

## Скрининг условно-патогенных микромицетов в образцах почв различных территорий Вьетнама

Н.В. Половец, Р.С. Суркова, О.А. Шергина, А.В. Липницкий, Т.Н. Шаров, А.А. Муругова

Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Волгоград

## Screening of opportunistic fungi in soil samples of different territories of Vietnam

N.V. Polovets, R.S. Surkova, O.A. Shergina, A.V. Lipnitski, T.N. Sharov, A.A. Murugova

Federal Government Health Institution «Volograd Plague Control Research Institute» of Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Volgograd

### Аннотация

Работа посвящена выявлению природных очагов медицински значимых микромицетов на территории Вьетнама. В результате микологического исследования 150 образцов почвы из провинций северного и южного Вьетнама было выделено 75 морфологических типов колоний. Идентифицированные микромицеты отнесены к трем отделам Zygomycota, Mucoromycota и Ascomycota, с количественным преобладанием последнего. Таксономическая структура отдела Zygomycota представлена одним родом – *Absidia*, отдела Mucoromycota единственным родом – *Mucor*. В отделе Ascomycota доминирующими являются порядки Eurotiales (3 рода) и Hypocreales (2 рода). Порядки Pleosporales, Chaetothyriales, Microascales, Onygenales представлены единичными родами. Наибольшее число выделенных колоний относится к родам *Aspergillus* (34%) и *Penicillium* (19%).

### Ключевые слова

Вьетнам, Zygomycota, Ascomycota, Mucoromycota, условно-патогенные микромицеты.

### Введение

Развитие российско-вьетнамского сотрудничества привело к целому ряду совместных работ, посвященных изучению микроскопических грибов, присутствующих в почвах Вьетнама. Совместные исследования позволили не только определить видовой состав почвенных микромицетов, но и выявить взаимосвязи структуры популяций от географического положения и конкретных условий местообитания [1-3]. В отношении условно-патогенных микромицетов

### Summary

The purpose of this research is identifying areas of distribution of clinically important fungi in Vietnam. As a result of a mycological analysis of 150 soil samples from the provinces of northern and southern Vietnam, 75 morphological types of colonies were isolated. The identified species were assigned to three divisions - Zygomycota, Mucormycota и Ascomycota, with a quantitative predominance of the latter. The taxonomic structure of the Zygomycota division is represented by one genera – *Absidia* and Mucormycota represented by one genera – *Mucor*. In the Ascomycota division, the orders Eurotiales (3 genera) and Hypocreales (2 genera) are prevalent. The orders Pleosporales, Chaetothyriales, Microascales, Onygenales are represented by single genera. The largest number of species belongs to the genera of *Aspergillus* (34%) and *Penicillium* (19%).

### Keywords

Vietnam, Zygomycota, Ascomycota, Mucoromycota, opportunistic fungi.

эпидемиологические данные по территории Вьетнама ограничиваются единичными сообщениями [4].

Согласно публикациям [5, 6], во Вьетнаме возможно обнаружение микромицета II группы патогенности – *H. capsulatum*. Также территория Вьетнама эндемична для *Talaromyces* (ранее *Penicillium*) *marneffe* [7-13], которого в РФ, в соответствии с действующими санитарными правилами, относят к III группе патогенности (опасности) [14]. *T. marneffe* и *H. capsulatum* – ди-

морфные микромицеты, способные вызывать заболевания с тяжелым течением у человека. Определение границ распространенности *T. marneffeii* и *H. capsulatum*, на наш взгляд, позволит повысить осведомленность местного населения и туристов о возможности заражения микозами при посещении эндемичных территорий, что в свою очередь поспособствует снижению случаев заболевания гистоплазмозом и таларомикозом.

Специалистами референс-центра по мониторингу за возбудителями особо опасных микозов в рамках сотрудничества с Российско-Вьетнамским Тропическим научно-исследовательским и технологическим центром проводилась работа, целью которой являлось выявление природных очагов медицински значимых микромицетов на территории Вьетнама.

### Материалы и методы

Для исследования было отобрано 100 проб почвы из четырех провинций северного Вьетнама: Бакнинь (Bac Ninh), Бакзянг (Bac Giang), Хынгйен (Hung Yen) и Хайзюнг (Hai Duong), и 50 образцов из провинции южного Вьетнама – Камау (Cà Mau).

Высев исследуемых образцов почвы осуществляли параллельно на две модификации агара Сабуро с глюкозой (HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия) [15]. В первом варианте агар включал в себя ингибитор бактериального роста – хлорамфеникол (СХ). Во втором случае помимо хлорамфеникола питательная среда содержала циклогексимид (СХЦ) – антибиотик, подавляющий рост условно-патогенных микромицетов. Посевы инкубировали при 27°C в течение трех недель. Определение численности микромицетов (КОЕ/г) и их отбор проводили стандартными методиками [16]. В ходе ежедневного просмотра чашек Петри производили подсчет колоний каждого морфологического типа и их отсеив с целью получения штаммов для дальнейшей идентификации. Определение видовой принадлежности проводили на основании совокупности культурально-морфологических признаков колоний [17]. Таксономическое положение актуализировали с помощью международных баз данных Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>) и MYCOBANK Database (<https://www.mycobank.org/>).

Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии использовали для подтверждения результатов межвидовой дифференциации микромицетов. Подготовку проб для исследования методом MALDI-TOF масс-спектрометрии проводили

согласно МР 4.2.0089-14 [18] с дополнительным этапом, включающим в себя гомогенизацию образца. Масс-спектры клеточных белков регистрировали на аппаратном комплексе Axima™ Confidence (Shimadzu, Япония) с базой данных S.A.R.A.M.I.S.™ (Anagnostec GmbH, Германия).

### Результаты и обсуждение

#### Общая численность микромицетов

Количество выделяемых грибов значительно разнилось в зависимости от использованной среды. На СХ рост колоний микромицетов фиксировали начиная со 2 суток инкубации. В пересчете на грамм почвы средняя численность микромицетов в образцах составила 3–4 тыс. КОЕ/г. Окончательный учет роста проводили на 7 сутки, так как в более поздние сроки выделить единичные колонии не представлялось возможным. При посеве образцов на агар СХЦ отмечено удлинение сроков визуализации роста грибов до 5–10 суток и уменьшение средней концентрации до 270 КОЕ/г. Окончательный учет выросших колоний на агаре СХЦ проводили через три недели.

#### Таксономическая принадлежность выделенных микроскопических грибов

В результате проведенных микологических исследований образцов почвы и анализа полученных данных составлен реестр видов микроскопических грибов, выявленных в провинциях северного и южного Вьетнама. Всего было выделено 75 чистых культур различных морфологических типов колоний, 53 (70,6%) из которых удалось идентифицировать до рода, а в ряде случаев до вида (табл. 1).

Разнообразие идентифицированных микромицетов в исследуемых образцах почвы представлено 11 родами, относящимися к трем отделам: Zygomycota, Mucoromycota и Ascomycota.

Таксономическая структура отдела Zygomycota представлена лишь одним родом – *Absidia*. Представители отдела Mucoromycota также были представлены единственным родом *Mucor* (порядок *Mucorales*).

В отделе Ascomycota доминирующими являются порядки Eurotiales (3 рода) и Hypocreales (2 рода). Порядки Pleosporales, Chaetothyriales, Microascales, Onygenales представлены единичными родами.

Показано, что виды *Aspergillus* spp. (34%) и *Penicillium* spp. (19%) являются преобладающими. Род *Aspergillus* представлен видами: *A. flavus* (14%), *A. terreus* (7%) и *A. niger* (4%). Сре-

Таблица 1. Результаты идентификации выделенных штаммов микромицетов

Результаты идентификации		% от числа
Род	Вид	исследованных колоний
<i>Absidia</i>	не определено	1
<i>Acremonium</i>	не определено	1
<i>Alternaria</i>	не определено	1
<i>Aspergillus</i>	не определено	9
	<i>terreus</i>	7
	<i>flavus</i>	14
	<i>niger</i>	4
<i>Fusarium</i>	не определено	3
<i>Mucor</i>	не определено	6
<i>Paecilomyces</i>	не определено	2
<i>Penicillium</i>	не определено	11
	<i>brevicomactum</i>	1
	<i>chrysogenum</i>	7
<i>Scopulariopsis</i>	не определено	1
<i>Trichophyton</i>	не определено	6
	<i>interdigitale</i>	1
	<i>tonsurans</i>	1
	<i>violaceum</i>	1
Не идентифицировано		23

ди общего количества выделенных штаммов *Penicillium* spp. в 7% случаев культуры определены как *P. chrysogenum* и в 1% как *P. brevicomactum*. Род *Trichophyton* spp. был представлен видами *T. violaceum*, *T. tonsurans*, *T. interdigitale*. Штаммы возбудителей таларомикоза и гистоплазмоза выделить не удалось.

### Заключение

Проведенное исследование показало, что выделенные из почвы провинций северного и южного Вьетнама штаммы микромицетов являются представителями условно-патогенных грибов.

Выявленный видовой состав микромицетов, на наш взгляд, не в полной мере отображает видовое разнообразие микобиоты почвы. Для проведения микологического исследования образцов почвы необходимо расширить перечень питательных сред. Использование агаров Чапека,

картофельно-глюкозного и солодового позволит выявить максимальное количество видов грибов. Дальнейшие исследования могут дополнить представление о видовом составе с учетом конкретных почвенно-экологических условий. Анализ полученных результатов и расширение знаний о распространенности возбудителей оппортунистических микозов в общей популяции почвенных микромицетов в дальнейшем поможет выявить локальные очаги условно-патогенных грибов с целью предотвращения заболеваемости микозами.

Истинные масштабы распространения возбудителей гистоплазмоза и таларомикоза на территории Вьетнама до настоящего времени также не определены, и очевидна необходимость проведения дальнейших исследований, направленных на выявление эндемичных территорий для этих микозов.

### Литература

1. Калашникова К.А., Александрова А.В. Почвообитающие микроскопические грибы предгорного тропического леса (Лесхоз Лок Бак, Южный Вьетнам). Микология и фитопатология. 2015; Т. 49, №2: 91-101.
2. Александрова А.В., Алдобаева И.И., Калашникова К.А. с соавт. Влияние факторов окружающей среды на структуру

комплексов почвообитающих микроскопических грибов тропических лесов Вьетнама. Сибирский экологический журнал. 2018; Т.25, №5: 545-558.

3. Мельник В.А., Александрова А.В., Новожилов Ю.К. с соавт. Анаморфные грибы Вьетнама. Микология и фитопатология. 2018; Т.52, №4: 252-258.

4. Дегтярева И.А., Яппаров И.А., Давлетшина А.А. с соавт. Сравнительная характеристика микробиологического состава почвенных образцов Социалистической Республики Вьетнам и Республики Татарстан. Вестник Технологического университета. 2017; Т. 20, №9: 131-133.
5. Antinori S. Histoplasma capsulatum: More Widespread than Previously Thought. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2014; №90(6): 982-983. doi: 10.4269/ajtmh.14-0175.
6. Van T.C., Nguyen S.V., Nguyen T.V. et al. An unusual presentation of disseminated histoplasmosis in a non-HIV patient from Vietnam. Revista Iberoamericana de Micología. 2019; №36(3): 147-150. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2019.04.002>.
7. Cao C., Xi L., Chaturvedi V. Talaromycosis (Penicilliosis) Due to Talaromyces (Penicillium) marneffeii: Insights into the Clinical Trends of a Major Fungal Disease 60 Years After the Discovery of the Pathogen. Mycopathologia. 2019; №184(6): 709-720. doi: 10.1007/s11046-019-00410-2.
8. Capponi M., Segretain G., Sureau P. Penicilliosis from Rhizomys sinensis. Bull. Soc. Pathol. Exot. Filiales. 1956; №49: 418-421.
9. Chan J., Lau S., Yuen K. et al. Talaromyces (Penicillium) marneffeii infection in non-HIV-infected patients. Emerg. Microbes. Infect. 2016; №5(3): e19. doi: 10.1038/emi.2016.18.
10. Deng Z.L., Connor D.H. Progressive disseminated penicilliosis caused by Penicillium marneffeii. Report of eight cases and differentiation of the causative organism from Histoplasma capsulatum. Am. J. Clin. Pathol. 1985; №84: 323-327. doi: 10.1093/ajcp/84.3.323.
11. Deng Z.L., Yun M., Ajello L. Human penicilliosis marneffeii and its relation to the bamboo rat (Rhizomys pruinosus). J. Med. Vet. Mycol. 1986; №24: 383-389. doi: 10.1080/02681218680000581.
12. Le T., Wolbers M., Chi N.H. et al. Epidemiology, seasonality, and predictors of outcome of AIDS-associated Penicillium marneffeii infection in Ho Chi Minh City, Viet Nam. Clin. Infect. Dis. 2011; №52(7): 945-952. doi: 10.1093/cid/cir028.
13. Zhu Y.-M., AiJ.-W., Xu B. et al. Rapid and precise diagnosis of disseminated T. marneffeii infection assisted by high-throughput sequencing of multifarious specimens in a HIV-negative patient: a case report. BMC Infect. Dis. 2018; №18(1): 379. doi: 10.1186/s12879-018-3276-5.
14. Санитарно-эпидемиологические правила и нормы Сан-Пин 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». М.: Роспотребнадзор, 2021, 1092 с.
15. Половец Н.В., Липницкий А.В., Суркова Р.С. с соавт. Оценка возможности применения коммерческих питательных сред для возбудителей особо опасных микозов из проб почвы. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2019; №3: 83-86.
16. Марфенина О.Е. Антропогенная экология почвенных грибов. М.: Медицина для всех, 2005, 196 с.
17. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов: перевод с английского. М.: Мир, 2001, 486 с.
18. МР 4.2.0089-14 Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) для индикации и идентификации возбудителей I – II групп патогенности. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2015, 19 с.

#### Сведения об авторах

Половец Н.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, 400131, г. Волгоград, Россия, ул. Голубинская, д. 7. Тел.: (8442) 37-37-74. E-mail: vvu-nadezhda@yandex.ru.

Суркова Р.С. – научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. E-mail: rayu09.94@mail.ru.

Шергина О.А. – научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Липницкий А.В. – д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. E-mail: microgrib.lab@yandex.ru.

Шаров Т.Н. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории протеомного анализа ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. E-mail: timursharov@gmail.com.

Муругова А.А. – научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. E-mail: anastasiyamurugova@gmail.com.

Поступила 9.02.2022 г.