

Корочкин Р.Б., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Красочко П.А., доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор^{1,2}
Аль Талл М.В., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Кошнеров А.Г., магистр ветеринарных наук¹
Кирпанёва Е.А., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Столярова Ю.А., кандидат ветеринарных наук, доцент¹
Липская Д.Л., магистр ветеринарных наук¹

¹УО «Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины», г. Витебск, Республика Беларусь

²РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышеслесского», г. Минск, Республика Беларусь

ОЦЕНКА КОНТАМИНАЦИИ ВОЗДУХА ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ КНИДИЯМИ АСПЕРГИЛЛ

Резюме

Грибы рода *Aspergillus* являются представителями сапротрофных микроскопических плесеней, широко распространенных в окружающей среде. Некоторые виды аспергиллов, такие как *A. fumigatus*, считаются условно-патогенными для животных и человека.

Полученные результаты показывают, что споры аспергилл присутствуют в воздухе круглый год, но их концентрации не демонстрируют четкой корреляции с показателями климата или сезона года.

Ключевые слова: конидии, аспергиллы, седиментация, контаминация, климат.

Summary

Fungi of the genus *Aspergillus* are representatives of saprotrophic microscopic molds, widely distributed in the environment. However, some species of aspergillus, such as *A. fumigatus*, are considered opportunistic pathogens for animals and humans

The results show that *Aspergillus* spores are present in the air all year round, but their concentrations do not demonstrate a clear correlation with climate or season of the year.

Keywords: conidia, aspergilli, sedimentation, contamination, climate.

Поступила в редакцию 14.05.2025 г.

ВВЕДЕНИЕ

Взвешенные грибковые частицы являются важным неотъемлемым компонентом атмосферы внутри и снаружи помещений [1]. В целом плесневые грибы выделяют в воздух большое количество спор (половых или бесполовых форм) и фрагментов гиф, которые после осаждения и прорастания могут участвовать в разложении кормов, пищевых продуктов и сырья, а также порче органических веществ во время хранения [2]. С другой стороны, переносимые по воздуху споры плесневых грибов вызывают серьезные заболевания животных и людей, такие как индуцированные воспалительные реакции или инфекции дыхательных путей [3]. Например, в отдельных европейских странах частота возникновения аллергии дыхательных пу-

тей, вызванной микроскопическими грибами, достигает 20–30 % в группе лиц с астмией, достигая 6 % среди населения в целом [4].

Признано, что более 110 видов грибов являются источниками аллергенов [5]. Одним из наиболее важных является гриб рода *Aspergillus*, который считается основным первичным грибковым возбудителем аллергического бронхолегочного микоза и респираторных аллергических симптомов [6]. Он является аскомицетом, т.е. относится к отделу *Ascomycota*, и представляет собой нитевидный сапротрофный гриб, широко распространенный в биосфере и тесно связанный с почвой, гниющей растительностью или семенами. Однако некоторые виды, такие как *A. fumigatus*, считаются условно-патогенными для хозяев с ос-

лабленным иммунитетом. Их конидии (споры бесполого размножения) и мицелий связаны с клиническими патологиями, главным образом дыхательных путей, такими как аллергическая астма или гиперчувствительность, которые в совокупности называются аспергиллезом.

Изучение контаминации воздушной среды спорами аспергилл имеет очевидное санитарное значение, однако в настоящее время не существует универсального рекомендуемого метода непрерывного отбора проб воздуха, который может точно показать всю аэромикобиоту места [8]. Объемные методы, основанные на пробоотборниках типа Херста, предлагают непрерывный отбор проб воздуха с надежным определением грибковых спор. Однако он малоэффективен в отношении взвешенных частиц диаметром менее 5,0 мкм, который отмечается у спор плесневых грибов (*Aspergillus*, *Penicillium*) и некоторых базидиоспор, что может привести к недооценке количества спор в воздухе.

В микологической практике используется сразу несколько методов количественной оценки спор грибов в воздухе. Наиболее простым является седиментационный (от англ. *sedimentation* – осаждение), в котором споры осаждаются на поверхность питательной среды под действием гравитации. Количество спор в данном случае определяется по значению КОЕ (колониеобразующие единицы). Однако следует учитывать, что определенное седиментационным методом количество спор всегда меньше, чем число жизнеспособных спор в воздухе. По этой причине результаты седиментационного отбора проб являются условной величиной.

Более точными считаются аспирационные методы (от англ. *aspiration* – всасывание), которые позволяют определить количество жизнеспособных микроорганизмов в 1,0 м³ воздуха. Аспирационные приборы основаны на сочетании импактного (от англ. *impact* – ударяться, сталкиваться) или фильтрационного принципа отбора проб воздуха. Этот метод основан на принудительном прокачивании определенного объема воздуха через специальные фильтры. Тем не менее, споры грибов, диаметр которых более 5,0 мкм, не проходят через поры фильтров, которые достигают диаметра 0,65 мкм.

Другая проблема при анализе аэромикобиоты – это сам процесс идентификации спор грибов. В случае грибов родов *Aspergillus* и *Penicillium* конидии обоих родов грибов имеют схожую морфологию и не различимы под световым микроскопом. Поэтому в аэриобиологических исследованиях оба гриба объединяются в группу спор *Aspergillus/Penicillium* [9]. Более того, эта методология не позволяет идентифицировать более мелкие фрагменты грибов и гифы. Методы определения жизнеспособных форм грибов (культивирование на среде) могут разрешить проблему идентификации этих родов, но следует помнить, что в практической микологии микологическое исследование преимущественно может идентифицировать грибы только на уровне порядка.

В настоящем исследовании мы проводили сравнительную оценку динамики присутствия спор грибов группы *Aspergillus/Penicillium* в воздухе с целью улучшения эффективности диагностики, профилактики и лечения животных с аспергиллезом.

Цель настоящего исследования – оценка контаминации воздуха окружающей среды конидиями аспергилл.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Аэриобиологический забор воздуха осуществлялся ежемесячно во второй декаде каждого календарного месяца 2024 г. в г. Витебске (Республика Беларусь) на уровне второго этажа здания, на высоте 23 м над уровнем поверхности (55°19'580" с.ш., 30°21'38" в.д.) и 172 м над уровнем моря. Климат этой местности можно охарактеризовать как умеренно-континентальный с преобладающим влиянием морских воздушных масс, переносимых циклонами с Атлантического океана. Средняя годовая температура составляет +6,1 °С. Среднегодовая сумма осадков – 665 мм, из которых примерно 1/3 приходится на холодный период года, 2/3 – на апрель-май. Из общего количества осадков в году 12 % приходится на твердые, 13 % – на смешанные, 75 % – на жидкие.

Определение количества спор в воздухе осуществляли двумя методами: методом седиментации на питательные среды и методом аспирации на ловушку спор.

При отборе проб воздуха методом седиментации использовали чашки Петри диаметром 100,0 мм. В качестве твердой питательной среды для исследования применяли агаризованную среду Чапека-Докса, пригодную для роста грибов. В этом случае на количество выросших колоний на чашке в значительной степени оказывает влияние броуновское (хаотичное) движение, которое препятствует оседанию спор грибов малого размера (в частности *Penicillium*, *Aspergillus*). Оседанию спор и повышению их концентрации способствует также повышение относительной влажности воздуха, так как масса споры или частицы мицелия вследствие набухания увеличивается, и осаждение происходит быстрее.

При использовании седиментационного метода чашки выдерживали 60 минут. В отдельных случаях время экспозиции отличалось от указанного и составляло 30 минут или 90 минут. В этом случае для правильной оценки полученных результатов количество спор пересчитывали по формуле

$$A = \frac{B}{t} \times 60,$$

где A – количество спор, осевших за 60 минут седиментации из столба воздуха;

B – количество колоний грибов, выросших на чашке после экспозиции;

t – время экспозиции, минут.

Для аэробиологического исследования с определением количества спор грибов в единице объема атмосферы (м^3) методом аспирации использовалось пробоотборное устройство ПУ-1Б. Данный аппарат представляет собой коллектор воздуха, осуществляющий аспирацию нормированного количества атмосферы. Благодаря системе аспирации взвешенные в воздухе материальные частицы (споры, пыльца, пыль) осаждались на липкой ленте, в качестве которой использовали скотч [10].

Приводимые в нашей статье данные были выражены в показателе среднего количества спор (споры/ч), определяемого по количеству колоний плесневых грибов группы *Aspergillus/Penicillium*, а также в значении количества спор грибов группы *Aspergillus/Penicillium* в единице объема воздуха (споры/ м^3).

Рассматриваемые таксоны оценивались по характеру плодовых тел колоний плесневых грибов на плотной питательной

среде (при использовании метода седиментации), а также по морфологии спор группы *Aspergillus/Penicillium*, осажденных на липкой ленте (в методе аспирации). Во втором случае споры группы *Aspergillus/Penicillium* оценивались интегрально, так как имели общую недифференцируемую морфологию. Они представляют собой споры бесполого размножения, которые формируются в виде длинных цепочек из вегетативного мицелия, легко отделяясь от него для переноса по воздуху. Споры имеют сферическую форму, с незначительной пепельной пигментацией или могут быть гиалинового цвета. Размер спор составляет около 2,5 мкм в диаметре. На поверхности спор обнаруживается легкий орнамент, похожий на мелкие точки по периметру. Под световым микроскопом часто наблюдали споры в виде коротких цепочек или небольших групп, слипшихся вместе. Из-за трудностей в точной дифференциации морфологии плесневых грибов, а также по причине того, что конидии могут быть агрегированы с другими частицами воздуха, мы допустили определенный уровень субъективности в наших исследованиях.

Метеорологические данные в месте пробоотбора получали из открытых источников. В этом исследовании рассматривались метеорологические переменные: средняя суточная температура, выраженная в градусах Цельсия. Данные были получены самостоятельно, а также подтверждены официальными открытыми источниками (архив температур за 2024 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Аэромикологическое исследование, проведенное в 2024 г., позволило установить наличие спор группы *Aspergillus/Penicillium* на протяжении всего календарного промежутка времени с незначительными колебаниями в разные сезоны года. Рассмотрение средних значений контаминации в обозначенном промежутке времени указывает на присутствие спор плесневых грибов в атмосфере в течение всего года, что оценивалось по обнаружению спор группы *Aspergillus/Penicillium* в ежемесячном режиме. Тем не менее, авторы допускают, что проведенные аэробиологические исследования не могут считаться полностью объективным, поскольку имеют существенное ограничение в подсчете и

идентификации многочисленных и разнообразных грибных спор, присутствующих в атмосфере, особенно в случае идентификации спор группы *Aspergillus/Penicillium* из-за их небольшого размера и гиалинового цвета. Кроме того, эта методология не может идентифицировать более мелкие фрагменты грибов или гифы, которые также считаются значительным источником аллергенов, поэтому фактический аллергенный риск, вызванный контаминацией спор рода *Aspergillus*, останется за пределами нашего научного анализа.

Идентификация спор грибов представляет собой определенную проблему, поскольку в случае грибов *Aspergillus* и *Penicillium* конидии обоих родов имеют схожую морфологию и не различимы под световым микроскопом, хотя аллергогенными свойствами обладают преимущественно аспергиллы. В настоящее время определены 5 основных молекулярных аллергенов *A. fumigatus* (Asp f 1, Asp f 2, Asp f 3, Asp f 4 и Asp f 6). Среди них наиболее важным считается Asp f 1, а его продукция связана с прорастанием спор и ростом ранней грибковой инвазии мицелия [17], что вызвано грибковой колонизацией и частичной сапротрофной природой этого гриба.

В ходе проведенного аспирационного метода определения споровой контаминации проводилось микроскопирование ма-

териальных частиц, осажденных на ловушке (липкий слой ленты), в ходе чего осуществляли их тщательный анализ с подсчетом тех частиц, которые по морфологическим свойствам соответствовали группе *Aspergillus/Penicillium*. Статистически они составили около 0,6 % от всех определяемых грибных спор, варьируя от 0,9 % до 0,5 %.

Сравнение седиментационного и аспирационного методов позволяет отметить их соответствие в показателях споровой контаминации. На рисунке 1 представлена диаграмма изменения показателей споровой контаминации воздуха конидиями плесневых грибов, на которой кривые показателей контаминации, полученных методами аспирации и седиментации, были построены путем экстраполяции минимальных и максимальных значений по причине несоответствия их абсолютных значений (максимальные показатели в аспирационном и седиментационном методе – 124 споры/м³ и 7 спор/час соответственно, минимальные значения – 34 споры/м³ и 3 споры/час соответственно). В связи с этим у нас есть достаточные основания утверждать о корреляции показателей контаминации, полученных обоими оценочными методами на протяжении всего анализируемого промежутка времени.

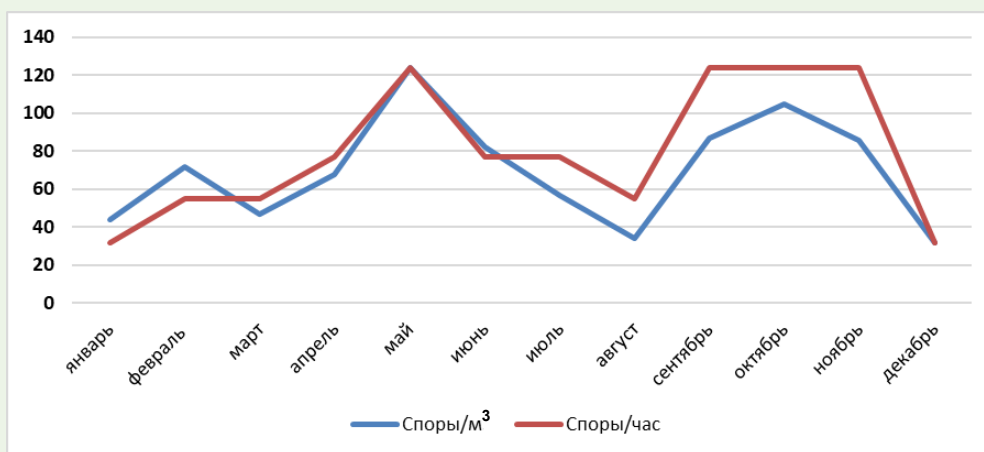


Рисунок 1 – Сравнение показателей споровой контаминации воздуха аспирационным и седиментационным методами в зависимости от месяца года

Для изучения сезонной динамики изменения споровой контаминации конидиями группы *Aspergillus/Penicillium* нами были проанализированы данные, полученные в аспирационном методе, поскольку он давал более высокий диапазон колебаний зна-

чений (таблица). Аспирационный метод, на взгляд авторов, представляет более объективную информацию о контаминации спор в воздухе, чем седиментационный, поскольку во втором случае изменение величин имело узкий диапазон (3–7 спор/ч).

Таблица – Показатели споровой контаминации воздуха в разные сезоны года

Показатель контаминации	Месяц											
	январь	февраль	март	апрель	май	июнь	июль	август	сентябрь	октябрь	ноябрь	декабрь
Температура, °C	–7	0	+3,5	+8	+14	+18	+20,5	+19	+18	+8	+2,5	–0,5
Количество спор, споры/м ³ (метод аспирации)	44	72	47	68	124	82	57	34	87	105	86	32
Количество спор, споры/ч (метод седиментации)	3	4	4	5	7	5	5	4	7	7	7	3

Вполне допустимо констатировать, что в осенний период отмечается увеличение спор в атмосфере (при методе аспирации – в диапазоне 86–105 спор/м³). В остальные сезоны года значение споровой контаминации находилось ниже данного диапазона (34–68 спор/м³), если не принимать в расчет данный показатель в феврале (72 споры/м³) и мае (124 споры/м³).

Важным аспектом, который следует учитывать, является то, что при построении графика ежемесячных средних значений концентрации спор в воздухе кривая становится более постоянной (плоской) с сентября по ноябрь, а важные пиковые значения (октябрь – 105 спор/м³) значительно не снижаются вплоть до декабря (в данном случае среднемесячная осенняя контаминация спорами группы *Aspergillus/Penicillium* составляет примерно 92 споры/м³).

Авторы не ставили перед собой задачу установить причины резкого увеличе-

ния количества спор в атмосфере в мае, но допускают, что этот показатель косвенно связан с увеличением количества взвешенных в воздухе пылевых частиц в конце весеннего сезона, что было установлено по высокому количеству осажденных на липкой ленте наблюдаемых при микроскопии материальных частиц (споры, пыльца, пыль). Причина относительно высокого значения контаминации воздуха в феврале (72 споры/м³) авторами детально не была исследована и осталась необъясненным артефактом.

Также интересен анализ зависимости споровой контаминации конидиями группы *Aspergillus/Penicillium* от температуры воздуха. С этой целью нами путем экстраполяции максимальных и минимальных значений была создана диаграмма, в которой 2 кривые зависимостей – значений контаминации и температуры по месяцам – были наложены друг на друга (рисунок 2).



Рисунок 2 – Сравнение показателей споровой контаминации и температуры воздуха в зависимости от месяца

Авторы не имеют достаточных оснований утверждать о наличии какой-либо корреляции, так как кривая значений температуры не имеет никакого подобия с таковой показателя споровой контаминации воздуха. Возможно, повышенная споруляция плесневых грибов в осенний период могла испытывать благоприятное влияние со стороны количества осадков и повышенной влажности, как это установлено в других исследованиях [8], однако авторы не предусмотрели необходимость сбора информации относительно данных метеорологических показателей в начале опыта, поэтому подробный анализ проведен не был.

Интересно, что отсутствие зависимости показателей споровой контаминации конидиями группы *Aspergillus/Penicillium* от температуры воздуха и, как следствие, от сезона также отмечено в некоторых зарубежных работах. Так, в работе португальских микологов [11] установлен факт повышения количества спор осенью. В работе испанских ученых [12] определено, что основной пик концентрации спор плесневых грибов приходится на весну, хотя регион исследования (Центральная Испания, Саламанка) географически близок Португалии. Также сообщалось о двухсезонном возникновении пиков контаминации (весна и осень), как установлено исследованиями в Польше [8] и Ирландии [13]. В США [14] и Финляндии [15] основной период повышения количества спор группы *Aspergillus/Penicillium* наблюдался летом.

Хотя период высокой концентрации спор грибов не показывает уникальной закономерности в большинстве исследований,

очевидно, что существование спор этой группы плесневых грибов в воздухе имеет последствия для людей с проблемами дыхательной системы [16]. Нельзя исключать аналогичного влияния и на животных [17, 18].

ВЫВОДЫ

1. Аспирационный и седиментационный методы определения количества спор группы *Aspergillus/Penicillium* являются доступными и легко выполнимыми способами оценки споровой контаминации воздуха, дают сопоставимые значения, однако первый позволяет более объективно судить о содержании спор плесневых грибов в воздухе. В мировой научной микологии нет общего мнения относительно приоритетного метода анализа наличия спор грибов в воздухе.

2. Изучение динамики в течение года показывает, что она не имеет четкой сезонной закономерности, а споры группы *Aspergillus/Penicillium* присутствуют в воздухе во все анализируемые временные точки исследования, распределяясь по всем месяцам.

3. В осенний период отмечена более высокая и стабильная концентрация спор группы *Aspergillus/Penicillium*, однако нет достаточных оснований утверждать, что она является максимальной в течение календарного года.

4. Споровая контаминация воздуха конидиями группы *Aspergillus/Penicillium* не зависит от температуры воздуха, а динамика ее изменений испытывает влияние какого-то другого, не установленного авторами фактора (возможно, это связано с осадками и влажностью воздуха).

СПИСОК ЦИТИРОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Primary biological aerosol particles in the atmosphere: a review / V. Després [et al.] // *Tellus B: Chemical and Physical Meteorology*. – 2012. – Vol. 64. – P. 58.
2. Stetzenbach, L. D. Detection and enumeration of airborne biocontaminants / L. D. Stetzenbach, M. P. Buttner, P. Cruz // *Current Opinion in Biotechnology*. – 2004. – Vol. 15. – P. 170–174.
3. Molecular allergen sensitization of *Aspergillus fumigatus* between allergic bronchopulmonary aspergillosis and *A. fumigatus*-sensitized asthma in Guangzhou, Southern China / W. Luo [et al.] // *Journal of Clinical Laboratory Analysis*. – 2020. – Vol. 34. – P. 7.
4. Standard skin prick testing and sensitization to inhalant allergens across Europe—A survey from the GA2LEN network / L. Heinzerling [et al.] // *Allergy*. – 2005. – Vol. 60. – P. 1287–1300.
5. Mold allergens in respiratory allergy: from structure to therapy / T. E. Twaroch, M. Curin, R. Valenta, I. Swoboda // *Allergy, Asthma & Immunology Research*. – 2015. – Vol. 7. – P. 205–220.
6. Allergic bronchopulmonary mycosis due to fungi other than *Aspergillus*: a global overview / A. Chowdhary [et al.] // *Critical Reviews in Microbiology*. – 2014. – Vol. 40. – P. 40–48.

7. Molecular characterization of *Aspergillus fumigatus* allergens / B. Banerjee, P. A. Greenberger, J. N. Fink, V. P. Kurup // *The Indian Journal of Chest Diseases and Allied Sciences*. – 2000. – Vol. 42. – P. 239–248.
8. Grinn-Gofroń, A. Airborne *Aspergillus* and *Penicillium* in the atmosphere of Szczecin (Poland) (2004–2009) / A. Grinn-Gofroń // *Aerobiologia*. – 2011. – Vol. 27 – P. 67–76.
9. Aerobiological monitoring of *Aspergillus*/*Penicillium* spores during the potato storage / I. Iglesias Fernández, M. C. Seijo Coello, M. Fernández González, O. Escuredo Pérez // *Aerobiologia*. – 2012. – Vol. 28. – P. 213–219.
10. Hirst, J. M. An automatic volumetric spore-trap / J. M. Hirst // *Annals of Applied Biology*. – 1952. – Vol. 39. – P. 257–265.
11. The effects of meteorological factors on airborne fungal spore concentration in two areas differing in urbanization level / M. Oliveira, H. Ribeiro, J. L. Delgado, I. Abreu // *International Journal of Biometeorology*. – 2009. – Vol. 53. – P. 61–73.
12. Analysis of the airborne fungal spores present in the atmosphere of Salamanca (MW Spain). A preliminary survey / S. F. Antón, D. R. de la Cruz, J. S. Sánchez, E. Sánchez Reyes // *Aerobiologia*. – 2019. – Vol. 35. – P. 447–462.
13. O’Gorman, C. M. Prevalence of culturable airborne spores of selected allergenic and pathogenic fungi in outdoor air / C. M. O’Gorman, H. T. Fuller // *Environment*. – 2008. – Vol. 42. – P. 4355–4368.
14. Correlation of ambient inhalable bioaerosols with particulate matter and ozone: A two-year study / A. Adhikari [et al.] // *Environmental Pollution*. – 2006. – Vol. 140. – P. 6–28.
15. Ahlström, K. A study of airborne fungal spores with the aid of the FOA slit-sampler / K. Ahlström, A. Käärik // *Grana*. – 1977. – Vol. 16. – P. 133–137.
16. O’Gorman, C. M. Airborne *Aspergillus fumigatus* conidia: a risk factor for aspergillosis / C. M. O’Gorman // *Fungal Biology Review*. – 2011. – Vol. 25. – P. 151–157.
17. Микология с микотоксикологией. Основы ветеринарной микотоксикологии : учеб.-метод. пособие для студентов по специальности 1-74 03 02 «Ветеринарная медицина» / А. Г. Кошнеров [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2022. – 112 с.
18. Микология с микотоксикологией. Лабораторная диагностика микозов : методические указания для студентов по специальности «Ветеринарная медицина» / А. Г. Кошнеров [и др.]. – Витебск : УО ВГАВМ, 2024. – 120 с.



препарат ветеринарный

А-Маст




- ▶ лечение субклинического и клинического мастита коров в период лактации
- ▶ лечение отита и кожных инфекций бактериальной природы у собак и кошек
- ▶ выраженное антисептическое и противовоспалительное действие



ДЕЙСТВУЮЩЕЕ ВЕЩЕСТВО –
КОЛЛОИДНОЕ СЕРЕБРО

WWW.BIEVM.BY