

Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары – 17: «Қазіргі аграрлық ғылым: цифрлық трансформация» атты халықаралық ғылыми – тәжірибелік конференцияға материалдар = Материалы международной научно – теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 17: «Современная аграрная наука: цифровая трансформация», посвященной 30 – летию Независимости Республики Казахстан.- 2021.- Т.2, Ч.1 - С. 56-59

## **ПРИМЕНЕНИЕ ТЕСТОВ COMPACTDRYҮМ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ДЕРМАТОМИЦЕТОВ**

Каржасова Р.М.,  
Кухар Е.В.

Известно более 400 видов патогенных грибов – возбудителей микозов. Год за годом этот список увеличивается и пополняется на 10 видов. Возбудителями микозов у животных и человека являются различные дрожжеподобные и плесневые грибы [1].

В настоящее время диагностика микозов приобретет всё большую актуальность. Для идентификации и диагностики микозов разрабатываются различные микробиологические методы и лабораторные тест-системы [2].

Новые диагностические экспресс – тесты «Compact Dry YM» обладают большим преимуществом по отношению к классическим тест-системам, хотя используется только для выявления микроорганизмов и их количества в пищевых продуктах. К примеру, классические методы проводятся только в лабораториях, тесты «Compact Dry» можно применять даже в полевых условиях. Тест-система представляет собой пластиковую компактную чашку диаметром 5 см, практически не занимающей места для хранения. В каждой алюминиевой упаковке находится ряд из 4 пластин, ранее стерилизованных гамма-лучами. Они могут использоваться, как транспортная среда готовая к использованию, тем самым нет никакой необходимости готовить питательную среду на плите, что устраняет расходы на приготовление питательной среды. Линия Compact Dry имеет выдающиеся характеристики, к примеру: срок годности тестов до 2 лет при комнатной температуре; не требуется заморозка тест-систем; образец сам гомогенно диффундирует; пластины не занимают много места, имеют безопасные закрытые крышки; легко выделить колонии; тесты разработаны в соответствии со стандартами; применение возможно как в лабораторных, так и в домашних или полевых условиях; имеется возможность подсчета колоний с помощью специальных программ на телефоне и компьютере. Линия продуктов Compact Dry включает в себя следующие тесты: ЕС, ТС, РА, YMR, ЕСО, ХВС, АQ, ЕТВ, YМ, CF, SL, ETC [3].

Экспресс – тесты «Compact Dry YM» представляют собой сухие, готовые хромогенные среды в виде маленьких пластиковых чашек с полем для надписи. Они были разработаны, как простая культуральная среда, которая позволяет сделать каждодневные тестовые операции более быстрыми и эффективными, решая проблемы, связанные с обработкой, сокращая время и трудозатраты на приготовление питательной среды. После культивирования в течение нескольких дней, колонии Compact Dry легко различимы из-за яркой окраски за счет индикатора [4].

Пластинки «Compact Dry YM» состоят из диффузионного листа, покрытого средним компонентом и гелеобразующим агентом в сухом виде. Для анализа необходим 1 мл исследуемого материала (жидкая форма) в центре пластинки теста, диффузия автоматически начинается по явлению капиллярности волокна листа диффузии. В связи с этим среда затвердевает, благодаря действию гелеобразующего агента. Поскольку две противоположные реакции диффузии и гелеобразования происходит всего за секунду, смешивание или гомогенизация образца не требуется [5].

Представляет интерес выявить возможность применения данных тестов в ветеринарной диагностике для выявления возбудителей микозов. Работа в данном направлении имеет актуальность, научную и практическую значимость. Научная работа выполнялась в лаборатории биотехнологии грибов и микологии в течение 2019-2020 гг. в рамках инициативной фундаментальной темы с номером гос.регистрации №0118РКИ0321 от 19.06.2018 г.

Целью исследований является определение возможности применения тестов «Compact Dry®YM» для выявления возбудителей дерматомицетов. В задачи исследований входило восстановление коллекционных штаммов после хранения, культивирование и анализ роста штаммов на классическом агаре Сабуро и на экспресс-тестах «Compact dry», предназначенных для выявления плесеней и дрожжей.

В качестве объектов исследования были использованы коллекционные штаммы лаборатории биотехнологии грибов и микологии.

Для исследований проводилось культивирование грибов на питательной среде агар Сабуро и на экспресс-тестах «Compact Dry YM», предназначенных для роста плесневых грибов и дрожжей. Посев производится следующим образом: приоткрывается крышка теста, исследуемый образец разбавляется с дистиллированной водой, затем 1 мл. жидкости капают в середину пластинки, при этом жидкость на экспресс – тестах равномерно распределяется за счет автоматической диффузии образца. Далее чашки Петри и экспресс тесты помещаются в термостат при температуре 28°C на 5-7 дней.

На первом этапе провели восстановление коллекционных штаммов микромицетов: вакцинного штамма дерматомицета *Trichophyton verrucosum* №4 и плесневого гриба рода *Aspergillus* №402 на твердой питательной среде агар Сабуро. Материал после хранения засеивали на агар Сабуро и культивировали при температуре 28°C до завершения формирования колоний.

Штамм микромицета *Aspergillus spp.* №402 изначально имел темно-бурый цвет, рост был сплошным по всей чашки Петри, а уже на 12 день культивирования появился зеленоватый оттенок (рисунок 1а). При культивировании коллекционного штамма *T.verrucosum* №4 на питательной среде агар Сабуро был замечен небольшой рост дерматомицетов уже на 7 день. На 15 день рост был в виде беловато-кремовых колоний (рисунок 1б).



Рисунок 1 – Восстановленные штаммы *Aspergillus spp.* №402 и *T.verrucosum* №4

Поверхностное культивирование восстановленных штаммов проводили на агаре Сабуро на плотных питательных средах в чашках Петри и экспресс-тестах в термостате.

Рост штаммов дерматомицетов на агаре Сабуро отличался стабильными культурально-морфологическими свойствами. Заметный рост штамма *Aspergillus spp.* №481 фиксировали на 5 сутки, окончательные колонии сформировались в течение 2-х недель, по краям были замечены белый растущий край (рисунок 2а). Колонии *T.verrucosum* №4 имели округлую форму, слегка неровные края, белые хлопкообразные колонии, характер роста – сплошной. Рост дерматомицета стал заметным на третьи сутки после начала культивирования, формирование колонии завершилось на 20 сутки (рисунок 2б).

Изучение характера роста при культивировании коллекционных штаммов на экспресс-тестах «Сомраст dry УМ» при температуре 28°C показало, что на пластинках выросли колонии микромицетов, культивирование завершалось в течение 5-7 суток.

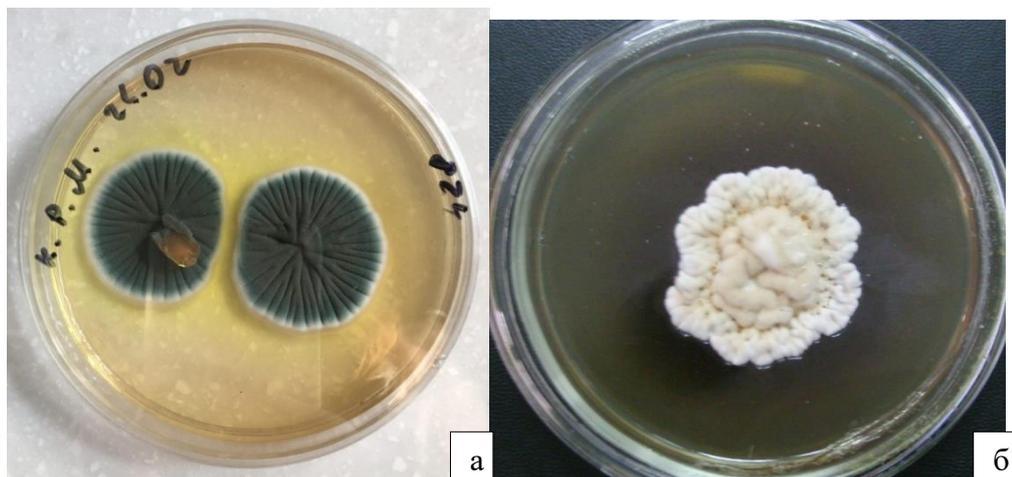


Рисунок 2 – Рост *Aspergillus spp.* №402 (а) и *T.verrucosum* №4 (б) на агаре Сабуро

При этом нами отмечено, что колонии разных штаммов дерматомицетов имели разные внешние признаки. Колонии штамма №402 были легко заметны, благодаря зеленому цвету с голубым оттенком, что характерно именно для дерматомицетов, а колонии штамма №4 имели выраженный ярко голубой цвет (рисунок 3).

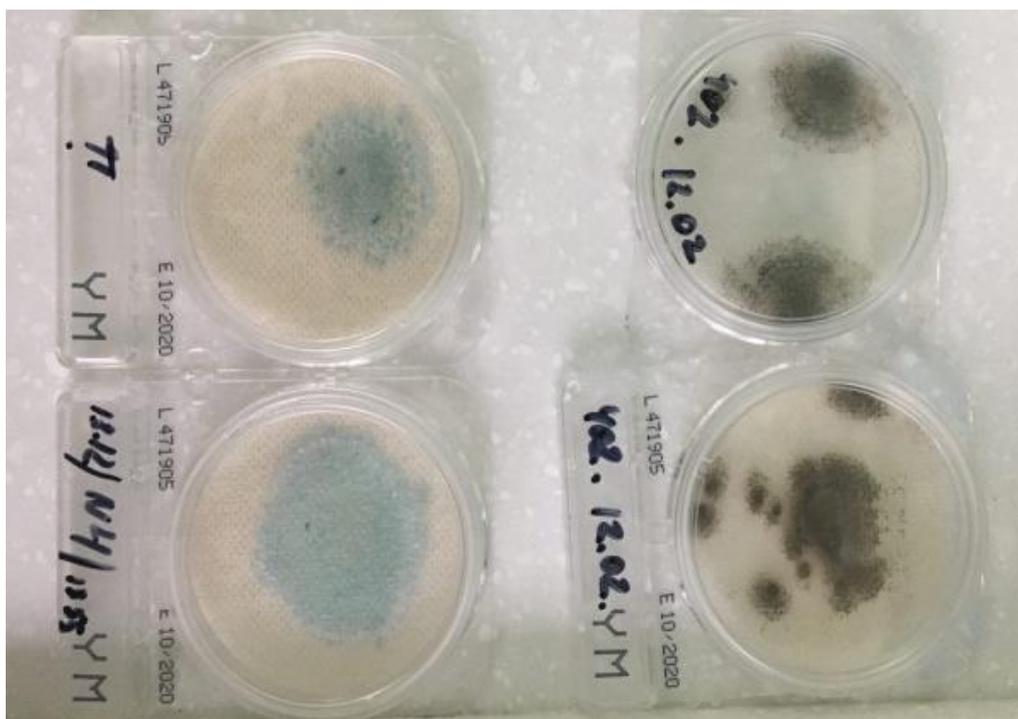


Рисунок 3 – Рост штаммов микромицетов *Aspergillus spp.* №402 и *T.verrucosum* №4 на пластинках Compact Dry YM

Определение возможности применения экспресс-тестов «Compact Dry YM» для диагностики дерматомикозов показало, что их вполне возможно использовать для выявления возбудителей дерматомицетов. Определена возможность применения экспресс-тестов для диагностики дерматомикозов, анализируя преимущества среды: среда «Compact Dry YM» в отличие от классических сред является компактной, тем самым это позволяет экономить место. «Compact Dry YM» можно легко перемещать, что позволяет проводить работу в любых условиях; не требует подготовительных работ перед посевом; простота и быстрота в использовании; содержит все те же питательные вещества, что и агаровая среда с декстрозой; лёгкое обнаружение результатов.

Анализируя, все выше перечисленное можно сказать, что данная сухая среда «Compact Dry YM» идеально подходит для диагностики возбудителей дерматомицетов. Поскольку, микозы нужно выявлять на ранних стадиях, это будет считаться лучшим способом быстрой диагностики болезни. Также, при росте дерматомицетов на классической питательной среде Сабуро начало роста колонии на среде отмечается на третий день культивирования, но завершении формирования колонии заканчивается через 20-30 суток. Появление выраженных культуральных свойств при культивировании коллекционных штаммов на пластинках «Compact Dry YM» происходило в течение 5-7 суток при температуре 28°C. Колонии дерматомицетов были легко заметны, благодаря яркому голубо-зеленоватому оттенку. Это очень удобный и альтернативный метод учета колоний по отношению к классической микробиологической диагностике. Использование тестов

уменьшает время подготовки и позволяет получить быстрый и точный результат.

Таким образом, нами установлено, что тесты «CompactDry®YM» – удобный и альтернативный метод учета колоний по сравнению с классической микробиологической диагностикой. Использование тестов «Compact Dry YM» уменьшает время подготовки и позволяет получить быстрый и точный результат при постановке диагноза и идентификации возбудителя.

#### Список литературы

1. Никитина И.В., Ионов О.В., Приходько Н.А. Современные подходы к диагностике, терапии и профилактике инвазивных микозов у новорожденных. – М.: ФГБУ «Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России, 2014. - №4. – С. 1-3.

2. Иванова Н.В., Полтараус А.Б., Щербо И.В., Щербо С.Н. Метод ПЦР в диагностике микозов // Современная микология в России: Первый съезд микологов России. Тезисы докладов. – М., 2002. – С. 358.

3. Shingo Mizuochi, Development of «Compact Dry» simplified culture medium for microbial count, Diagnostic drug Department, Nissui Pharmaceutical Co., Ltd.

4. Тестирование Compact Dry ТС на базе сертификационного института АОАС (США). – [Электрон. ресурс]. – 2021. – URL: <http://www.pribori.com/products/pdf/institut-AOAC.pdf/> (Дата обращения: 10.03.2021).

5. Kodaka H. et all. Comparasion of the Compact Dry YM with the FDA BAM Metthod for Enumeration of Yeasts and Molds in Fruit-Based Products // Journal of AOAC International. Vol. 89, No 1. 2006. P. 127-138.