию спор грибов подсчитывали при помощи счетной камеры Горяева под микроскопом и определяли по соответствующей инструкции, изложенной в руководстве под редакцией Н.С. Егорова.

Тест-объектами служили модельные поверхности из дерева, железа и кафеля. На модельные поверхности наносили взвесь тест-грибов из расчета 0,5 мл 2млрд. взвеси жизнеспособных спор плесневых грибов на 100 $см^2$. Для имитации загрязнения использовали 40% инактивированную сыворотку (сыворотка, полученная из крови здоровых кроликов). После равномерного распределения спор культур по поверхности стеклянным шпателем, их подсушивали, затем поверхности помещали в герметичный бокс объемом 0,1 $м^3$. В центре бокса расположили шашку, которая после поджога образовала дым. Этот дым в течение 1-3 минут заполнил весь объем бокса. Таким образом, фунгицидные свойства препарата изучали при воздействии дыма, образуемого при горении шашки на инфицированные модельные поверхности.

Время обеззараживания поверхностей составило 120 минут. После чего с тест-поверхностей брали смывы марлевыми стерильными салфетками, смоченными в растворе, тщательно протирали контаминированную часть каждого предмета, затем салфетки помещали в пробирки с 10 мл стерильной водопроводной водой и бусами. Время отмыва

10 минут при постоянном встряхивании. Отмывную жидкость из каждой пробирки высевали на 2 чашки Петри по 0,1мл на питательные среды Чапека-Докса, Сабуро. Контрольные контаминированные поверхности обрабатывали также водопроводной стерильной водой. Посевы помещали в термостат при температуре 25°±1 С. Через 3-5 суток в зависимости от вида микроорганизма подсчитывали количество выросших колоний, затем рассчитывали плотность контаминации на 100 $см^2$ поверхности и процент обеззараживания, принимая количество колоний снятых с контрольных поверхностей за 100%.

9. Нормативные документы и перечень использованной литературы:

1) Руководство Р. 4.2.2643-10 раздел 3.5 Дезинфектология «Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности», пункт 5.3.3.6.

2) Методы испытаний дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности, МЗ РФ, Москва, 1998, часть 2, раздел 2.1.7. Оценка эффективности дезинфицирующих средств при обеззараживании поверхностей в помещениях, санитарно-технического оборудования, транспортных средств и других объектов;

3) Методы лабораторных испытаний на стойкость к воздействию плесневых грибов, ГОСТ 9.048 – 89 Издательство стандартов, Москва, 1989. Приложение 5. Приготовление суспензии спор грибов;

4) СП 1.3.2322 – 08 Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней.

5) Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов М: Мир, 2001. 486 с.

Результаты исследований:

Проведены исследования средства для противогрибковой дезинфекции «Шашка «ФОМОР-антиплесень» на фунгицидную активность. Полученные данные обобщены, обработаны с помощью статистической программы «STATISTICA 6.1» и представлены в виде таблицы.

Таблица

Результаты исследований антифунгального действия средства для противогрибковой дезинфекции «Шашка «ФОМОР-антиплесень», время экспозиции 120 минут (средние данные)

вид поверхности	***Aspergillus fumigatus* (КОЕ/100см^2)**	**% обеззараживания**	***Penicillium cyclopium* (КОЕ/100см^2)**	**% обеззараживания**	**Mucor spp. (КОЕ/100см^2)**	**% обеззараживания**	**кол-во повторностей**
кафель	100,0 ± 24,1	**99,40**	150,0 ± 30,0	**99,12**	3500 ± 46,1	**79,54**	4
Контроль:			17 100,0				6
железо	2 350,0 ± 49,0	**87,18**	1 950,0 ± 25,9	**89,34**	4200,0 ± 73,0	**77,08**	4
Контроль:			18 300,0				6
дерево	9300,0 ± 75,9	**67,02**	8050,0 ± 72,4	**71,47**	8650,0 ± 64,4	**69,32**	4
Контроль:			28 200,0				6

Примечание: КОЕ – колониеобразующая единица.

Данные свидетельствуют о различном (неодинаковом) воздействии дыма на обеззараживание поверхностей из кафеля, железа и дерева.

На кафельных поверхностях определен более высокий дезинфицирующий эффект: гибель *Aspergillus fumigatus* зарегистрирована на 99,40%, *Penicillium cyclopium* – на 99,12%. Процент обеззараживания кафельных поверхностей представителями грибов рода *Mucor* составил 79,54%.

Обеззараживание поверхностей из железа достигнуто в меньших значениях по сравнению с кафелем. Процент обеззараживания отмечен в интервале 77,08 – 89,34 % по отношению ко всем трем микромицетам.

Поверхности из дерева были обеззаражены значительно хуже, и процент составил от 67,02 до 71,47 %.

Следует отметить, что плесневые грибы рода *Mucor* оказались более устойчивыми к воздействию дыма, фунгицидные свойства препарата отмечены на всех трех модельных поверхностях при меньших значениях.

Выводы:

1. Проведена научно-исследовательская работа по выявлению фунгицидных свойств у препарата для противогрибковой дезинфекции «Шашка «ФОМОР-антиплесень» на плесневые грибы, выделенные с объектов заказчика: *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium cyclopium* и *Mucor spp.*
2. Более высокие результаты достигнуты при воздействии препарата на кафельные поверхности, где фунгицидный эффект составил 80,0 – 99,4% обеззараживания.
3. Поверхности из железа, контаминированные 3-мя видами микромицетов были обеззаражены на 77,1 – 89,3%.
4. Поверхности из дерева, ввиду рыхлости самой структуры дерева, были обеззаражены на 69,3 – 71,5%. Вероятно для достижения максимального эффекта (99,99%) следует увеличить долю (%) ДВ в составе готового препарата. Деревянные неокрашенные поверхности следует обрабатывать двукратно, либо в эксплуатацию вводить конструкции из дерева уже защищенные покраской, лаком и др.

Зав. НИЛ Бактерицид Баландина С.Ю.

Ст. научный сотрудник Александрова Г.А.

Приложение 1

Рецептура средства для противогрибковой дезинфекции «Шашка «ФОМОР-антиплесень»

№ п/п	Наименование сырья	Массовая доля %
1	В пересчете на 100% массовую долю основного действующего вещества: Ортофенилфенол	10%
2	Термовозгонная смесь	до 100

Приложение 2

Проведены исследование проб (элементы побелки) на грибковую обсемененность, отобранных с внутренних стен корпуса фермы ФГУП "Учебно-опытное хозяйство "Липовая гора" ПГСХА им. академика Д.Н. ПРЯНИШНИКОВА, расположенной по адресу: Пермский край, Пермский р-н, с.Фролы, ул.Центральная, д.4. Соскобы образцов были взяты с высоты не менее 1,5м от пола в произвольно выбранных местах.

Изучение проб (количественный и качественный анализ) проводили по общепринятым методикам [1, 3, 7, 8, 9]. Исследование элементов побелки проводили следующим образом: навеску помещали в стерильную колбу мл с 0,9% раствора хлорида натрия, далее производили ряд разведений, затем из пробирки 3 и 4 разведения 1мл суспензии высевали на чашки Петри с питательными средами двуслойно-агаровым методом (3 повторности). Культивирование посевов проводили в термостате при температуре 25 ±1°С в течение 14 суток.

Выросшие колонии определяли с использованием современных микробиологических определителей [2, 6] методом микроскопирования и идентификацией до рода, вида. Результаты исследований представлены в таблице.

Таблица

Результаты исследования образца (средние данные)

Тип образца	Общее кол-во микромицетов, *КОЕ/г	Плесневые грибы (род, вид) * КОЕ/г					
		Aspergillus fumigatus	*Aspergillus nidulans*	*Mucor spp.*	*Penicillium cyclopium*	*Scopulariopsis sp.*	*Candida spp.*
Элементы побелки	$4{,}2 \times 10^6$	$1{,}2 \times 10^6$	$7{,}4 \times 10^5$	$1{,}0 \times 10^6$	$5{,}0 \times 10^5$	$6{,}7 \times 10^5$	$1{,}1 \times 10^5$

Примечание: *КОЕ – колониеобразующая единица

Выводы:

1. В итоге проведенных научно-исследовательских работ выявлено значительное загрязнение образца микромицетами. Среднее количество жизнеспособных спор в 1 грамме образца составило $4{,}2 \times 10^6$КОЕ.

2. Анализ, проведенный с помощью микроскопирования, позволил идентифицировать микромицеты, принадлежащих к следующим родам: *Aspergillus, Penicillium, Scopulariopsis, Mucor* и *Candida.*

3. Превалирующими микромицетами в исследуемом образце явились грибы родов *Aspergillus fumigatus и Mucor spp.,* их количество в среднем составило 2,2 × 10^6 КОЕ в одном грамме образца, что соответствует более 50,0 % от общего количества микромицетов.

Представители рода *Aspergillus* проявляют значительную устойчивость к воздействию внешних факторов. Являются возбудителями многих заболеваний человека и животных, в частности *аспергиллеза*. Широко распространены, встречаются в почве, водоемах, гео- и атмосфере. Большинство штаммов отличается высокой физиологической активностью.

A. fumigatus, согласно Приложению №1, «Классификация микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний человека, простейших, гельминтов и ядов биологического происхождения по группам патогенности СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» – относятся к условно-патогенным организмам III группе патогенности. Являются наиболее частыми возбудителями аспергиллеза у человека и животных, вызывающих легочную, костную, глазную, сердечно-сосудистую или носовую инфекцию, а также поражения центральной нервной системы и внутренних органов. Обладают токсиногенными и патогенными свойствами. Большинство штаммов способно продуцировать токсины: фумитреморгины, глиотоксин, фумигатин, фумагиллин, фумигаклавин, фумитоксин, гельволевую кислоту, спинулозин. Токсичны для всех видов сельскохозяйственных животных, птиц, рыб, простейших, растений, насекомых. Характерная для вида термоустойчивость существенно расширяет ареал сред обитания.

Mucor – является продуцентом *нефротоксина* и возбудителем *зигомикоза*, оппортунистическими возбудителями *мукороза*. Характеризуется, помимо поверхностных поражений, изменениями в органах дыхания. Микоз обычно возникает в результате аэрогенной инфекции или попадения спор с пищей, но чаще развивается на фоне других заболеваний. Помимо человека, известны заболевания этим микозом у животных – собак, свиней, крупного рогатого скота, лошадей, морских свинок. Широко распространены, космополиты.

Микромицеты рода *Penicillium* обладают сильным антагонизмом против других грибов. Большинство представителей рода *Penicillium* продуцируют токсины. Пенициллиоз- общее название заболеваний, вызываемых видами рода *Penicillium.* Способны вызывать отомикозы, поражение мозга, кожи, ногтей. Заболевания обычно возникают на фоне уже имеющихся инфекций. *Penicillium* относится к видам грибов наиболее сенсибилизирующих макроорганизм, в том числе больных бронхиальной астмой. Сенсибилизация - повышение чувствительности организма к воздействию раздражителей, вызывающее аллергическую реакцию.

4. Выделенные и идентифицированные плесневые грибы, такие как пенициллы, аспергиллы и мукор обладают выраженными аллергенными свойствами и составляют обширную группу возбудителей таких типичных аллергических заболеваний, как

бронхиальная астма, кожные аллергические дерматозы, аллергические пневмонии и др [2, 4, 5, 6].

5. Качественный и количественный анализ данных, полученных в ходе микологической экспертизы, позволяет констатировать об устойчивом биопоражении исследованного образца. Следовательно, зараженный отделочный материал может представлять угрозу для здоровья людей и животных, которые находятся в данном корпусе фермы.

Методическая литература

1. Андреев В.А., Зачиняева А.В., Москалев А.В., Сбойчаков В.Б. Медицинская микология: руководство / под ред. В.Б. Сбойчакова. М.: ГЭОТАР – Медиа, 2008. 208 с.
2. Аравийский Р.А., Климко Н.Н., Васильева Н.В. Диагностика микозов.- СПб.: Издательский дом СПбМАПО, 2004.- 186 с.
3. Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. Методы экспериментальной микологии. Справочник / под ред. Билай В.И. Из-во: Наукова думка, 1982. – 549с.
4. Кулага В.В., Романенко И.М., Афонин С.Л. / Аллергия и грибковые болезни. Руководство для врачей. – Луганск: Элтон-2, 2005. -520
5. Лугаускас А.Ю., Микульскене А.И., Шляужене Д.Ю. Каталог микромицетов – биодеструкторов полимерных материалов. – М.: Наука, 1987. – 342 с.
6. Саттон Д. и др. Определитель патогенных и условно-патогенных грибов: Пер с англ. яз. – М.: Мир, 2001. – 486 с.
7. «Методические рекомендации по исследованию микробиоты помещений», СПбГМА им. И.И. Мечникова под редакцией О.Д. Васильева, 2003;
8. Методические рекомендации «Микологическое исследование помещений различного функционального назначения. Исследование биологического материала от больных групп риска на грибы в медицинских организациях», ФБГОУ ВПО ПГНИУ. ЕНИ, МБУ здравоохранения «Городской центр медицинской профилактики», Пермь, 2012г.;
9. СП 1.3.2322-08 Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. Приложение №1 «Классификация микроорганизмов – возбудителей инфекционных заболеваний человека, простейших, гельминтов и ядов биологического происхождения по группам патогенности».