

«Сейфуллин окулары–12: Ғылым жолындағы жастар - болашақтың инновациялық элеуеті" атты Республикалық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения–12: Молодежь в науке-инновационный потенциал будущего». – 2016. – Т.І, ч.1. – С. 309-311

ИЗУЧЕНИЕ САХАРОЛИТИЧЕСКОЙ И УРЕАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ШТАММА *TRICHOPHYTON VERRUCOSUM*

Саттарова Р.С, Мусылманбекова А.

Дерматомикозы – это группа специфических заболеваний, вызываемых грибами дерматомицетами. Данные заболевания являются общими для человека и животных, встречаются повсеместно [1]. В Казахстане дерматомикозы широко распространены, эпи- демииологическое значение имеют *Trichophyton verrucosum*, *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *Microsporum canis*. В настоящее время при дерматомикозах животных не используются современные методы быстрой и точной диагностики, что приводит к распространению инфекции на территории хозяйствующих субъектов и заражению людей [2].

К распространению инфекции на территории хозяйствующих субъектов также приводит и то, что возбудители дерматомикозов в зависимости от факторов внешней среды обладает способностью оставаться жизнеспособными от 7 до 10 лет и оставаться источником инфекции для животных и людей [1]. Данный фактор объясняет трудность искоренения зоонозных дерматомикозов, хотя с середины прошлого столетия учеными были достигнуты хорошие результаты в борьбе с этой эпизоотией [2].

Традиционным способом борьбы с дерматомикозами является вакцинация животных. Однако, следует отметить, что вакцинация как метод лечения и профилактики не всегда приносит положительные результаты. Это может быть связано с наличием оппор- тунистических возбудителей заболевания, которые не реагируют на прививки. Иногда проблемой становится высокая устойчивость, вирулентность и патогенность дермато- мицетов, вызванная нерациональным применением антибиотиков и противогрибковых препаратов [5].

В этой связи нельзя отказываться от полномасштабных диагностических мероприятий, как классических (микроскопия, выделение чистой культуры, люминесценция), так и современных (серологические реакции, иммуноферментный анализ, ПЦР- диагностика), активно предлагаемых отечественной ветеринарной службе [6].

При анализе кожных поражений молодняка крупного рогатого скота в хозяйству- ющих субъектах Алматинской области выявлено наличие очагов, характерных для три- хофитии крупного рогатого скота. Идентификация

возбудителей микозов кожи у телят классическими методами микологической диагностики показала, что в биологическом материале, отобранном от животных с поражениями, находятся как классические возбудители – дерматомицеты, так и плесневые грибы. Проведенная работа по выделению чистой культуры позволила получить культуру *Trichophyton verrucosum*, отличающуюся характерными культуральными и морфологическими признаками.

Целью нашей работы явилось изучение биохимических свойств дерматомицета *Trichophyton verrucosum*, выделенного в Алматинской области.

Материалы и методы

Для работы использовали среды Гисса и среду Кристенсена.

Среды Гисса – это дифференциально-диагностические среды, которые используют для идентификации микроорганизмов, способных ферментировать сахара. Готовая среда Гисса представляет собой мелкозернистый светло-желтый порошок. Она гигроскопична и поглощает влагу из воздуха. Среды Гисса использованы для изучения сахаролитической активности *T. verrucosum*. Для приготовления среды Гисса смешивали сухой порошок готовой питательной среды в количестве 0,24 г с 50 мл дистиллированной воды, кипятили 3 мин, до полного растворения агара. После стерилизации среды охлаждали ее и разливали по 4 мл в 2 стерильные пробирки (1 для посева штамма, 1 для контроля).

Среда Кристенсена – эту среду с добавлением мочевины рекомендуют для определения продукции уреазы. Она рекомендована международным комитетом (ISO 6579: 1993). Среда Кристенсена использована для изучения уреазной активности *T. verrucosum*. Для приготовления среды Кристенсена смешивали 1,26 г порошка в 50 мл дистиллированной воды, кипятили для полного растворения частиц. Стерилизовали автоклавированием при 0,7 атм (115°C) в течение 20 мин. Остудили до 50°C и асептично добавляли 2 мл стерильного раствора мочевины. Тщательно перемешивали, разливали в стерильные пробирки и остужали их в наклонном положении для получения скола.

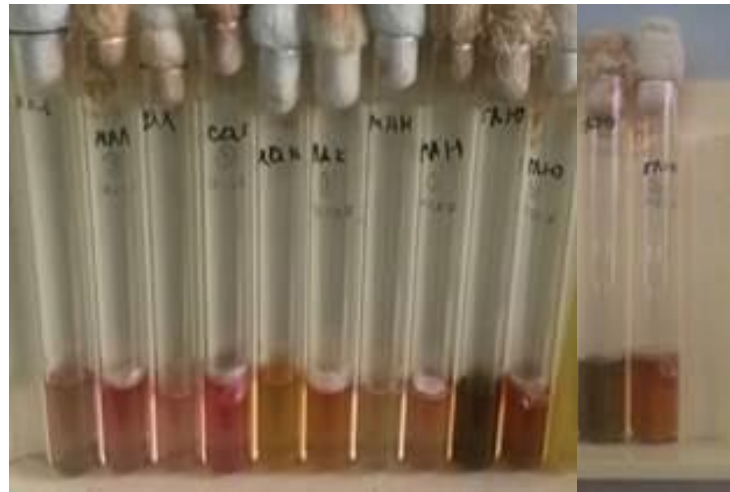
Результаты исследований

В подготовленные питательные среды осуществляли посев чистой культуры *T.*

verrucosum. Наблюдение за ростом культуры осуществляли ежедневно.

Реакцию на наличие сахаролитических свойств оценивали по изменению цвета среды Гисса. При положительной реакции образуется кислота и может произойти образование пузырьков газа в глубине или на поверхности среды. Это связано с тем, что при сбраживании того или иного углевода образуется кислота, происходит восстановление обесцвеченного фуксина и среда меняет окраску (рисунок 1). Если цвет среды не меняется, то реакция считается

отрицательной.



а

б

Рисунок 1 – Изменение цвета сред Гисса, хорошо заметное в сравнении с контролем (а); наличие газообразования (разрывы среды в толще геля) в пробирке с глюкозой

Как видно из рисунка 1, практически все сахара расщепляются дерматомицетом (слева направо: мальтоза, сахароза, лактоза, маннит, глюкоза). Наиболее выражен результат при расщеплении сахарозы и глюкозы, что сопровождается не только изменением цвета среды (1а), но и активным образованием хорошо заметных пузырьков газа (1б). Косвенным подтверждением активности расщепления сахаров служит и объем накопления биомассы дерматомицета, что хорошо заметно по наличию белой мицелиальной массы на поверхности питательной среды.

Если расположить сбраживаемые сахара по степени активности их расщепления, то будет следующая картина: глюкоза > сахароза > мальтоза > лактоза > маннит. Данные наших исследований вполне согласуются с классическими данными. Для примера можно привести состав любой среды, которая включает в себя сахара: мальтозный агар Сабуро, глюкозный агар Сабуро, среда Чапека (на основе глюкозы) и т.д.

Анализ роста *T. verrucosum* на поверхности косячков со средой Кристенсена показал, что идет активное расщепление мочевины с образованием аммиака, который защелачивает среду, что сопровождается изменением цвета с желтого на розово-красный. На рисунке 2 можно увидеть изменение цвета, то есть положительную уреазную реакцию. Положительная реакция «+» – розово-красный цвет; отрицательная реакция «-» – цвет не изменен.



Рисунок 2 – Учет уреазной активности штамма *T. verrucosum*

Таким образом, нами выявлено выраженное наличие сахаролитических свойств и уреазной активности у эпизоотического штамма *T. verrucosum*.

Список литературы

1 Елинов Н.П., Васильева Н.В., Разнатовский К.И. Дерматомикозы или поверхностные микозы кожи и её придатков – волос и ногтей. Лабораторная диагностика // Проблемы медицинской микологии. – 2008. – Т. 10, №1. – С. 27-34.

2 Толыбекова А.А. Распространенность, клиническое течение, диагностика и терапия микозов стоп у больных сахарным диабетом с сосудистой патологией конечностей. Клинико-экспериментальное изучение путей проникновения и распространения возбудителей микозов стоп: автореф. ... канд. мед. наук. – Алматы, 2005. – 20 с.

3 Саркисов А.Х. Основные пути и средства искоренения дерматомикозов в странах мира: достигнутое и задачи. Вестник с.-х. науки, 1991, № (412). стр. 109-15.

4 Маноян М.Г., Панин Овчинников Современные средства специфической профилактики и терапии дерматомикозов животных // Современная микология: тез. докладов Второго съезда микологов России. – Т. 2. – М., 2008. – С. 134-135.

5 Cutler J.E., Deepe G.S. Jr., Klein B.S. Advances in combating fungal diseases: vaccines on the threshold // Nature reviews. Microbiology. – 2007. – №5(1). – Р. 13-28. (PMID:17160002) 6 Кухар Е.В. Результаты генотипирования и классических методов идентификации в диагностике дерматомикозов // Проблемы медицинской микологии. – Том 17, №2. – 2015. – С. 96-97.