

УДК. 616-056.43:595.42

А.Н. Дударев

Поиск оптимальных условий культивации и элиминации клещей домашней пыли

Изучение взаимодействия организма с чужеродными химическими веществами одна из важных проблем экологии человека. В современных условиях обитания человек постоянно подвергается воздействию ксенобиотиков (фармакологические средства, пыль и т.д.), поступающих в организм с вдыхаемым воздухом, пищей, проникающих через кожу. Значительным ксенобиотиком являются аллергены домашней пыли, населенной микроклещами [1]. В соответствии с этим, основной целью исследования является изучение оптимальных условий культивации для проведения элиминации.

Для извлечения клещей из домашней пыли использовали метод флотации в насыщенном растворе поваренной соли с последующим выявлением при микроскопии. Определение нерастворимого гуанина в образцах проводили по модифицированному методу Э.А. Доценко с соавторами [2]. Путем добавления азокрасителей к экстракту домашней пыли по интенсивности окраски экстракта можно определить примерное количество клещей.

Необходимость массового разведения аллергенных клещей диктуется рядом научно-прикладных задач, одной из которых является получение стандартных биопрепаратов для диагностики и лечения аллергии к клещам домашней пыли. Стандартизация аллергенных препаратов из клещей начинается со стандартизации сырья, что непосредственно связано с оптимизацией процесса культивирования клещей. Однако нехватка критериев качества культур клещей делало эту задачу незавершенной. С этой целью нами были

изучены некоторые параметры культивирования клещей *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*.

Клещи культивируются в термостатах при постоянной влажности и температуре воздуха. Оптимизированы начальные условия создания лабораторных культур *D. pteronyssinus* и *D. farinae*: температура воздуха – 25°C, относительная влажность воздуха 75% (создавали при помощи насыщенного раствора поваренной соли), изначальная влажность субстрата 14% и плотность заселения субстрата – 100 экз./г пыли. Основной единицей культивирования пироглифидных клещей является простая периодическая культура, в которой графическим методом определены границы лаг-фазы, экспоненциального и замедленного роста, плато и снижения численности.

Среды для клещей следует составлять из двух компонентов: питательного и субстрата, создающего для клещей жизненное пространство. Например, для клеща *D. pteronyssinus* субстратом являются утильные волосы, а пищей – смесь чешуек с дрожжами, а для *D. farinae* – субстратом может служить, измельченная кутикула насекомых, а пищей – высушенные дафнии. Однако, питательные среды сами по себе обладают аллергенными свойствами. Поэтому необходимо достичь не только максимальной продуктивности роста клещей, но и минимальной аллергенности питательной среды. Для этого большинство авторов [3] предлагают использовать искусственные среды, состоящие из витаминов, аминокислот, сахаров и др.

Нами использовались для культивирования клещей *D. pteronyssinus* различные питательные среды: щетина человека (волосы из электробритв), домашняя пыль с 35% щетины человека, сухой человеческий альбумин. Важным показателем адекватности питательной среды явилась динамика роста количества клещей в среде в течение всего срока наблюдения. Волосы человека из электробритв (щетина), учитывая естественные условия обитания клещей, а также данные других авторов [3–4] рассматривали как полноценную питательную среду.

Жизнедеятельность и динамику изменения количества клещей в питательных средах оценивали регулярно – через 7–10 дней в течение 17 недель. Установлено, что среды, состоящие из сухого человеческого альбумина, были абсолютно неблагоприятными для роста клещей *D. pteronyssinus*.

При культивации клещей в питательных средах, содержащих одну щетину и домашнюю пыль с добавлением щетины человека, были получены во все сроки принципиально сходные результаты. Наибольший рост абсолютного числа клещей (увеличение в 25 раз) по сравнению с исходным уровнем в питательных средах, содержащих домашнюю пыль со щетиной, наблюдался на 12-й неделе культивации и сохранялся почти на одном уровне до конца срока наблюдения (табл. 1).

Таблица 1

Динамика роста количества клещей в культуре из щетины человека

Срок культивации, недели	Кратность увеличения числа клещей
5	4,67±0,49
6	5,98±0,39
7	7,26±0,97
10	17,89±1,6
12	25,96±0,3
14	25,47±1,9
15	24,93±2,6
17	23,21±2,9

Скорость динамики численности, накопления биомассы клещей в простых периодических культурах *D. pteronyssinus* и *D. farinae* неравномерна. Наибольшее увеличение количества клещей наблюдалось через 10-14 недель, что связано с размножением клещей в этот период. Максимальная биомасса достигается гораздо позже.

Таким образом, целесообразно, не дожидаясь конца цикла, вовлекать простую периодическую культуру пироглифидных клещей в многоцикличный процесс. Для этого определяли период максимальной физиологической активности культуры и максимальную удельную скорость роста численности клещей, которые приходятся на 5 и 10 неделю от начала культивирования для *D. pteronyssinus* и *D. farinae* соответственно. Авторами [1, 3] показано, что диагностическую значимость при определении границ фаз роста играет популяционный портрет – возрастная структура популяции, изменяющаяся при развитии популяции. В фазе максимальной физиологической активности, приходящейся на середину фазы экспоненциального роста, в популяции клещей преобладают личинки, и популяционный портрет представлен формулой: $L > N > J$. Именно в этот период культивирования целесообразно брать инокулят для создания новой культуры клещей. Мы также рекомендуем проводить культивацию клещей в герметически закупоренных пакетах из специальных сортов целлофана, что позволяет получить клещевую массу, свободную от балластных веществ, полностью исключить расползание клещей. Это высокотехнологический метод, особенно при получении клещевой массы в больших производственных масштабах. Питательная среда нового поколения должна быть экономична, технологична, безаллергенна и давать максимальный прирост клещей за минимальные сроки.

Клещевые аллергены в дыхательные пути попадают при встряхивании постельных принадлежностей, уборке квартир, чистке ковров. При этом составные части высохших и разрушившихся клещей поднимаются вверх и вдыхаются с воздухом. В связи с тем, что аллерген клещей постоянно присутствует в жилище человека, первый шаг в управлении численностью клещей состоит в обнаружении источников максимального загрязнения домашней пыли, определении количества и видового разнообразия клещей, с целью выявления доминирующих видов. В дальнейшем, в зависимости от уровня загрязнения, возможен подбор соответствующих мер по снижению уровня клещевого загрязнения.

В настоящее время разработано и рекомендуется для борьбы с клещами большое количество методов [5]. Комплекс противоклещевых мероприятий включает обработку зараженных клещами объектов таким образом, что бы либо уничтожить всех клещей и удалить старые аллергены, либо иммобилизовать и клещей и аллергены с помощью непроницаемой для них упаковки [6].

Для «аллергологического» оздоровления жилища рекомендуется осуществление мероприятий по различным направлениям: покрытие зданий снаружи водонепроницаемой штукатуркой; проведение специальных мероприятий по борьбе с влажностью; осушение вновь построенного здания интенсивным обогреванием и вентиляцией, особенно до и в первый период после заселения.

Клещи погибают при температуре около 50°C и выше [1]. Результаты наших исследований показали, что уже при температуре 38-40°C при 24-часовой экспозиции, даже при относительной влажности 80% погибают около 90% клещевой популяции, а оставшиеся теряют способность к размножению. Такие условия достигаются при выдерживании матраца в течение нескольких часов под прямыми солнечными лучами, что способствует гибели клещей или частичной их элиминации и инактивации аллергенов.

Простым способом борьбы с клещами домашней пыли (КДП) является проглаживание одеял, верхней одежды и постельного белья горячим утюгом [7]. Представляется возможным также использовать холод путем частого и длительного выдерживания постельных принадлежностей на морозе (в течение суток при температуре -18°C). Простое оставление «открытой» (незастеленной) постели в течение 2 часов снижает температуру матраса на несколько градусов и замедляет рост клещевой популяции. В условиях стационара для борьбы с КДП можно использовать автоклавирование белья при $t = 110^{\circ}\text{C}$ в течение 10 минут, что позволяет уничтожить 97% КДП, разрушить их аллергены.

Для удаления клещей довольно широко используется ряд методов, связанных с механической обработкой зараженных поверхностей: регулярная сухая уборка ковров, мягкой мебели, постельных принадлежностей (подушка, матрас) с помощью пылесоса, стирка постельного белья каждые 10 дней при температуре 60°C , замена спальных принадлежностей (старые подушки, матрас) на менее аллергенные, удаление из комнат коллекторов пыли (настенные ковры, гобелены), ежедневная влажная уборка спальных комнат [1-2]. И, наконец, во всем мире широко используются плотные ткани из полистироловых волокон в качестве упаковочных чехлов на матрасы, что иммобилизует клещевой аллерген, и предотвращает накопление клещей в пыли. Чехлы должны обеспечивать двухстороннюю герметичность, исключаящую соприкосновение больного с клещами, с одной стороны, и поступление чешуек человеческого эпидермиса клещам – с другой. Этого добиваются посредством использования в чехлах натуральных тканей со стороны больного, а со стороны матраса – синтетических материалов.

Для удаления клещей из пыли в квартирах рекомендуется обрабатывать пылесосом матрасы и одновременно мягкую мебель не менее 2 раз в неделю, причем предпочтительнее сухая уборка. Полагают, что использование пылесоса очень эффективно, поскольку потоком воздуха извлекаются из толщи ковра не только КДП, но и являющаяся для них пищевым субстратом сама пыль. Удаление большей части пищи клещей ранней весной может предотвратить резкий рост клещевой популяции в начале лета. Обработка пылесосом матраса уменьшает количество клещей, попадающих в воздух во время уборки постели. Рекомендация использовать аэроионизацию с целью борьбы с аллергенами пыли в помещениях, представляется сомнительной, поскольку аэроионы оказывают раздражающее действие на слизистую верхних дыхательных путей.

Изучается возможность применения для борьбы с синантропными клещами химических веществ [8]. Г.Н. Степанова [4] изучала острое акарицидное и остаточное действие ряда препаратов в форме аэрозоля, применяемых для борьбы с синантропными нелетающими насекомыми. Пиретроидные соединения в данной препаративной форме не вызывают острую гибель клещей и не обладают остаточным действием. Изучение автором влияния различных моющих средств на КДП не показало значительного увеличения погибших клещей по сравнению со стиркой только в воде, (число погибших клещей достигало 80%), разница составила 5-6%. Предполагалось, что при обеспечении соответствующего поверхностного натяжения будет ликвидирован гидрофобный барьер, окружающий клещей, и большая часть клещей утонет.

Высоким акарицидным эффектом обладает поваренная соль (хлорид натрия). При нанесении на ковер поваренной соли (из расчета $100\text{г}/\text{м}^2$) в течение 1-2 недель приводит к гибели 99% клещевой популяции [9]. Существует мнение, что избыток соли не коррелирует с качеством обработки. Основным критерием эффективности акарицидного средства считается его способность

снижать уровень клещевых аллергенов ниже 2 мкг/г пыли, элиминирующая активность акарицида должна составлять 90-99% .

Представляется достаточно реальными перспективы использования в будущем различных препаратов на основе растительных компонентов или простых химических соединений в качестве добавок, а также в качестве самостоятельных препаратов, при решении комплексной проблемы борьбы с аллергией на КДП на уровне, отвечающем современным требованиям дезинсекции. Изучается активность некоторых натуральных и синтетических дубильных веществ (бензилбензоат, таниновая кислота, спирты), а также композиций, составленных на их основе. Эти соединения обладают свойствами неспецифических денатурирующих агентов для аллергенных субстанций. Показано, что таниновая кислота вызывает повреждения поверхностей клеточных мембран. При этом 1%-й раствор таниновой кислоты не оказывает раздражающего действия на слизистые оболочки в дыхательных путей. При последовательном воздействии на пыль сначала таниновой кислотой, а затем стиральным средством, пыль полностью освобождается от аллергенов.

Нами проводилось лабораторное изучение акарицидного действия натурального инсектицида кофеина. Максимальное ингибирование роста клещевой популяции отмечалось при добавлении 20 мг кофеина на одну чашку Петри. Показано, что кофеин и другие метилксантины в результате биохимических изменений нарушают питание личинок, что влечет их гибель. В опытах по изучению акарицидной активности кофеина отмечалось уменьшение также концентрации аллергенов *D. pteronyssinus*.

Один из немногих аэрозольных препаратов, выпускаемых в Республике Беларусь, для борьбы с нелетающими насекомыми – «Дихлофос». Нами получены результаты тестирования акарицидности этого препарата. Сильное острое акарицидное действие обнаруживается уже через 0,25 часа после его нанесения на культуру КДП *D. pteronyssinus*. Оно составило $85,33 \pm 0,34\%$, а через 0,5 часа – $91,15 \pm 0,38\%$, через 1 час – $95,45 \pm 1,32\%$, а через 3 часа достигало 100%. Наряду с острым действием нами изучалось остаточное действие препарата на КДП. При посадке клещей на 1-е сутки после обработки, были получены следующие результаты. Через 24 часа после посадки клещей на «мишень», обработанную за сутки до этого, погибло $95,87 \pm 2,2\%$ популяции клещей. Через неделю наступила 100% гибель экспонированной популяции клещей. При посадке КДП на 4-е сутки в среду, обработанную дихлофосом, после одного месяца культивирования сохранилась лишь исходная популяция.

Заслуживает внимание и неизученный отечественными и зарубежными учеными биологический метод борьбы с КДП. В пыли книжных полок наблюдается минимальное количество клещей. Одной из причин этого является наличие насекомых из отряда Сеноеды (*Sarcoptiformes*). Домовой сеноед или пыльная вошь (*Trogium pulsatorium*) – мелкий сеноед (до 2 мм) светло-желтого цвета имеет зачатки крыльев. Распространен по всему миру. Между домовым сеноедом и КДП возникает борьба за экологическую нишу. При культивировании клещей домашней пыли с этим сеноедом, он полностью вытесняет КДП из культуры в течение 4-недель.

Проявления аллергии на КДП показывает, что для обеспечения здоровья больных, помимо традиционных методов лечения таких, как специфическая иммунотерапия (СИТ) в сочетании с симптоматической терапией, необходимо параллельно осуществлять мероприятия, направленные на «оздоровление» жилища. Цель этих мероприятий – снижение уровня клещевого загрязнения до цифр, безопасных в аллергологическом отношении. Порог сенсibilизации к КДП и предлагаемый уровень снижения приводится в таблице 2.

Порог сенсibilизации к клещам и предлагаемый уровень снижения

Аллерген	Порог сенсibilизации к клещам и клинические проявления	Предлагаемый уровень снижения
Клещи	100 клещей/г пыли из постели или мягкой мебели	10 клещей/г пыли
	10 клещей/г пыли с пола	1 клещ/г пыли
Аллерген Р1	2 мкг/г пыли	1 мкг/г пыли
Гуанин	0,5 мг/г пыли	<0,1 мг/г пыли

Необходимо учитывать, что элиминационные мероприятия должны быть максимально всеобъемлющими: т.е. использование лишь одного метода недостаточно для эффективного устранения клещевого загрязнения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Качурин А.Х., Вайцакаускяйте Г.Л. Аллергия к клещам. Вильнюс, 1988. –189 с.
2. Литвиненко И.А., Доценко Э.А., Прищеп И.М. и др. Оценка акарологического пейзажа жилища человека для профилактики обострений бронхиальной астмы // Иммунопатология, аллергология и инфектология, 2000, № 2. С. 46-50.
3. Желтикова Т.М., Овсянникова И.Г., Гервазиева В.Б. Сравнительное изучение популяций клещей домашней пыли (Acariformes: Pyroglyphidae) и экспозиции клещевых аллергенов (Der I, Der II) в квартирах больных с атопией // Пульмонология, 1994, т. 4, № 4. С. 34-37.
4. Guérin B. L'environnement et les acariens de la poussiere de maison // d'Allergologie, 1988, № 28(2). P. 131-138.
5. Laur C., Bidat E., Guérin L. Allergie aux acariens: Quels moyens de control de l'environnement conseiller aux patients? // Allergol. et immunol. clin., 1997, vol. 7, № 2. P. 200-205.
6. Kniesl F.M., Blank K.U., Bischoff E.R.C. Domestic mites as a cause of allergic diseases; a metod for management in the home environment. // 20 Int. Congr. Entomol., Firenze, Aug. 25-31, 1996: Proc. Firenze, 1996. P. 596.
7. Quck S.C., Chong A., Connec G.J., Lee B.W. Effects of an acaricide on asthmatic children with house dust mite allergy // Acta Paediatrica Japonica, 1991, № 35. P. 669-672.
8. Степанова Г.М. Эффективность отечественных инсектицидных препаратов в форме аэрозолей для клещей домашней пыли *Dermatophagoides pteronyssinus* (Troussart, 1897) и *Dermatophagoides farinae* (Hughes, 1961), (Acari: Pyroglyphidae) // Мед. паразит. и паразитарные болезни, 1994, № 2. С. 40-41.
9. Miller A. Miller J. Method for controlling dust mites // US PA 27 1947, №5, 21.12.93. – 6 pp.

SUMMARY

Now it is developed and a plenty of methods is recommended for struggle against mites. The complex antimites actions includes processing the objects infected with mites in such a manner that or to destroy all mites and to remove old allergens, or to limit both mites and allergens with the help of impenetrable packing for them. It is necessary to take into account, that actions on destruction should be maximum universal: i.e. use only one method is not enough for effective elimination mites pollution.

Поступила в редакцию 20.05.2003