

УДК: 579.61; 619; 616-002.828

DOI: 10.14427/jipai.2022.1.53

Апробация дифференциально-диагностической среды «ДТМ-Эксперт» для диагностики дерматофитий в условиях кожно-венерологических диспансеров

Р.С. Овчинников¹, Е.А. Братчикова², Н.М. Гареева³, А.Г. Гайнуллина¹, В.А. Савинов¹, Л.А. Саид-Уэлина³, А.Б. Чередникова², Е.Ю. Гурьянова², А.В. Капустин¹

¹ ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук», Москва

² БУЗ УР «Республиканский кожно-венерологический диспансер МЗ УР», Ижевск

³ Набережночелнинский кожно-венерологический диспансер – филиал ГАУЗ «РККВД», Набережные Челны

Trial of the differential diagnostic media «DTM-Expert» for the diagnosis of dermatophytosis in the dermatovenerological dispensaries

R.S. Ovchinnikov¹, E.A. Bratchikova², N.A. Gareeva³, A.G. Gaynullina¹, V.A. Savinov¹, L.A. Said-Uelina³, A.B. Cherednikova², E.Y. Guryanova², A.V. Kapustin¹

¹ Federal State Budget Scientific Institution «Federal Scientific Center VIEV», Moscow

² VNI UR «Republican skin and venereological dispensary MH UR», Izhevsk

³ Naberezhnye Chelny skin and venereological dispensary – branch of SAHI «RCSVD», Naberezhnye Chelny

Аннотация

Посев на питательные среды остается «золотым стандартом» диагностики инфекций, вызываемых грибами-дерматофитами. Однако для проведения посевов необходима лабораторная среда и специалисты-микологи. На этом фоне актуально внедрение методов «прикроватной» диагностики дерматофитий, простых в использовании и в то же время эффективных. В задачи исследования входила апробация российской среды ДТМ-Эксперт для диагностики дерматофитий человека в условиях кожно-венерологических диспансеров (КВД). На базе двух КВД было проведено микологическое исследование 40 образцов патологического материала на среде ДТМ-Эксперт, в качестве сравнения использовали среду Сабуро. Установлено, что высеваемость дерматофитов на среде ДТМ-Эксперт составила 42,5%, в то время как на среде Сабуро – лишь 27,5%. На ДТМ-Эксперт было выделено 12 изолятов *Microsporum canis*, 2 – *Trichophyton rubrum*, 3 – *Microsporum* spp. На среде Сабуро получено 11 изолятов *M. canis*, а *T. rubrum* выделить не удалось. Дерматофит *M. canis* вызывал покраснение среды ДТМ-Эксперт в среднем на 6,6 сут. роста, что обеспечивало быструю визуальную индикацию патогенов. Контаминация посевов на опытной среде наблюдали в 5%, на среде Сабуро – в 42,5% случаев. Полученные данные позволяют рекомендовать среду ДТМ-Эксперт для внедрения в медицинскую диагностическую практику.

Summary

Fungal culture represents the «gold standard» for diagnosing infections caused by dermatophytes. However, laboratories and trained mycological staff are required for culture diagnostics. It is desirable to introduce methods for point-of-care diagnosis of dermatophytosis, which would be effective and easy to use. The aim of the study was the approbation of the domestic diagnostic media DTM-Expert for the diagnosis of human dermatophytosis in the conditions of dermatovenerological dispensaries. In two separated healthcare dispensaries, a cultural study of 40 clinical samples was conducted using DTM-Expert medium in parallel with Sabouraud medium. It was established that the isolation rate of dermatophytes on the DTM-Expert medium was 42.5%, while on the Sabouraud medium it was only 27.5%. Twelve isolates of *Microsporum canis*, 2 of *Trichophyton rubrum*, 3 of *Microsporum* spp. were isolated at DTM-Expert. Eleven isolates of *M. canis* were obtained on Sabouraud's medium, while *T. rubrum* was not isolated at all. Dermatophyte *M. canis* caused reddening of the DTM-Expert medium at 6.6 days on average, thus providing a quick visual indication of pathogens. Contamination on the experimental medium was observed in 5% of cases, and in 42.5% on the Sabouraud medium. The data obtained allow us to recommend the DTM-Expert diagnostic media for implementation in medical healthcare practice.

Keywords

Ключевые слова

Дерматофиты, дерматофитии, патогенные грибы, микозы, *Microsporum canis*, диагностика, *Trichophyton rubrum*, питательные среды, ДТМ-Эксперт.

Введение

Дерматофитии – широко распространенные грибковые инфекции кожи и ее производных, представляющие собой актуальную проблему медицинской дерматологии.

Заболеваемость дерматофитиями в РФ составила в 2020 г. 153,0 случая на 100 тысяч населения, а заболеваемость микроспорией детей в возрасте 0–14 лет составила 176,0 на 100 тыс. соответствующего населения [1].

В рутинной диагностике поверхностных микозов возникает немало трудностей, которые обусловлены преаналитическими погрешностями (нарушение правил сбора материала, его транспортировки и т.п.), проведением предшествующей местной антифунгальной терапии, а также отсутствием стандартизации лабораторной диагностики микозов ногтей и кожи в диагностических лабораториях. Существует потребность в унификации протокола лабораторной диагностики дерматофитий, который мог бы применяться в большинстве медицинских учреждений независимо от уровня их оснащенности.

Посев на питательные среды остается «золотым стандартом» диагностики инфекций, вызываемых грибами-дерматофитами. Однако для проведения посевов необходимы лабораторные условия, расходные материалы и специалисты-микологи, отсутствующие в большинстве лечебных учреждений. На этом фоне актуально внедрение методов «прикроватной» диагностики дерматофитий, простых в использовании и при этом диагностически эффективных.

Среда DTM (dermatophyte test medium) была разработана D. Tarlin et al. для диагностики дерматофитий военнослужащих в полевых условиях [2]. При росте дерматофитов происходит изменение окраски среды с желтого на красный, что делает постановку диагноза простой и наглядной. Для применения среды не требуется специальных условий и навыков для работы – среда относится к категории «РОСТ» (point-of-care test), что позволяет использовать ее повсеместно. Благодаря этому среды типа DTM стали широко применяться в медицине в зарубежных странах, показывая высокую диагностическую эффективность в сравнении с классическим по-

Dermatophytes, dermatophytosis, pathogenic fungi, mycoses, *Microsporum canis*, diagnostics, *Trichophyton rubrum*, culture media, DTM-Expert.

севом [3, 4, 5, 6]. Также среды DTM-типа нашли широкое применение в ветеринарной практике для диагностики дерматофитозов животных [7]. В нашей стране применение DTM-сред получило распространение именно в ветеринарии, в то время как в медицине эти среды практически не используются. При этом до недавнего времени на рынке не были представлены среды российского производства, а только продукция зарубежных производителей.

Недавно в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук» (ФНЦ ВИЭВ РАН) была разработана российская дифференциально-диагностическая среда «ДТМ-Эксперт» (патент на изобретение RU 2 745 159 С1). Она позволяет диагностировать дерматофитии в полевых условиях, не требует лабораторного оборудования и квалифицированного персонала [8]. Начиная с 2019 г. данная среда активно используется в ветеринарной практике. Проведенные исследования показали, что среда ДТМ-Эксперт обладает высокой диагностической эффективностью и не уступает зарубежным аналогам [9, 10]. Учитывая положительный ветеринарный опыт, была поставлена задача апробировать среду ДТМ-Эксперт в медицине, в условиях лабораторий кожно-венерологических диспансеров, оценить ее эффективность в сравнении с традиционными питательными средами для выделения дерматофитов.

Материалы и методы

Дифференциально-диагностическая питательная среда ДТМ-Эксперт для диагностики дерматофитов была изготовлена в ФНЦ ВИЭВ РАН в соответствии с СТО 00496165-0001-2021, декларация о соответствии РОСС RU Д-RU.РА01.В.79702/21.

Объектом микологического диагностического исследования служил патологический материал, отобранный от пациентов с клиническим подозрением на дерматомикозы (трихофития, микроспория, онихомикозы, разноцветный лишай).

Материалом для исследования служили корочки и фрагменты эпидермиса, кератинизированные ткани, полученные при соскобе пораженной гладкой кожи, ногтевой пластины, а также волосы. Материал доставлялся на лабораторное исследование в стерильных контейнерах.

Микологическое исследование материала осуществляли в лабораториях на базе двух кожно-венерологических диспансеров: БУЗ УР «Республиканский кожно-венерологический диспансер МЗ УР», г. Ижевск (далее – КВД-1), и Набережночелнинский кожно-венерологический диспансер, г. Набережные Челны (далее – КВД-2).

В качестве среды сравнения в обоих КВД использовали агар Сабуро (HiMedia, Индия), причем в КВД-1 использовали среду с селективной добавкой хлорамфеникол, в КВД-2 – среду Сабуро без селективной добавки. Посев материала на поверхность агаризованной среды проводили в три точки бактериологической петлей, простерилизованной в пламени, охлажденной и увлажненной прикосновением к поверхности среды. Через 10 минут засеянные чашки Петри переворачивали вверх дном и помещали в термостат при 26-28°C.

Флаконы со средой ДТМ-Эксперт закрывали не до конца для обеспечения доступа воздуха.

Засеянные среды просматривали ежедневно, отмечая наличие роста грибных колоний и изменение цвета среды ДТМ-Эксперт. Заключение об отрицательном результате культурального исследования делали спустя 4 недели инкубации посевов.

При идентификации выросших колоний грибов учитывали культурально-морфологические признаки – особенности строения колоний и микроскопические свойства культур. Для микроскопии готовили препараты типа «раздавленная капля» или скотч-препараты. Микроскопию проводили в лабораторном световом микроскопе при увеличениях x100 и x400. Идентификацию проводили с использованием определителя Kidd et al. [11].

При посеве на ДТМ-Эксперт первичный микологический диагноз «дерматофития» ставили на основании покраснения среды и формирования колоний, типичных для грибов-дерматофитов, в соответствии с прилагаемой инструкцией изготовителя. Диагноз уточняли путем микроскопии культуры. Врачи и лаборанты КВД были снабжены опросниками, куда заносили свои лабораторные наблюдения, которые затем обобщались и анализировались.

Результаты и обсуждение

Всего на среде ДТМ-Эксперт было проведено 40 микологических исследований (по 20 исследований в КВД-1 и КВД-2).

В КВД-1 было изучено 10 образцов патматериала из пораженных ногтей, 7 образцов из волосистой части головы и 3 образца из поражений гладкой кожи. Во всех случаях было клиническое подозрение на дерматофитию.

Результаты апробации среды ДТМ-Эксперт в КВД-1 (г. Ижевск) представлены в таблице 1.

При микологическом посеве на среду ДТМ-Эксперт грибы-дерматофиты были выделены в 9 из 20 случаев (45%). При этом на среде сравнения (Сабуро) дерматофиты выделены только из 6 образцов (30%). Частота выделения дерматофитов на ДТМ-Эксперт была выше на 15%.

На ДТМ-Эксперт было получено 7 изолятов вида *Microsporum canis*, 1 – *Trichophyton rubrum* и 1 – *Microsporum* spp. При этом на среде Сабуро были выделены только изоляты *M. canis*. Рост колоний *M. canis* на ДТМ-Эксперт обычно фиксировали на 4-6 сут., а покраснение среды наблюдали в среднем на 7,4 сут. На 7-9 сут. колонии приобретали характерную морфологию – белые с бежеватым оттенком, шерстистые, в центре пушистые, края паутинистые, возможна радиальная складчатость, диаметр 15-40 мм (рис. 1). Формирование характерных веретеновидных макроконидий наблюдали на 10-15 сут. роста.

Рост *T. rubrum* на среде ДТМ-Эксперт был обнаружен на 13 сут., а покраснение среды отмечено на 15 сут. Колония выпуклая, белая, бархатисто-пушистая, диаметр 11 мм (рис. 2). На 23 сут. было замечено формирование грушевидных микроконидий.

Ни в одном из 20 образцов роста контаминирующих плесневых грибов на среде ДТМ-Эксперт не наблюдалось. На среде Сабуро в 2 из 20 образцов росли плесневые грибы (*Aspergillus niger*).

В КВД-2 было изучено 9 образцов патматериала из пораженных ногтей, 1 образец из волосистой части головы и 10 образцов из поражений гладкой кожи, причем в 5 случаях у пациентов наблюдалась клиническая картина разноцветного лишая, а не дерматофитий.

Результаты апробации среды ДТМ-Эксперт в КВД-2 (г. Набережные Челны) представлены в таблице 2.

При микологическом посеве на среду ДТМ-Эксперт грибы-дерматофиты были выделены в 8 из 20 случаев (40%). При этом на среде сравнения (Сабуро) дерматофиты выделены только из 5 образцов (25%). Частота выделения дерма-



Рис. 1. Рост *M. canis* на среде ДТМ-Эксперт (8 сут. роста)



Рис. 2. Рост *T. rubrum* на среде ДТМ-Эксперт (15 сут. роста)



Рис. 3. Бактериальная контаминация на среде Сабуро (в пробирках) и ее отсутствие на среде ДТМ-Эксперт

тофитов на ДТМ-Эксперт была выше на 15%, как и в КВД-1.

На ДТМ-Эксперт было получено 5 изолятов вида *M. canis*, 1 – *T. rubrum* и 2 – *Microsporium* spp. При этом на среде Сабуро были выделены только изоляты *M. canis*, как и в случае КВД-1. Рост колоний *M. canis* на ДТМ-Эксперт обычно фиксировали на 3-5 сут., а покраснение среды наблюдали в среднем на 5,8 сут.

Формирование макроконидий у *M. canis* наблюдали на 8-10 сут. При выделении *T. rubrum* рост колоний был замечен на 7 сут. роста, а покраснение среды наблюдали на 15 сут. роста. Контаминирующие микроорганизмы на среде ДТМ-Эксперт обнаружены в 2 из 20 посевов, в то время как на среде Сабуро 15 из 20 посевов были контаминированы бактериальной микрофлорой (рис. 3).

Обобщая данные по двум КВД, участвовавшим в исследовании, при посеве 40 образцов материала рост дерматофитов на среде ДТМ-Эксперт получен в 17 случаях (42,5%), а на среде Сабуро – в 11 (27,5%). Таким образом, высеваемость грибов-дерматофитов на ДТМ-Эксперт была на 15% выше.

Заслуживает внимания факт, что культуры *T. rubrum* в обеих КВД были получены только на ДТМ-Эксперт, а на среде Сабуро их выделить не удалось. Это свидетельствует о более благоприятных ростовых свойствах опытной среды для прихотливых видов дерматофитов.

Важным обстоятельством, снижающим выделение дерматофитов на питательных средах, является рост контаминирующих микроорганизмов – бактерий и плесневых грибов. Среда ДТМ-Эксперт прекрасно ингибировала рост контаминантов – они наблюдались только в 2 из 40 образцов (5%). При этом контаминация на среде Сабуро достигала 42,5%, с преобладанием бактериальной микрофлоры. Это обстоятельство сильно снижает достоверность культуральной диагностики дерматофитозов на классических средах.

Среда ДТМ-Эксперт обеспечивала быстрый рост дерматофитов – колонии *M. canis* были заметны в среднем на 4,5 сут. Покраснение среды, свидетельствующее о росте дерматофита, происходило в среднем на 6,6 сут. Сотрудники лабораторий КВД отмечают изменение цвета среды как важное преимущество, поскольку это обеспечивает визуальную индикацию присутствия дерматофита даже без микроскопии культуры.

На среде ДТМ-Эксперт быстро формируются колонии с характерными для дерматофитов

Таблица 1. Результаты микологического исследования 20 образцов патматериала в КВД-1

Среда	Выделено дерматофитов	Виды дерматофитов	Покраснение ДТМ-Эксперт при росте <i>M. canis</i> , сут. в среднем	Рост контаминирующих микроорганизмов	Тип контаминации
ДТМ-Эксперт	9 из 20	<i>T. rubrum</i> – 1, <i>M. canis</i> – 7, <i>Microsporum</i> spp. – 1	7,4	0 из 20	-
Сабуро	6 из 20	<i>M. canis</i> – 6	-	2 из 20	Плесневые грибы – 2

Таблица 2. Результаты микологического исследования 20 образцов патматериала в КВД-2

Среда	Выделено дерматофитов	Виды дерматофитов	Покраснение ДТМ-Эксперт при росте <i>M. canis</i> , сут. в среднем	Рост контаминирующих микроорганизмов	Тип контаминации
ДТМ-Эксперт	8 из 20	<i>T. rubrum</i> – 1, <i>M. canis</i> – 5, <i>Microsporum</i> spp. – 2	5,8	2 из 20	Плесневые грибы – 1 Бактерии – 1
Сабуро	5 из 20	<i>M. canis</i> – 5	-	15 из 20	Бактерии – 15

морфологическими признаками, которые можно идентифицировать с помощью иллюстрированного руководства по применению среды. Образование характерных макроконидий *M. canis* на среде ДТМ-Эксперт в КВД-1 наблюдали на 10-15 сут. роста, а в КВД-2 на 8-10 сут. В среднем это несколько дольше по сравнению со средой Сабуро. Однако при проведении «прикроватной» диагностики микроскопия культур не предусмотрена, так как это требует лабораторных условий и участия специалистов-микологов. По мнению врачей-дерматологов, для назначения эффективного противогрибкового лечения в большинстве случаев вполне достаточно подтверждения дерматофитии как таковой, даже без определения рода и вида возбудителя [3].

Таким образом, российская дифференциально-диагностическая среда ДТМ-Эксперт в условиях кожно-венерологических диспансе-

ров продемонстрировала свои диагностические преимущества по сравнению с традиционной средой Сабуро. Это позволяет рекомендовать среду ДТМ-Эксперт для внедрения в медицинскую практику. Наряду с диагностической эффективностью данная среда проста и удобна в применении, доступна, может быть использована вне лабораторий для прикроватной диагностики. Применение дифференциально-диагностической среды ДТМ-Эксперт будет особенно актуально в медицинских учреждениях, не располагающих лабораториями и квалифицированным персоналом, а также для широких скрининговых исследований. Внедрение данной среды позволит расширить диагностический охват населения и, соответственно, повысить уровень диагностики дерматофитных инфекций в РФ.

Данная работа выполнена в рамках государственного задания №FGUG-2022-0009.

Литература

1. Кубанов А.А., Богданова Е.В. Итоги деятельности медицинских организаций, оказывающих медицинскую помощь по профилю дерматовенерология, в 2020 году: работа в условиях пандемии. Вестник дерматологии и венерологии 2021; 97(4): 8–32.
2. Taplin D., Zaias N., Rebell G. et al. Isolation and Recognition of Dermatophytes on a New Medium. Arch Dermatol 1969; 99: 203–209.
3. Bedir T., Badawy W., Gouda N. S. Evaluation of Dermatophyte Identification Medium for Recovery of Keratinophilic Fungi

from Clinical Samples. The Egyptian Journal of Medical Microbiology 2016; 23(3): 67–74.

4. Nasimuddin S., Appalaraju B., Surendran P. et al. Isolation, identification and comparative analysis of SDA and DTM for dermatophytes from clinical samples in a tertiary care hospital. IOSR Journal of Dental and Medical Sciences 2014; 13(11): 68–73.

5. Rich P., Harkless L.B., Atillasoy E.S. Dermatophyte Test Medium Culture for Evaluating Toenail Infections in Patients With Diabetes. Diabetes Care 2003; 26: 1480–1484.

6. Singh T.N., Zamzachin G., Singh N.B. Recognition of Dermatophytes by Dermatophyte Test Medium. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences 2016; 5(10): 1125–1129.

7. Moriello K. Feline dermatophytosis: Aspects pertinent to disease management in single and multiple cat

situations. Journal of Feline Medicine and Surgery 2014; 16: 419–431.

8. Savinov V.A., Ovchinnikov R.S., Kapustin A.V. et al. Development of a differential diagnostic nutrient medium for the express diagnosis of animal dermatophytosis. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 2019; 315(2).

9. Савинов В. А., Овчинников Р. С., Капустин А. В. и соавт. Экспресс-диагностика дерматофитозов животных. Аграрная Наука 2019; 10: 20–24.

10. Savinov V.A., Kapustin A.V., Ovchinnikov R.S. et al. Incidence and seasonal variation of pet dermatophytosis in Moscow region. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 2020; 548(7): 072048.

11. Kidd S.E., Halliday C., Alexiou H. et al. Description of medical fungi (3d ed.) 2016, 278 p.

Сведения об авторах

Роман Сергеевич Овчинников – к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории микологии и антибиотиков им. А.Х. Саркисова ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук». E-mail: rsovchinnikov@mail.ru.

Екатерина Анатольевна Братчикова – заведующая бактериологической лабораторией БУЗ УР «Республиканский кожно-венерологический диспансер МЗ УР». E-mail: br.e.a@mail.ru.

Наиля Мифтаховна Гареева – заведующая бактериологической лабораторией «Набережночелнинский кожно-венерологический диспансер» – филиал ГАУЗ «РККВД». E-mail: 8.9172639677@tatar.ru.

Алла Габбазовна Гайнуллина – младший научный сотрудник лаборатории микологии и антибиотиков им. А.Х. Саркисова ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук». E-mail: gainullinaalla@gmail.com.

Василий Александрович Савинов – научный сотрудник лаборатории микологии и антибиотиков им. А.Х. Саркисова ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук». E-mail: visik06@mail.ru.

Лола Анваровна Саид-Уэлина – биолог бактериологической лаборатории «Набережночелнинский кожно-венерологический диспансер». E-mail: tamilalola@gmail.com. Алла Борисовна Чередникова – врач-бактериолог бактериологической лаборатории БУЗ УР «Республиканский кожно-венерологический диспансер МЗ УР». E-mail: Cherealla@yandex.ru.

Екатерина Юрьевна Гурьянова – биолог бактериологической лаборатории БУЗ УР «Республиканский кожно-венерологический диспансер МЗ УР». E-mail: Gureka71@yandex.ru.

Андрей Владимирович Капустин – д.б.н., доцент, заместитель директора по научной работе ФГБНУ «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии им. К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко Российской академии наук». E-mail: kapustin_andrei@mail.ru.

Поступила 27.12.2021 г.