

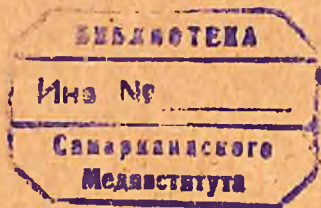
9493
ЛЕНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ОРДЕНА ЛЕНИНА
ИНСТИТУТ УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ВРАЧЕЙ имени С. М. КИРОВА

В. Н. ШАТИК

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ
МОРФОЛОГИИ И БИОЛОГИИ
ДЕРМАТОФИТОВ ИЗ РОДА
МИКРОСПОРУМ**

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



ЛЕНИНГРАД

1964

В. Н. ШАТИК

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ
МОРФОЛОГИИ И БИОЛОГИИ
ДЕРМАТОФИТОВ ИЗ РОДА
МИКРОСПОРУМ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

ЛЕНИНГРАД
1964

Министерство здравоохранения РСФСР
из Ленинградского ордена Ленина Института
усовершенствования врачей им. С. М. Кирова

Научный руководитель — заслуженный деятель науки,
доктор медицинских наук, профессор **П. Н. Кашкин**

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук, профессор **А. Н. Аравийский**,
доктор биологических наук, профессор **Н. П. Елинов**.

Дополнительный отзыв дает кафедра микробиологии
Ленинградского Санитарно-Гигиенического
Медицинского Института

Защита назначена на „5“ „11“ 1965 г.

Первый микроспорум, как этнологический агент микроспории волосистой части головы человека был описан Груби в 1844 году, однако, более подробное описание микроспории и ее возбудителей сделано в конце XIX века в трудах Сабуро, Бодэна и других.

Несмотря на изучение клиники микроспории, географического распространения и групповых культурально-морфологических особенностей её возбудителей, видовые морфологические признаки и ассимиляционные свойства последних изучены недостаточно. Мало изучены их биохимические и совсем не изучены серологические свойства. До сих пор нет единого мнения о критериях идентификации и систематики микроспорумов. Не имеется комплексного всестороннего сравнительного изучения микроспорумов для правильного определения и рациональной естественной классификации этих грибов.

Отдельные виды микроспорумов в нашей стране изучались такими исследователями как О. Н. Подвысоцкая, П. Н. Кашкин, А. Н. Аравийский, З. Г. Степанищева, А. М. Арневич, Г. А. Никитина, П. Я. Щербатых, Ф. С. Малышев, Ф. С. Дмитриев и П. Н. Кирпичев и другие.

Среди зарубежных исследователей можно назвать таких как Груби, Сабуро, Ланжерон, Эммонс, Григораки, Гиблет и Хенри, Бенедэк, Конэнт и другие.

Данные о совершенных формах плодоношения у микроспорумов принадлежат Наници, Бенедэку, Грифину, Эджелло, Досон и Джентлес, Стокдейл, Балог, Кабен и другим.

Целью нашей работы было сравнительное изучение культурально-морфологических признаков наиболее распространенных представителей из рода Микроспорум, их биохимических особенностей, а также серологических свойств.

В начале работы изучалось 5 видов из рода Микроспорум, а именно: *M. audouini*, *M. lanosum*, *M. gypseum*, *M. equinum* и один штамм *Keratinomyces ajelloi*. Позже, в результате экспериментальной изменчивости, были отобраны не-

обычные культуры четырех вариантов *M. lanosum* и три плеоморфные культуры: *M. audouini*, *M. lanosum* и *M. gypseum*. Кроме того, были изучены выделенные из Ленинградских почв два вида геофильных микроспорумов *M. cookei*, *M. gypseum* и *K. ajelloi*, из которых первый в нашей стране выявлен нами впервые. Таким образом всего изучено 15 штаммов грибов: история развития их одноклеточных культур с применением метода цейтраферной микрокиносъемки. Были изучены культурально-морфологические особенности на девяти различных питательных средах. С помощью метода Ванбрейзегхема (1952) выявлены совершенные формы плодоношения у *M. cookei* и *K. ajelloi*, выделенных из Ленинградских почв. Усвоение 16 различных источников углерода и 34 минеральных и органических источников азота изучены с использованием количественного метода.

Изучено влияние различных источников питания на развитие и морфологию опытных грибов с микрофотографической документацией. В числе азотистых веществ изучено усвоение 19 различных аминокислот. Наряду с питанием изучалась также кератинолитическая, протеолитическая и уреазная активность опытных микроспорумов и их необычных вариантов с целью оценки возможности использования ферментативных особенностей их для видовой характеристики и идентификации микроспорумов.

Для сравнительного изучения серологического родства и различий опытных грибов из культур последних получены белковые и полисахаридные фракции, антигенные и аллергенные свойства которых изучены в перекрестных серологических реакциях и на лабораторных животных.

Резюмируя изучение истории развития и культурально-морфологических особенностей шести видов дерматофитов, мы приводим основные их культурально-морфологические признаки в надежде на то, что эти признаки будут полезны микологам для идентификации микроспорумов.

Microsporium audouini

Колонии на агаровых средах в чашках Петри быстро растущие, достигают за две недели 6—9 см в диаметре. В начале белоснежные, пушистые, позже беловато-кремовые до бархатистых с небольшим возвышением в центре; обратная сторона колоний от светлокоричневой до красноватокоричневой. При микроскопии в них видно обилие грушевидных алейрий размером 1,5—3 × 3,5—5 μ и артроспор. Нити мицеллия тонкие 1,5—2 μ с трудно различимым септированием. Ракетовидный мицелий, вопреки литературным данным,

встречается очень редко. Во многих микрокультурах наблюдается обилие узловатых органов и боковых жгутоподобных гифов.

Макроконидии, в отличие от описанных зарубежными авторами (Хейзн, Бенедэк, Фельшер), тонкостенные, чаще округленные к верхушке и суженные к основанию, напоминают дубинки; они состоят из 3—8 камер; размеры их варьируют в пределах $8-10 \times 30-40 \mu$.

Помимо общеизвестных морфологических элементов в результате детального изучения истории развития их в микрокультурах нам удалось выявить новые не описанные еще в литературе клеточные элементы, характерные для этого вида. Это касается широких $3,5-4,5 \mu$ с частыми (на расстоянии $4-8 \mu$) перегородками нитей мицелия, извилистые боковые гифы, толщина которых у основания $2-3 \mu$, а к верхушке $1,5-1 \mu$. Нередко из таких нитей формируются сходные с узловатыми органами элементы. На искусственных питательных средах с солями аммония, используемыми в качестве единственных источников азота и многими аминокислотами развивается обилие полиморфных хламидоспор размером $4-13 \mu$, достигающих иногда $22-25 \mu$ в диаметре, с толстой оболочкой, располагающихся часто в виде цепочек.

Макроконидии *M. audouini* могут развиваться как на воздушных конидиеносцах, так и на субстратных.

Иногда встречаются необычные культуры, характеризующиеся очень медленным развитием и измененными морфологическими элементами. *M. tomentosum*, *M. pubescens*, *M. villosum*, *M. tardum*, *M. umbonatum*, *M. velveticum*, описанные Сабуро (1910), а *M. muris* — Чифери как самостоятельные виды, надо считать разновидностями *M. audouini*.

На основании изучения истории развития и культурально-морфологических особенностей наиболее характерными для этого вида признаками считаем: вначале пушистые, позже бархатистые беловатые культуры, своеобразные дубиноподобные макроконидии с $2-5$ перегородками, широкие часто септированные субстратные и тонкие воздушные нити мицелия, обилие алейрии, артроспор и узловатых органов.

Microsporium lanosum

Колонии свежeweделенных культур плоские плотно сросшиеся с питательной средой нередко с обильными лучистыми отпрысками на агаре по периферии, желтовато-сероватого, иногда ржавого цвета. В центре колонии небольшое количество мучнистого налета из макроконидий. Позднее колонии

становятся бархатисто-пушистыми беловато-желтоватого цвета с размерами до 10 см в диаметре.

Макроконидии (веретена), как правило, обильные, веретенообразные с заостренными концами, толстостенные с шершавой поверхностью. Состоят они из 5—9, реже 11 камер, размер 60—85 × 13—16 μ и располагаются на ветвистых 30—60 μ длины и 3—5 μ ширины конидиеносцах.

В кожисто-мучнистых культурах микроконидии (алейрии) отсутствуют и в большом количестве имеются в некоторых бархатистых или пушистых. Развиваются они на длинных нитевидных одиночных конидиеносцах по типу почкования. Размер алейрий 2,5—4 × 6—8 μ .

В молодых культурах часто наблюдается бамбуковидный мицелий и узловатые органы, а в зрелых культурах в большом количестве ракетовидный мицелий, а иногда гребешковые органы.

Кроме общезвестных клеточных форм у *M. lanosum*, нами выявлены грубые нити мицелия с узловатыми сочленениями, достигающие 25—30 μ , а так же более тонкие волнообразные или завивающиеся в кольца гифы, а иногда и спирали.

На среде Чапека — Докса с такими источниками азота как NH_4NO_3 , $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ или NaNO_3 развивается большое количество полиморфных хламидоспор от 10 до 25 даже до 30 μ в диаметре. В субстрате встречаются концевые грушевидные хламидоспоры размером 9—10 × 13—16 μ .

В результате изучения культур этого вида на различных питательных средах выявлена вариабильность его культур, представляющих большой интерес для идентификации. Наиболее стойкими, сохраняющими свои необычные свойства при многократных пересевах, являются кожистые, почти лишённые воздушного мицелия колонии с ржавым пигментом. В центре их наблюдается небольшое количество макроконидий.

Без микроскопического изучения такие культуры обычно принимают за *M. ferrugineum*. Кроме того, встречаются сморчковидные культуры совершенно лишённые воздушного мицелия, под микроскопом, состоящие из густопереплетающихся волнистых нитей. Колонии их морщинистые, высокие, коричневые или желтоватые, плотно сросшиеся с агаром. По периферии таких культур иногда можно наблюдать сектора быстроразвивающейся плоской радиально лучистой пленки с ворсинчатой поверхностью. Сморчковидные варианты выделяются в посевах патологического материала на среду Сабуро и пивное сусло. При старении они могут давать сероватые короткие нити бесплодного мицелия в центре колонии.

Сморчковидный вариант *M. lanosum* на среде Чапека-Докса с нитратом или фосфатом аммония в качестве источника азота давал отпрыски субстратного мицелия, на которых развивались типичные макроконидии и веточки шаровидных микроконидий.

На других питательных средах выявление таких характерных для *M. lanosum* клеточных форм наблюдается редко.

В результате изучения различных культур характерными признаками для *M. lanosum* считаем плоские с лучистыми радиальными отпрысками колонии с мучнистым налетом из макроконидий в центре и желтоватой или ржавой окраской субстратных ветвистых нитей.

Макроконидии крупные, длинные (до 70 μ) с заостренными концами, алейрии редки или отсутствуют.

Ракетовидный и бамбукообразный мицелий, анастомозы довольно часты.

Microsporium gypseum

Молодые культуры пушистые белые или розоватые, иногда даже с фиолетовым оттенком. С возрастом колонии покрываются кремовым налетом, состоящим из макро- и микроконидий. Макроконидии полиморфные, 4—6 камерные с умеренной толщиной стенок, размером 13—18 \times 35—50 μ . Форма их варьирует от цилиндрической до эллипсоидной. Поверхность макроконидий гладкая или бородавчатая.

Располагаются они на ветвистых конидиеносцах.

Алейрии многочисленные, грушевидные или овальные, размером 1,5—2,5 \times 3,5—4 μ , располагаются на ветвистых или одиночных нитевидных конидиеносцах.

В результате сравнительного изучения культурально-морфологических признаков *M. gypseum* мы выявили существование в природе двух типов культур *M. gypseum*, морфологически отличающихся друг от друга. Первый из них полиморфный с пушисто-мучнистыми культурами, обладающий исключительным культуральным полиморфизмом и большим разнообразием спор.

Макроконидии этого типа различны не только по размерам: от карликовых 1—2 камерных, имеющих от 12—15 μ длины до 45—50 μ , но и по форме. Имеются полиморфные макроконидии с гладкой стенкой, располагающиеся на ветвистых конидиеносцах, размер которых 1,5—3 μ ширины и 6—15 μ длины или макроконидии развивающиеся на одиночных нитевидных конидиеносцах с волнистыми стенками умеренной толщины, размером 8—9 \times 18—32 μ . Кроме того, имеются субстратные макроконидии значительно шире и ко-

роче воздушных с меньшим количеством перегородок. Стенки их гладкие умеренной толщины, количество перегородок 1—4, размер 12—14 × 18—29 м. Помимо макроконидий в толще агара наблюдается обилие ветвистых дубиноподобных гифов.

Тип пушистых культур, как правило, получается при выделении *M. gypseum* из патологического материала и очень редко из почвы (в местах, посещаемых животными). Этот тип имеет большую склонность к плеоморфизму.

Ко второму типу относятся плотные плоские мучнистые охряно-желтого цвета культуры, долго сохраняющие типичные признаки. Обычно этот тип получается из почвы.

Полиморфизм его культур наблюдается редко. Макроконидии его эллиптические толстостенные 5—6, редко 7-клеточные размером — 10—16 × 37—42 м.

В таких культурах алейрии и хламидоспоры встречаются реже, чем у пушистых.

В более рыхлых бархатистых культурах этого типа наблюдается обилие алейрий.

Дополнительными к описанным характерными для *M. gypseum* признаками считаем пушисто-мучнистые с розовато-фиолетовым или охряно-желтым оттенком культуры и наличие в них:

а) полиморфных 2—6 клеточных макроконидий с гладкими или бородавчатыми стенками, иногда с волнистыми стенками, а так же б) широких коротких 2—4 камерных субстратных макроконидий и дубиноподобных гифов. В культурах пушистого типа на волосах (по Ванбрейзегхему), а иногда и на среде Сабуро обилие спиральных гифов, особенно в розовато-фиолетовых культурах.

Microsporium equinum

Колонии вначале плоские, позже радиально складчатые белые, мучнистые, плотно сросшиеся с поверхностью агара; обратная сторона светло-коричневая.

Макроконидии узкие, цилиндрические часто с перетяжками в местах перегородок, длинные 4—8—10 камерные размером 4—6 × 12—60 м иногда до 80 м длины. Располагаются на ветвистых конидиеносцах в виде кистей.

Алейрии в большом количестве располагаются на ветвистых конидиеносцах, форма их грушевидная или вытянутая 1,5—2 × 4—6 м.

Помно общеизвестных клеточных элементов на большом количестве питательных сред и в особенности на среде Чапека-Докса с нитратом и фосфатом аммония выявлены характерные для этого вида интеркалярные и концевые дву-

контурные спаренные хламидоспоры, 12—30 μ в диаметре, а также цепочки из артроспор.

Для старых культур характерно наличие большого количества шаровидных хламидоспор, располагающихся цепочками или гроздьями.

Таким образом характерными признаками *M. equinum* являются:

1) Мучнистые с радиальными складками редко плеоморфизирующиеся культуры.

2) Длинные с перетяжками, напоминающие гусеницу 4—11 камерные макроконидии.

3) Двуконтурные интеркалярные и концевые спаренные хламидоспоры, встречающиеся в субстратном мицелии.

В старых культурах можно также наблюдать обилие полиморфных шаровидных воздушных хламидоспор.

Microsporium cookei

Колонии первичных, выделенных из почвы культур, плоские, плотные, мучнистые серовато-желтые с зеленоватым оттенком или серовато-фиолетовые с белой опушкой по периферии со светло-коричневым или вишнокрасным пигментом на обратной стороне культуры.

Во второй — третьей генерации колонии становятся пушистыми, сохраняя при этом пигмент.

Макроконидии по форме близки к таковым же у почвенного мучнистого типа *M. gypseum*, но значительно крупнее, с более острыми концами и характерным групповым расположением в виде кистей по всей поверхности культур. Располагаются они на ветвистых конидиеносцах размером 1,5—2 \times 8—30 μ . Размер макроконидий 12—14 \times 46—60 μ .

Алейрии грушевидные располагаются обычно по бокам одиночных нитевидных конидиеносцев 1,5—2 μ толщины. Хламидоспоры встречаются редко.

При изучении культур на волосах с почвой (по Ванбрей-зегхему) мы выявили развитие совершенных органов плодоношения с асками и аскоспорами.

Шаровидные клейстотеции имеют размер в среднем 500—600, иногда до 1200 μ (1,2 мм) в диаметре. Перидиальные гифы ветвистые с прямыми толстостенными пальцевидными отростками, с бородавчатой поверхностью, ширина их 4—6 μ . Гифы, завивающиеся в длинные сжатые спирали, состоящие из 35 до 40 завитков, имеют толщину 2—2,5 μ .

Аски овальные с гладкой стенкой легко разрушающейся от легкого прикосновения. Аскоспоры овальные или чечевицеобразные прозрачные 1—1,5 \times 2 μ .

На основании проведенных исследований характерными признаками *M. cookei* являются плоские мучнистые серовато-желтоватые или серовато-фиолетовые культуры с виннокрасным пигментом на обратной стороне, макроконидии крупные эллиптические толстостенные. В культурах на волосах с почвой (хотя и не всегда) развивается совершенная форма плодоношения (*Nannizia sajetana*).

Keratinomyces ajelloi

Музейные культуры пушистые или бархатистые белые или кремовые.

Свежевыделенные штаммы из почвы имеют плотные, плоские мучнистые культуры золотисто-желтого цвета, иногда с концентрическими кольцами серовато-коричневатого цвета. Обратная сторона колоний светло-коричневая или черная с зеленоватым оттенком.

В пушистых культурах макроконидии полиморфные и хорошо развитые равномерные типичные в свежевыделенных из почвы мучнистых культурах. Размер типичных цилиндрических макроконидий $8-10 \times 40-60$ м, 5—10—11-камерные.

Алейрии встречаются в большом количестве в пушистых культурах, грушевидные редко овальные.

Хламидоспоры полиморфные концевые грушевидные $5-6 \times 10-11$ м.

Кроме описанных клеточных форм мы выявили многоклеточные трехконечные макроконидии на воздушных конидиеносцах, а также субстратные короткие широкие 1—2-камерные макроконидии размером $10-12 \times 16-15$ м и дубиноподобные гифы $3-4 \times 12-45$ м. В воздушной части культуры часто встречаются густо разросшиеся короткие гифы, напоминающие «ведьмину метлу».

На среде Чапека-Докса наблюдается большое количество шаровидных различного размера $8-22$ м в диаметре хламидоспор, располагающихся гроздьями или в виде цепочек, а также цепочки вытянутых артроспор размером $4-5 \times 8-13$ м.

При выделении первичных культур на волосах из почвы мы выявили совершенную форму соответствующую *Arthroderma uncinatum*; клейстотетий шаровидный $350-500$, редко до 1000 м в диаметре.

Перидиальные гифы ветвистые с закручивающимися верхушками в сторону клейстотетия. Встречаются спиральные гифы.

Аски $3,5-4,5$ м в диаметре с хрупкой оболочкой. Аскоспоры овальные желтые в $0,8-1$ м в диаметре.

Характерными для *K. ajelloi* признаками надо считать:

1. Плотные, плоские, мучнистые желтого цвета культуры.
2. Цилиндрические макроконидии с закруглёнными верхушками 5—11 камерные, иногда трехконечные.
3. Полиморфные шаровидные и крупные грушевидные хламидоспоры.
4. Разрастающиеся короткие кустообразные гифы, напоминающие «ведьмину метлу».

Общими ботаническими признаками, изученных шести видов дерматофитов, характеризующими род *Microsporum* является наличие макроконидий, алейрии и хламидоспор, септированного ветвистого и ракетовидного мицелия, а также узловатых органов у большинства видов.

Для изучения культурально-морфологических признаков микроспорумов полезным оказался разработанный нами метод центрифужной микрокнипсъемки.

Данный метод является перспективным для изучения истории развития дерматофитов, изменения их морфологических признаков под влиянием различных физических и химических факторов, а также для съемки учебных фильмов по микологии дерматофитов.

Изучение метаболизма микроспорумов касалось углеводного и азотного питания.

Из 16 изученных источников углерода, включающих кроме различных моно-, ди- и трисахаров, некоторые органические соли натрия, почти все усваивались микроспорумами с одинаковым эффектом. Наиболее неприхотливым к углеводам является *M. audouinii*, лучшими источниками углерода, для которого служат глюкоза, декстрин, крахмал, мальтоза, галактоза, маннит и левулёза. Степень усвоения перечисленных углеводов убывает от глюкозы к левулезе. Хуже растут в присутствии изученных углеводов *M. laposum* и *M. gypseum*. Первый лучше усваивает глюкозу, декстрин, маннит и сорбит, второй — глюкозу, декстрин и галактозу. Наиболее требовательны в отношении источников углерода *M. equinum* и *K. ajelloi*, первый из которых хорошо растет лишь в присутствии глюкозы, а второй — глюкозы и левулёзы.

Потребность микроспорумов в различных источниках углерода представляет небольшую ценность для видовой характеристики этого рода. Однако, заметно, что антропофильный тип *M. audouinii* обладает большим набором сахаролитических ферментов, несколько меньшим зоофильные и весьма ограниченными геофильные. Следовательно, потребность тех или других источников углерода вряд ли можно отнести к дифференциальным признакам отдельных видов микроспорумов.

Установлено, что азотное питание существенно влияет на тип роста и морфологические признаки микроспорумов.

В присутствии большинства солей аммония и аминокислот в качестве единственного источника азота микроспорумы развиваются либо без воздушного мицелия, либо с преобладанием субстратного мицелия, причем, морфологические черты последнего очень сильно изменяются по сравнению с типичными культурами.

Минеральные источники азота и аммонийные соли некоторых органических кислот (щавелевая, уксусная и лимонная) значительно лучше усваиваются геофильными видами (*M. gypseum* и *K. ajelloi*), чем антропо- и зоофильными. Мочевина слабо усваивается зоофильными (*M. lanosum* и *M. equinum*), но хорошо антропо- и геофильными видами (*M. audouini*, *M. gypseum* и *K. ajelloi*).

Одинаково хорошими источниками азота, поддерживающими хороший и типичный рост микроспорумов и *K. ajelloi* являются пептон, гидролизат казеина, соевая мука и кукурузный экстракт. Судя по весу биомассы грибов, сусло жидкое все же превосходит все названные вещества по питательной ценности. Аминокислоты по сравнению с вышеуказанными комплексными веществами значительно менее пригодны как единственные источники азота; смесь таких аминокислот как цистин, метионин, тиразин, аргинин, гистидин, норлейцин и триптофан не улучшает роста микроспорумов по сравнению с отдельными из этих аминокислот. Из пяти изученных видов *M. equinum* и *K. ajelloi* хуже всех усваивают аминокислоты, плохо *M. audouini* и несколько хуже *M. gypseum* и *M. lanosum*. *M. audouini* относительно хорошо потребляет лизин, тирозин и аргинин; *M. lanosum* — лейцин, валин, серин, гликокол, α -аланин, тирозин, аспарагин и аспарагиновую кислоту; *M. equinum* — тирозин, аргинин и лизин; *M. gypseum* — лизин, гистидин, β -аланин, аспарагиновую и глутаминовую кислоту, лейцин, аспарагин, норлейцин, метионин, серин и лейцин. *K. ajelloi* слабо усваивает все 19 изученные нами аминокислоты.

По интенсивности усвоения источников азота минерального и органического происхождения микроспорумы делятся на две группы: первые лучше усваиваются геофильными и очень слабо или совсем не усваиваются антропо- и зоофильными. В отношении аминокислот такой закономерности не наблюдается.

Геофильные дерматофиты, очевидно, являются наиболее приспособленными к естественным сапрофитным условиям питания и, следовательно, менее прихотливыми в выборе источника азота. Это, вероятно, сказывается также на пато-

генности и тропизме микроспорумов не только в отношении типа поражаемых тканей, но и вида животных.

От вида источника азота существенно зависят морфологические особенности опытных дерматофитов и способность их к субстратному развитию в жидких питательных средах. В средах с аммонийными источниками азота микроспорумы теряют дифференциальные морфологические и культуральные признаки, приближаясь по виду к таковым же в паразитарных условиях существования.

Скудный рост с образованием большого количества хламидоспор и артроспор в субстратном мицелии и отсутствие воздушного мицелия на упомянутых питательных средах подтверждает изложенное. Такая фаза развития дерматофитов называется псевдопаразитарной. Подобные культуры некоторыми авторами получались при выращивании дерматофитов в целлофановых мешочках, в виде взвеси в физиологическом растворе, помещенных в брюшную полость животных, а Вильямс наблюдал их в средах, содержащих цистин или цистин.

Ассимиляционные особенности микроспорумов в отношении различных азотистых веществ носят в основном групповой характер (рода в целом).

На средах с различными аминокислотами микроспорумы продуцируют, несвойственный им в обычных условиях выращивания, пигмент лимонно-желтого цвета. *M. gypseum* его продуцировал в присутствии β -аланина, гликола, глутаминовой и аспарагиновой кислоты, лизина, гистидина и норлейцина. *M. lanosum* в присутствии цистина, тирамина, лейцина и α -аланина. *M. audouini* его продуцировал лишь в среде с лейцином, окрашивая все содержимое пробирок в канареечный цвет. Культуры других видов были бесцветны.

Для полной характеристики и выявления черт сходства и различия между разными видами микроспорумов нами изучена также активность их некоторых ферментов (кератинолитических, протеолитических и уреазной активности).

В результате установлено, что геофильные микроспорумы (*M. gypseum*, *M. cookei* и *K. ajelloi*) обладают наиболее выраженной кератинолитической активностью, а *M. audouini*, *M. lanosum* и *M. equinum* — более слабой.

Кроме того, первая группа грибов имеет выраженный характер поражения волос, осуществляющий инвазию с помощью перфораторов, в которых видимо концентрируются кератинолитические ферменты. Такие перфораторы наблюдаются также в культурах *M. audouini*, но очень редко; у *M. lanosum* и *M. equinum* они не выявлены. Поражаемые этими микроспорумами волосы, окутанные с поверхности мицелием разрушаются по всей поверхности и равномерно.

Изученные нами процессы коагуляции и пептонизирования молока, а также разжижение желатина не представляет особой ценности для характеристики изученных дерматофитов.

Количественный метод определения протеолитической активности изученных нами микроспорумов по выделившемуся тирамину в результате гидролиза казеина в присутствии глицериновых вытяжек (протеаз) из опытных культур не позволяют выявить видовую специфичность этих грибов. Все изученные виды и отдельные штаммы по протеолитической активности почти не отличались. Однако, установлено, что протеазы глицериновых вытяжек из мицелия этих грибов действуют постепенно с максимальным освобождением тирамина через 24 часа.

В отличие от протеаз уреазы микроспорумов действует мгновенно, хотя максимум ее активности лежит в тех же пределах, что и протеазная (24 часа).

Антропофильный тип (*M. audouini*) и зоофильные микроспорумы обладают более высокой уреазной активностью по сравнению с геофильными, из которых *M. cookei* совсем неактивен.

Изучая культурально-морфологические особенности, историю развития и ассимиляционные свойства опытных грибов, установлено наибольшее постоянство культурально-морфологических признаков у почвенных микроспорумов (*M. gypseum*, *M. cookei* и *K. ajelloi*).

Выявлено, что к изменчивости чрезвычайно склонен *M. lanosum* и в меньшей степени *M. gypseum*, *M. cookei* и *K. ajelloi*.

При изучении некоторых физиологических свойств сморчковидных вариантов *M. lanosum* и экспериментально полученных из них пушистых культур, нами установлено, что с изменением культурально-морфологических признаков изменяются также и физиологические свойства, в частности, активность ферментов (кератиназ, протеаз и уреазы).

Что касается плеоморфизма, то можно отметить, что наиболее быстро изменяются *M. cookei*, пушистые штаммы *M. gypseum*, *M. lanosum* и *M. audouini*, а *K. ajelloi* значительно медленнее, в то время как *M. equinum* очень редко дает плеоморфные культуры.

Развитие плеоморфизма не зависит от наличия сахара в питательных средах, а так называемая среда сохранения Сабуро в наших опытах не предохраняла культуры от плеоморфизма. Пассаж культур микроспорумов, начавших изменяться на агаровых (1,5%) средах, содержащих только 20% вытяжек из черноземной почвы позволяет предотвратить плеоморфизм.

Как видно, на голодной среде, какой надо считать почвенную вытяжку, плеоморфные нити мицелия совсем отмирают, будучи не в состоянии к дальнейшему развитию. Споры, прорастая, дают хоть и скудный, но типичный рост; таким образом культура очищается от клеток прогрессивно ведущих культуру к полному плеоморфизму. Кроме агара с экстрактом из почвы плеоморфизм можно предотвратить проведением культуры через посевы на волосы.

Изучение серологических особенностей микроспорумов показало, что как белковые, так и полисахаридные фракции из культур последних вполне пригодны для использования их в серологических реакциях. При этом антигенные свойства типичных и плеоморфных культур не имели существенного отличия. Микроспорумы являются весьма слабыми в иммуногенном отношении. Специфичность иммунных сывороток против этих грибов в РСК выражена не отчетливо.

Реакция преципитации со специфическими сыворотками в геле позволяет выявлять сложный антигенный состав полисахаридных и белковых фракций.

Серологические свойства микроспорумов в основном носят групповой характер. Перекрестное истощение иммунных сывороток живыми культурами микроспорумов дает возможность получения видоспецифических сывороток, для выявления сходства или различия между отдельными видами микроспорумов.

Несомненно, что подбор более эффективного способа иммунизации животных и получение сывороток с более высокими титрами откроет новые перспективы для серодиагностики микроспории, а также для характеристики антигенных свойств микроспорумов. Аллергические пробы дают весьма слабые реакции, однако, в достаточной степени подтверждают результаты РСК и преципитации о групповом их характере.

Выводы

1. Разработаны условия метода цейтраферной микрокиносъемки развития дерматофитов, позволяющие изучать историю развития патогенных грибов и влияние различных источников питания на изменения культурально-морфологических признаков. С помощью данного метода зафиксирована на киноплёнку история развития пяти исходных видов рода *Micromyces*.

2. Данные зарубежных авторов (Хейзи, Бенедэк) о взаимной близости *M. audouinii* и *M. laposum*, затрудняющей дифференциацию этих грибов, в наших исследованиях не подтвердились.

3. На основании близости ботанических, физиологических и серологических свойств изученных микроспорумов и *K. ajelloi* последний следовало бы отнести к роду Микроспорум.

4. Из ленинградских почв выделено три вида кератинофильных дерматофитов (*M. gypseum*, *M. cookei* и *K. ajelloi*), у двух из которых выявлено совершенное плодоношение.

5. Минеральные источники углерода и азота изученными грибами усваиваются плохо, однако, геофильными лучше, чем антропофильными и зоофильными. Некоторые аминокислоты и соли аммония, используемые в жидкой питательной среде в качестве единственных источников азота существенно влияют на развитие субстратных хламидоспор и приводят к потере воздушного мицелия.

6. Кератинолитическая, протеолитическая и уреазная активность свойственна дерматофитам из рода Микроспорум, а также *K. ajelloi*. Однако, эти свойства не могут быть использованы для идентификации этих грибов. Наиболее выраженная уреазная активность отмечена у *M. audouinii* и *M. lanosum*. Разрушение волос с помощью перфораторов отмечено в культурах геофильных грибов (*M. gypseum*, *M. cookei* и *K. ajelloi*), очень редко в культурах антропофильного типа *M. audouinii* и не наблюдалось у *M. lanosum* и *M. equinum*.

7. Белковые и полисахаридные фракции из культур микроспорумов могут быть использованы в серологических реакциях со специфическими сыворотками в качестве антигенов. Реакция преципитации по Аухтерлони заслуживает внимания для изучения антигенного состава белковых фракций этих грибов.

Список опубликованных работ по теме диссертации

1. В. Н. Ш а т и к. Кератинофильные грибы ленинградских почв и их совершенное плодоношение. Сборник научных работ аспирантов Лен. ГИДУВа, вып. 40, стр. 246—251, 1964 г.
2. В. Н. Ш а т и к. Культурально-морфологическая характеристика дерматофитов из рода Микроспорум, Микол. исслед., стр. 46—56, 1964 г.
3. В. Н. Ш а т и к. Усвоение различных источников углеродного и азотного питания дерматофитами из рода Микроспорум. Микол. исслед., стр. 38—42, 1964 г.
4. В. Н. Ш а т и к. Метод выращивания микрокультур дерматофитов при изучении их истории развития с применением цейтраферной микрокиносъемки. Микол. исслед., стр. 57—58, 1964 г.
5. В. К. Грекова, В. Н. Ш а т и к. Использование среды Чапека — Докса для характеристики некоторых дерматофитов. Микол. исслед., 32—37, 1964 г.

БЕСПЛАТНО

М-45881. Подписано к печати 24/XII 1964 г. Объем 1 печ. л. Формат 60×90^{1/16}.
Тираж 250 экз. Заказ № 976. Бесплатно.

Ленинградская типография № 2 имени Евгении Соколовой Главполиграфпрома
Государственного комитета Совета Министров СССР по печати.
Измайловский проспект, 29.