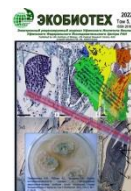




# ЭКОБИОТЕХ

ISSN 2618-964X

http://ecobiotech-journal.ru



## АНАЛИЗ КОНТАМИНИРОВАННОСТИ ОДЕЖДЫ И ОБОРУДОВАНИЯ МИКРОСКОПИЧЕСКИМИ ГРИБАМИ ПОСЛЕ ПОСЕЩЕНИЯ ПЕЩЕР КИНДЕРЛИНСКАЯ И ШУЛЬГАН-ТАШ

Галимзянова Н.Ф.\*<sup>1</sup>, Рябова А.С.<sup>1</sup>,  
Кузьмина Л.Ю.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Уфимский Институт биологии Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия

<sup>2</sup> Историко-культурный музей-заповедник «Пещера Шульган-Таш», Уфа, Россия

\*E-mail: [galnailya@yandex.ru](mailto:galnailya@yandex.ru)

Пещеры представляют собой экстремальные экосистемы, микробиомы которых весьма чувствительны для инвазии посторонних видов микроорганизмов. Попадание таких организмов из одной пещеры в другую может происходить за счет антропогенного переноса, который позволяет миновать природные барьеры.

В статье представлены материалы по анализу контаминированности микроскопическими грибами одежды и оборудования после работы в пещерах Киндерлинская и Шульган-Таш. Показано, что после посещения пещеры на одежде и оборудовании оседает значительное число видов микромицетов. Обнаружен 21 вид микроскопических грибов, а также дрожжи, светло- и темноокрашенные стерильные формы. Выделенные виды соответствуют типичному видовому составу грибов в конкретной пещере. Наиболее контаминированными оказались перчатки. Стирка позволила существенно снизить численность и видовое богатство микромицетов на одежде. Таким образом, соблюдение простых правил позволяет значительно уменьшить риск антропогенного переноса микроорганизмов между пещерами.

**Ключевые слова:** пещера ♦ микроскопические грибы ♦ одежда ♦ оборудование ♦ стирка

## ANALYSIS OF CLOTHING AND EQUIPMENT CONTAMINATION WITH MICROSCOPIC FUNGI AFTER VISIT IN CAVES KINDERLINSKAYA AND SHULGAN-TASH

Galimzyanova N.F.\*<sup>1</sup>, Ryabova A.S.<sup>1</sup>,  
Kuzmina L.Y.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ufa Institute of Biology of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia

<sup>2</sup> Historical and Cultural Museum-Reserve "Shulgan-Tash Cave", Ufa, Russia

\*E-mail: [galnailya@yandex.ru](mailto:galnailya@yandex.ru)

Caves are extreme ecosystems whose microbiomes are very sensitive to invasion by extraneous microbial species. The entry of such organisms from one cave into another can occur due to anthropogenic transfer, which makes it possible to bypass natural barriers.

The article presents materials on the analysis of microscopic fungi contamination of clothing and equipment after working in caves. It is shown that after visiting the cave Kinderlinskaya and Shulgan-Tash, a significant number of micromycete species settle on clothes and equipment. Twenty-one species of microscopic fungi were found, as well as yeast, light and dark-colored sterile forms. The isolated species correspond to the typical species composition of fungi in a particular cave. Gloves turned out to be the most contaminated. Washing made it possible to significantly reduce the number and species richness of micromycetes on clothes. Thus, following simple rules can significantly reduce the risk of anthropogenic transfer of microorganisms between caves.

**Keywords:** cave ♦ microscopic fungi ♦ clothes ♦ equipment ♦ washing

Поступила в редакцию: 28.03.2022

DOI: [10.31163/2618-964X-2021-5-1-20-25](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2021-5-1-20-25)

EDN: SYGEQN



### ВВЕДЕНИЕ

Пещеры представляют собой сложные и экстремальные экосистемы для жизнедеятельности живых существ. Как правило, все пещерные биотопы – грунт, скальные поверхности и вода, достаточно густонаселены микроорганизмами, тем не менее, состав микробиоты подземных полостей чувствителен к инвазии чужеродных видов бактерий и

грибов [Dupont et al., 2007; Jurado et al., 2010]. Эта проблема обострилась в связи с распространением в Северной Америке заболевания летучих мышей, так называемого «синдрома белого носа» (White-Nose Syndrome), вызываемого микроскопическим грибом *Geomyces destructans*. Многочисленные исследования показали, что в пещерах Европы этот вид также распространен, но не вызывает массовых заболеваний и гибели животных [Wibbelt, 2010; Puechmaille et al., 2010]. Одна из гипотез, объясняющих это явление, заключалась в предположении о сравнительно недавнем (в эволюционном смысле) антропогенном переносе возбудителя из Европы в Северную Америку. Высказано предположение, что микроорганизмы могут быть перенесены на одежде и исследовательском оборудовании [Ballmann et al., 2017]. Таким образом, проблема антропогенного переноса микроорганизмов в спелеосистемах в настоящее время является весьма актуальной.

Результаты наших многолетних исследований, проводимых в пещерах Южного Урала, позволяют нам оценить возможность антропогенного переноса микроорганизмов в пещерах. Особая опасность таких переносов заключается в том, что микроорганизмы, минуя естественные преграды, активно перемещаются между биотопами. Микроскопические грибы являются типичными представителями различных экотопов пещер, их идентификация относительно проста по сравнению с бактериями, поэтому микромицеты могут служить индикаторами антропогенного воздействия [Jurado et al., 2009; Porka et al., 2011; Fernandez-Cortes et al., 2011].

Целью настоящей работы была оценка численности и видового состава микроскопических грибов, выделяемых с оборудования и одежды после работы в пещерах, а также их изменение в результате стирки.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Определение численности и видового состава микромицетов проводили из посева смывов с одежды и оборудования на среду Чапека. Анализировали перчатки, комбинезоны, а также поверхность емкостей для отбора проб. Комбинезоны после стирки анализировали в одном случае после работы в пещере Киндерлинская (10-17 июля 2021 года), в этот же срок делали посева смывов с поверхности пластиковых емкостей, использованных для отбора проб. В другом случае после посещения пещеры Шульган-Таш, 13 января 2022 года (до и после стирки). Посещение пещеры осуществлялось в зимнюю межень, период в которой полость характеризуется низкой обводненностью и слабой экскурсионной нагрузкой. Посетитель был в зале Хаоса и Рисунков, при прохождении маршрута в основном были загрязнены грунтом пещеры колени и перчатки.

Численность грибов и видовой состав изучали на участках поверхности ладоней синтетических прорезиненных перчаток и коленей комбинезона, из ткани Оксфорд 600 (полиэстер + нейлон с пропиткой из полиуретана). Пробы отбирали методом смыва с поверхности, с помощью пластикового шаблона площадью 98 мм<sup>2</sup> [Джей и др., 2012]. Полученную суспензию методом разведения засеивали в чашки Петри на среду Чапека. Комбинезон и перчатки были выстираны вручную с применением жидкого моющего средства «Ласка» при 40° С, затем повторно был произведен отбор проб методом смыва с тех же участков.

Чашки с посевами инкубировали при температурах 7 и 28°C в течение 14 и 60 суток. Количество выросших микроорганизмов выражали в КОЕ на 1 см<sup>2</sup> поверхности (КОЕ/см<sup>2</sup>).

Идентификацию микромицетов осуществляли по культурально-морфологическим признакам [Билай, Курбацкая, 1990; Литвинов, 1967; Watanabe, 2002]. Световую микроскопию грибов производили на микроскопе Leica DM 1000 (Германия). Представленность отдельных видов грибов выражали в виде их относительного обилия, представляющего собой долю колоний конкретного вида, среди всех выделенных колоний (Кураков, 2001).

Статистическую обработку данных проводили с помощью стандартного пакета анализа MS Office Excel 2007 (12.0.6611.1000). Достоверность различий оценивали по t-критерию Стьюдента при p=0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Посев смывов одежды и оборудования позволил выявить 21 вид митоспоровых грибов, а также дрожжи, светлые и темноокрашенные стерильные формы (таблица 1 и 2). Как видно из таблицы 1 после стирки на одежде преобладали дрожжи и темные стерильные формы, их видовой состав оставался характерным для пещеры Киндерлинская. Анализ состава видов с одежды показывает, что он отражает в большей степени микобиоту воздуха и грунта пещеры, а также сходен с составом видимых колоний микромицетов, развивающихся на различных субстратах в пещере. Смывы с использованного оборудования показали, что на нем присутствует несколько больше видов, чем на выстиранной одежде, 6 и 4 соответственно, причем в них больше аспергиллов. Полученный результат вполне закономерен, поскольку пластиковые емкости использовались для отбора образцов с видимых колоний микромицетов, что способствовало их контаминации [Галимзянова и др., 2018].

**Таблица 1. Видовой состав микроскопических грибов на одежде (после стирки) и оборудовании после работы в пещере Киндерлинская (относительное обилие, %)**

Виды	Одежда	Оборудование
<i>Acremonium charticola</i>	5,3	–
<i>Alternaria alternata</i>	10,5	16,7
<i>Aspergillus niger</i>	–	16,7
<i>A. fumigatus</i>	–	41,7
<i>A. versicolor</i>	–	8,3
<i>Botrytis</i> sp.	5,3	–
<i>Geomyces pannorum</i>	–	8,3
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	–	8,3
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	5,3	–
<i>Mycelia sterilia</i> d	10,5	–
<i>Mycelia sterilia</i> w	5,3	–
Дрожжи	58,4	–
Всего видов	4	6

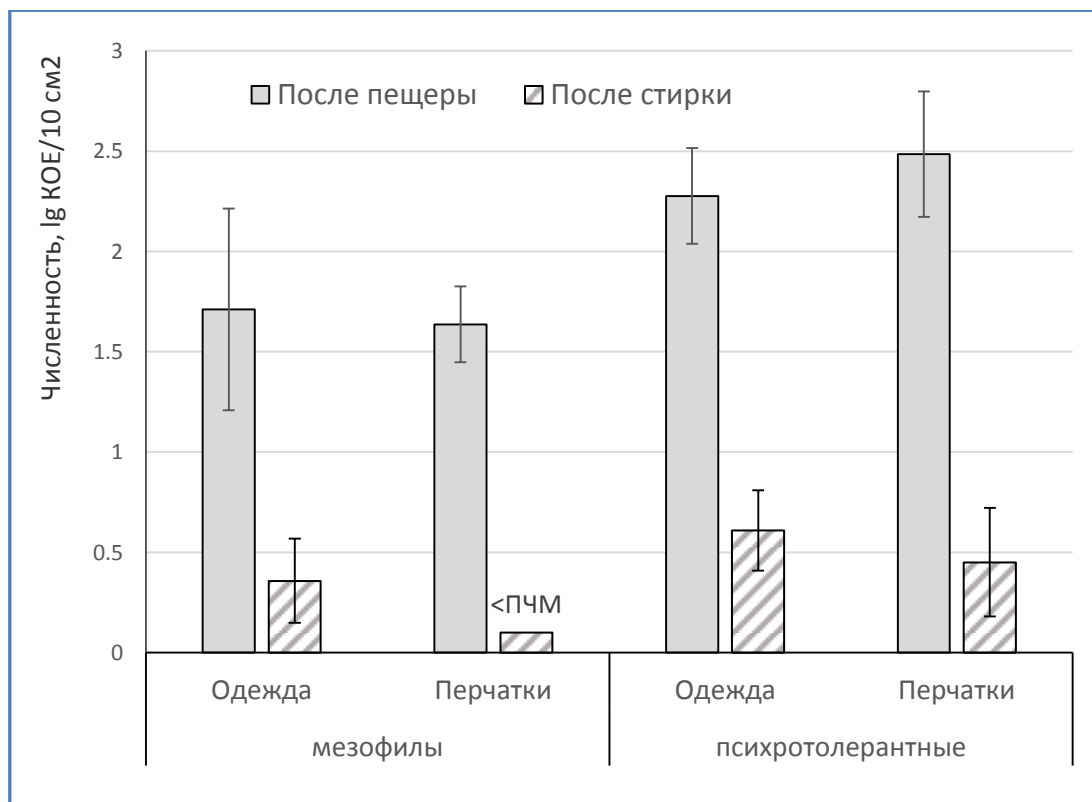
В таблице 2 представлены данные, полученные при анализе смывов с перчаток и комбинезона после посещения пещеры Шульган-Таш. Как видно из результата максимальное количество видов было выделено с перчаток. В целом их состав отражает

наличие ранее обнаруженных в пещере микроскопических грибов [Кузьмина и др., 2019]. Следует отметить, что на перчатках был обнаружен представитель рода *Pestalotia*, который выделялся лишь однажды из воздуха залов Радужный и Бездны в 2015 году. Как видно из таблицы, после стирки происходило снижение видового богатства микромицетов. Если после пещеры преобладали мезофильные пенициллы и психротолерантный вид *Geomyces pannorum* (типичный представитель микобиоты пещер), то после стирки стали доминировать дрожжи и стерильные формы, как и в случае пещеры Киндерлинская. На комбинезоне после стирки хорошо сохранились *Cladosporium cladosporioides*.

**Таблица 2. Видовой состав микроскопических грибов в смывах с одежды после посещения залов Хаоса и Рисунок пещеры Шульган-Таш (относительное обилие, %) (январь 2022 г.)**

Виды	Перчатки				Одежда			
	До стирки		После стирки		До стирки		После стирки	
	28°C	7°C	28°C	7°C	28°C	7°C	28°C	7°C
<i>Alternaria alternata</i>	7,7		-		3,2			
<i>Aspergillus niger</i>	1,9	-	-	-	1,6	-	-	-
<i>A. fumigatus</i>	1,9	-	-	-	-	-	-	-
<i>A. versicolor</i>	6,7	-	-	-	-	0,15	-	-
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	-	1,7	-	-	3,2	6,1	44,4	-
<i>Fusarium oxysporum</i>	1,9	-	-	-	2,4	-	-	-
<i>Geomyces pannorum</i>	0,9	88,4	-	-	-	44,1	-	-
<i>Humicola grisea</i>	0,9	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Monodictis levis</i>	6,7	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mortierella</i> sp.	-	-	-	-		0,16	-	-
<i>Mucor</i> sp.	1,9	0,5	-	-	3,2	0,8	-	-
<i>Oidiodendron</i> sp.	8,7	-	-	-	-	-	-	-
<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	20,2	1,5	-	-	40,8	12,1	11,1	8,3
<i>P. chrysogenum</i>	-	-	-	-	12,8	-	-	
<i>P. nigricans</i>	17,3	-	-	-	6,4	-	-	
<i>P. simplicissimum</i>	0,9	-	-	-	-	-	11,1	8,3
<i>P. variable</i>	-	0,3	-	-	-	4,5	-	-
<i>Penicillium</i> sp.	5,8	-	-	11,1	-	-	-	-
<i>Pestalotia</i> sp.	0,9	-	-	-	-	-	-	-
<i>Cephalotrichum stemonitis</i>	-	0,01	-	-	-	-	-	-
<i>Trichoderma</i> sp.	2,9	-	-	-	-	-	-	-
<i>Mycelia sterilia</i> d	3,8	5,0	-	-	21,6	13,6		25,0
<i>Mycelia sterilia</i> w	5,8	2,1	-	67,7	3,2	16,7		58,3
Аскомицет d		0,3	-	-	-	-	-	-
Дрожжи	2,9	0,3	-	22,2	0,8	-	33,3	-
Всего видов (без учета стерильных форм и дрожжей)	16	7	0	1	8	6	3	2

На рисунке представлена численность микроскопических грибов, переносимых на одежде спелеолога, после посещения пещеры и снижение их количества после ручной стирки. В нашем опыте численность грибов на загрязненной одежде (комбинезон и перчатки) составила до 30 КОЕ на 1 см<sup>2</sup> поверхности. После её стирки, с удалением частиц грунта, численность микроорганизмов снижалась.



**Рисунок. Численность микроскопических грибов на одежде спелеолога после посещения пещеры Шульган-Таш и после её стирки (<ПЧМ – ниже порога чувствительности метода посева, т.е. менее 1 КОЕ на 1 мл суспензии)**

Проведенные анализы показали, что как на одежде, так и на оборудовании после работы в пещере обнаруживаются микроскопические грибы, характерные для конкретных пещер. Перчатки являются наиболее контаминированным предметом одежды. Идеальным решением для предотвращения переноса микроорганизмов на одежде было бы использование одноразовых защитных комбинезонов и перчаток. В случае невозможности такого подхода следует после посещения конкретной пещеры производить тщательную стирку одежды, перчаток, очистку обуви и оборудования, там, где возможно с применением обеззараживающих средств. Таким образом, соблюдение несложных правил способно существенно снизить риск переноса микроорганизмов из пещеры в пещеру.

*При проведении исследований использовали оборудование ЦКП "Агидель" УФИЦ РАН. Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России № 075-03-2021-607 по теме № 122031100163-4.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Билай В.И. Определитель токсин-образующих микромицетов / Билай В.И., Курбацкая З.А. Киев: Наукова думка, 1990. 236 с.
2. Галимзянова, Н.Ф., Рябова А.С., Кузьмина Л.Ю. Видовой состав микроскопических грибов, образующих видимые колонии в пещере Киндерлинская (Южный Урал) // Экобиотех. 2018. Т. 1, № 1. С. 25-32. DOI: <https://doi.org/10.31163/2618-964X-2018-1-1-25-32>
3. Джей Д.М., Лёсснер М.Д., Гольден Д.А. Современная пищевая микробиология. Пер. 7-ого англ. Изд. М. БИНОМ Лаборатория знаний, 2012. 886 с.

4. Кузьмина Л.Ю., Галимзянова Н.Ф., Червяцова О.Я., Сайфуллина Н.М., Капралов С.А., Рябова А.С. Биогенные обрастания в пещере Шульган-Таш (Капова, Южный Урал) и факторы, влияющие на их распространение// Экобиотех, 2019, Т. 2, № 2, С. 128-142 DOI: [10.31163/2618-964X-2019-2-2-128-142](https://doi.org/10.31163/2618-964X-2019-2-2-128-142)
5. Кураков А.В. Методы выделения и характеристики структуры комплексов микроскопических грибов наземных экосистем. М.: МАКС Пресс, 2001. С. 91
6. Литвинов М.А. Определитель микроскопических почвенных грибов. Ленинград: Наука, 1967. 303 с.
7. Ballmann A.E., Torkelson M.R., Bohuski E.A., Russell R.E., Blehert D.S. Dispersal hazards of *Pseudogymnoascus destructans* by bats and human activity at hibernacula in summer // Journal of Wildlife Diseases. 2017. V. 53 (4). P. 725-735. DOI: <https://doi.org/10.7589/2016-09-206>
8. Dupont J., Jacquet C., Denetiere B., Lacoste S., Bousta F., Oriol G., Cruaud C., Couloux A., Roquebert M.-F. Invasion of the French Paleolithic painted cave of Lascaux by members of the *Fusarium solani* species complex // Mycologia. 2007. V. 99 (4). P. 526-533. DOI: <https://doi.org/10.1080/15572536.2007.11832546>
9. Fernandez-Cortes A., Cuezva S., Sanchez-Moral S., Cañaveras J.C., Porca E., Jurado V., Martin-Sanchez P.M., Saiz-Jimenez C. Detection of human-induced environmental disturbances in a show cave // Environ Sci Pollut Res. 2011. V. 18. P. 1037-1045. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11356-011-0513-5>
10. Jurado V., Fernandez-Cortes A., Cuezva S., Laiz L., Cañaveras J.C., Sanchez-Moral S., Saiz-Jimenez C. The fungal colonisation of rock-art caves: experimental evidence // Naturwissenschaften. 2009.V. 96. P. 1027-1034. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00114-009-0561-6>
11. Jurado V., Porca E., Cuezva S., Fernandez-Cortes A., Sanchez-Moral S., Saiz-Jimenez C. Fungal outbreak in a show cave // Science of the Total Environment 2010. V. 408. P. 3632-3638. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.04.057>
12. Porca E., Jurado V., Martin-Sanchez P.M., Hermosin B., Bastian F., Alabouvette C., Saiz-Jimenez C. Aerobiology: An ecological indicator for early detection and control of fungal outbreaks in caves // Ecological Indicators. 2011. V. 11. P. 1594-1598. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2011.04.003>
13. Puechmaille S.J., Verdeyroux P., Fuller H., Ar Gouilh M., Bekaert M., Teeling E.C. White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) in Bat, France // Emerg. Infect Dis. 2010. V. 16. P. 1-8. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1602.091391>
14. Watanabe T. Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. 2nd ed. CRC PRESS 2002. 487 p.
15. Wibbelt G., Kurth A., Hellmann D., Weishaar M., Barlow A., Veith M., Prüger J., Görföl T., Grosche L., Bontadina F., Zöphel U., Seidl H-P., Cryan P.M., Blehert D.S. White-Nose Syndrome Fungus (*Geomyces destructans*) in Bats, Europe // Emerging Infectious Diseases. 2010. V. 16. No. 8. P. 1237-1242. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid1608.100002>