

**ВНУТРИВИДОВОЕ ТИПИРОВАНИЕ ГРИБОВ РОДА CANDIDA
НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ, СОДЕРЖАЩИХ
2,3,5-ТРИФЕНИЛТЕТРАЗОЛИЙ ХЛОРИД**

**Циркунова Ж.Ф., Скороход Г.А., Гудкова Е.И., Гаврилова И.А.,
Слабко И.Н., Буткевич В.В., Бердник Н.Н., Емельянова А.А.**
УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Минск, Беларусь
tsyrcunova@list.ru

Разработан алгоритм внутривидового типирования Candida spp. культуральным методом, основанным на оценке макроморфологических признаков грибов при их росте на питательных средах, содержащих 2,3,5-трифенилтетразолий хлорида (ТТХ). Установлены переменные морфологические признаки грибов рода Candida. Показано, что маркеры, положенные в основу морфотипирования остаются стабильными на протяжении длительного времени и существенно не зависят от хранения и субкультивирования штаммов, времени постановки опыта и оператора.

Ключевые слова: *грибы; кандидоз; типирование; морфоварианты; 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид.*

**TYPING OF FUNGI OF THE GENUS CANDIDA ON NUTRIENT MEDIA
CONTAINING 2,3,5-TRIPHENYLTETRAZOLIUM CHLORIDE**

**Tsyrcunova Zh.F., Skorokhod G.A., Gudkova E.I., Gavriloa I.A.,
Skabko I.N., Butkevich V.V., Berdник N.N., Emelyanova A.A.**
Belarusian State Medical University
Minsk, Belarus

We elaborated an algorithm for intraspecific typing of Candida spp. by a culture method based on the assessment of the macromorphological characteristics of fungi during their growth on a nutrient medium containing 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTX). Variable morphological features of freshly isolated strains of Candida spp have been identified. These morphological features remained stable for a long time and did not depend significantly on the storage conditions and subcultivation of separated strains. We concluded that morphological assessment of colonies on nutrient media containing 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride can be used for typing of freshly isolated strains of fungi of the genus Candida.

Keywords: *fungi; candidiasis; typing; morphovariants; 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride.*

Среди внутрибольничных инфекций особого внимания заслуживает проблема микозов, возрастающая актуальность которой подтверждается многочисленными исследованиями. Наиболее частыми возбудителями микозов являются представители рода *Candida* [1]. Несмотря на то, что основной источник большинства кандидозных инфекций – эндогенный, существует серьезный риск приобретения *Candida spp.* из больничной среды [2].



Цель исследования – изучить возможность внутривидового типирования *Candida spp.* культуральным методом, основанным на оценке

макроморфологических признаков грибов при их росте на питательных средах, содержащих 2,3,5-трифенилтетразолий хлорид (ТТХ).

Материалы и методы. Объектами исследования явились 167 клинических изолятов грибов рода *Candida* (*C.albicans* (n=98), *C.glabrata* (n=44), *C.parapsilosis* (n=16), *C.tropicalis* (n=9)), выделенных от пациентов, находившихся на стационарном лечении в отделениях различного профиля г.Минска. В качестве типовой тест-культуры использовали *C.albicans* ATСС 10231. Для выявления макроморфологических вариантов грибов инокулом наносили в количестве 0,02 мкл на поверхность агаризованных питательных сред. В работе использовали 1,0% водный раствор ТТХ, в конечной концентрации от 0,005 до 0,02%. Грибы культивировали при температуре 35±2°С в течение 7 суток. Макроморфологию колоний грибов описывали традиционным образом.

Результаты исследования. Анализ макроморфологических признаков грибов рода *Candida*, выросших на среде с ТТХ, показал, что в условиях опыта наблюдались внутривидовые различия. Максимальная вариабельность установлена среди изолятов *C.albicans*, выявлено 7 макроморфологических вариантов, с преобладание 4 морфотипа (39,81% исследованных изолятов кандид), характеризующегося фестончатым краем, кратерообразным профилем и белой полосой по краю колонии. Представители *C.glabrata*, *C.parapsilosis* и *C.tropicalis* делились на 5, 6 и 3 вариантов, соответственно. Макроморфологические варианты *C.albicans* представлены в таблице.

Таблица – Макроморфологические варианты клинических изолятов *C.albicans*

Номер	Описание	Фото	Удельный вес, %
1/m	Колонии круглые с валиком по краю или без него, складчатые или гладкие, плоские, блестящие, край ровный или волнистый, цвет варьирует от светло-розово-кремового до розово-кремово-фиолетового, белая полоса по краю колонии отсутствует		25,51
2/m	Колонии круглые с валиком по краю или без него, складчатые или гладкие, плоские, блестящие, край ровный или волнистый, цвет варьирует от светло-розово-кремового и розово-кремового до розово-фиолетового, по краю колонии имеется белая полоса		13,26
3/m	Колонии круглые с валиком по краю или без него, плоские, блестящие, край колонии ровный или волнистый, цвет темно-розово-фиолетовый, по краю колонии имеется широкая белая полоса		13,26

4/m	Колонии круглые с фестончатым краем, в центре – складчатые или гладкие, кратерообразные, блестящие, край волнистый, цвет варьирует от светло-розово-кремового и темно-розового до светло-розово-фиолетового, по краю колонии имеется белая полоса		39,81
5/m	Колонии круглые с фестончатым краем, складчатые или гладкие в центре, кратерообразные, блестящие, край волнистый, цвет от темно-розового до темно-фиолетового, по краю колонии белая полоса отсутствует		3,06
6/m	Колонии круглые, плоские, складчатые или гладкие, блестящие, край ровный, цвет варьирует от светло-розово-кремового до темно-розового и розово-фиолетового, по краю колонии имеется белая полоса, растущая в агар		1,02
7/m	Колонии ризоидные, плоские, складчатые, блестящие, цвет варьирует от светло-розово-кремового до темно-розового и розово-фиолетового, по краю колонии белая полоса может быть или нет		4,08

Для оценки возможности практического использования разработанного алгоритма, была изучена его повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость. Повторяемость оценивали по независимым результатам, полученным в одинаковых условиях (один и тот же исполнитель, одно и то же оборудование, один и тот же набор питательных сред и растворов) в пределах короткого промежутка времени, т.е. по результатам параллельных исследований. Воспроизводимость оценивали по независимым результатам, полученным в разных условиях (разные исполнители, разное оборудование, разные дни постановки опытов).

В результате проведенных исследований установлено, что маркеры, положенные в основу морфотипирования, остаются стабильными на протяжении длительного времени и существенно не зависят от хранения и субкультивирования штаммов, времени постановки опыта и оператора. Разработанный алгоритм выявляет внутривидовые различия кандид, он стабилен, обладает высокой степенью повторяемости и воспроизводимости, Повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость метода составили 99,5% и 84,9%, соответственно.

Таким образом полученные нами данные свидетельствуют о том, что *Candida spp.* принадлежащие к одному виду, имеют культуральные различия

при росте на питательных средах, содержащих ТТХ, что позволяет дифференцировать их с целью эпидемиологического надзора за нозокомиальными кандидозами.

Список литературы

1. Гельфонд В.М. Инфекционные осложнения у онкологических больных // Практическая онкология. – 2009. – Т. 10, № 3 – С.141-146.
2. Nosocomial *Candida albicans* acquisition in a geriatric unit: epidemiology and evidence for person-to-person transmission / S. Fanello, J.P. Bouchara, N. Jousset, V. Delbos, A.M. LeFlohic // Journal of Hospital Infection. – 2001. – Vol. 47. – P. 46–52.