

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Арзуманян В.Г.¹, Вартанова А.А.¹, Вартанова Н.О.¹, Качалкин А.В.^{2,3}, Ожован И.М.¹, Агапов А.Ю.¹,
Поддубиков А.В.¹, Миронов А.Ю.^{4,5}

ДИАГНОСТИКА ДРОЖЖЕЙ *MALASSEZIA* МЕТОДОМ MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ИХ РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ СРЕДИ ЖИТЕЛЕЙ МОСКВЫ

¹ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, 105064, Москва, Россия;

²ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», 119991, Москва, Россия;

³Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скребин РАН, ФИЦ ПНЦБИ РАН, 142290, Пушкино, Россия;

⁴ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, 125212, Москва, Россия;

⁵Федеральный научно-клинический центр специализированных видов медицинской помощи и медицинских технологий ФМБА России, 115682, Москва, Россия

Дрожжи рода *Malassezia* являются представителями нормальной микобиоты кожи человека и теплокровных животных, однако при себорейном и атопическом дерматите, фолликулите и др. они выступают в роли оппортунистических патогенов. Клиническая лабораторная диагностика видов *Malassezia* включает усовершенствованный набор физиолого-биохимических тестов, молекулярно-генетические методы, MALDI-TOF масс-спектрометрию. В базу данных масс-спектрометров, используемых в практике клинической лабораторной диагностики, включены только два вида: *Malassezia furfur* и *M. pachydermatis*. Цель: повысить качество MALDI-TOF идентификации грибов *Malassezia* на основе расширения базы данных масс-спектров для совершенствования клинической лабораторной диагностики видового разнообразия дрожжевых грибов в России.

Материал и методы. В работе использованы 7 культур грибов рода *Malassezia* из коллекции ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, а также 54 изолята *Malassezia*, изолированные с кожных покровов лиц разного пола в возрасте от 14 лет до 71 года без дерматологических заболеваний. Идентификация проведена с помощью расширенного списка физиолого-биохимических тестов, MALDI-TOF масс-спектрометрии, молекулярно-генетических методов.

Результаты. 7 тест-культур *Malassezia* идентифицированы физиолого-биохимическими методами как *M. sympodialis*. Масс-спектры этих тест-культур идентичны между собой, но значительно отличаются от таковых *M. furfur* по величинам *m/z* мажорных сигналов, что позволило пополнить имеющуюся базу данных масс-спектрометра ещё одним видом этих дрожжей. Клинические штаммы от 54 человек идентифицированы методом MALDI-TOF масс-спектрометрии: 44 человека (81%) явились носителями *M. sympodialis*, 1 человек (2%) - *M. furfur*, 1 человек (2%) - *Malassezia* неопределённого вида, от 8 человек (15%) эти дрожжи не удалось выделить и идентифицировать. Штамм *Malassezia*, не соответствующий обновлённой базе данных масс-спектрометра, исследован молекулярно-генетическими методами; установлена его принадлежность к виду *M. globosa*, масс-спектр которого также пополнил базу данных прибора. Установлено, что пик обсеменённости кожных покровов дрожжами *Malassezia* соответствует возрасту 19÷29 лет, причём у женщин этот показатель с возрастом снижается, а у мужчин сохраняется на постоянном уровне.

Заключение. Расширение базы данных масс-спектрометра позволило усовершенствовать клиническую лабораторную диагностику дрожжей рода *Malassezia* и провести исследование видового разнообразия этих микромицетов среди жителей г. Москвы.

Ключевые слова: кожа; *Malassezia*; *M. sympodialis*; *M. furfur*; *M. globosa*; MALDI-TOF масс-спектрометрия

Для цитирования: Арзуманян В.Г., Вартанова А.А., Вартанова Н.О., Качалкин А.В., Ожован И.М., Агапов А.Ю., Поддубиков А.В., Миронов А.Ю. Диагностика дрожжей *Malassezia* методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и их распространённость среди жителей Москвы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (6): 286-293. DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-6-286-293

Для корреспонденции: Арзуманян Вера Георгиевна, зав. лаб. физиологии грибов и бактерий; e-mail: veraar@mail.ru

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 08.04.2024

Принята к печати 26.04.2024

Опубликовано 25.05.2024

Arzumanyan V.G.¹, Vartanova A.A.¹, Vartanova N.O.¹, Kachalkin A.V.^{2,3}, Ojovan I.M.¹, Agapov A.Yu.¹,
Poddubikov A.V.¹, Mironov A.Yu.^{4,5}

DIAGNOSTICS OF *MALASSEZIA* YEAST BY MALDI-TOF MASS SPECTROMETRY AND THEIR DISTRIBUTION AMONG RESIDENTS OF MOSCOW

¹Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera, Moscow, Russia;

²M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia;

³G.K. Skryabin Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms of RAS, PSCBR RAS, Pushchino, Russia;

⁴G.N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, Moscow, Russia;

⁵Federal research and clinical center of specialized medical care and medical technologies, Moscow, Russia

Yeast of the genus *Malassezia* are residents of the normal mycobiota of human and warm-blooded animals skin, however, in seborrheic and atopic dermatitis, folliculitis, etc. they act as opportunists. The modern clinical diagnostics of *Malassezia* species includes an improved number of physiological and biochemical tests, molecular methods and MALDI-TOF mass spectrometry. The database of mass spectrometers used in clinical laboratory practice includes only two species - *M. furfur* and *M. pachydermatis*.

Aim: expansion of the MALDI-TOF mass spectrometer database for clinical laboratory diagnostics of the *Malassezia* yeast species diversity in Moscow.

Material and methods. Experiments were carried out on 7 strains of *Malassezia* genus fungi from the collection of the I. I. Mechnikov Institute, as well as 54 *Malassezia* strains isolated from the skin of different sexes persons aged from 14 years to 71 years without dermatological diseases. Identification was carried out using an extended list of physiological and biochemical tests, MALDI-TOF mass spectrometry and molecular methods.

Results. 7 *Malassezia* test cultures were identified by physiological and biochemical methods as *M. sympodialis*. The mass spectra of these test cultures were identical to each other, but significantly differed from those of *M. furfur* in terms of *m/z* major signals, which made it possible to supplement the existing spectrometer database with one more species of these yeasts. Further, strains from 54 people were studied by MALDI-TOF mass spectrometry: 44 people (81%) were carriers of *M. sympodialis*, 1 person (2%) - *M. furfur*, 1 person (2%) - an undetermined species of *Malassezia*, and from 8 people (15%) these yeasts could not be isolated. The *Malassezia* strain, which did not correspond to the updated database of the mass spectrometer, was examined by molecular methods and found to belong to the species *M. globosa*, whose mass spectrum also supplemented the database of the device. It was found that the peak of *Malassezia* yeast contamination corresponds to the age of 19-29 years, and in women this parameter decreases with age, while in men it remains at the same level.

Conclusion. The expansion of the mass spectrometer database made it possible to improve the clinical laboratory diagnosis of yeast *Malassezia* and to conduct a study of these micromycetes species diversity among residents of Moscow.

Key words: skin; *Malassezia*; *M. sympodialis*; *M. furfur*; *M. globosa*; MALDI-TOF mass spectrometry

For citation: Arzumanyan V.G., Vartanova A.A., Vartanova N.O., Kachalkin A.V., Ojovan I.M., Agapov A.Yu., Poddubikov A.V., Mironov A.Yu. Diagnostics of *Malassezia* yeast by MALDI-TOF mass spectrometry and their distribution among residents of Moscow. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69(6): 286-293 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-6-286-293>

For correspondence: Arzumanyan Vera, Ph.D., prof., head of Laboratory of fungal and bacterial physiology, Mechnikov Research Institute for Vaccines and Sera; e-mail: veraar@mail.ru

Information about authors:

Arzumanyan V.G., <https://orcid.org/0000-0001-9769-1634>;

Vartanova A.A., <https://orcid.org/0000-0001-6502-6998>;

Vartanova N.O., <https://orcid.org/0000-0002-6372-9910>;

Kachalkin A.V., <https://orcid.org/0000-0002-4494-2468>;

Ojovan I.M., <https://orcid.org/0000-0002-8129-0817>;

Agapov A.Yu., <https://orcid.org/0009-0008-1590-3815>;

Poddubikov A.V., <https://orcid.org/0000-0001-8962-4765>;

Mironov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0002-8544-5230>.

Conflict of interest. The authors declare absence of conflict of interest.

Funding. The study had no sponsor support.

Received 08.04.2024

Accepted 26.04.2024

Published 25.05.2024

Введение. Дрожжи рода *Malassezia* составляют эукариотический нормобиом кожных покровов организма человека и теплокровных животных. На текущий момент официально зарегистрировано 18 видов дрожжей рода *Malassezia*, причём 11 видов из них выделяются от человека, а 12 видов - от теплокровных животных [1]. Принципиальной особенностью, отличающей дрожжи *Malassezia* от дрожжей прочих родов, является облигатная липофильность, связанная с их средой обитания и обусловленная отсутствием способности к синтезу собственных жирных кислот. Из всех видов *Malassezia* только единственный вид - *M. pachydermatis* - способен расти на питательной среде без липидных добавок. Дрожжи *Malassezia*, потребляя компоненты сального секрета кожи организма хозяина, выделяют биологически активные метаболиты: микоцины, ферменты, антигены и другие, которые с одной стороны, способствуют взаимодействию с организмом хозяина, а с другой, при иммунодефицитных состояниях, могут

провоцировать развитие таких кожных заболеваний, как пёстрый лишай, фолликулит, себорейный и атопический дерматиты и т.д. Видовое разнообразие и обсеменённость грибами рода *Malassezia* кожных покровов варьируют в зависимости от условий, в которых обитает организм хозяина, и определяются составом секрета кожи, температурой, влажностью, pH и др. В Европе преобладающими видами дрожжей рода *Malassezia* являются *M. globosa* и *M. sympodialis* [2], тогда как прочие виды обнаружены у лиц из стран восточного полушария - *M. yamatoensis* и *M. japonica* в Японии [3, 4], *M. arunalokei* - в Индии [5].

В России исследование видового состава дрожжей *Malassezia* проводилось в 2001-2002 году в г. Москве на выборке из 44 человек. На тот момент установлено, что преобладающим видом среди дрожжей *Malassezia* являлась *M. sympodialis* (54%), *M. globosa* составляли 6%, *M. furfur* - 1%, не идентифицированные до вида дрожжи рода *Malassezia* составили 5%; у 34% обследован-

ных вообще не удалось обнаружить грибов [6,7]. С тех пор род *Malassezia* значительно пополнился новыми видами дрожжей, методы их идентификации несколько изменились и усовершенствовались: появились новые физиолого-биохимические лабораторные тесты [8], новые молекулярно-генетические методы [9], время-пролётная масс-спектрометрия MALDI-TOF MS (Matrix Associated Laser Desorption Ionization - Time of Flight Mass Spectrometry) мажорных полипептидов, которая по достоверности результатов сопоставима с молекулярно-генетическими методами диагностики [10,11]. Однако, в базу данных коммерческих MALDI-TOF масс-спектрометров (например, «MALDI Biotyper Sirius RUO System» и «Microflex LT/SH System»), используемых в клинико-диагностических лабораториях России внесены лишь масс-спектры *M. furfur*, *M. pachydermatis*, *Malassezia* spp. (т. е. дрожжи рода *Malassezia*). В доступных источниках литературы отсутствует информация о масс-спектрах прочих видов *Malassezia*, которые можно было бы использовать в клинической лабораторной диагностике для расширения базы приборов масс-спектрометров открытого типа на территории России.

Цель исследования: повысить качество MALDI-TOF идентификации грибов рода *Malassezia* на основе расширения базы данных масс-спектров для совершенствования клинической лабораторной диагностики видового разнообразия дрожжевых грибов в России.

Материал и методы. Исследование выполнено с использованием научного оборудования Центра коллективного пользования НИИВС им. И. И. Мечникова. Объектом исследования для расширения базы данных MALDI-TOF масс-спектрометра явились культуры грибов рода *Malassezia* из коллекции НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова, ранее изолированных с кожных покровов добровольцев без дерматологических заболеваний ($n=7$) - двух добровольцев мужского пола 46-52 лет и пятерых добровольцев женского пола 20-48 лет.

Для изучения видового разнообразия дрожжевых грибов *Malassezia* собрана группа из 54 человек без дерматологических заболеваний: 14 добровольцев мужского пола 14-71 года; 40 добровольцев женского пола 2-77 лет. Культуры дрожжей получали путём смыва с участка кожи верхней части спины размером 6х6 см с помощью тупфера, смоченного в 800 мкл фосфатного буферного раствора, содержащего Твин 80, pH 7.9. По 100 мкл смывов засеивали на чашки Петри с модифицированной средой Диксона (mD), которые инкубировали при 32 °C в течение 3-8 суток до образования видимых колоний. Объектами сравнения явились контрольные штаммы *M. furfur* № 607 и *M. sympodialis* ВН из коллекции НИИВС им. Мечникова, ранее идентифицированные молекулярно-биологическими методами на базе Венгерской коллекции микроорганизмов (Будапешт) [7]. Протокол исследования утверждён локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова (ФГБНУ НИИ вакцин и сывороток им. И. И. Мечникова), протокол № 2 от 21.02.2024.

В качестве алгоритма идентификации ранее полученных и новых изолятов грибов использована схема, основанная на следующих тестах: рост, цвет, морфология колоний грибов, наличие или отсутствие преципитата на хромогенном агаре CHROMagar *Malassezia*,

(«CHROMagar», Франция); рост на глюкозо-пептон-дрожжевой питательной среде (ГПД); каталазный тест; наличие и характер роста на плотной питательной среде с эскулином; рост на питательных средах с кремофором EL (касторовым маслом) и Твинами 20, 40, 60, 80 [8].

Идентификацию чистых культур *Malassezia* осуществляли методом время-пролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF масс-спектрометрии) на двух коммерческих приборах: «MALDI Biotyper Sirius RUO System» («Bruker», США) ЦКП НИИВС им. И. И. Мечникова и «Microflex LT/SH System» («Bruker», США) по прилагаемому протоколу.

Валидация видовой принадлежности *Malassezia* spp. (штамм ОВ) осуществлена молекулярно-генетическими методами. Выделение ДНК из биомассы дрожжей данного штамма проведено с применением стеклянной дробы (300-500 мкм диаметром) и лизирующего буфера (TrisBase 50 mM, NaCl 250 mM, ЭДТА 50 mM, SDS 0.3%, pH 8), используя гомогенизатор TissueLyser LT (QIAGEN, Германия) и инкубирование при температуре 65 °C. Для амплификации региона рДНК, содержащего ITS регион и D1/D3 домены, применены праймеры ITS1f (5'-CTT GGT CAT TTA GAG GAA GTA) и LR5 (5'-TCC TGA GGG AAA CTT CG). Амплификатор T100 (Bio-Rad, США) использован по следующей программе: начальная денатурация - 2 минуты при температуре 96 °C; затем 35 циклов: денатурация - 20 секунд при температуре 96 °C, отжиг праймеров - 50 с при температуре 52 °C, синтез ДНК - 1,5 мин при температуре 72 °C; конечная достройка 7 мин при температуре 72 °C. Секвенирование ДНК проведено с праймером LR5 с помощью набора реактивов BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) с последующим анализом продуктов реакции на секвенаторе 3130xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в ЗАО «Евроген» (Москва). Идентификация по полученным электрофореграммам выполнена при использовании данных генбанка NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov).

Статистическая обработка проведена с помощью пакета программ, вложенных в Microsoft Excel 2019. Для оценки достоверности различия выборок данных применён критерий Манна-Уитни.

Результаты. Семь клинических изолятов дрожжей рода *Malassezia*, выделенных от носителей, изучены в соответствии с вышеупомянутой схемой [8]. Все эти культуры при росте на хромогенном агаре CHROMagar *Malassezia* («CHROMagar», Франция) образовывали крупные гладкие блестящие бледно-розовые колонии с зоной преципитации. Тест на каталазную активность у всех штаммов дрожжей положительный. Ни один из клинических изолятов не рос на питательной среде ГПД, а на питательной среде с эскулином все культуры росли с образованием чётко различимой чёрной зоны. На питательной среде с кремофором EL роста культур не отмечено. На питательных средах с Твинами 40, 60, 80 рост имел место у всех изолятов, тогда как на питательной среде с Твином 20 отмечался слабый рост или его отсутствие. Один из изучаемых штаммов - ВН - ранее идентифицирован методом кариотипирования как вид *M. sympodialis* [7]. На основании полученных данных сделано заключение о принадлежности выделенных клинических изолятов к виду *M. sympodialis* [1]. Масс-спектрометрию этих культур и коллекционного штамма *M. furfur* № 607 проводили

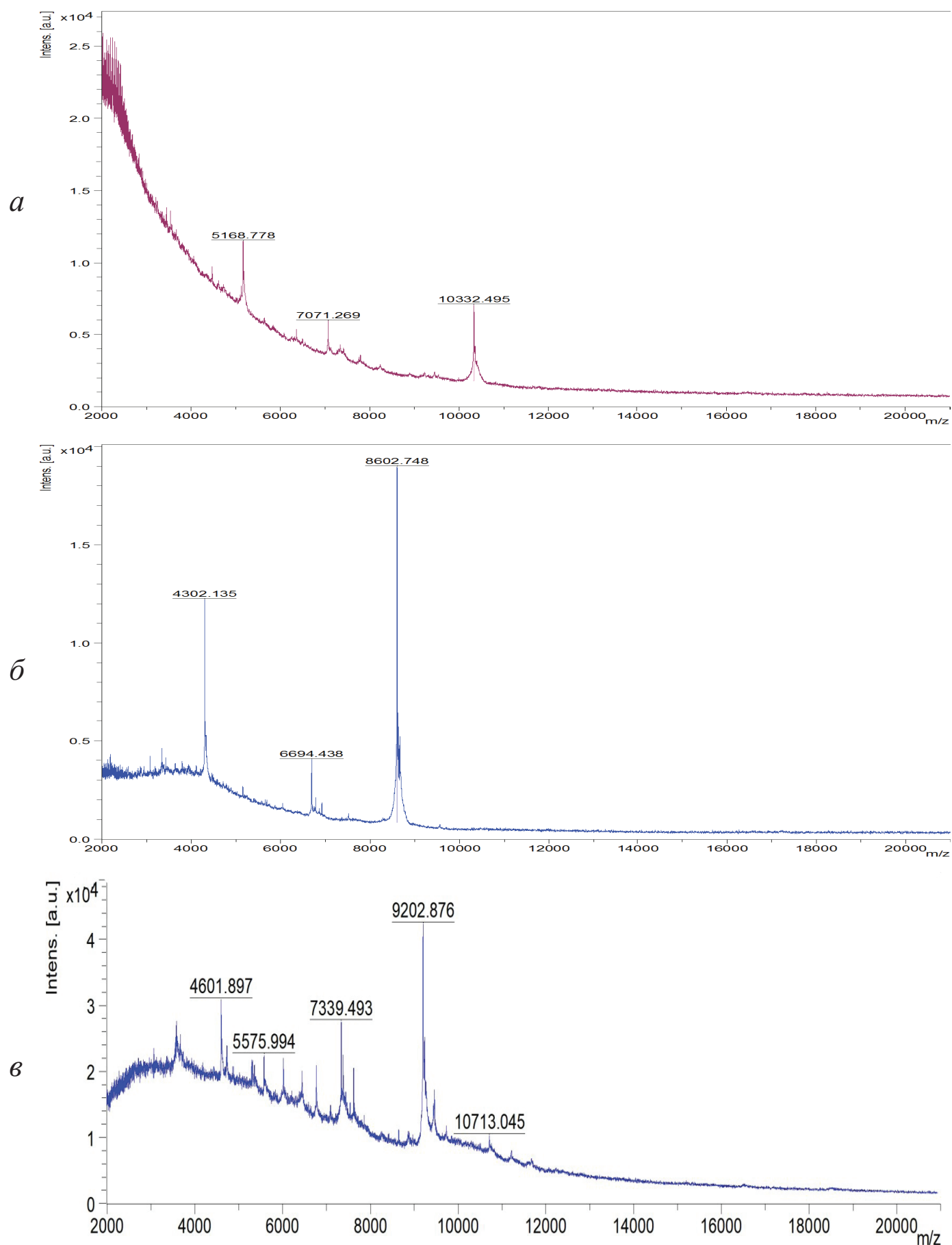


Рис. 1. MALDI-TOF масс-спектры дрожжей рода *Malassezia*. а - *M. furfur* № 607, б - *M. sympodialis* ЛА, в - *M. globosa* ОБ.

на двух коммерческих приборах масс-спектрометрах в нескольких повторах. Полученные данные приведены на рис. 1, а, б и в табл. 1. Культура *M. furfur* № 607 распознана обоими приборами масс-спектрометрами как *M. furfur* (Score 2). В масс-спектрах всех изолятов *M. sympodialis* отмечены три основных сигнала, для которых отношение массы к заряду составило 4302.1–4311.8, 6694.4–6706.9,

8602.7–8618.8, что значительно отличалось от масс-спектров *M. furfur* № 607. Из 30 масс-спектров выбраны 20 с наибольшей корреляцией, которые загружены в программу Compass Explorer. После усреднения и обработки получен пик-лист вида *M. sympodialis*, который внесён в базу данных масс-спектрометра «MALDI Biotyper Sirius RUO System».

Таблица 1

Характеристика мажорных сигналов MALDI-TOF масс-спектрометрии, характерных для штаммов дрожжей *Malassezia*

Штаммы	m/z		
	1	2	3
<i>M. furfur</i> № 607	5168.8 ÷ 5173.0	6364.3 ÷ 7071.2	10332.4 ÷ 10342.7
<i>M. sympodialis</i> ПА	4305.6 ÷ 4309.9	6699.1 ÷ 6705.3	8608.9 ÷ 8617.8
<i>M. sympodialis</i> ЛА	4302.1 ÷ 4307.8	6694.4 ÷ 6702.2	8602.7 ÷ 8615.8
<i>M. sympodialis</i> КТ	4304.7 ÷ 4311.8	6697.5 ÷ 6697.8	8607.8 ÷ 8608.6
<i>M. sympodialis</i> ВАН	4307.0 ÷ 4310.8	6700.9 ÷ 6706.9	8611.3 ÷ 8618.8
<i>M. sympodialis</i> ВН	4304.9 ÷ 4308.9	6698.1 ÷ 6704.5	8607.5 ÷ 8616.5
<i>M. sympodialis</i> ВАР	4304.6 ÷ 4307.5	6697.5 ÷ 6703.0	8606.7 ÷ 8614.4
<i>M. sympodialis</i> ПЯ	4304.4 ÷ 4307.9	6697.7 ÷ 6703.1	8607.7 ÷ 8616.5
<i>M. glodosa</i> ОВ	4601.0 ÷ 4602.3	7338.6 ÷ 7340.3	9201.8 ÷ 9204.0

Идентификация клинических изолятов *Malassezia*, выделенных с кожи 54 добровольцев, проведена после обновления базы данных масс-спектрометра. Оказалось, что один клинический изолят, полученный от девочки 4 лет, принадлежит к виду *M. furfur*, один полученный от женщины 53 лет (штамм ОВ) - к неопределённому виду (прибор его распознал как *Malassezia* spp.), у 8 человек эти грибы не удалось выделить даже при повторных попытках, а остальные клинические изоляты грибов принадлежали к виду *M. sympodialis*.

Штамм *Malassezia* spp. ОВ исследовали в соответствии со схемой Т. Канеко и соавторов [8]. Клетки дрожжей этого штамма имели сферическую форму (рис. 2, в), в отличие от овоидной формы клеток *M. furfur* и *M. sympodialis* (рис. 2, а, б). При росте на хромогенном агаре штамм образовывал мелкие розоватые колонии без зоны преципитации, имел положительный тест на каталазную активность, не рос на питательной среде ГПД, рос на питательной среде с эскулином с образованием чёрной зоны, на питательной среде с кремоформом EL рост отсутствовал, тест с

Твинами без преципитатов, питательная среда с Твин 20 и Твин 60 - рост интенсивный; питательная среда с Твин 40 и Твин 80 рост слабый; отмечен рост при температуре 40°C. Полученные данные оказались, в отличие от вышеприведённых данных по штаммам *M. sympodialis*, весьма противоречивыми: на их основании можно заключить, что штамм может принадлежать либо к виду *M. slooffiae*, либо к виду *M. globosa*. Дальнейшее исследование штамма *Malassezia* spp. ОВ молекулярно-генетическими методами показало, что он имеет 100% сходство с типовым штаммом *M. globosa* CBS 7966 по D1/D2 доменам LSU рДНК, тогда как с *M. slooffiae* (типовой штамм CBS 7956) - лишь около 90%. Штамм *Malassezia* spp. ОВ отнесён к виду *M. globosa*, а его масс-спектр внесён в базу данных прибора масс-спектрометра «MALDI Biotyper Sirius RUO System» (рис. 1, в). Основные три пика имели характеристики, отличающиеся от таковых для других представленных видов (см. табл. 1). Видовое разнообразие дрожжей рода *Malassezia*, выделенных от 54 лиц-носителей, представлено на рис. 3.

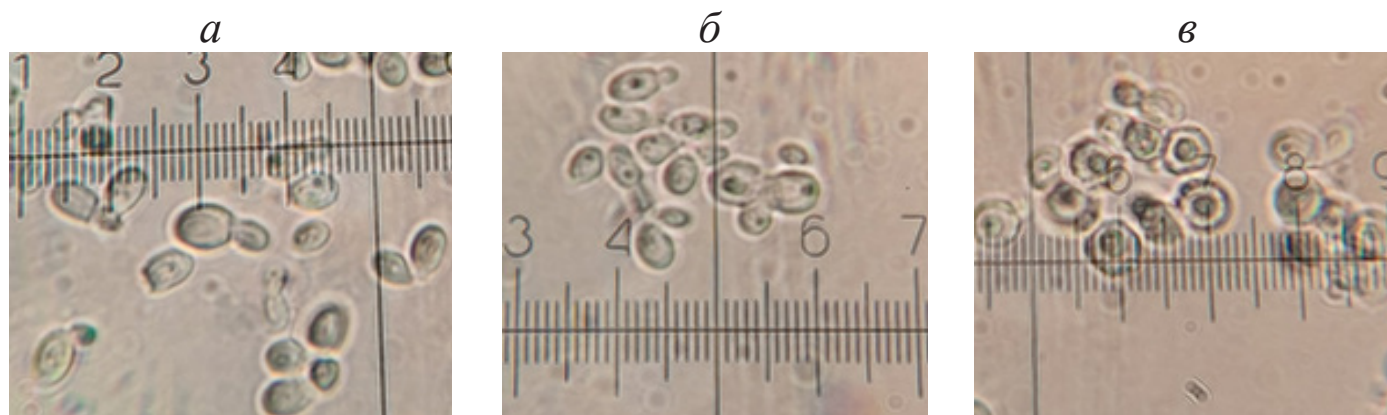


Рис. 2. Клетки различных видов дрожжей рода *Malassezia*: контуры клеток нечёткие из-за наличия типичной для этих дрожжей липидной капсулы. Суммарное увеличение микроскопа x1750. а - *M. furfur* № 607, б - *M. sympodialis* № 22, в - *M. globosa* ОВ.

Взаимосвязь между обсеменённостью кожи дрожжами рода *Malassezia* и возрастом их носителя представлена на рис. 4. Очевидно, что наиболее благоприятным для колонизации кожных покровов является возраст от 19 до 29 лет, что согласуется с ранее полученными нами данными [7] и данными литературы [12]. Очевидно, что такая зависимость связана с более интенсивным салоотделением в указанный период, которое постепенно снижается с возрастом, приводя к снижению обсеменённости липофильными

дрожжами. Это подтверждается также тем фактом, что медиана обсеменённости у детей до 15 лет ($n=4$) составила всего $1 \cdot 10^2$ КОЕ/дм², тогда как в период от 18 до 20 лет ($n=10$) тот же показатель составил $4 \cdot 10^4$ КОЕ/дм². Показатели достоверности различий в величинах обсеменённости в разных возрастных категориях по сравнению с самой старшей (56÷77 лет) следующие: для группы 2÷18 лет - $p > 0,05$; для 19÷20 лет - $p \leq 0,01$; для 21÷29 лет - $0,01 < p < 0,05$; для 30÷45 и 46÷55 лет - $p > 0,05$.

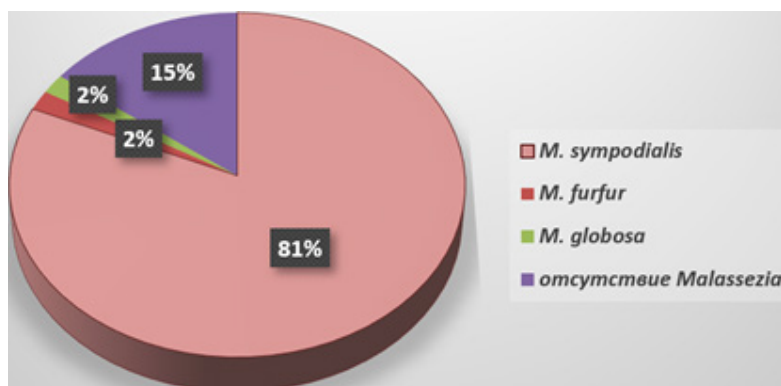


Рис. 3. Видовое разнообразие дрожжей рода *Malassezia* у лиц-носителей без кожных заболеваний ($n=54$).

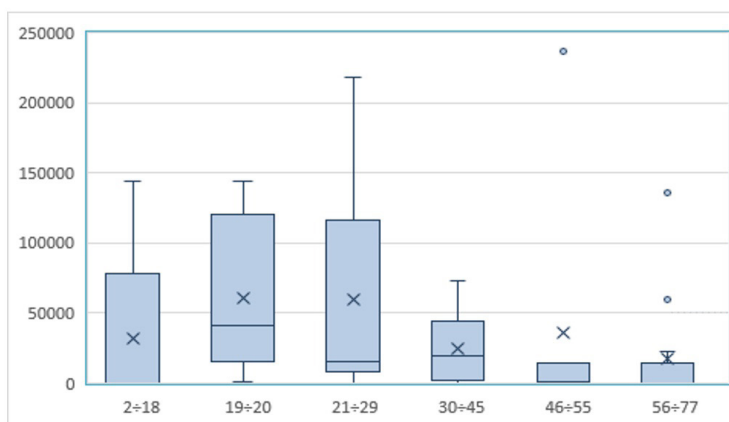


Рис. 4. Взаимосвязь между носительством дрожжей рода *Malassezia* и возрастом лица-носителя. По оси абсцисс - возрастные пределы (годы), по оси ординат - обсеменённость участка верхней части спины (КОЕ/дм²).

Разделив выборку на две группы по полу (40 женщин и 14 мужчин), можно проследить различия в полученных группах: медиана обсеменённости по всей выборке женщин составляет $7 \cdot 10^3$ КОЕ/дм², мужчин - $2 \cdot 10^4$ КОЕ/дм², но при этом достоверность различий низкая ($p > 0,05$). Результат распределения указанных групп на 3 возрастных категории представлен в табл. 2. Несмотря на различия между группами в пределах указанных возрастных категорий, данные отличия не являются достаточно достоверными, поэтому можно сделать заключение лишь о

тенденциях: у женщин пик обсеменённости соответствует возрасту младше 25 лет, тогда как у мужчин - возрасту 25-49 лет. Интересно отметить, что медиана обсеменённости у женщин старше 60 лет составила $7 \cdot 10^1$ КОЕ/дм², тогда как у мужчин того же возраста - $2 \cdot 10^4$ КОЕ/дм² ($0,01 < p < 0,05$), однако, выборки небольшие для того, чтобы можно было делать чёткие выводы. Обнаруженные тенденции можно объяснить различной способностью к выработке себума в зависимости от пола: на группе из 300 мужчин и женщин 20-74-х лет показано, что выработка

кожного сала у мужчин всегда выше и остается стабильной с возрастом, в то время как выра-

ботка кожного сала у женщин постепенно снижается в течение жизни [13].

Таблица 2

Обсеменённость кожных покровов организма хозяина дрожжами рода *Malassezia*

Возраст, годы	Женщины		Мужчины		Достоверность различий, <i>p</i>
	n	КОЕ/дм ² (медиана)	n	КОЕ/дм ² (медиана)	
до 25	18	3*10 ⁴	4	6*10 ³	>0.05
25-49	12	1*10 ⁴	4	5*10 ⁴	>0.05
Старше 50	10	1*10 ²	6	1*10 ⁴	>0.05

Обсуждение. Дрожжи рода *Malassezia* - представители нормальной микобиоты кожных покровов человека и теплокровных животных, однако, при себорейном и атопическом дерматите, фолликулите, отрубевидном лишае и т.д., они выступают в роли оппортунистических патогенов. Описаны случаи фунгемии у иммунокомпрометированных пациентов, вызванной *M. furfur*. Основным фактором риска фунгемии, ассоциированной с *M. furfur*, является перевод пациента на парентеральное питание с включением растворов липидов, необходимых для поддержания жизнедеятельности организма пациента, но в то же время являющихся питательной средой для грибов данного вида.

Роль грибов, в том числе и рода *Malassezia*, в патологии человека неуклонно увеличивается. Однако, проведение микробиологического мониторинга *Malassezia sp.* и их чувствительности к антимикотикам затруднено вследствие сложности культивирования и идентификации этих грибов, что негативно влияет на качество микробиологической диагностики.

MALDI-TOF масс-спектрометрия признана лучшим методом для идентификации микроорганизмов, в том числе и грибов. Однако, база данных коммерческих MALDI-TOF масс-спектрометров, используемых в клинко-диагностических лабораториях России, содержит лишь масс-спектры *M. furfur*, *M. pachydermatis*, *Malassezia sp.* В доступных источниках литературы отсутствует информация о масс-спектрах прочих видов *Malassezia*, которые можно было бы использовать для расширения библиотеки (базы данных) масс-спектрометров открытого типа на территории России. В связи с ограниченностью базы данных коммерческих MALDI-TOF масс-спектрометров ряд отечественных авторов в рутинной практике микробиологических лабораторий для видовой идентификации микромицетов *M. furfur* не рекомендует использование MALDI-TOF масс-спектрометрии [14].

Заключение. В 2001-2002 годах проведена диагностика носительства видов дрожжей *Malassezia* на кожных покровах жителей г. Москвы: использование физиолого-биохимических характеристик и молекулярных методов позволило установить, что преобладающим является вид *M. sympodialis*. Применение на современном этапе усовершенствованных физиолого-биохимических тестов позволило диагностировать видовую принадлежность семи коллекционных штаммов дрожжей *Malassezia*, изолированных ранее от 7 лиц-носителей, как *M. sympodialis*. При проведе-

нии MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа этих штаммов, получены характеристики основных сигналов, послужившие основанием для пополнения базы данных MALDI-ToF масс-спектрометра, помимо *M. furfur* и *M. pachydermatis*, ещё одним видом - *M. sympodialis*. Расширение возможностей MALDI-TOF масс-спектрометрии позволило провести видовую идентификацию клинических изолятов, полученных от 54 добровольцев, показавшую, что преобладающим видом является, по-прежнему, именно *M. sympodialis*. При этом обнаружен один штамм *Malassezia*, не соответствующий обновлённой базе данных масс-спектрометра, который исследован молекулярно-генетическими методами. Установлена принадлежность данного штамма к виду *M. globosa*, а его масс-спектр пополнил библиотеку грибов (базу данных) масс-спектрометра. Выделенные штаммы депонированы в УНУ (уникальная научная установка), Коллекция НИИВС им. И. И. Мечникова. На основании полученных данных определено не только видовое разнообразие дрожжей рода *Malassezia* в указанной группе лиц без кожных заболеваний, но установлена взаимосвязь между возрастом и полом носителя и степенью обсеменённости кожи этими дрожжами.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 2-5, 8-13 СМ. REFERENCES)

1. Арзуманян В.Г., Колыганова Т.И. Новое в таксономии, идентификации и свойствах дрожжей рода *Malassezia* Baillon. Микология сегодня. А.В. Кураков, А.Ю. Сергеев, ред. М.: Национальная академия микологии. 2022; 4:132-60.
6. Арзуманян В.Г. Грибы *Malassezia* на коже здоровых людей и больных атопическим дерматитом. *Вестник РАМН*. 2001; 2: 29-31.
7. Арзуманян В.Г. Дрожжевая микрофлора кожи и респираторного тракта человека при аллергических заболеваниях. Дисс. ... д-ра биол. наук. М.; 2002.
14. Родченко Ю. В. Грибы *Malassezia furfur* у новорождённых отделений хирургии, реанимации и интенсивной терапии: оптимизация микробиологической диагностики. Дисс.... канд. мед. наук. М.: 2021.

REFERENCES

1. Arzumanyan V.G., Kolyganova T.I. New in taxonomy, identification and properties of yeasts of the genus *Malassezia* Baillon. In: Mycology Today. A.V. Kurakov, A.Yu. Sergeev, eds. Moscow: National'naya akademiya mikologii; 2022; 4:132-60. (in Russian)

2. Tragiannidis A., Groll A., Velegraki A., Boekhout T. Malassezia Fungemia, Antifungal susceptibility testing and epidemiology of Nosocomial Infections. In: T. Boekhout, E. Guého, P. Mayser, A. Velegraki, eds. *Malassezia and the Skin*. Springer Verlag Berlin Heidelberg: 2010; 229-51.
3. Siguta T., Takashima M., Kodama M., Tsuboi K., Nishikawa A. Description of a new yeast species, *Malassezia japonica*, and its detection in patients with atopic dermatitis and healthy subjects. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41(10): 4695-9.
4. Siguta T., Tajima M., Takashima M., Amaya M. et al. A new yeast, *Malassezia yamatoensis*, isolated from patient with seborreic dermatitis, and its distribution in patients and healthy subjects. *Microbiol. Immunol.* 2004; 48(8): 579-83.
5. Honnavar P., Prasad G.S., Ghosh A., Dogra S., Handa S., Rudramurthy S.M. *Malassezia arunalokei* spp. nov., a novel yeast species isolated from seborrheic dermatitis patients and healthy individuals from India. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54: 1826-34.
6. Arzumanyan V.G. *Malassezia* fungi on the skin of healthy people and patients with atopic dermatitis. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2001; 2: 29-31. (in Russian)
7. Arzumanyan V.G. Yeast microflora of the skin and respiratory tract of a person in allergic diseases. Diss. Moscow; 2002. (in Russian)
8. Kaneko T., Makimura K., Abe M., Shiota R., Nakamura Y. et al. Revised culture-based system for identification of *Malassezia* species. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45(11): 3737-42.
9. Wu G., Zhao H., Li C., Rajapakse M. P., Wong, W.C., Xu J. et al. Genus-wide comparative genomics of *Malassezia* delineates its phylogeny, physiology, and niche adaptation on human skin. *Front. Genet.* 2015; 11:e1005614.
10. Diongue K., Kébé O., Faye M.D., Samb D., Diallo M.A., Ndiaye M. et al. MALDI-TOF MS identification of *Malassezia* species isolated from patients with pityriasis versicolor at the seafarers' medical service in Dakar, Senegal. *J. Mycol. Med.* 2018; 28(4):590-3.
11. Honnavar P., Ghosh A.K., Paul S., Shankarnarayan S.A., Singh P., Dogra S. et al. Identification of *Malassezia* species by MALDI-TOF MS after expansion of database. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2018; 92(2):118-23.
12. Romald P.N., Kindo A.J., Mahalakshmi V., Umadevi U. Epidemiological pattern of *Malassezia*, its phenotypic identification and antifungal susceptibility profile to azoles by broth microdilution method. *Indian J. Med. Microbiol.* 2020;38(3-4):351-6.
13. Luebberding S, Krueger N, Kerscher M. Skin physiology in men and women: *in vivo* evaluation of 300 people including TEWL, SC hydration, sebum content and skin surface pH. *Int. J. Cosmet. Sci.* 2013; 35(5):477-83.
14. Rodchenko Yu.V. *Malassezia furfur* fungi in newborns in surgical, intensive care and intensive care units: optimization of microbiological diagnostics. Diss. Moscow; 2021. (in Russian)