

EDITORIAL BOARD

Chief Editor —

N.P. Yelinov — Ph.D., prof. (Russia)

Deputies Chief Editor —

N.V. Vasilyeva — Ph.D., prof. (Russia)

N.N.Klimko — M.D., prof. (Russia)

Responsible secretary —

T.S. Bogomolova — Ph.D. (Russia)

SCIENTIFIC EDITORIAL BOARD

V.B. Antonov — M.D., prof. (Russia), R.A. Araviyskiy — M.D., prof. (Russia), N.A. Belyakov — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), J. Bennett — M.D. (USA), S.A. Burova — M.D., prof. (Russia), V.L. Bykov — M.D., prof. (Russia), B. Dupont — M.D. (France), O.G. Hurzilava — M.D. (Russia), V.I. Golubev — Ph.D. (Russia), K.P. Kashkin — M.D., academician of RAMS, prof. (Russia), Z.K. Kolb — M.D., (Russia), V.G. Kubas' — M.D., prof. (Russia), V.M. Leschenko — M.D., prof. (Russia), A.V. Lipnizky — M.D., prof. (Russia), V.I. Mazurov — M.D., corr. memb. of RAMS, prof. (Russia), Iu.A. Medvedev — M.D., prof. (Russia), I. Polachek — M.D. (Israel), A.G. Rakhmanova — M.D., prof. (Russia), K.I. Raznatovsky — M.D., prof. (Russia), F.P. Romanyuk — M.D., prof. (Russia), A.V. Samzov — M.D., prof. (Russia), A.P. Scherbo — M.D., corr. memb. of RAMS, prof. (Russia), N.V. Shabashova — M.D., prof. (Russia), A.V. Sobolev — M.D., prof. (Russia), F. StaiB — M.D. (Germany), H.J. Tietz — M.D. (Germany), T.N. Trofimova — M.D., prof. (Russia), M.A. Viviani — M.D. (Italy), V.A. Zinzerling — M.D., prof. (Russia)

PROBLEMS IN MEDICAL MYCOLOGY

Vol. 13, № 4, 2011

North-Western State Medical University
named after I.I. Mechnikov
Kashkin Research Institute
of Medical Mycology (KRI MM)

ПРОБЛЕМЫ МЕДИЦИНСКОЙ МИКОЛОГИИ

Том 13, № 4, 2011

Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова (СЗГМУ)
Научно-исследовательский институт
медицинской микологии им. П.Н.Кашкина
(НИИ ММ)

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Главный редактор —

Н.П. Елинов — д.б.н., профессор (Россия)

Заместители главного редактора:

Н.В. Васильева — д.б.н., профессор (Россия),

Н.Н. Климко — д.м.н., профессор (Россия)

Ответственный секретарь —

Т.С. Богомолова — к.б.н. (Россия)

НАУЧНО-РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

В.Б. Антонов — д.м.н., профессор (Россия),
Р.А. Аравийский — д.м.н., профессор (Россия),
Н.А. Беляков — д.м.н., акад. РАМН, профессор
(Россия), Дж. Беннетт — доктор медицины (США),
С.А. Бурова — д.м.н., профессор (Россия), В.Л. Быков —
д.м.н., профессор (Россия), М.А. Вивиани — доктор
медицины (Италия), В.И. Голубев — д.б.н., вед.н.с.
(Россия), Б. Дюпон — доктор медицины (Франция),
К.П. Кашкин — д.м.н., академик РАМН, профессор
(Россия), З.К. Колб — к.м.н., (Россия), В.Г. Кубась —
д.м.н., профессор (Россия), В.М. Лещенко — д.м.н.,
профессор (Россия), А.В. Липницкий — д.м.н.,
профессор (Россия), В.И. Мазуров — д.м.н., чл.-корр.
РАМН, профессор (Россия), Ю.А. Медведев —
д.м.н., профессор (Россия), И. Полачек — доктор
медицины (Израиль), К.И. Разнатовский — д.м.н.,
профессор (Россия), А.Г. Рахманова — д.м.н.,
профессор (Россия), Ф.П. Романюк — д.м.н., профессор
(Россия), А.В. Самцов — д.м.н., профессор (Россия),
А.В. Соболев — д.м.н., профессор (Россия), Х.Й. Титц —
доктор медицины (Германия), Т.Н. Трофимова —
д.м.н., профессор (Россия), О.Г. Хурцилава — д.м.н.,
(Россия), В.А. Цинзерлинг — д.м.н., профессор (Россия),
Н.В. Шабашова — д.м.н., профессор (Россия), Ф. Штайб —
доктор медицины (Германия), А.П. Щербо — д.м.н.,
чл.корр. РАМН, профессор (Россия)

Проблематика журнала: Фундаментальные и прикладные аспекты медицинской микологии — биология возбудителей, клиника, диагностика, эпидемиология, иммунитет, терапия и профилактика микозов, грибы-контаминанты в лабораторных, клинических и других условиях.

Editorial policy: The Journal «Problems in Medical Mycology» specializes in original articles that describe innovative research on all aspects of Medical Mycology — biology of pathogens, clinic, diagnostic, epidemiology, immunity, therapy and prophylaxis of mycoses, fungi — contaminants in laboratory, clinical and other conditions.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРОБЛЕМНЫЕ СТАТЬИ

Хронобиологический метод изучения биологических свойств *Candida* species. *Николенко М.В.* 3

ОБЗОРЫ

MALDI-TOF масс-спектрометрическая идентификация медицински значимых микромицетов (обзор). *Полищук А.Г.* 8

КЛИНИЧЕСКАЯ МИКОЛОГИЯ

Роль грибов при бронхиальной астме. *Аак О.В., Соколов А.В.* 12

Динамика заболеваемости и видовой состав возбудителей трихомикоза в республике Башкортостан в 1970-2010 гг.
Хисматуллина З.Р., Мухаммадеева О.Р., Попова Д.Р., Габдуллина С.Р. 15

Клинические особенности микозов стоп, кистей и онихомикозов у ВИЧ-инфицированных пациентов. *Иванова Ю.А., Райденко О.В.* 18

Гипоцинкемия у больных микозом стоп и рецидивирующим рожистым воспалением нижних конечностей. *Корнишева В.Г., Пак Е.Ю.* 22

Особенности онихомикозов кистей/стоп у больных с метаболическим синдромом. *Шамли Н.Б., Разнатовский К.И.* 26

Применение средств, корригирующих липидный обмен у больных онихомикозом стоп. *Шамли Н.Б., Разнатовский К.И.* 29

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МИКОЛОГИЯ

Спонтанная изменчивость популяций *Aspergillus niger* V.Tiegh при многоступенчатой селекции штаммов – продуцентов аллергенов. *Журавлева Н.П., Васильева Н.В., Чилина Г.А., Соловьева Г.И.* 32

Грибостойкость некоторых строительных материалов. Сравнительное исследование. *Павлова И.Э., Маметьева А.А., Чилина Г.А., Степанова А.А.* 35

Противогрибковая активность микроорганизмов природной ассоциации «Тибетский рис». *Тихомирова О.М., Иванова Е.А.* 39

Сопоставление востребованности и информативности ПЦР при диагностике урогенитальных инфекций различной этиологии. *Горелова Е.В., Домакова Т.В., Щеглов В.С., Бойцов А.Г.* 43

Особенности взаимодействия *Cryptococcus neoformans* разной вирулентности и альвеолярных макрофагов. *Васильева Н.В., Степанова А.А., Филиппова Л.В., Босак И.А., Синицкая И.А., Чилина Г.А.* 46

ХРОНИКА И ИНФОРМАЦИЯ

Новости из диссертационных советов. *Шевяков М.А.* 51

XX Конгресс Европейской Академии Дерматологии и Венерологии (EADV). *Медведева Т.В., Леина Л.М.* 53

Памяти доктора медицинских и ветеринарных наук профессора Фридриха Штайба. *Елинов Н.П.* 55

CONTENTS

PROBLEM ARTICLES

Chronobiological method of biological properties study of *Candida* species. *Nikolenko M.B.* 3

REVIEWS

Identification of clinically relevant fungi by MALDI-TOF mass-spectrometry. *Polischuk A.G.* 8

CLINICAL MYCOLOGY

The role of fungi on bronchial asthma. *Aak O.V., Sobolev A.V.* 12

The dynamics of morbidity and species composition of the agents' trichomycosis in the Republic of Bashkortostan in 1970-2010.
Khismatullina Z.R., Mukhamadeyeva O.R., Popova D.R., Gabdullina S.R. 15

Clinical peculiarities of feet, hands mycoses and onychomycoses among HIV-infected patients. *Ivanova Ju.A., Raydenko O.V.* . . . 18

Hypozincemia in patients with Tinea pedis and recurrent erysipelas of lower extremities. *Kornisheva V.G., Pak E.U.* 22

Peculiarities of hand/ foot onychomycoses in patients with metabolic syndrome. *Shamli N.B., Raznatovsky K.I.* 26

Use of lipid metabolism correcting drugs in patients with feet onychomycosis. *Shamli N.B., Raznatovsky K.I.* 29

EXPERIMENTAL MYCOLOGY

The spontaneous variability of populations of *Aspergillus niger* V.Tiegh in multistep selection of strains – allergens producers.
Zhuravleva N.P., Vasilyeva N.V., Chilina G.A., Solovjova G.I. 32

Fungus-firwiness of some building materials. Comparative investigation. *Pavlova I.E., Mametyeva A.A., Chilina G.A., Stepanova A.A.* 35

Antifungal activity of microorganisms from natural association «Tibetan rice». *Tikhomirova O.M., Ivanova E.A.* 39

Comparison of relevant and informative PCR in diagnose of urogenital infections of different etiology. *Gorelova E.V., Domakova T. V., Sheglov V. S., Boitsov A.G.* 43

Peculiarities of *Cryptococcus neoformans* of different virulence interaction and murine alveolar macrophages. *Vasilyeva N.V., Stepanova A.A., Filippova L.V., Bosac I.A., Sinitskaya I.A.* 46

CHRONICLE AND INFORMATION

News of the dissertation councils. *Shevyakov M.A.* 51

The 20th Congress of European Academy of Dermatology and Venerology. *Medvedeva T.V., Leina L.M.* 53

Memories of the doctor of medical and veterinary sciences professor Friedrich Staib. *Yelinov N.P.* 55

MALDI-TOF МАСС-СПЕКТРО-МЕТРИЧЕСКАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ МЕДИЦИНСКИ ЗНАЧИМЫХ МИКРОМИЦЕТОВ (ОБЗОР)

Полищук А.Г. (ведущий научный сотрудник)*

НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

© Полищук А.Г., 2011

Времяпролетная масс-спектрометрия с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) – это метод идентификации микроорганизмов, основанный на анализе их белкового содержимого. Высокая точность идентификации бактерий этим методом была подчеркнута в большом количестве публикаций. Метод экономичен по затратам времени и финансовых средств, в сравнении с обычно применяемыми биохимическими системами идентификации (БСИ), и подходит для рутинной диагностики, базирующейся на высокой пропускной способности. В статье описано текущее состояние MALDI-TOF MS систем для идентификации медицински значимых микромицетов. Для нитчатых грибов метод MALDI-TOF MS находится на ранней стадии развития.

Ключевые слова: идентификация видов, MALDI-TOF масс-спектрометрия, медицински значимые микромицеты

IDENTIFICATION OF CLINICALLY RELEVANT FUNGI BY MALDI-TOF MASS-SPECTROMETRY

Polischuk A.G. (leading scientific collaborator)

Kashkin Research Institute of Medical Mycology of North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, St. Petersburg, Russia

© Polischuk A.G., 2011

Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) is a method for identification of microorganisms based on analysis of their protein content. Numerous studies have demonstrated the accuracy of this technology for bacterial identification. It is a time-saving and less expensive alternative to conventional biochemical identification systems (BIS), and it is suitable for high-throughput routine diagnostics. In this article a current status of development of MALDI-TOF systems for identification of clinically relevant fungi is described. For filamentous fungi, the technique is at early stage of development.

Key words: clinically relevant fungi, MALDI-TOF mass-spectrometry

* Контактное лицо: Полищук Анна Генриховна
Тел.: (812) 303-51-40

Прямое белковое профилирование с помощью времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS от *англ.* matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass-spectrometry) является методом быстрой видовой идентификации патогенных микроорганизмов.

Масс-спектрометрия (МС) – измерение молекулярной массы ионов по их поведению в электрических или магнитных полях. Она осуществляется посредством разделения разных масс в пространстве и времени. MALDI-TOF – это вариант МС, в котором применяют технологию «мягкой» ионизации под действием лазерного излучения, позволяющую анализировать молекулы с большой молекулярной массой, в частности, молекулы белков [1]. С помощью метода можно анализировать белковую фракцию микробной клетки без фракционирования и очистки отдельных белков (прямое белковое профилирование) и получать с высокой точностью и разрешением уникальные для данного вида микроорганизма масс-спектры, характеризующие исследуемый объект по типу «отпечатков пальцев». Метод был разработан 23 года назад [2, 3], его начали использовать для идентификации бактерий в научно-исследовательских лабораториях с конца 1990 годов, а для рутинной диагностики бактерий в микробиологических лабораториях – с 2009 г. [4]. Первая публикация по идентификации патогенных грибов с использованием технологии MALDI-TOF MS появилась в 2007 г. [5].

Процедура идентификации

Первый этап видовой идентификации патогенных грибов с использованием MALDI-TOF MS – получение чистой культуры гриба из клинического материала. Следующими этапами являются пробоподготовка, получение белковых спектров лизированного материала с применением масс-спектрометрического оборудования, обработка полученных спектров с использованием специального программного обеспечения и сравнение полученного спектрального профиля с теми, что имеются в белковой спектральной базе данных. В спектральной базе данных каждому виду микромицета соответствует специфический набор масс-спектров, в чем и заключается принцип видовой идентификации грибов. Процесс пробоподготовки включает в себя лизис клеток гриба и кристаллизации на подложке лизированного материала с веществом-матрицей, функция которой заключается в способствовании перехода молекул лизата в газовую фазу и их ионизации. Подложку затем помещают в MALDI-TOF MS инструмент, в котором под воздействием импульсов лазерного излучения на матрицу с анализируемым веществом происходят его десорбция (переход в газовую фазу) и ионизация, образовавшиеся ионы разделяются в электрическом

поле и детектируются, а их масса анализируется с помощью специального программного обеспечения. В настоящее время для рутинной идентификации микроорганизмов используют MALDI-TOF MS оборудование производства компаний Bruker Daltonik GmbH (Германия) и Shimadzu (Япония). Bruker Daltonik GmbH предлагает, в сочетании с MALDI-TOF MS инструментом, свое программное обеспечение и белковую спектральную базу данных (Biotyper). В MALDI-TOF MS систему от Shimadzu входит программное обеспечение этой компании (Launchpad software) и база данных SARAMIS, разработанная компанией Anagnostec GmbH (Германия) и недавно приобретенная компанией BioMérieux (Франция). Описана и другая система (программное обеспечение с базой данных) – Andromas (Франция), которая может быть использована с масс-спектрометрами обеих компаний Bruker Daltonik и Shimadzu.

Для получения чистой культуры патогенных микромицетов требуется от трех-пяти дней (дрожжевые организмы) до трех недель (дерматомицеты), в то время как для всех остальных этапов масс-спектрометрической идентификации – ~1-2 часа. Поэтому исключение этапа получения культуры гриба из процедуры идентификации является ключевым моментом для существенного сокращения времени идентификации. Получение четкой белковой масс-спектральной картины, специфичной для патогенного микроорганизма, непосредственно в клинических образцах методически затруднено из-за наличия в лизированном материале комплекса белковых молекул, принадлежащих клеткам пациента, а также в случае использования жидких сред для выращивания патогена, белковых компонентов сред. В связи с этим в настоящее время проводят интенсивные исследования с целью разработки способа очистки белков гриба от контаминирующего материала, присутствующего в клинических образцах. Ко времени написания этой статьи опубликованы три работы, в которых представлены результаты усовершенствования этапа пробоподготовки для идентификации дрожжеподобных микромицетов непосредственно в образцах крови. В работе Marinach-Patrice C. с соавторами использовали кровь здоровых людей, инокулированную определенным количеством клеток *Candida sp.* Образцы крови культивировали в гемокультиваторе Bactec до тех пор, пока они не регистрировались прибором как положительные, и, затем, проводили MS анализ. Для получения масс-спектров, достаточных для анализа качества, авторы использовали 2 мл положительной культуры и 1,5 мл 0,1% додецилсульфата натрия в качестве лизирующего агента. Используя этот метод пробоподготовки, они смогли правильно идентифицировать все образцы *Candida spp.* [6]. Ferguson A. с коллегами использовали 5% раствор сапона для селективного разрушения эритроцитов крови и высвобождения интактных дрожжевых клеток, которые затем концентрировались центрифугированием. Клеточный концентрат далее анализировали

в масс-спектрометре. Таким образом значительно снижался белковый спектральный фон от клеточных компонентов крови и обеспечивался читаемый масс-спектр, специфичный для анализируемого микромицета. В этой работе была успешно проведена идентификация *Candida spp.* не только в инокулированных клетками дрожжей образцах крови здоровых людей, но и в положительных образцах крови пациентов [7]. И, наконец, Yan Y. с соавторами использовали набор реактивов для пробоподготовки (MALDI Sepsityper kit), разработанный Bruker Daltonik и предназначенный для идентификации бактерий и дрожжеподобных микромицетов непосредственно из образцов крови. С применением этого набора не была получена надежная видовая идентификация. Авторы статьи добавили к процедуре пробоподготовки две отмывки образцов водой (до этапа лизиса с использованием Sepsityper) и с помощью этой модификации добились 100% корректной идентификации *Candida spp.* в 43 образцах крови пациентов, зарегистрированных в Bactec FX культиваторе как положительные [8].

Диагностическая чувствительность MALDI-TOF MS

В одиннадцати из двенадцати исследований чувствительность масс-спектрометрической идентификации микромицетов была 95-100% и только в одном исследовании – 85%. Чувствительность идентификации измеряли как процент совпадения результатов масс-спектрометрического анализа с результатами референсного метода идентификации. Референсным методом для идентификации нитчатых *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.* и дерматомицетов было сиквенирование определенных фрагментов их ДНК и исследование морфологии этих грибов [5, 9-11]. Для дрожжей и дрожжеподобных грибов в качестве референсного метода использовали либо определение эффективности метаболических процессов в клетках грибов (биохимический метод), либо сочетание этого метода с сиквенированием фрагментов генов рибосомальной ДНК грибов [8, 12-17]. В последнем случае, сначала сравнивали результаты биохимических тестов и MS анализа, а затем, в случае несовпадения результатов этих двух анализов, использовали метод сиквенирования для подтверждения результата. В качестве биохимических систем идентификации использовали API тесты и VITEK колориметрические карты компании BioMérieux, Murex/Remel (США) и Auxacolor тест компании Bio-Rad (США). С применением API и VITEK биохимических систем измеряют способность дрожжевых грибов утилизировать углеводы, кроме этого, с помощью VITEK анализируют активность некоторых ферментов углеводного, белкового и жирового обменов и способность утилизировать некоторые источники азота (всего 63 биохимические реакции). В случаях несовпадения результатов MS и биохимической идентификации, сиквенированием обычно подтверждали видовую идентификацию, полученную MS методом, что сви-

детельствовало о его большей чувствительности по сравнению с биохимическим методом. Еще раз подчеркнем, что в случае дрожжевых изолятов сиквенировались только те образцы, для которых результаты МС и биохимической идентификации не совпадали (5-9% всех проанализированных образцов), и, таким образом, истинный процент совпадения результатов МС и сиквенирования не известен. Однако в случае нитчатых микромицетов сиквенировались все образцы, которые проходили МС идентификацию, и доля совпавших результатов этих двух анализов составила 98,5-100%.

MALDI-TOF МС обладает большей дискриминационной способностью по сравнению с биохимическими методами идентификации. Например, с помощью API/VITEK системы не удастся разделить генетически гетерогенную популяцию *Candida parapsilosis* на группы, в то время как с помощью MALDI-TOF МС были выделены 3 группы, составляющие вид *C. parapsilosis*: *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* и *C. orthopsilosis* [12]. Разделение вида *C. parapsilosis* на три новых вида подтверждено результатами сиквенирования и других молекулярных методов [12]. Дискриминация между этими видами может быть важна с терапевтической точки зрения, поскольку недавно было показано, что *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* и *C. orthopsilosis* имеют разные профили чувствительности к эхинокандинам [18].

Аналитическая чувствительность MALDI-TOF МС

Yan Y. с соавторами оценили минимальную концентрацию обнаруживаемых дрожжевых клеток в позитивных культурах крови пациентов, которая обеспечивает надежную видовую идентификацию методом MALDI-TOF МС. Она оказалась равна 600 000 КОЕ/мл [8]. Для сравнения, MALDI-TOF масс-спектрометрическая чувствительность обнаружения бактерий составляет ≈ 1000 КОЕ/мл [19,20], а с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) возможно обнаружить одну клетку патогенного гриба в 1 мл крови [21].

Факторы, влияющие на эффективность идентификации

Одним из основных условий для успешной видовой идентификации микроорганизмов является качество референсной масс-спектрометрической базы данных. В качестве референсных баз данных в работах использовали или коммерческие базы данных – Biotyper 2.0, SARAMIS, Andromas [7, 8, 11-14, 17], или базы данных, созданные самими авторами работ [5, 6, 9, 10]. Был и промежуточный вариант, когда коммерческие базы данных дополняли в ходе выполнения работы [15, 16]. Ярким примером, иллюстрирующим влияние наполненности референсной базы данных на эффективность видовой идентификации, является работа Marklein G. с соавторами по видовой идентификации дрожжевых изолятов. При

первом раунде идентификации, когда авторы использовали коммерческую масс-спектральную базу данных Biotyper 2.0 в качестве референсной, удалось правильно идентифицировать 90% образцов. Однако после того, как авторы дополнили Biotyper 2.0 масс-спектрометрическими «фингерпринтингами» тех видов рода *Candida*, которые отсутствовали в этой базе, но присутствовали (по результатам сиквенирования) в анализируемой выборке, оставшиеся 10% образцов были также успешно идентифицированы [16].

Качество референсной базы масс-спектров также зависит от того, насколько она полно отражает физиологические особенности грибов. Каждую минуту в клетке живых организмов происходят мириады событий, изменяющих ее белковый состав качественно и количественно. Эти изменения необходимы для пространственной и временной регуляции физиологических процессов в клетке, в частности, для перехода гриба из одного физиологического состояния в другое (например, из фазы активного роста в фазу споруляции). Учитывая это, Alanio A. с коллегами создали масс-спектральную базу *Aspergillus* spp., которая включила спектры белков, полученных из материала молодых и спорулирующих колоний. Таким образом, стало возможным получение высоко воспроизводимых результатов в независимости от зрелости тестируемого изолята [9].

Еще одним важным фактором, влияющим на качество получаемых спектров и на воспроизводимость результатов, является изменение спектрального состава клетки в ходе адаптации грибов к различным условиям существования. Так, например, было показано, что масс-спектральная картина клеток гриба изменяется в зависимости от температуры и времени выращивания, а также состава питательной среды [10, 22, 23]. Таким образом, стандартизация условий выращивания является еще одним ключом к успешной видовой идентификации микромицетов с использованием масс-спектрометрического анализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Технология MALDI-TOF масс-спектрометрической идентификации микромицетов имеет ряд преимуществ перед биохимическими методами идентификации. Она обладает высокой скоростью измерения, низкой стоимостью используемых реактивов и материалов и простой пробоподготовкой. В экспериментальных работах показано, что MALDI-TOF МС обладает высокой диагностической чувствительностью и дискриминационной способностью. Хотя пока не оценено, как MALDI-TOF МС функционирует в рутинной диагностике микромицетов, эти ее качества отвечают требованиям, предъявляемым к технологиям, используемым в рутинной диагностической практике. Технология имеет, однако, на данном этапе развития существенный недостаток – она обладает низкой аналитической чувствительностью, поэтому идентификация микро-

мицетов напрямую в клиническом материале остается проблемой. Для повышения порога обнаружения патогенных грибов необходимо введение дополнительной процедуры в процесс пробоподготовки, позволяющей «обогащать» материал клинического образца грибными белками. Уже достигнуты опре-

деленные успехи в этом направлении, а принимая во внимание стремительность развития MALDI-TOF MS технологии, вполне вероятно, что идентификация микромицетов в клиническом материале без предварительного получения чистой культуры гриба будет возможна в скором будущем.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sauer S., Kliem M. Mass spectrometry tools for the classification and identification of bacteria // Nat. Rev. Microbiol. – 2010. – Vol. 8. – P. 74-82.
2. Tanaka K., Waki H., Ido Y., et al. Protein and polymer analyses up to m/z 100000 by laser ionization time-of-flight mass spectrometry // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 1988. – Vol. 2. – P. 151-153.
3. Karas M., Bachmann D., Bahr D., Hillenkamp F. Matrix-assisted ultraviolet-laser desorption of nonvolatile compounds // Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc. – 1987. – Vol. 78. – P. 53-68.
4. Emonet S., Shah H.N., Cherkaoui A., Schrenzel J. Application and use of various mass spectrometry methods in clinical microbiology // Clin. Microbiol. Infect. – 2010. – Vol. 16. – P. 1604-1613.
5. Erhard M., Hipler U.-C., Burmester A., et al. Identification of dermatophyte species causing onychomycosis and tinea pedis by MALDI-TOF mass spectrometry // Exp. Dermatol. – 2008. – Vol. 17. – P. 356-361.
6. Marinach-Patrice C., Fekkar A., Atanasova R., et al. Rapid species diagnosis for invasive candidiasis using mass spectrometry // PLoS One. – 2010. – Vol. 5. – e8862.
7. Ferroni A., Suarez S., Beretti J.L., et al. Real-time identification of bacteria and *Candida* species in positive blood culture broths by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 1542-1548.
8. Yan Y., He Y., Maier T., et al. Improved identification of yeast species directly from positive blood culture media by combining Sepsityper specimen processing and Microflex analysis with the matrix-assisted laser desorption ionization Biotyper system // J. Clin. Microbiol. – 2011. – Vol. 49. – P. 2528-2532.
9. Alanio A., Beretti J.L., Dauphin B., et al. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry for fast and accurate identification of clinically relevant *Aspergillus* species // Clin. Microbiol. Infect. – 2011. – Vol. 17. – P. 750-755.
10. Marinach-Patrice C., Lethuillier A., Marly A., et al. Use of mass spectrometry to identify clinical *Fusarium* isolates // Clin. Microbiol. Infect. – 2009. – Vol. 15. – P. 634-642.
11. Seyfarth F., Ziemer M., Sayer H.G., et al. The use of ITS DNA sequence analysis and MALDI-TOF mass spectrometry in diagnosing an infection with *Fusarium proliferatum* // Exp. Dermatol. – 2008. – Vol. 17. – P. 965-971.
12. Quiles-Melero I., Garcia-Rodriguez J., Gomez-Lopez A., Mingorance J. Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry for identification of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2011. – doi 10.1007/s10096-011-1277-z.
13. Bader O., Weig M., Taverner-Ghadwal L., et al. Improved clinical laboratory identification of human pathogenic yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry // Clin. Microbiol. Infect. – 2011. – Vol. 17. – P. 1359-1365.
14. Putignani L., Del Chierico F., Onori M., et al. MALDI-TOF mass spectrometry proteomic phenotyping of clinically relevant fungi // Mol. Biosyst. – 2011. – Vol. 7. – P. 620-629.
15. Stevenson L.G., Drake S.K., Shea Y.R., et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of clinically important yeast species // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 3482-3486.
16. Marklein G., Josten M., Klanke U., 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. – Vol. 47. – P. 2912-2917.
17. van Veen S.Q., Claas E.C.J., Kuijper Ed J. High-throughput 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. – Vol. 48. – P. 900-907.
18. Lockhart S.R., Messer S.A., Pfaller M.A., Diekema D.J. Geographic distribution and antifungal susceptibility of the newly described species *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* in comparison to the closely related species *Candida parapsilosis* // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46. – P. 2659-2664.
19. Guo Z., Liu Y., Li S., Yang Z. Interaction of bacteria and ion-exchange particles and its potential in separation for matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometric identification of bacteria in water // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2009. – Vol. 23. – P. 3983-3993.
20. Zhou N., Wang N., Xu B., et al. Whole-cell matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for rapid identification of bacteria cultured in liquid media // Sci. China Life Sci. – 2011. – Vol. 54. – P. 48-53.
21. White P.L., Bretagne S., Klingspor L., et al. *Aspergillus* PCR: One Step Closer to Standardization // J. Clin. Microbiol. – 2010. – Vol. 48. – P. 1231-1240.
22. Hettick J.M., Green B.J., Buskirk A.D., et al. Discrimination of *Penicillium* isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry fingerprinting // Rapid Commun. Mass Spectrom. – 2008. – Vol. 22. – P. 2555-2560.
23. Qian J., Cutler J.E., Cole R.B., Cai Y. MALDI-TOF mass signatures for differentiation of yeast species, strain grouping and monitoring of morphogenesis markers // Anal. Bioanal. Chem. – 2008. – Vol. 392. – P. 439-449.

Поступила в редакцию журнала 15.10.2011

Рецензент: С.В. Сидоренко