

## МИКРОБИОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Огиенко О.Н.<sup>1</sup>, Бондаренко А.П.<sup>1</sup>, Катаева Л.В.<sup>2</sup>, Степанова Т.Ф.<sup>2</sup>, Голубева А.О.<sup>1</sup>, Троценко О.Е.<sup>1</sup>

### СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТРЕХ МЕТОДОВ ИДЕНТИФИКАЦИИ ГРИБОВ РОДА *CANDIDA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ПРИ ПНЕВМОНИЯХ (ХРОМОГЕННЫЙ АГАР, БАКАНАЛИЗАТОР VITEK2 СОМПАКТ 30, МАСС-СПЕКТРОМЕТР MICROFLEX)

<sup>1</sup>ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, 680610, г. Хабаровск, Россия;

<sup>2</sup>ФБУН Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии Роспотребнадзора, 625026, г. Тюмень, Россия

**Цель работы** – сравнительный анализ трех методов идентификации грибов рода *Candida*: с помощью хромогенного агара, баканализатора Vitek 2 Compact 30, масс-спектрометра MicroFlex.

**Материал и методы.** Исследовано 106 штаммов дрожжевых грибов, выделенных из респираторных образцов больных пневмонией и аутопсийных проб при болезни с летальным исходом в 2022 – 2023 годах.

**Результаты.** Первоначальная скрининговая идентификация проведена на HiCrome агаре, в результате чего все 106 изолятов разделены на 4 вида *Candida* (*C. albicans* – 54,7%, *Nakaseomyces glabrata* (*C. glabrata*) – 16,0%, *Pichia kudriavzevii* (*C. krusei*) – 12,3%, *C. tropicalis* – 11,3%) и изоляты с сомнительной таксономической принадлежностью (5,7%). Последующая идентификация с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 и масс-спектрометра MicroFlex показала сходимость результатов для *C. albicans*: 93,7 – 96,6%, дополнительно выявлены с помощью двух уточняющих методов *C. dubliniensis* и *Clavispora lusitanae* (*Candida lusitanae*). Сходимость результатов для *N. glabrata* (*C. glabrata*): 41,7 – 41,2%, дополнительно выявлены виды *Kluveromyces marxianus*, *P. kudriavzevii* (ранее известные как *C. kefir* и *C. krusei* соответственно), *C. inconspicua*. Для *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) сходимость результатов: 55,6 – 69,2%, дополнительно выявлены виды *C. tropicalis*, *K. marxianus* (*C. kefir*), *C. dubliniensis*, *C. inconspicua*. Для *C. tropicalis* сходимость результатов равна 100%.

**Выводы.** Скрининговый метод идентификации грибов рода *Candida* на хромогенном агаре наиболее надежен для *C. albicans* и *C. tropicalis*. В уточняющей идентификации нуждаются изоляты *N. glabrata* (*C. glabrata*) и *P. kudriavzevii* (*C. krusei*). Дополнительное использование баканализатора Vitek 2 Compact 30 и масс-спектрометра MicroFlex позволило в 14,1% случаев выявить участие грибов *Candida* non-*albicans* в развитии пневмонии. В 1,9% случаев выявлены грибы, не относящиеся к роду *Candida*.

**Ключевые слова:** дрожжевые грибы; идентификация; хромогенный агар; баканализатор Vitek 2; MALDI-TOF масс-спектрометрия

**Для цитирования:** Огиенко О.Н., Бондаренко А.П., Катаева Л.В., Степанова Т.Ф., Голубева А.О., Троценко О.Е. Сравнительный анализ трех методов идентификации грибов рода *Candida*, выделенных при пневмониях (хромогенный агар, баканализатор Vitek2 Compact 30, масс-спектрометр MicroFlex). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (11): 617-626. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-11-617-626>

**Для корреспонденции:** Огиенко Ольга Николаевна, мл. науч. сотр. лаборатории бактериальных инфекций; e-mail: [baclab\\_hniiem@bk.ru](mailto:baclab_hniiem@bk.ru)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 16.05.2024  
Принята к печати 20.09.2024  
Опубликовано 25.10.2024

Ogienko O.N.<sup>1</sup>, Bondarenko A.P.<sup>1</sup>, Kataeva L.V.<sup>2</sup>, Stepanova T.F.<sup>2</sup>, Golubeva A.O.<sup>1</sup>, Trotsenko O.E.<sup>1</sup>

### COMPARATIVE ANALYSIS OF THREE METHODS FOR IDENTIFYING *CANDIDA* YEAST ISOLATED FROM PNEUMONIA (CHROMOGENIC AGAR, VITEK2 COMPACT 30 BACTERIAL ANALYZER, MICROFLEX MASS SPECTROMETER)

<sup>1</sup>FBUN Khabarovsk Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), 680610, Khabarovsk city, Russia;

<sup>2</sup>FBUN Tyumen Research Institute of Regional Infectious Pathology of the Federal Service for Surveillance on Consumers Rights Protection and Human Wellbeing (Rosпотребнадзор), 625026, Tyumen city, Russia

**The purpose of the work** is a comparative analysis of three methods for identifying fungi of the genus *Candida*: using chromogenic agar, a Vitek 2 Compact 30 bacterial analyzer, and a MicroFlex mass spectrometer.

**Material and methods.** We studied 106 strains of yeast fungi isolated from respiratory samples of patients with pneumonia and autopsy samples from a fatal disease in 2022–2023. **Results.** Initial screening identification was carried out on HiCrome agar, as a result of which all 106 isolates were divided into 4 *Candida* species (*C. albicans* - 54.7%, *Nakaseomyces glabrata* (*C. glabrata*) - 16.0%, *Pichia kudriavzevii* (*C. krusei*) - 12.3%, *C. tropicalis* – 11.3%) and isolates with questionable taxonomic affiliation (5.7%).

Subsequent identification using Vitek 2 Compact 30 bacterial analyzer and MicroFlex mass spectrometer showed the convergence of results for *C. albicans*: 93.7 – 96.6%; *C. dubliniensis* and *Clavispora lusitaniae* (*Candida lusitaniae*) were additionally identified using two clarifying methods. Convergence of results for *N. glabrata* (*C. glabrata*): 41.7 – 41.2%, additionally identified species were *Kluyveromyces marxianus*, *P. kudriavzevii* (previously known as *C. kefyri* and *C. krusei*, respectively), *C. inconspicua*. For *P. kudriavzevii* (*C. krusei*), the convergence of results: 55.6 – 69.2%, additionally identified species were *C. tropicalis*, *K. marxianus* (*C. kefyri*), *C. dubliniensis*, *C. inconspicua*. For *C. tropicalis*, the convergence of results is 100%.

**Conclusions.** The screening method for identifying fungi of the genus *Candida* on chromogenic agar is most reliable for *C. albicans* and *C. tropicalis*. Isolates of *N. glabrata* (*C. glabrata*) and *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) require further identification. The additional use of Vitek 2 Compact 30 bacterial analyzer and MicroFlex mass spectrometer made it possible to identify the involvement of *Candida non-albicans* fungi in the development of pneumonia in 14.1% of cases. In 1.9% of cases, fungi not belonging to the genus *Candida* were detected.

**Key words:** yeast fungi; identification; chromogenic agar; bacterial analyzer Vitek 2; MALDI-TOF mass spectrometry

**For citation:** Ogienko O.N., Bondarenko A.P., Kataeva L.V., Stepanova T.F., Golubeva A.O., Trotsenko O.E. Comparative analysis of three methods for identifying *Candida* yeast isolated from pneumonia (chromogenic agar, Vitek2 Compact 30 bacterial analyzer, Microflex mass spectrometer). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (11): 617-626 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-11-617-626>

**For correspondence:** Ogienko O.N., junior researcher, laboratory of bacterial infections, FBUN Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology; e-mail: [baclab\\_hniiem@bk.ru](mailto:baclab_hniiem@bk.ru)

**Information about authors:**

Ogienko O.N., <https://orcid.org/0000-0003-3872-0006>;

Bondarenko A.P., <https://orcid.org/0000-0002-9197-8519>;

Kataeva L.V., <https://orcid.org/0000-0001-9966-8454>;

Stepanova T.F., <https://orcid.org/0000-0002-6289-6274>;

Golubeva A.O., <https://orcid.org/0000-0002-7598-7343>;

Trotsenko O.E., <https://orcid.org/0000-0003-3050-4472>.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

Received 16.05.2024

Accepted 20.09.2024

Published 25.10.2024

**Введение.** В последние годы отмечается тенденция к возрастанию участия грибов в развитии опасных для жизни инфекций, проявляющихся чаще в форме грибковых коинфекций и суперинфекций.

В современный период установлен рост случаев микотического поражения легких, которое исследователи связывают с пандемией новой коронавирусной инфекции COVID-19 [1, 2]. При резком снижении иммунного статуса организма на фоне вирусной патологии грибы колонизируют слизистые оболочки и различные органы человека. При повторном обследовании коронапозитивных пациентов, после их пребывания в стационаре, выявлена тенденция к увеличению количества и интенсивности проявления кандидозных поражений [3, 4].

Причины, по которым в течение последних лет грибковые инфекции наблюдаются все чаще, окончательно не ясны. Известно, что факторами, предрасполагающими к развитию микоза, являются антибиотикотерапия, угнетение иммунитета в результате агрессивной цитостатической и адренкортикостероидной терапии, наличие хронических заболеваний, иммунодепрессивные состояния (СПИД), онкогематологические болезни, гипергликемия, ацидоз, парентеральное питание, повреждение анатомических барьеров – кожи, слизистых, пребывание в отделениях интенсивной терапии и т.д. [5].

В настоящее время более 100 видов дрожжевых грибов, выделенных из локусов организма человека, способны участвовать в патологических процессах с вовлечением различных систем и органов [6].

*Candida albicans* остается основным возбудителем микозов. В то же время, вследствие некорректного и профилактического применения противогрибковых препаратов, изменился видовой состав возбудителей микозов, заметно увеличивается роль других, менее распространенных оппортунистических дрожжевых грибов, в том числе *Candida non-albicans* (*C. parapsilosis*, *Clavispora lusitaniae* – ранее *Candida lusitaniae*), а также *Cryptococcus*, *Pichia*, *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Saccharomyces* [5, 7 – 10].

Точная и быстрая идентификация дрожжей является залогом успеха терапии: зная видовую принадлежность возбудителя и его видоспецифическую и штаммовую чувствительность к противогрибковым препаратам, можно своевременно корректировать лечение. Так, в отделениях интенсивной терапии при развитии инфекций кровотока, ассоциированных с *Candida* (кандидемия), задержка этиотропной терапии на каждые 12 часов увеличивает показатели летальности в 3 раза. Удлинение периода идентификации возбудителей кандидемии и фунгемии также ведет к увеличению летальных исходов [7]. Поэтому оперативное слежение за изменениями в структуре возбудителей микозов, формированием их резистентности к антимикотическим препаратам (АМП), ранняя идентификация возбудителя очень важны.

Классическая фенотипическая идентификация и коммерческие биохимические тест-системы (например, Auxacolor II, BioRad, Франция) способны устанавливать видовую принадлежность большинства дрожжевых

грибов с определенной степенью достоверности, позволяют сократить сроки идентификации. В настоящее время выпускаются коммерческие наборы, пригодные для идентификации отдельных или нескольких видов дрожжевых грибов, чаще иных, чем *C. albicans*. Использование этих систем считается нетрудоемким, удобным и требует достаточно мало времени. Следует заметить, что с помощью этих систем пока не всегда можно идентифицировать все виды тестируемых дрожжевых грибов, а лишь только наиболее распространенные из них.

К наиболее новым скрининговым диагностическим приемам, получившим широкое применение, относятся так называемые хромогенные среды. Основным принципом конструирования хромогенных сред заключается во введении в питательную среду хромогенных или флуоресцирующих гексозамидных субстратов, облегчающих дифференциацию грибов по цвету колоний уже при первичном их выделении. В лабораторной практике используются хромогенные среды разных производителей: HiCrome (HiMedia Laboratories, Индия), Candida Chromogenic Agar (Laboratorios Conda, Испания), ChromID Candida (Biomerieux, Франция), CHROMagar™ Candida Plus (CHROMagar Candida, Франция), Агар хромогенный для Candida (ООО «Средофф», Россия) и др. Однако, несмотря на несомненные достоинства использования хромогенных сред, иногда этот метод дает ошибочный результат, особенно, когда это касается видов, отсутствующих в базах данных [11, 12].

Для установления точной видовой принадлежности грибов также находят применение современные биохимические методы с использованием автоматического баканализатора Vitek 2 (Biomerieux, Франция) и диагностических карт для идентификации большинства клинически значимых дрожжей и дрожжеподобных микроорганизмов на данном анализаторе (YST – Systems for the automated identification of most clinically significant yeasts and yeast-like organisms). Идентификация на карте YST основана на стандартных биохимических методах – учете ферментативной активности и утилизации углерода и азота (флуоресцентные тесты) на 46 субстратах. Перед загрузкой необходимо подготовить гомогенную суспензию из суточной культуры. Система автоматически заполняет, запечатывает и переносит карты в инкубатор. Учет результата основан на колориметрическом методе. Каждые 15 минут карты автоматически считываются с помощью трех различных длин волн для обеспечения точности. Каждый профиль интерпретируется по определенному алгоритму. После 5-6 часов инкубации при 35 °C метаболические профили сравниваются с имеющейся базой данных системы. Если полученному биохимическому профилю не соответствует ни один патоген из имеющихся в базе данных, система выдает список вероятных микроорганизмов или сообщение о невозможности идентификации. В таком случае, лабораторный отчет содержит перечень дополнительных тестов, необходимых для окончательной идентификации. Виды, входящие в составной таксон, имеют одинаковый биохимический профиль на картах YST, для их дифференцировки можно использовать дополнительные тесты. Время получения окончательного результата – около 6 часов.

Для преодоления неточностей и ограниченных возможностей классических и других фенотипических методов идентификации применяются молекулярно-генетиче-

ские методы, обладающие высокой достоверностью.

ПЦР-диагностика относится к методам молекулярно-генетической диагностики, позволяет обнаруживать фрагменты ДНК грибов даже в случаях с отрицательным посевом. Как и другие молекулярно-генетические методы, ПЦР рассчитана на определение видовой принадлежности. Однако ее не рассматривают в качестве метода выбора в силу ограниченной доступности, значительного времени пробоподготовки, дорогостоящих реагентов и необходимости особой квалификации персонала [13, 14].

В последнее десятилетие в практику бактериологических лабораторий внедряется метод матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с использованием времяпролетной масс-спектрометрии – MALDI-TOF MS (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry), который позиционируется как быстрая, надежная и экономически выгодная альтернатива перечисленным выше методам идентификации [15 - 18]. Метод основан на экстракции пептидов и белков из клеток гриба и масс-спектрометрии белков исследуемого штамма с последующим сравнением полученного спектра с эталонными спектрами в базе MALDI biotyper (справочными данными). Принадлежность микроорганизма к определенному роду или виду проводится на основании степени соответствия сравниваемых масс-спектров, что оценивается по шкале Score (Score Value): хорошая видовая идентификация оценивается от 3 до 2-х баллов, значения от 1,99 до 1,70 соответствует идентификации до рода [20]. Процедура может быть выполнена на масс-спектрометрах различных производителей: Andromas (Andromas SAS, Париж, Франция), Bruker Biotyper (Bruker Daltonics, Бремен, Германия) и Vitek MS (Biomerieux, Marcy L Etoile, Франция). Время идентификации с момента загрузки масс-спектрометра составляет около 6 минут [20, 21].

Совершенствование лабораторной базы, внедрение новых технологий позволяют улучшать качество диагностики, сокращать время проведения исследований. В связи с широким применением молекулярных технологий в таксономии, виды грибов претерпели и продолжают претерпевать значительные номенклатурные изменения, устраняющие прошлые таксономические ошибки, основанные на фенотипической классификации. Это привело к изменениям наименований важных с медицинской точки зрения видов грибов рода *Candida*. Так, названия распространенных видов *Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitaniae* и *Candida rugosa* были заменены на *Pichia kudriavzevii*, *Nakaseomyces glabrata*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Clavispora lusitaniae* и *Diutina rugosa* соответственно. Новые названия должны быть обновлены в лабораторной информационной системе и руководствах, как только это будет возможно [22, 23].

Таким образом, видовая идентификация грибов является важной составляющей диагностики заболеваний и определяет стратегию лечения больных. Для точной идентификации грибов в практику лабораторных исследований введены баканализаторы, масс-спектрометрия. Молекулярные методы также являются перспективными для идентификации видов *Candida*

в клинических лабораториях. Но в настоящее время в рутинной лабораторной практике для видовой идентификации грибов по-прежнему широко используются хромогенные *Candida*-агары.

**Цель исследования** – сравнение трех методов определения видовой принадлежности грибов рода *Candida*: с помощью хромогенного агара, путем использования баканализатора Vitek 2 и с помощью масс-спектрометра.

**Материал и методы.** Сравнительное исследование проведено для 106 штаммов грибов рода *Candida*, в том числе изолятов, выделенных из респираторных образцов (мазки, мокрота) от больных, госпитализированных в лечебные учреждения Хабаровского края (88 штаммов), а также из аутопсийных проб (ткань легкого) при летальных исходах болезни в 2022 – 2023 годах (18 изолятов).

Выделение грибов проводили классическим бактериологическим методом. Материал засеивали на среду Сабуро (Питательная среда №2 ГРМ, ФБУН ГНЦ ПМБ Оболенск, Россия) с добавлением гентамицина и инкубировали при 37 °С в течение 18 (72) часов.

Изолированные культуры изучали традиционными микробиологическими методами (учет морфологии колоний на среде Сабуро и световая микроскопия окрашенных по Граму мазков из выросших колоний). Далее колонии пересевали на хромогенный агар для видовой дифференциации грибов рода *Candida* (HiCrome Candida agar, HiMedia Laboratories Pvt. Limited, Индия) и инкубировали при 30-37 °С в течение 24 (48) часов. Видовая принадлежность оценивалась согласно рекомендациям производителя: *Candida albicans* – гладкие с четким краем светло-зеленые колонии, *Nakaseomyces glabrata* (*Candida glabrata*) – колонии от кремового до белого цветов, *Pichia kudriavzevii* (*Candida krusei*) – расплывчатые колонии пурпурного цвета, *Candida tropicalis* – выпуклые синие или синие с металлическим оттенком колонии.

Изоляты грибов разных видов, выделенные в 2022 – 2023 гг., сохраняли на 0,6% полужидком агаре под слоем вазелинового масла.

Для более точной идентификации часть штаммов (78 изолятов из 106) идентифицирована с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 (Biomérieux, Marcy-l'Étoile, Франция) с картами ID YST (автоматическая идентификация большинства клинически значимых дрожжей и дрожжеподобных микроорганизмов). Для корректной работы карты очень важно подготовить гомогенную суспензию из суточной исследуемой культуры, плотность которой должна соответствовать показателям 1,8 – 2,2 по МакФарланду (согласно инструкции).

На следующем этапе сравнительного исследования все 106 штаммов грибов идентифицировали с помощью масс-спектрометра MicroFlex (Bruker Daltonik GmbH, Германия) на базе ФБУН «Тюменский научно-исследовательский институт краевой инфекционной патологии» Роспотребнадзора (ФБУН ТНИИКИП Роспотребнадзора).

Процедура идентификации возбудителей микозов методом MALDI-TOF MS состоит из нескольких этапов: получения чистой культуры микромицета, подготовки проб, нанесения образца на MALDI-мишень, проведения исследования и анализа полученных спек-

тров протеинов грибковых клеток [20].

Пробоподготовка (лизис клеток и экстракция кислотоустойчивых протеинов), имеющая целью выделение и концентрацию диагностически значимых компонентов, проводилась с использованием 70% муравьиной кислоты и ацетонитрила. По наблюдениям А.С. Анисимовой и др. [1, 2], именно этот прием пробоподготовки является наиболее эффективным.

Для получения наиболее точных диагностических результатов масс-спектрометрии очень важна матрица (специальный реагент), которая обеспечивает получение специфических для анализа спектральных характеристик. Для анализа белков в наших исследованиях применяли матричный раствор  $\alpha$ -циано-4-гидроксикоричной кислоты. Исследование выполнялось в соответствии с нормативным документом (МР 4.2.0089–14)<sup>1</sup>.

Статистическая обработка материала выполнена с помощью сайта <https://medstatistic.ru/>. Анализ результатов проводился с использованием непараметрических методов статистической обработки (критерий  $\chi^2$ , в том числе с поправкой Йейтса, и точный критерий Фишера). Для получения данных рассчитывался доверительный интервал (95% ДИ). Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Для сравнения методов определения видовой принадлежности грибов изоляты первоначально были протестированы на хромогенном агаре, затем – с помощью баканализатора Vitek2 Compact 30 (YST). Далее, для подтверждения, либо для уточнения спорных видовых обозначений все изоляты были проверены на масс-спектрометре MicroFlex.

По результатам теста на хромогенном агаре все 106 штаммов были разделены на 5 групп по цвету и морфологии колоний: *C. albicans* – 58 (54,7%), *N. glabrata* (*C. glabrata*) – 17 (16,0%), *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) – 13,0 (12,3%), *C. tropicalis* – 12 (11,3%), *unidentified* – 6 (5,7%).

Для сравнительной оценки двух наиболее распространенных в диагностической практике методов определения видовой принадлежности грибов 78 изолятов из 106 были протестированы с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 (табл. 1).

Из табл. 1 следует, что для *C. albicans* совпадение с первоначальной меткой отмечено для 45 штаммов – 93,7% случаев. Оставшиеся 3 штамма получили новое видовое обозначение: *C. dubliniensis*, *Clavispora lusitaniae* (панее *C. lusitaniae*).

Из 12 штаммов *N. glabrata* (*C. glabrata*) совпадение было получено в 5 случаях, что составило 41,7%. Новые наименования получили 7 штаммов: *P. kudriavzevii* (*C. krusei*), *K. marxianus* (*C. kefir*) и штаммы (2 изолята *Papiliotrema laurentii*, ранее этот вид был известен как *Cryptococcus laurentii*), не относящиеся к роду *Candida*.

При испытании 9 штаммов *C. krusei* (*P. kudriavzevii*) совпадения получены для 5 штаммов – 55,6% случаев, дополнительно выявлены *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. parapsilosis*, *K. marxianus* (*C. kefir*).

<sup>1</sup>Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) для индикации и идентификации возбудителей I–II групп патогенности: Методические рекомендации. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2015.

Таблица 1

Сравнительный анализ двух методов видовой идентификации грибов рода *Candida* (хромогенный агар и баканализатор Vitek 2 Compact 30) (n=78)

Хромогенный агар		Баканализатор Vitek 2 Compact 30 (YST)																	
Виды грибов	Число штаммов	<i>C. albicans</i>		<i>N. glabrata (C. glabrata)</i>		<i>P. kudriavzevii (C. krusei)</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. dubliniensis</i>		<i>Clavispora lusitaniae (C. lusitaniae)</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>K. marxianus (C. kefyr)</i>		Прочие *	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
<i>C. albicans</i>	48	45	93,7 [86,8-99,4]	-	-	-	-	-	-	2	4,2 [0,4-11,6]	1	2,1	-	-	-	-	-	-
<i>N. glabrata (C. glabrata)</i>	12	-	-	5	41,7 [16,6-69,4]	4	33,3 [10,6-61,2]	-	-	-	-	-	-	-	-	1	8,3	2	16,7 [1,9-41,9]
<i>P. kudriavzevii (C. krusei)</i>	9	-	-	-	-	5	55,6 [24,2-84,6]	1	11,1	1	11,1	-	-	1	11,1	1	11,1	-	-
<i>C. tropicalis</i>	7	-	-	-	-	-	-	7	100 [86,9-100]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Сомнит. результат	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	50,0	-	-	-	-	1	50,0
<b>Всего:</b>	<b>78</b>	<b>45</b>		<b>5</b>		<b>9</b>		<b>8</b>		<b>3</b>		<b>2</b>		<b>1</b>		<b>2</b>		<b>3</b>	

**Примечание.** Здесь и в табл. 2, 3: n- количество исследованных штаммов. В скобках указаны устаревшие (предыдущие) названия. В квадратных скобках указан 95% доверительный интервал.

\* - Прочие – род *Cryptococcus*, род *Geotrichum*.

Из 7 штаммов *C. tropicalis* подтверждение получено для всех 7 изолятов – 100%.

Два штамма, протестированные на хромогенном агаре, дали сомнительную окраску. По испытаниям тех же штаммов на баканализаторе Vitek 2 Compact 30 (YST) установлено, что один штамм принадле-

жит *Clavispora lusitaniae* (ранее известный как *C. lusitaniae*), второй – не относится к роду *Candida* – *Geotrichum klebahnii*.

В табл. 2 представлены результаты сравнительной идентификации грибов на хромогенном агаре и методом масс-спектрометрии.

Таблица 2

Сравнительный анализ двух методов видовой идентификации грибов рода *Candida* (хромогенный агар и масс-спектрометр MicroFlex) (N=106)

Хромогенный агар		Масс-спектрометр MicroFlex																	
Виды грибов	Число штаммов	<i>C. albicans</i>		<i>N. glabrata (C. glabrata)</i>		<i>P. kudriavzevii (C. krusei)</i>		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. dubliniensis</i>		<i>Clavispora lusitaniae (C. lusitaniae)</i>		<i>C. inconspicua</i>		<i>K. marxianus (C. kefyr)</i>		Прочие *	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
<i>C. albicans</i>	58	54,7	56	96,6 [46,5-62,3]	-	-	-	-	-	2	3,4 [0,3-9,5]	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. glabrata (C. glabrata)</i>	17	16,0	-	7	41,2 [19,6-64,7]	-	-	-	-	-	-	-	7	41,2 [19,6-64,7]	3	17,6 [3,8-38,6]	-	-	
<i>P. kudriavzevii (C. krusei)</i>	13	12,3	-	-	-	9	69,2 [42,6-90,3]	2	15,4 [1,7-39,1]	-	-	-	-	1	7,7	1	7,7	-	-
<i>C. tropicalis</i>	12	11,3	-	-	-	-	-	12	100 [92,2-100]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Сомнительный результат	6	5,7	-	-	-	-	-	3	50,0 [14,1-85,9]	-	-	1	16,7	-	-	-	-	2	33,3 [4,6-72,2]
<b>Всего:</b>	<b>106</b>		<b>56</b>		<b>7</b>		<b>9</b>		<b>17</b>		<b>2</b>		<b>1</b>		<b>8</b>		<b>4</b>		<b>2</b>

**Примечание.** \* - Прочие – род *Trichosporon*, род *Geotrichum*;

Первоначально протестированные на хромогенном агаре 106 штаммов были разделены на 4 вида: 58 штаммов - *C. albicans*, 17 – *N. glabrata (C. glabrata)*, 13 – *P. kudriavzevii (C. krusei)*, 12 – *C. tropicalis*. Шесть штам-

мов дали сомнительную окраску.

По испытаниям тех же штаммов на масс-спектрометре MicroFlex установлено, что для *C. albicans* совпадение с первоначальной меткой отме-

чено для 56 штаммов – 96,6% случаев. Оставшиеся 2 штамма получили новое видовое обозначение (*C. dubliniensis*).

Из 17 штаммов *N. glabrata* (*C. glabrata*) совпадение было получено лишь в 7 случаях, что составило 41,2%. Новые наименования получили 10 штаммов: *C. inconspicua*, *K. marxianus* (*C. kefyri*).

При испытании 13 штаммов *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) совпадения получены для 9 штаммов – 69,2% случаев, дополнительно выявлены *C. tropicalis*, *C. inconspicua*, *K. marxianus* (*C. kefyri*).

Из 12 штаммов *C. tropicalis* подтверждение получено для 12 -100%.

Совершенно очевидно, что применение хромогенного агара не обеспечивает надежную видовую идентификацию, а современные методы исследования представляют новые возможности для диагностики и мониторинга грибковой флоры.

В табл. 3 приведены результаты сравнительной идентификации грибов двумя современными автоматическими методами: с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 и масс-спектрометра MicroFlex.

Таблица 3

Сравнение видовой идентификации дрожжевых грибов с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 и масс-спектрометра MicroFlex (n=78)

Баканализатор Vitek 2 Compact 30		Масс-спектрометр MicroFlex																	
Виды грибов	Число штаммов	<i>C. albicans</i>		<i>N. glabrata</i> ( <i>C. glabrata</i> )		<i>P. kudriavzevii</i> ( <i>C. krusei</i> )		<i>C. tropicalis</i>		<i>C. dubliniensis</i>		<i>Clavispora lusitanae</i> ( <i>C. lusitanae</i> )		<i>C. inconspicua</i>		<i>K. marxianus</i> ( <i>C. kefyri</i> )		Прочие*	
		Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
<i>C. albicans</i>	45	45	100 [97,9-100]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>N. glabrata</i> ( <i>C. glabrata</i> )	5	-	-	4	80,0 [38,5-99,9]	-	-	-	-	-	-	-	1	20,0	-	-	-	-	
<i>P. kudriavzevii</i> ( <i>C. krusei</i> )	9	-	-	-	-	4	44,4 [15,4-75,8]	-	-	-	-	-	-	5	55,6 [24,2-84,6]	-	-	-	
<i>C. tropicalis</i>	8	-	-	-	-	-	-	8	100 [88,5-100]	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>C. dubliniensis</i>	3	-	-	-	-	1	33,3	-	-	2	66,7 [14,4-99,8]	-	-	-	-	-	-	-	
<i>K. marxianus</i> ( <i>C. kefyri</i> )	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	100 [59,2-100]	-	
<i>Clavispora lusitanae</i> ( <i>C. lusitanae</i> )	2	1	50,0	-	-	-	-	-	-	-	-	1	50,0	-	-	-	-	-	
<i>C. parapsilosis</i>	1	-	-	-	-	-	-	1	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<i>P. laurentii</i> ( <i>C. laurentii</i> )	2	-	-	1	50,0	-	-	-	-	-	-	1	50,0	-	-	-	-	-	
<i>Geotrichum klebahnii</i>	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	100
Всего:	78	46		5		5		9		2		2		6		2		1	

Примечание. \* - Прочие – род *Geotrichum*.

Первоначально протестированные с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 штаммы (78 изолятов) были разделены на 10 видов: 45 штаммов - *C. albicans*, 5 – *N. glabrata* (*C. glabrata*), 9 – *P. kudriavzevii* (*C. krusei*), 8 – *C. tropicalis*, 3 – *C. dubliniensis*, 2 – *K. marxianus* (*C. kefyri*), 2 – *Clavispora lusitanae* (*C. lusitanae*), 1 – *C. parapsilosis*, 2 – *P. laurentii* (*C. laurentii*), 1 – *Geotrichum klebahnii*.

При испытании тех же штаммов на масс-спектрометре MicroFlex установлено, что совпадение с первоначальной меткой отмечено для всех 45 штаммов *C. albicans* – 100% случаев, для всех 8 штаммов *C. tropicalis* – 100% и 2 штаммов *K. marxianus* (*C. kefyri*) – 100%.

Из 5 штаммов *N. glabrata* (*C. glabrata*) совпадение было получено в 4 случаях, что составило 80,0%. Новое наименование получил 1 штамм (*C. inconspicua*).

При испытании 9 штаммов *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) совпадения получены для 4 штаммов – 44,4% случаев, дополнительно выявлены *C. inconspicua*.

Из 3-х штаммов *C. dubliniensis* совпадение было получено в 2 случаях, что составило 66,7%. Новое наименование получил 1 штамм (*P. kudriavzevii*, ранее известный как *C. krusei*).

Из 2-х штаммов *C. lusitanae* (*Clavispora lusitanae*) подтверждение получено для 1 штамма. Второй штамм

определился как *C. albicans*.

Штамм *C. parapsilosis*, определенный на баканализаторе Vitek 2 Compact 30, подтверждение не получил. Масс-спектрометр MicroFlex определил его как *C. tropicalis*.

Два штамма *P. laurentii* (*C. laurentii*) на масс-спектрометре оказались *C. inconspicua* и *N. glabrata* (*C. glabrata*).

Один штамм *Geotrichum klebahnii* после определения на масс-спектрометре получил новое видовое обозначение – *Geotrichum silvicola*.

Таким образом, при сравнительной идентификации 10 видов грибов, выполненной сначала с помо-

щью баканализатора Vitek 2 Compact 30, а затем масс-спектрометра MicroFlex, полное совпадение результатов нами отмечено при тестировании только трех видов грибов (*C. albicans*, *C. tropicalis*, *K. marxianus* (*C. kefyri*)).

Неполное подтверждение результатов (от 44,4% до 80%) установлено для грибов *N. glabrata* (*C. glabrata*), *P. kudriavzevii* (*C. krusei*), *C. dubliniensis*, *Clavispora lusitaniae* (*C. lusitaniae*), *C. parapsilosis*, а также для микромицетов, не относящихся к роду *Candida* (*Cryptococcus*, *Geotrichum*).

Результаты сравнительных испытаний трех методов идентификации грибов отражены в табл. 4.

Таблица 4

Сравнительная оценка трех методов идентификации грибов

Виды грибов	Хромогенный агар (n=100)		Баканализатор Vitek 2 Compact 30 (n=78)		Масс-спектрометр MicroFlex (n=106)	
	Абс.	%	Сходимость результатов, %	Дополнительно идентифицированы	Сходимость результатов, %	Дополнительно идентифицированы
<i>C. albicans</i>	58	54,7	93,7	<i>C. dubliniensis</i> <i>Clavispora lusitaniae</i> ( <i>C. lusitaniae</i> )	96,6	<i>C. dubliniensis</i>
<i>N. glabrata</i> ( <i>C. glabrata</i> )	17	16,0	41,7	<i>P. kudriavzevii</i> ( <i>C. krusei</i> ) <i>K. marxianus</i> ( <i>C. kefyri</i> ) <i>Cr. laurentii</i> ( <i>P. laurentii</i> )	41,2	<i>C. inconspicua</i> <i>K. marxianus</i> ( <i>C. kefyri</i> )
<i>P. kudriavzevii</i> ( <i>C. krusei</i> )	13	12,3	55,6	<i>C. tropicalis</i> <i>K. marxianus</i> ( <i>C. kefyri</i> ) <i>C. dubliniensis</i> <i>C. parapsilosis</i>	69,2	<i>C. tropicalis</i> <i>K. marxianus</i> ( <i>C. kefyri</i> ) <i>C. inconspicua</i>
<i>C. tropicalis</i>	12	11,3	100	-	100	-
Сомнительный результат	6	5,7		<i>Clavispora lusitaniae</i> ( <i>C. lusitaniae</i> ) <i>G. klebahnii</i>		<i>Clavispora lusitaniae</i> ( <i>C. lusitaniae</i> ) <i>C. tropicalis</i> <i>G. silvicola</i> <i>T. coremiiforme</i>
<b>Всего:</b>	<b>106</b>	<b>100</b>				

Примечание. В скобках указаны устаревшие (предыдущее) названия.

Определение видовой принадлежности грибов тремя методами показало, что совпадение результатов идентификации разных видов достигает 41,2 – 100%.

При оценке идентификации видов грибов на хромогенном агаре, в сравнении с другими методами, сходимость результатов наиболее высока для грибов синей цветовой гаммы (*C. tropicalis* 100%), довольно высока для грибов светло-зеленого цвета – *C. albicans* (93,7 – 96,6%). Наиболее низкие показатели сходимости установлены для грибов кремовой и пурпурной цветовой гаммы – *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) (55,6 – 69,2%) и *N. glabrata* (*C. glabrata*) (41,2 – 41,7%).

**Обсуждение.** Исследовательские работы по сравнительной оценке методов идентификации дрожжевых грибов проводились у нас в стране и за рубежом.

Так, по данным В.В. Муравьевой и соавт. [6] при тестировании методом MALDI-TOF 2304 изолятов дрожжевых грибов, выделенных при кандидозном вульвовагините, определены 19 видов дрожжевых грибов, относящихся к четырем родам. Затем 1294 из 2304 изолятов (1009 *C. albicans* и 286 *Candida non-albicans* видов) для сравнения были продублированы в баканализаторе Vitek 2 Compact 30 (биохимические панели YST).

Совпадения отмечены у всех *C. albicans* и у 97,5% штаммов *Candida non-albicans*: 7 штаммов четырех редких видов грибов (*Nakaseomyces nivariensis* – ранее *Candida nivariensis*, *Candida lambica*, *Debaryomyces hansenii* – ранее *Candida famata*, *Pichia fabianii*) не получили подтверждение в баканализаторе Vitek 2 Compact 30. Штаммы *Nakaseomyces nivariensis* (ранее *Candida nivariensis*) отсутствовали в базе данных Vitek 2 Compact 30. Один штамм *Candida lambica* не удалось дифференцировать от видов *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) и *Candida norvegica*. Штамм *Pichia fabianii* определен как *Candida utilis* с оценкой приемлемой идентификации. Для уточнения видовой принадлежности *Pichia fabianii* потребовалось секвенирование гена 18s рРНК.

Приведенные исследования позволили прийти к выводу, что биохимический метод идентификации (с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30) показал высокую достоверность (98,6%). Но длительность исследований (до 48 часов), ограниченность базы данных и высокая стоимость расходных материалов снижают ценность этого метода идентификации. Существенные преимущества имеет метод масс-спектрометрии: быстрота выполнения, низкая стоимость реагентов и гиб-

кая система пополнения базы данных.

В другом исследовании, проведенном А.В. Веселовым [23], сравнительная идентификация 71 штамма дрожжевых грибов методом масс-спектрометрии (MALDI-TOF, Microflex LT (Biotyper), «Bruker Daltonics», Германия) и с помощью автоматического биохимического анализатора Microscan Walk Away («Siemens» WA) показала следующее. Биохимическим методом из 71 штамма идентифицированы 69 изолятов (97,2%), относящихся к 12 видам. Масс-спектрометрическим методом идентифицирован 71 изолят (100%), относящийся к 11 видам. При этом идентификация дрожжевых грибов двумя методами имела расхождение в 15 случаях из 71 (21,1%). Методом масс-спектрометрии не подтверждено наличие грибов вида *Meyerozyma guilliermondii* – ранее *Candida guilliermondii*, *Debaryomyces hansenii* – ранее *Candida famata*, *B. capitatus*, *P. wickerhamii*, определенных WA. Расхождения выявлены при идентификации практически всех 12 видов грибов. Авторы приходят к выводу, что традиционные методы идентификации грибов не соответствуют современным требованиям клинической микробиологии.

В наших испытаниях первоначальная скрининговая идентификация 106 штаммов грибов, выделенных из респираторных образцов больных пневмонией и аутопсийных проб при болезни с летальным исходом в 2022 – 2023 гг., проведена на HiCrome агаре. Все 106 изолятов разделены на 4 вида (*C. albicans* – 54,7%, *N. glabrata* (*C. glabrata*) – 16,0%, *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) – 12,3%, *C. tropicalis* – 11,3%) и «неопределяемые» изоляты с сомнительной таксономической принадлежностью (5,7%).

Последующая идентификация с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 и масс-спектрометра MicroFlex показала сходимость результата для *C. albicans* – 93,7 – 96,6%, дополнительно выявлены с помощью двух уточняющих методов – *C. dubliniensis*, *Clavispora lusitaniae* (*C. lusitaniae*). Для *N. glabrata* (*C. glabrata*) сходимость результатов – 41,7 – 41,2%, дополнительно выявлены виды – *K. marxianus* (*C. kefir*), *P. kudriavzevii* (*C. krusei*), *C. inconspicua*. Сходимость результатов для *P. kudriavzevii* (*C. krusei*) – 55,6 – 69,2%, дополнительно выявлены виды – *C. tropicalis*, *K. marxianus* (*C. kefir*), *C. dubliniensis*, *C. inconspicua*. Для *C. tropicalis* сходимость результатов равна 100%.

В данном исследовании установлено, что скрининговый метод идентификации грибов рода *Candida* с помощью хромогенного агара наиболее надежен для *C. albicans* и *C. tropicalis*. В уточняющей идентификации нуждаются изоляты *N. glabrata* (*C. glabrata*) и *P. kudriavzevii* (*C. krusei*).

В иностранной и отечественной научной литературе приводятся материалы исследований по обоснованию роли редких видов *Candida* в развитии различных патологических состояний.

Так, в обзоре S.C. Chen и соавт. [8] изложены эпидемиологические, клинические и микробиологические особенности 57 случаев кандидемии в Австралии, вызванной UCS (*Uncommon Candida Species*). Этот термин включал в себя другие виды грибов, кроме *C. albicans*, *N. glabrata* (*C. glabrata*), *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *P. kudriavzevii* (*C. krusei*). Наиболее распространенный возбудитель в этиологии 57 случаев кандидемии – *C.*

*dubliniensis* (39%). Далее следовали *M. guilliermondii* (*C. guilliermondii*) (19%), *Clavispora lusitaniae* (*C. lusitaniae*) (12%), *K. marxianus* (*C. kefir*) (9%). Редкие виды *Candida* эпидемиологически были связаны с отдельными лечебными учреждениями, конкретными группами пациентов, чаще амбулаторными. При этом наблюдались летальные исходы у стационарных пациентов. Приведенные материалы убеждают в том, что точная видовая идентификация *Candida* позволяет выявить конкретные факторы риска кандидоза, свойственные редким видам грибов, что важно для понимания патогенеза кандидоза, выявления эпидемиологических и клинических особенностей заболевания и определения тактики противодействия.

В сообщении Ю. Л. Криворутченко и соавт. [25] приводятся сведения о выделении у больных с различной патологией в 2010 – 2016 гг. в Крыму, наряду с *C. albicans* (48%), редких видов грибов (40% от общего числа изолятов): *C. dubliniensis* (12%), *C. parapsilosis* (8%), *Clavispora lusitaniae* (*C. lusitaniae*) (8%), *D. hansenii* (*C. famata*) (4%), *M. guilliermondii* (*C. guilliermondii*) (4%), *K. marxianus* (*C. kefir*) (4%). Видовая идентификация была проведена с помощью тест-систем «Auxocolor-2» (Biorad, Франция). Выявлена устойчивость изолятов *C. dubliniensis*, *Clavispora lusitaniae* (*C. lusitaniae*) к флуконазолу и антисептику мирамистину.

В настоящем исследовании дополнительное к идентификации на хромогенном агаре использование баканализатора Vitek 2 Compact 30 и масс-спектрометра MicroFlex позволило при изучении 106 штаммов грибов в 14,1% случаев выявить участие грибов *Candida non-albicans* (*C. inconspicua*, *C. dubliniensis*, *Clavispora lusitaniae* (*C. lusitaniae*), *K. marxianus* (*C. kefir*)) в развитии пневмонии. В 1,9% случаев были определены микромицеты, не относящиеся к роду *Candida* (*Trichosporon*, *Geotrichum*). В структуре 18 изолятов, выделенных из аутопсийных проб при летальных исходах пневмонии, 3 изолята (16,7% случаев) идентифицированы как *K. marxianus* (*C. kefir*), *Clavispora lusitaniae* (*C. lusitaniae*), *C. inconspicua*.

Таким образом, мы получили новые знания об участии редких видов грибов и в развитии фатальных пневмоний.

#### **Выводы:**

Скрининговый метод идентификации грибов рода *Candida* на хромогенном агаре наиболее надежен для *C. albicans* и *C. tropicalis*. В уточняющей идентификации нуждаются изоляты *N. glabrata* (*C. glabrata*) и *P. kudriavzevii* (*C. krusei*).

Дополнительное использование баканализатора Vitek 2 compact 30 и масс-спектрометра MicroFlex позволило в 14,1% случаев выявить участие грибов *Candida non-albicans* в развитии пневмоний. В 1,9% случаев выявлены грибы, не относящиеся к роду *Candida*.

Низкая реактивность штаммов могла стать причиной «неопределяемых» видов при фенотипической идентификации изолятов с помощью баканализатора Vitek 2 compact 30, поскольку отсутствие положительных реакций привело бы к появлению неизвестных в базе данных профилей.

При сравнительной идентификации 10 видов грибов (78 штаммов) с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 и масс-спектрометра MicroFlex полное со-

впадение результатов нами отмечено при тестировании только трех видов грибов: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *K. marxianus* (ранее *C. kefyr*).

Клиническая эффективность метода масс-спектрометрии заключается в диагностической точности, высокочувствительности, специфичности, быстром получении ответа (от 6 минут) и экономической эффективности.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 8 – 18, 21, 22 СМ. REFERENCES)

1. Анисимова А. С., Полеева М. В., Аронова Н. В., Цимбалистова М.В., Павлович Н.В. Особенности идентификации грибов рода *Candida* с помощью масс-спектрометрического анализа (MALDI-TOF MS). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67(4): 244-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-4-244-249.
2. Анисимова А. С., Аронова Н. В., Полеева М. В. Идентификации дрожжей рода *Candida* и других дрожжеподобных грибов с помощью масс-спектрометрического анализа (MALDI-TOF MS). *Бактериология*. 2021; 6(3): 16-7.
3. Бондаренко А.П., Шмыленко В.А., Троценко О.Е., Котова В.О., Бутакова Л.В., Базыкина Е.А. Характеристика бактериальной микрофлоры, выделенной из проб мокроты больных пневмонией в Хабаровске и Хабаровском крае в начальный период пандемии COVID-19 (май–июнь 2020 г.). *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 3: 43-9. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-43-49.
4. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Носков А.К., Ковалев Е.В., Чемисова О.С. и др. Особенности этиологии внебольничных пневмоний, ассоциированных с COVID-19. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; 4: 99-105. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105.
5. Акимкин В.Г., Тутельян А.В., Шулакова Н.И. Микологический айсберг: современные сдвиги в эпидемиологии микозов. *Инфекционные болезни*. 2022; 20(1): 120-6. DOI: 10.20953/1729-9225-2022-1-120-126.
6. Муравьева В.В., Припутневич Т.В., Завьялова М.Г., Анкирская А.С., Ильина Е.Н. Сравнительная оценка видовой идентификации вагинальных изолятов дрожжевых грибов методом MALDI-TOF MS и традиционными (биохимическим и фенотипическим) методами. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16 (1): 10-7.
7. Мальчикова А.О., Клясова Г.А. In house метод ускоренной идентификации грибов из положительной гемокультуры с помощью матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии у больных с инфекцией кровотока. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2022; 24(2): 171-9. DOI: 10.36488/cmasc.2022.2.171-179.
19. Бочарова Ю.А., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Возможности, проблемы и перспективы масс-спектрометрических технологий в медицинской микробиологии (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61(4): 249-56. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256.
20. Суркова Р. С., Шаров Т. Н., Половец Н. В., Липницкий А. В., Мургуова А. А. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации возбудителей микозов. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2021; 3: 73. DOI: 10.14427/jipai.2021.3.73.
23. Веселов А.В. Изменения в номенклатуре патогенных для человека микромицетов. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2022; 24(4): 292-4. DOI: 10.36488/cmasc.2022.4.292-294.
24. Багирова Н. С., Дмитриева Н. В. Сравнительная оценка идентификации дрожжеподобных грибов различными методами в условиях онкологической клиники. *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. 2014; 8: 53-8.
25. Криворучченко Ю. Л., Кирсанова М. А., Постникова О. Н., Андроновская И. Б., Шейко Е. А. Полирезистентность к флуконазолу, амфотерицину В и антисептику мирамистину у дрожжевых грибов рода *Candida*, выделенных в Крыму от пациентов с различной патологией. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2021; 3: 79. DOI: 10.14427/jipai.2021.3.79.

REFERENCES

1. Anisimova A.S., Poleeva M.V., Aronova N.V., Tsimbalistova M.V., Pavlovich N.V. Peculiarities of candida yeast identification by mass spectrometric analysis (maldi-tof ms). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2022; 67(4): 244-9. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-4-244-249. (in Russian)
2. Anisimova A.S., Aronova N.V., Poleeva M.V. Identification of *Candida* yeast and other yeast-like fungi using mass spectrometric analysis (MALDI-TOF MS). *Bakteriologiya*. 2021; 6(3): 16-7. (in Russian)
3. Bondarenko A.P., Shmylenko V.A., Trotsenko O.E., Kotova V.O., Butakova L.V., Bazykina E.A. Characteristics of Bacterial Microflora Isolated from Sputum of Patients with Pneumonia Registered in Khabarovsk City and Khabarovsk Territory in the Initial Period of COVID-19 Pandemic in May–June, 2020. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2020; 3: 43-9. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-3-43-49. (in Russian)
4. Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V., Noskov A.K., Kovalev E.V., Chemisova O.S. et al. Features of Etiology of Community-Acquired Pneumonia Associated with COVID-19. *Problemy osobo opasnykh infektsiy*. 2020; 4: 99-105. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-4-99-105. (in Russian)
5. Akimkin V.G., Tutelyan A.V., Shulakova N.I. Medical mycological iceberg: recent trends in the epidemiology of mycoses. *Infektsionnye bolezni*. 2022; 20(1): 120-6. DOI: 10.20953/1729-9225-2022-1-120-126. (in Russian)
6. Muravyova V.V., Priputnevich T.V., Zavyalova M.G., Ankiorskaya A.S., Il'ina E.N. Comparative assessment of types of identification of vaginal yeast isolates using MALDI-ToF MS and long-term (biochemical and phenotypic) methods. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2014; 16 (1): 10-7. (in Russian)
7. Malchikova A.O., Klyasova G.A. In house method for rapid identification of fungi from fungus-positive bottles by MALDI-ToF mass spectrometry in patients with bloodstream infection. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2022; 24(2): 171-9. DOI: 10.36488/cmasc.2022.2.171-179. (in Russian)
8. Chen S.C., Marriott D., Playford E.G. *Candidaemia* with uncommon *Candida* species: predisposing factors, outcome, antifungal susceptibility, and implications for management. *Clin. Microbiol. Infect.* 2009; 15: 662-9 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2009.02821.x.
9. Walsh T. J., Groll A., Hiemenz J., Fleming R., Roilides E., Anaissie E. Infections due to emerging and uncommon medically important fungal pathogens. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10 (Suppl. 1): 48-66. DOI: 10.1111/j.1470-9465.2004.00839.x.
10. Miceli M.H., Diaz J.A., Lee S.A. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect. Dis.* 2011; 11 (2): 142-51. DOI: 10.1016/S1473-3099(10)70218-8.
11. Sanguinetti M., Porta R., Sali M., et al. Evaluation of VITEK 2 and RapID Yeast Plus systems for yeast species identification: experience at a large clinical microbiology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45: 1343-6. DOI: 10.1128/JCM.02469-06.
12. Massonet C., Eldere J.V., Vaneechoutte M., DeBaere T., Verhaegen J., and Lagrou K. Comparison of VITEK 2 with ITS2-fragment length polymorphism analysis for identification of yeast species. *J. Clin. Microbiol.* 2004; 42(5): 2209-11. DOI: 10.1128/JCM.42.5.2209-2211.2004.
13. Lau A., Chen S., Sorrell T., et al. Development and clinical application of a panfungal PCR assay to detect and identify fungal DNA in tissue specimens. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45: 380-5. DOI: 10.1128/JCM.01862-06.
14. Montero C. I., Shea Y.R., Jones P.A., et al. Evaluation of pyrosequencing technology for the identification of clinically relevant non-dematiaceous yeasts and related species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2008; 27: 821-30. DOI: 10.1007/s10096-008-0510-x.
15. Marklein M., Josten U., Klanke E., et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for fast and reliable identification of clinical yeast isolates. *J. Clin. Microbiol.* 2009; 47(9): 2912-7. DOI: 10.1128/JCM.00389-09.
16. Stevenson L.G., Drake S.K., Shea Y.R., Zelazny A.M., and Murray P.R. Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) for the identification of clinically important yeast species. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48: 3482-6. DOI: 10.1128/JCM.00687-09.

17. Dhiman N., Hall L., Wohlfiel S.L., Buckwalter S.P., and Wengenack N.L. Performance and cost analysis of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for routine identification of yeast. *J. Clin. Microbiol.* 2011; 49(4): 1614-6. DOI: 10.1128/JCM.02381-10.
18. van Veen S. Q., Claas E.C., and Kuijper E. J. Highthroughput identification of bacteria and yeast by matrix-assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry in conventional medical microbiology laboratories. *J. Clin. Microbiol.* 2010; 48: 900-7. DOI: 10.1128/JCM.02071-09.
19. Bocharova Yu.A., Chebotar I.V., Mayansky N.A. The possibilities, problems and perspectives of mass spectrometry in medical microbiology: publications review. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2016; 61(4): 249-56. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-4-249-256. (in Russian)
20. Surkova R. S., Sharov T. N., Polovets N. V., Lipnitsky A. V., Murugova A. A. The use of MALDI-TOF mass-spectrometry for the identification of pathogens of mycoses. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya.* 2021; 3: 73. DOI: 10.14427/jipai.2021.3.73. (in Russian)
21. Patel R. A Moldy Application of MALDI: MALDI-ToF Mass Spectrometry for Fungal Identification. *Journal of Fungi.* 2019; 5(1): 4. DOI: 10.3390/jof5010004.
22. Kidd S. E., Abdolrasouli A., Hagen F. "Fungal Nomenclature: Managing Change is the Name of the Game." *Open forum infectious diseases.* 2023; 10(1): 559. DOI: 10.1093/ofid/ofac559.
23. Veselov A.V. Changes in the nomenclature of human pathogenic micromycetes. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya.* 2022; 24(4): 292-4. DOI: 10.36488/cmacc.2022.4.292-294. (in Russian)
24. Bagirova N. S., Dmitriyeva N. V. Evaluation of yeasts identification by different methods in oncology clinic. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii.* 2014; 8: 53-8. (in Russian)
25. Krivorutchenko Yu. L., Kirsanova M. A., Postnikova O. N., Andronovskaya I. B., Sheiko E. A. Multidrug resistance to fluconazole, amphotericin b and antiseptic miramistin in *Candida* fungi isolated from patients with various pathologies in Crimea. *Immunopatologiya, allergologiya, infektologiya.* 2021; 3: 79. DOI: 10.14427/jipai.2021.3.79. (in Russian)