

ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ МОРФОМЕТРИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ NAKASEOMYCES GLABRATUS, КОМПОНЕНТА МІКРОБІОМА СЛИЗОВИХ ОБОЛОНОК

Стаття присвячена вивченню варіабельності кількісних параметрів вегетативних клітин (бластоконідій) *Nakaseomyces glabratus* (H.W. Anderson) Sugita & M. Takash. – недиморфних дріжджів, компонента нормофлори організму людини. Матеріалами роботи стала чиста культура *N. glabratus*, виділена з слизової оболонки ротової порожнини здорової людини. Біологічні зразки культивувалися при 37°C на середовищі Chromogenic Candida Agar (ССА), виготовлення мікропрепаратів виконувалось за загальноприйнятою методикою мікробіологічних досліджень з фізичною фіксацією та подальшим фарбуванням за Грамом. Для вимірювань за допомогою окуляр-мікрометра відбирали по 25 клітин у кожному препараті методом випадкової виборки, мікроскопування і вимірювання клітин проводилось при збільшенні 16×90 з використанням імерсії; всього було біометрично опрацьовано параметри 50 клітин. Математичні розрахунки проводилися за допомогою програми Statistics 17.

У результаті наших досліджень, при культивуванні *N. glabratus* на поживному середовищі ССА, встановлені лінійні морфологічні параметри (довжина та ширина) клітин, що варіюють в межах (2)3 – 4(5) μ, × (1)2 – 3(4) μ. Отримані показники відповідають видовій нормі, але, в порівнянні із вищенаведеними даними літератури, одинично відмічене незначне відхилення параметру довжини до 5 μ. Перспективами подальших досліджень є порівняльне вивчення рівня мінливості морфометричних ознак клітин *N. glabratus* в умовах первинної культури та при пересіванні.

Ключові слова: *Nakaseomyces glabratus*, кандидоз, бластоконідії, морфометричні параметри.

Nakaseomyces glabratus (H.W. Anderson) Sugita & M. Takash. (далі *N. glabratus*) з точки зору систематики представляє собою вид недиморфних дріжджів, що був описаний у 1917 р. як *Cryptococcus glabratus* H.W. Anderson, у 1938 р. перенесений до роду *Torulopsis*, а потім – у рід *Candida*. До 2022 р. вид розглядався як *Candida glabrata* (H.W. Anderson) S.A. Mey. & Yarrow, а за сучасними таксономічними зведеннями його назва інтерпретується як *N. glabratus* [5]. За таксономічним положенням *N. glabratus* належить до родини Saccharomycetaceae порядку Saccharomycetales, підкласу Saccharomycetidae класу Saccharomycetes відділу Ascomycota [2].

Майже до кінця XX ст. *N. glabratus* вважався непатогенним представником нормальної мікрофлори здорових людей, що рідко викликає опортуністичні інфекції [3]. Однак, після широкого впровадження імуносупресивної терапії разом з антимікотичною терапією значно зросли спектр і частота місцевих і системних інфекцій, викликаних цим видом грибів [4], отже, нині його розглядають як умовно-патогенний мікроорганізм. Інфекції, спричинені *N. glabratus*, за частотою є другою причиною кандидозу після *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout, особливо у осіб з ослабленим імунітетом або хворих сахарним діабетом [1, 4].

Ідентифікація видів кандид здійснюється мікроскопічними, культуральними, біохімічними методами, останнім часом – за допомогою молекулярно-генетичних методів. Так, за допомогою методів порівняльного аналізу хромосомної ДНК встановлюється не тільки видова належність, а також розмежування різних штамів всередині виду [3]. *N. glabratus* ферментує та засвоює лише глюкозу та трегалозу, на відміну від видів *Candida*, і ця специфічна особливість перетворення цукрів використовується для біохімічної ідентифікації [4]. На диференційно-діагностичному поживному середовищі CHROMAgar, який диференціює різні види кандид за кольором колоній в результаті біохімічних реакцій, *N. glabratus* формує колонії від рожевого до фіолетового кольору, на відміну від зелених та синьо-зелених колоній *C. albicans* [3]. Серед характерних морфо-біологічних особливостей *N. glabratus* – відсутність диморфізму: гриб не утворює або обмежено утворює псевдоміцелій при 37°C, на відміну від усіх інших видів кандид [3]. Найменшу увагу приділяється лінійним морфологічним параметрам вегетативних клітин. Зокрема, в літературі наведена

одинична згадка про розміри бластоконідій *N. glabratus* – від 1 до 4 μ , що значно менше бластоконідій *C. albicans* (від 4 до 6 μ) [3], але, зважаючи на овальну форму та значний поліморфізм клітин, це є досить неточною характеристикою. В той же час, кількісні параметри вегетативних та генеративних структур є не менш інформативними для виявлення та ідентифікації видів мікроміцетів.

Мета роботи – виявлення варіабельності кількісних параметрів вегетативних клітин (бластоконідій) *N. glabratus* в умовах культивування. Завданням дослідження є встановлення кількісних параметрів клітин *N. glabratus* (довжини та ширини) при культивуванні.

Матеріалами роботи стала чиста культура *N. glabratus*, виділена з слизової оболонки ротової порожнини здорової людини. Всі роботи виконувалися з дотриманням техніки безпеки та правилами роботи із мікроорганізмами-представниками нормофлори людини. Біологічні зразки культивувалися при 37°C на спеціалізованому поживному середовищі Chromogenic Candida Agar (CCA), яке традиційно використовується для біохімічної диференціації та ідентифікації грибів роду *Candida* [3]. За сукупністю морфологічних ознак отриманий зразок був ідентифікований як *C. glabrata*, видова назва якого за сучасними таксономічними зведеннями інтерпретується як *N. glabratus* [2]. Виготовлення мікропрепаратів (мазків) виконувалось за загальноприйнятою методикою мікробіологічних досліджень з фізичною фіксацією та подальшим фарбуванням за Грамом. Для вимірювань за допомогою окуляр-мікрометра відбирали по 25 клітин у кожному мазку методом випадкової виборки, мікроскопування і вимірювання клітин проводилось при збільшенні 16×90 з використанням імерсії; всього було біометрично опрацьовано параметри 50 клітин. Математичні розрахунки проводилися за допомогою програми Statistics 17.

У результаті наших досліджень, при вивченні морфологічних особливостей клітин *N. glabratus* встановлена їх кількісна характеристика в умовах культури. На хромагарі *N. glabratus* формує пастоподібні гладкі колонії з глянсовою поверхнею, від світло-рожевого до рожевувато-бузкового кольору в центрі колоїї та рожево-кремові до периферії. При первинному культивуванні для *N. glabratus* характерні дрібні дріжджоподібні грампозитивні клітини довжиною (2)3 – 4(5) μ , шириною (1)2 – 3(4) μ , за формою від яйцеподібно-овальних до округло-овальних (рис. 1).

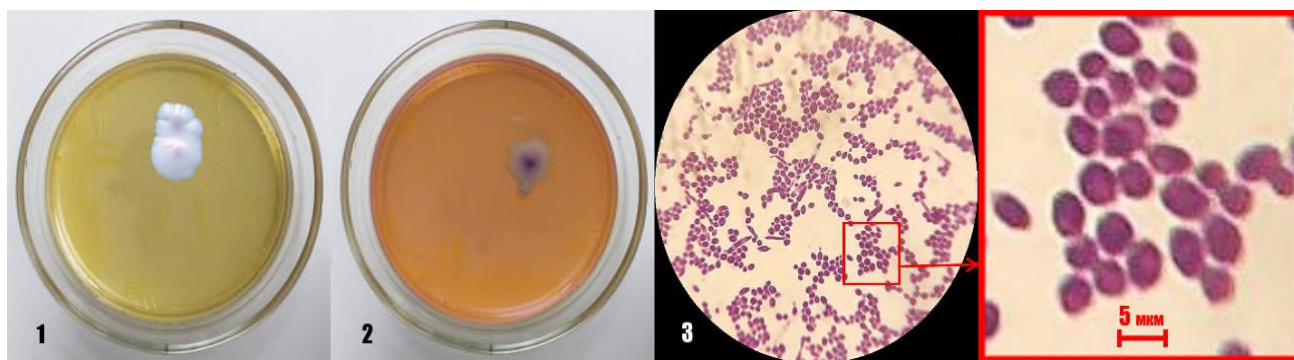


Рис. 1. Колонії (1-2) та бластоконідії (3) *N. glabratus* в чистій культурі.

Довжина клітин *N. glabratus* в умовах первинної культури варіює в межах від найменшого показника – 2 μ до найбільшого – 5 μ . Середнє значення довжини 50 клітин становить $3,66 \pm 0,09$ μ . Побудований варіаційний ряд дозволив встановити частоти розподілу довжини клітин *N. glabratus*. Як показує розподіл, найчастіше трапляється довжина 4 μ (54% клітин) та 3 μ (34% клітин), найрідкісніша встановлена довжина – 2 та 5 μ (по 2% клітин).

Ширина клітин *N. glabratus* в досліджених умовах варіює в межах від найменшого показника 1 μ до найбільшого 4 μ . Середнє значення ширини 50 клітин становить $2,69 \pm 0,09$ μ . Частоти розподілу ширини клітин *N. glabratus* показують, що найчастіше трапляється ширина 3 та 2 μ (58 та 28% клітин відповідно), найрідкісніша встановлена ширина – 1 та 4 μ (2 та 6% клітин відповідно).

Таким чином, при культивуванні *N. glabratus* на поживному середовищі CCA встановлені лінійні морфологічні параметри (довжина та ширина) клітин, що варіюють в межах (2)3 – 4(5) μ , $\times$ (1)2 – 3(4) μ . Отримані показники відповідають видовій нормі, але, в порівнянні із вищенаведеними даними літератури, одинично відмічене незначне відхилення параметру довжини до 5 μ .

Перспективами подальших досліджень є порівняльне вивчення рівня мінливості морфометричних ознак клітин *N. glabratus* в умовах первинної культури та при пересіванні.

References

1. Brunke, S. and Hube, B. (2013) *Candida albicans* and *C. glabrata* infection strategies. *Cell Microbiol*, 15, (pp. 701-708). Resource access mode: <https://doi.org/10.1111/cmi.12091>

2. Index Fungorum. Resource access mode: <https://www.indexfungorum.org/>
3. Fidel, P.L., Vazquez, J.A., Sobel J.D. (1999) *Candida glabrata*: Review of Epidemiology, Pathogenesis, and Clinical Disease with Comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev*, 12. Resource access mode: <https://doi.org/10.1128/cmr.12.1.80>
4. Lopez, J., Dalle, F., Mantelin, P., Moiroux, P., Nierlich, A.C., Pacot, A., Cuisenier, B., Vagner, O., Bonnin, A. (2001) Rapid identification of *Candida glabrata* based on trehalose and sucrose assimilation using Rosco diagnostic tablets. *J Clin Microbiol.*, Mar; 39(3), (pp.1172-1174). <https://doi.org/10.1128/JCM.39.3.1172-1174.2001>
5. Takashima, M., Sugita, T. (2022) Taxonomy of Pathogenic Yeasts *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia*, and *Trichosporon*. *Med Mycol J.*, 63(4), (pp. 119-132). Resource access mode: <https://doi.org/10.3314/mmj.22.004>

DOI 10.34132.mspc2025.01.08.12

Olga Korolyova
Mariia Shmihelska

VARIABILITY OF MORPHOMETRIC PARAMETERS OF *NAKASEOMYCES GLABRATUS*, A COMPONENT OF THE MUCOSAL MICROBIOME

*The article is devoted to the study of the variability of quantitative parameters of vegetative cells (blastospores) of *Nakaseomyces glabratus* (H.W. Anderson) Sugita & M. Takash. – non-dimorphic yeast, a component of the normal flora of the human body. The materials of the work were a pure culture of *N. glabratus*, isolated from the oral mucosa of a healthy person. Biological samples were cultivated at 37°C on Chromogenic *Candida* Agar (CCA), the preparation of micropreparations was carried out according to the generally accepted method of microbiological research with physical fixation and subsequent Gram staining. For measurements using an eyepiece micrometer, 25 cells were selected in each preparation by random sampling, microscopy and measurement of cells were carried out at a magnification of 16×90 using immersion; in total, the parameters of 50 cells were biometrically processed. The data obtained is biometrically calculated.*

*As a result of our studies, when cultivating *N. glabratus* on CCA nutrient medium, linear morphological parameters (length and width) of cells were established, varying within the limits of (2)3 – 4(5) μ, × (1)2 – 3(4) μ. The obtained indicators correspond to the species norm, but, in comparison with the above literature data, a slight deviation of the length parameter up to 5 μ was noted. The prospects for further research are a comparative study of the level of variability of morphometric characteristics of *N. glabratus* cells in the conditions of primary culture and during subculture.*

Keywords: *Nakaseomyces glabratus*, candidiasis, blastospores, morphometric parameters

Відомості про авторів / Information about the Authors

Ольга Корольова, кандидат біологічних наук, доцент, доцент кафедри медичної біології та фізики, мікробіології, гістології, фізіології та патофізіології Чорноморського національного університету імені Петра Могили, м. Миколаїв, Україна. E-mail: korolyova@chmnu.edu.ua, orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0429-1135>

Olga Korolyova, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Medical Biology and Physics, Microbiology, Histology, Physiology and Pathophysiology of the Petro Mohyla Black Sea National University, Mykolaiv, Ukraine. E-mail: korolyova@chmnu.edu.ua, orcid: <https://orcid.org/0000-0003-0429-1135>

Марія Шмігельська, студентка 3 курсу Навчально-наукового медичного інституту Чорноморського національного університету імені Петра Могили, м. Миколаїв, Україна. E-mail: dgrcrfsggcsyb@gmail.com

Mariia Shmihelska, 3rd year student, Educational and Scientific Medical Institute of the Petro Mohyla Black Sea National University, Mykolaiv, Ukraine. E-mail: dgrcrfsggcsyb@gmail.com

