

REZUMAT

Scopul cercetărilor a fost de a determina capacitatea reactivă a formelor de rezistență ale micromicetilor filamentoși și levurici la acțiunea radiațiilor ultraviolete de tip C. În vederea realizării acestui deziderat s-a urmărit parcurgerea următoarelor obiective:

- Stabilirea unui model experimental reproductibil pentru a testa efectul radiațiilor ultraviolete de tip C asupra unor tulpini de fungi filamentoși;
- Studiul acțiunii germicide a radiațiilor ultraviolete de tip C asupra fungilor filamentoși și levurici aflați sub formă de suspensie și sub formă peliculară;
- Testarea capacității reactive a fungilor levurici organizați sub formă de biofilme;
- Testarea acțiunii decontaminante a radiațiilor ultraviolete de tip C în condiții de laborator;
- Testarea acțiunii decontaminante a radiațiilor ultraviolete de tip C în condițiile unei stații pilot.

Pentru realizarea acestor obiective a fost realizată o instalație generatoare de radiații electromagnetice de tip UVC cu lungimea de undă de 254 nm, programabilă în timp. Instalația a asigurat realizarea experimentelor în condiții de siguranță biologică și radiologică.

Teză însumează un număr total de 254 de pagini conținând 44 de tabele și 111 figuri.

Partea I- Stadiul cunoașterii- este alcătuită din 54 de pagini, reprezentând 24% din volumul lucrării, alcătuită din 4 capitole în care sunt cumulate informațiile selectate din 256 de surse bibliografice din literatura română și străină referitoare la tema studiată.

Partea a II-a (Cercetări proprii)- este desfășurată pe parcursul a 176 de pagini, reprezentând 76 % din volumul lucrării. Rezultatele cercetărilor proprii sunt prezentate în 7 capitole, urmărind scopul și obiectivele propuse, iar în final teza se încheie cu concluzii generale, recomandări și bibliografie. Fiecare capitol este compus din material și metodă de lucru, rezultate obținute, discuții și concluzii parțiale.

Cercetările au fost efectuate în laboratoarele de Igienă veterinară și protecția mediului, Zooigienă și Micologie-Micotoxicologie ale Facultății de Medicină Veterinară din cadrul Universității de Științe Agricole și Medicină Veterinară „Ion Ionescu de la Brad” Iași. Aceste laboratoare, împreună cu anexele aferente, respectiv boxe și alte spații de cazare ale animalelor, au oferit cadrul necesar îndeplinirii obiectivelor propuse.

În capitolul VI al acestei teze sunt prezentate rezultatele realizării și testării unui model experimental pentru studierea efectului radiațiilor ultraviolete de tip C. Astfel, a fost realizată o instalație generatoare de radiații ultraviolete de tip C cu lungimea de undă de 254 nm, programabilă în timp, necesară studiilor ulterioare. Efectul CID al radiațiilor UVC a fost testat pe 6 tulpini de fungi filamentoși: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus ochraceus*, *Neosartorya fischeri* (forma teleomorfă a speciei *Aspergillus fischerianus*) și *Aspergillus terreus*.

Instalația asigură posibilitatea realizării experimentelor în condiții de siguranță biologică și radiologică. Testările s-au efectuat într-o incintă special amenajată – modul de testare – izolată de mediul exterior, care permite controlul și menținerea parametrilor de microclimat din timpul testării.

Din analiza rezultatelor obținute a reieșit faptul că, tulpina cu cea mai ridicată sensibilitate la radiația UV este *Aspergillus terreus*, iar cea mai rezistentă tulpină este *Aspergillus niger*. După cum s-a putut observa, diferențele de sensibilitate între specii nu sunt semnificative statistic ($>> 0.05$), însă valoarea crescătoare a lui p denotă un anumit grad de eșalonare a sensibilității: *A. niger* < *A. flavus* < *A. fumigatus* < *A. ochraceus* < *Neosartorya* < *A. terreus*.

Datele științifice prezentate în capitolul VII vizează studiul acțiunii radiațiilor ultraviolete de tip C asupra fungilor filamentoși și levurici. Scopul cercetărilor a fost acela de a urmări și cuantifica efectul fungicid al radiațiilor ultraviolete de tip C ($\lambda = 254$ nm) față de tulpini fungice filamentoase (*Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium roqueforti*, *Penicillium crysogenum*) și levurice (*Candida albicans* tulpina ATCC 10231, *Candida dubliniensis*, *Saccharomyces cerevisiae* și *Rhodotorula rubra*). Studiul a urmărit determinarea capacității germicide a RUV-C pe spori fungici aflați în formă uscată (peliculă de suspensie cu spori uscată lent la temperatura camerei) și sub formă lichidă (suspensia de spori ca atare).

Sporii fungilor filamentoși au avut o sensibilitate similară celor două modele experimentale descrise. Dintre speciile supuse testării, sporii de *A. niger*, s-au dovedit a fi cei mai rezistenți, acești fiind distruși în proporție de 99,99% doar după iradierea timp de 30 minute respectiv 60 minute, în ambele modalități de expunerea a sporilor fungici la RUV. Sporii

aparținând speciei *A.ochraceus* au fost cei mai sensibili, fiind reduși de RUV-C în proporții de peste 99,9%, indiferent de timpul de contact dintre aceștia și agentul fizic testat.

Dintre cele două specii aparținând genului *Penicillium* testate, cel mai rezistent a fost *Penicillium roqueforti* cu un procent de reducere $<99\%$ comparativ cu *Penicillium crysogenum* a cărui indice de reducere logaritmică a fost ≥ 3 . Speciile de fungi levurici testate au prezentat o sensibilitate ridicată la iradierea cu radiații ultraviolete de tip C. Indicii de reducere logaritmică au avut valori ≥ 3 , respectiv, procente de reducere de peste 99,99%, valori ce indică un efect antifungic puternic.

Rezultatele testării capacității reactive a fungilor organizați sub formă de biofilme la acțiunea radiațiilor ultraviolete de tip C sunt prezentate în capitolul VIII al acestei lucrări.

Pentru testarea efectului radiațiilor ultraviolete de tip C asupra biofilmelor fungice, protocolul experimental a urmărit parcurgerea a doua etape: selecționarea tulpinilor producătoare de biofilme și testarea radiațiilor în condiții cunoscute. Selectarea tulpinilor producătoare de biofilme s-a realizat dintr-un număr de 150 de tulpini aparținând genurilor *Candida* și *Saccharomyces*, izolate din diferite surse: fungemii la pacienți imunocompromiși (candidoze orale, vaginale, balanite candidozice, stomatite de proteze, candidoze orofaringiene), din material seminal la vierii de reproducție și din industria alimentară, respectiv din produse lactate acide.

Au fost reținute 50 de tulpini care, în urma unor testări repetate, s-au dovedit a fi generatoare de biofilme. Au fost identificate 27 tulpini de *Candida parapsilosis*, 5 tulpini de *Candida krusei*, 6 tulpini de *Candida glabrata*, 8 tulpini de *Candida albicans*, o tulpină de *Candida norvegensis*, o tulpină de *Candida catenulata*, o tulpină de *Candida pelliculosa* și o tulpină de *Candida tropicalis*. Etapa a II-a a studiului a urmărit efectul radiațiilor ultraviolete de tip C asupra biofilmelor levurice de 24 ore respectiv 48 ore, formate pe două tipuri de suprafețe: godeuri din plastic și sticle de ceas sterile.

Dozele UV aplicate asupra biofilmelor formate în godeuri au fost corespunzătoare distanței de iradiere de 50 cm și timpilor de contact biofilm- RUV-C de 5 minute, 15 minute, 30 de minute și 60 de minute. Valorile acestor doze au fost: $9,3 \text{ mW}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$, $27,91 \text{ mW}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$, $55,82 \text{ mW}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$ și $111,65 \text{ mW}\cdot\text{s}/\text{cm}^2$.

După iradierea biofilmelor dezvoltate pe suprafața plată a microgodeurilor s-a observat obținerea unui efect cid nesemnificativ prin iradierea de la 50 de cm timp de 5, 15 sau 30 de minute sau a unui efect distructiv evident după iradierea timp de 60 de minute. După iradierea biofilmelor dezvoltate pe suprafața sticlelor de ceas a fost semnalată apariția unui efect de reducere a numărului unităților formatoare de colonii după iradierea timp de 60 de minute prin amplasarea lămpii UV atât la 20 de cm cât și la 50 de cm. Efectul cid total a fost obținut prin

prelungirea timpului de contact la 90 de minute indiferent de distanța de iradiere și durata de formare a biofilmelor.

Capitolul IX conține rezultatele obținute după testarea capacității decontaminante a RUV C în condiții de laborator. Scopul acestor cercetări a fost de a aprecia efectul antifungic produs de radiațiile ultraviolete față suspensii din spori de *Candida albicans* ATCC 10231, *Alternaria tenuissima* și *Aspergillus niger*, prin amplasarea plăcilor însămânțate atât sub lampa UV, la distanța de 1 m, cât și lateral în partea stângă și în partea dreaptă, astfel încât unghiul format dintre razele UV și plăcile Petri să fie de 45°.

Acest studiu a fost motivat de aplicabilitatea practică a utilizării surselor generatoare de radiații ultraviolete în diferite spații medicale și industriale, în scopul decontaminării diverselor suprafețe, dar și pentru reducerea încărcăturii micotice din aer.

Rezultatele obținute au relevat faptul că, din punct de vedere al tulpinilor iradiate, specia de tip levuric, *Candida albicans* ATCC 10231, s-a dovedit a fi cea mai sensibilă la acțiunea acestui factor nociv, efectul cid total fiind întâlnit la toate plăcile așezate perpendicular cu surse de iradiere, indiferent de durata expunerii la acțiunea radiațiilor UV. Aceste rezultate corespund cu rezultatele obținute în determinările anterioare care au studiat efectul cid al RUV tip C asupra fungilor levurici aflați în stare planctonică.

În ceea ce privește rezultatul obținut prin amplasarea plăcilor însămânțate cu suspensie levurică lateral față de sursa UV astfel încât unghiul dintre razele UV și plăcile Petri să fie de 45°, se poate concluziona faptul că efectul cid asupra acestor levuri este diminuat comparativ cu efectul obținut asupra fungilor din plăcile plasate sub lampa UV.

Sensibilitatea cea mai scăzută față de acțiunea fungicidă a radiațiilor UV a fost întâlnită la specia *Aspergillus niger*. Această tulpină nu a fost redusă în totalitate, nici chiar după expirarea celor mai lungi timpi de contact luați în studiu, de 6 și 12 ore. Totuși, a fost obținută reducerea încărcăturii fungice doar după 6 ore de iradiere continuă a plăcilor așezate perpendicular cu sursa UV.

Rezultatele obținute în urma testării capacității decontaminante a RUV C în condițiile unei stații pilot sunt prezentate în capitolul X al prezentei teze. Scopul cercetărilor a fost de a evalua efectul antifungic al radiațiilor ultraviolete de tip C, generate de o sursă artificială, asupra încărcăturii micotice din aerul și de pe unele suprafețe existente într-o stație pilot în care au fost crescuți pui de carne pe așternut permanent. Cercetările au fost efectuate etapizat și au constatat în realizarea de iradiere succesive, precum și în aprecierea eficienței decontaminării aerului și a suprafețelor din incinta respectivă.

Sursa generatoare de radiații UV de tip C a fost reprezentată de lampa UV prezentată în capitolul VI, iar amplasarea lămpii a fost la distanțe de 1,5 m și 2 m față de pardoseala din

interiorul modulului de testare în prima serie de testări și la 2 m în cea de-a doua serie de testări. De asemenea, în cea de-a doua serie de testări a fost apreciată eficiența curățeniei hidro-sanitare și a iradierilor efectuate după această operațiune de sanitație asupra unor suprafețe reprezentate de pardoseală, perete, adăpătoare și grilaj.

După efectuarea primului experiment, prin amplasarea lămpii UV la 2 m înălțime, intervalul de apartenență a reducățiilor procentuale a fost situat între 20,51% după iradierea timp de 120 de minute efectuată după curățenia hidro- sanitară și 98,25 %, valoare corespunzătoare iradierii timp de 60 de minute după curățenia hidro-sanitară. De asemenea a fost obținută o reducăție de 98,22% după parcurgerea timpului experimental T11 (360 de minute de acțiune UV după efectuarea curățeniei hidro-sanitare). Iradierile efectuate după curățenia mecanică au dus la o reducere a încărcăturii aeroflorei micotice de 68,71 % după 30 de minute de acțiune UV și de 85,44 % după 60 de minute de iradiere UV. Iradierile timp de 30 și 60 de minute efectuate după curățenia hidro-sanitară au dus la obținerea unor reducății de 91,03%, respectiv 98,25% comparativ cu numărul UFC/m³ de aer înregistrat după efectuarea operațiunii de sanitație.

Prin amplasarea lămpii UV la distanța de 1,5 m față de pardoseală, reducățiile procentuale ale încărcăturii micotice din aer au avut valori de peste 69,50%. Astfel, după expirarea perioadei de iradiere continuă timp de 30 de minute efectuată după curățenia mecanică s-a obținut o scădere a micoaeroflorei cu 81,01%. De asemenea, a fost obținut un procent de reducăție de 92,29% după 60 de minute de iradiere UV post curățenie mecanică. După iradierea timp de 120 de minute efectuată după curățenia mecanică, procentul de reducăție a încărcăturii fungice din aer a fost de 73%, iar după 360 de minute de acțiune UV reducăția a fost de 93,77%.

După efectuarea curățeniei hidro-sanitare și iradierea de la 1,5 m timp de 30 de minute valoarea reducăției procentuale a fost de 69,50 %. Valorile procentelor de reducere a încărcăturii micotice din aer obținute după iradierile timp de 60 și 120 de minute post curățenie hidro-sanitară au fost de 85,63%, respectiv 90,64%. Cea mai mare reducăție procentuală a florei micotice din aer s-a obținut după aplicarea fluxului radiant UVC timp de 360 de minute și a fost de 98,03% comparativ cu numărul UFC/m³ de aer înregistrat după efectuarea operațiunii de sanitație.

De asemenea, pe parcursul experimentului a fost observată persistența fungilor din genurile *Aspergillus* și *Cladosporium*, indiferent de operațiunea de decontaminare efectuată sau de timpul de iradiere UV folosit. De asemenea, se poate observa absența fungilor din genul *Scopulariopsis* după efectuarea iradierii timp de 30 de minute după curățenia mecanică. Micromicetele din genul *Penicillium* s-au dezvoltat în plăcile Petri deschise după expirarea primilor opt timpi experimentali (T1...T8), acești fungi nemaifiind regăsiți ulterior pe mediul de cultură din plăci. Fungii din genul *Fusarium* nu au avut o dinamică constantă, aceștia fiind

absenți în plăci doar după iradierile de 30 și 360 de minute după curățenia mecanică, precum și după expirarea ultimului timp de iradiere al testărilor. O rezistență deosebită a fost manifestată de fungii din familia Mucoraceelor, precum și de cei din genul *Aspergillus* var. *Glaucus* deoarece aceștia au crescut pe suprafața mediului de cultivare și în plăcile expuse după expirarea celor mai lungi timpi de iradiere (60, 120 și 360 de minute) după curățenia hidro-sanitară.

După efectuarea celui de-al doilea experiment, prin realizarea curățeniei mecanice în stația pilot a generat o creștere a încărcăturii micotice din aer de 7,91 ori. După realizarea decontaminării UV cu un timp de contact de 30 de minute (T3), numărul micoților din aer a fost redus cu 91,55% comparativ cu încărcătura existentă în aer după curățenia mecanică. De asemenea, creșterea duratei de iradiere la 60 de minute a generat o reducere procentuală de 91,45% față de valoarea înregistrată după efectuarea primei operațiuni de sanitație.

După timpul experimental T5, corespunzător iradierii timp de 120 de minute, reducția procentuală a fost de 65,18%. Prin creșterea timpului de contact dintre fluxul radiant și aerul din incintă la 360 de minute a fost obținută o reducere procentuală a încărcăturii fungice de 95,43% față de valoarea înregistrată după curățenia mecanică. Cea de-a doua operațiune de sanitație, curățenia hidro-sanitară, a avut ca efect reducerea aeroflorei micotice cu un procent de 77,82% comparativ cu valoarea înregistrată după T2. Iradierile UV timpi de 30 și 60 de minute au produs reducerea încărcăturii micotice existente după curățenia hidro-sanitară cu 87%, respectiv 73,55%. Utilizarea unui timp de iradiere de 6 ore a generat obținerea unei reducerii de 91,48% a încărcăturii micotice înregistrate după curățenia hidro-sanitară.

La nivelul suprafețelor pe parcursul primelor determinări efectul fungicid cel mai puternic întâlnit asupra florei micotice de pe majoritatea suprafețelor analizate a fost obținut după iradierea continuă timp de 360 de minute. Astfel, au fost obținute reducerii ale încărcăturii micotice de 94,93% la nivelul peretelui, 95,02% la nivelul pardoselii și de 67,33% la nivelul grilajului metalic. După cea de-a doua serie de testări, efectul cid cel mai evident asupra florei micotice de la nivelul suprafețelor luate în studiu a fost obținut după 120 și 360 de minute de iradiere UV, valorile reducărilor procentuale fiind de peste 50 % la nivelul peretelui, peste 91,66% la nivelul pardoselii și de peste 99% la nivelul adăpătorii și grilajului metalic.

Concluziile generale ale prezentului studiu sunt prezentate în cadrul capitolului XI. Lucrarea se încheie cu prezentarea unor recomandări, precum și cu enumerarea principalelor titluri bibliografice analizate.