

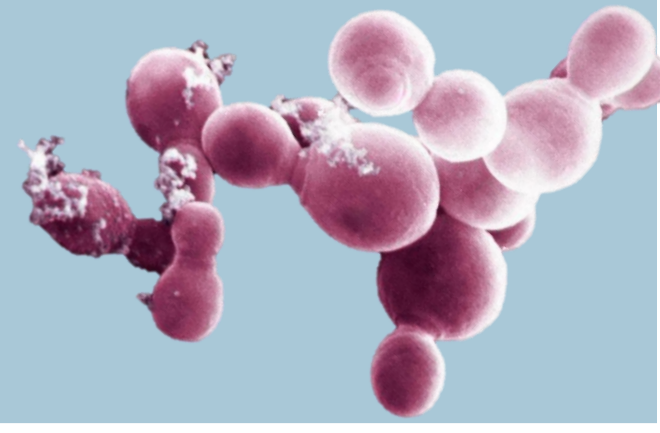
# ПРИМЕНЕНИЕ MALDI TOF/TOF МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ТИПИРОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКИХ ШТАММОВ *MALASSEZIA FURFUR*

THE USE OF MALDI TOF/TOF MS FOR *MALASSEZIA FURFUR* CLINICAL ISOLATES TYPING

Алексеев А.Ю. / Alekseev A.Y.

ФГБОУ ВО СЗГМУ им. И.И. Мечникова / NWSMU n.a. I.I. Mechnikov

Научный руководитель: Богданова Т.В. / Supervisor: Bogdanova T.V.



## ЦЕЛЬ

Определение возможности применения времяпролетной масс-спектрометрии для внутривидового типирования клинических изолятов *Malassezia furfur* и эпидемиологических исследований.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучены 34 клинических штамма *M. furfur*, выделенные от пациентов 4-х медицинских организаций (МО) педиатрического и неонатального профиля Санкт-Петербурга (n=23) и Москвы (n=11). Предварительную идентификацию штаммов до уровня рода осуществляли по фенотипическим признакам. Видовую идентификацию проводили методом MALDI-TOF-MS на масс-спектрометре Autoflex III ("Bruker Daltonics", Германия) с использованием программного обеспечения FlexControl. Для каждого изолята спектры экспрессируемых белков регистрировали в 4-х повторностях.

Полученные спектры сравнивали с библиотекой масс-спектро-профилей MALDI Biotyper 3. Для изучения эпидемиологических особенностей распространения и выявления филогенетического родства штаммов *M. furfur* по результатам определения сходства/различия белковых профилей применяли статистический анализ методом главных компонент (PCA) и построение PCA-дендрограмм.

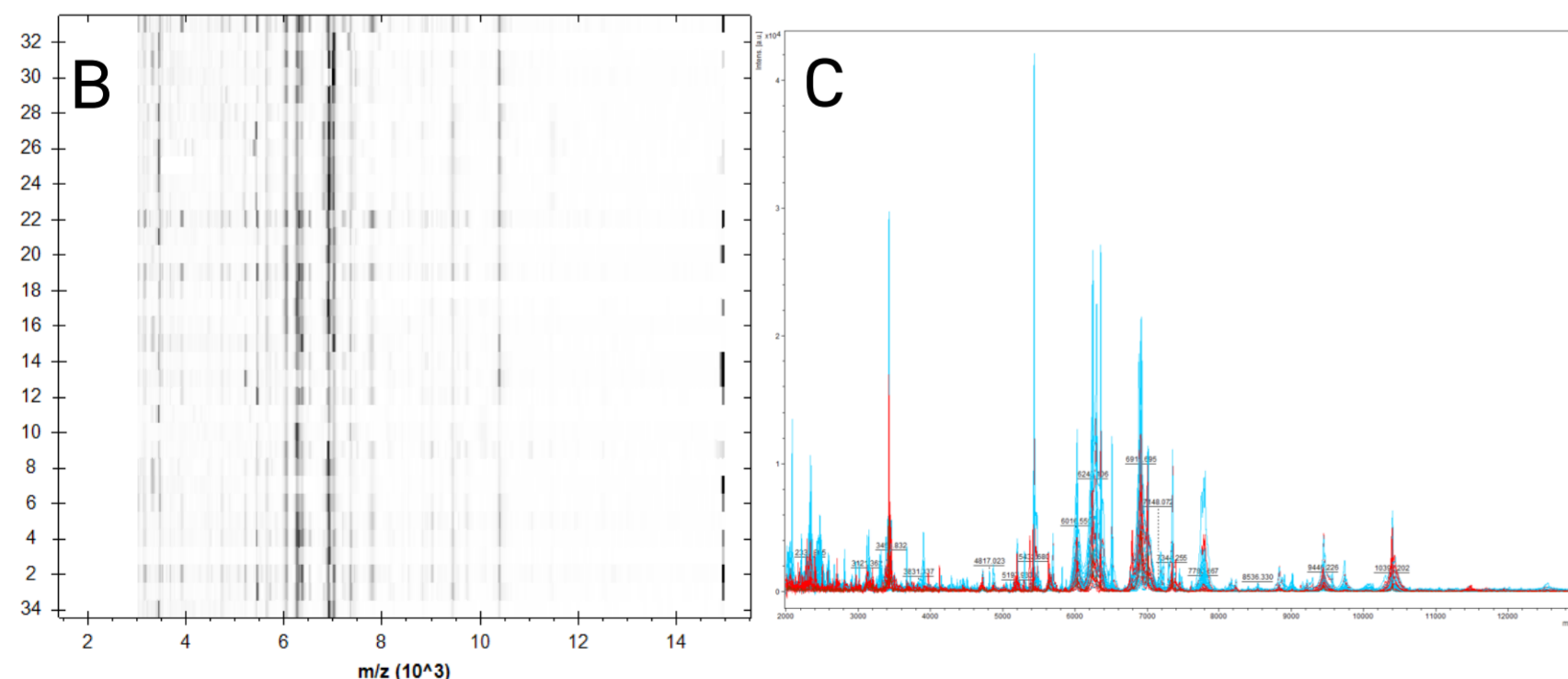
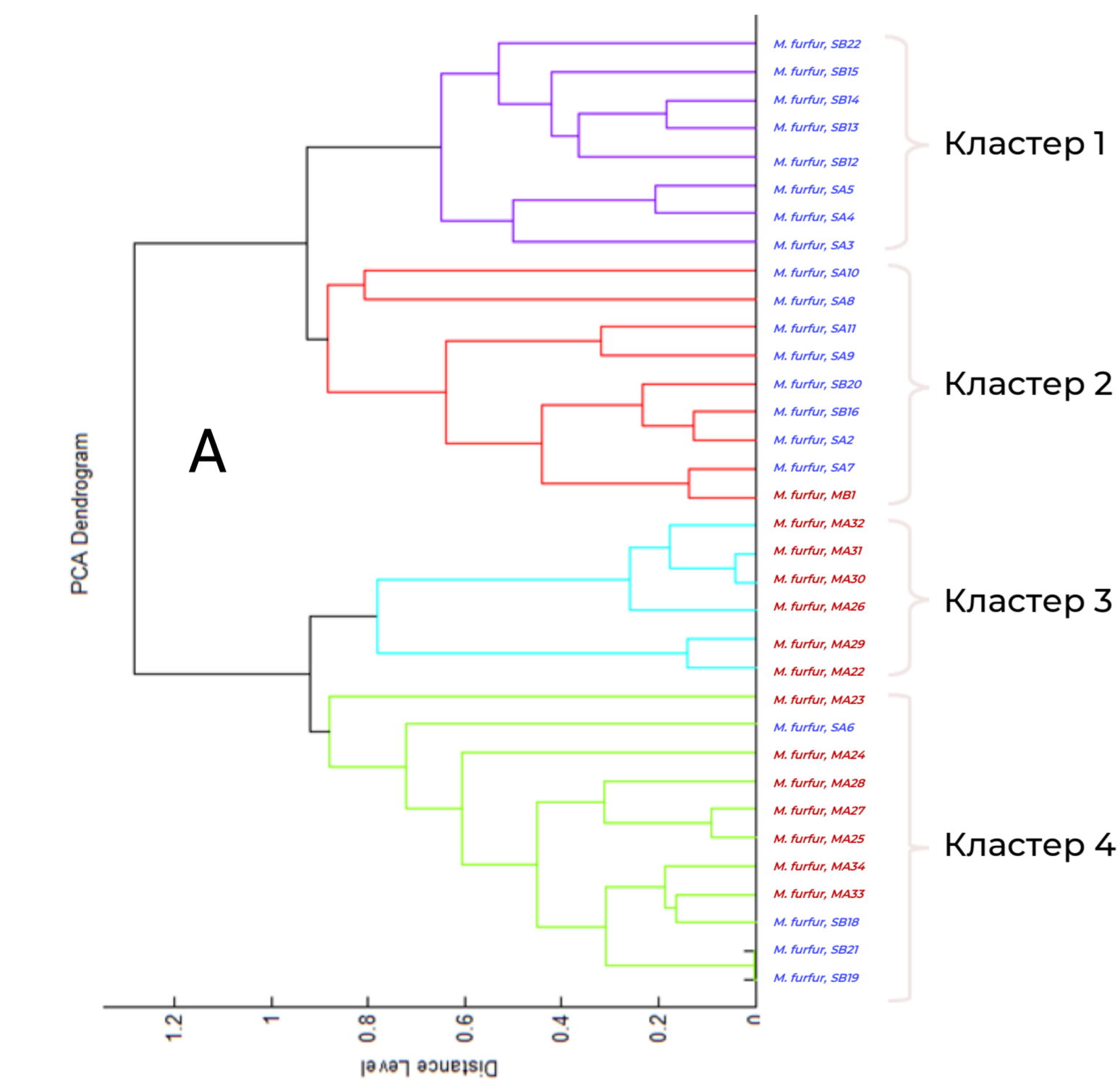


Рис. 1 Типирование штаммов на основе MALDI TOF/TOF MS: А - Дендрограмма на основе PCA, созданная с помощью MALDI-TOF MS (алгоритм иерархической кластеризации с анализом евклидова расстояния): синим отмечены штаммы, выделенные из МО СПб, красным - штаммы, выделенные из МО Москвы; В - Псевдогель на основе масс-спектров. Сгенерированные MS пики экспрессируемых белков визуализированы для каждого изолята; С - Репрезентативный пример различий масс-спектро-профилей изолятов штаммов, выделенных из МО СПб (синие) и Москвы (красные).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Все штаммы (100 %) по фенотипическим признакам были отнесены к роду *Malassezia* и затем идентифицированы до вида методом MALDI-TOF/TOF MS как *M. furfur* - наиболее часто выделяемый возбудитель инвазивных малассезиозов. Значения *Score* составили  $1,85 \pm 0,14$  ( $p < 0,05$ ), при этом значения не менее 2,00 регистрировались у 17,6 % изученных штаммов.

На PCA-дендрограмме (Рис. 1А) белковые профили сгруппировались в 2 главные группы кластеров в зависимости от географического происхождения штаммов: первая группа объединила кластеры А (n = 8) и В (n = 9), составленные из изолятов, выделенных от пациентов из Санкт-Петербурга; вторая - кластеры С (n = 6) и D (n = 11), преимущественно (70,6 %) составленные из штаммов, выделенных на территории Москвы.

В рамках исследования были выявлены группы штаммов с малым процентом разнообразия (DL = 0,2 - 0,3), вероятно, имеющие общее происхождение. В то же время в стационарах встречаются отдельные штаммы, относящиеся к разным кластерам, что может свидетельствовать о множестве путей распространения (заносов) инфекции в МО.

Трёхмерный анализ главных компонент (Рис. 2) показал, что PC1 является самым сильным знаменателем, отражающим кластеризацию более 80 % изученных штаммов, в то время как PC2 и PC3 менее информативно объясняют кластерное распределение.

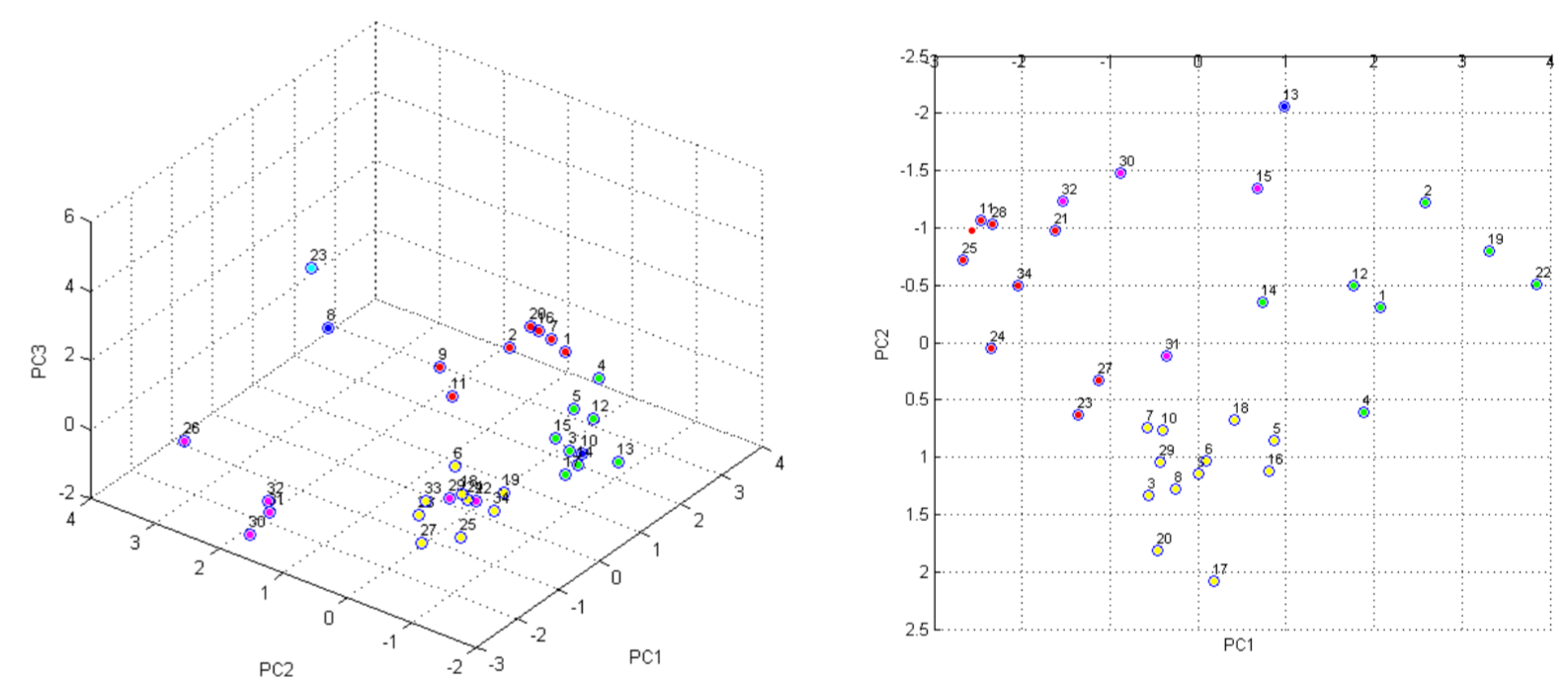


Рис. 2 PCA-3D масс-спектров клинических штаммов *M. furfur*, выделенных от новорождённых из двух стационаров г. Москвы и двух стационаров г. СПб (n=34)

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При исследовании изолятов *M. furfur* были получены масс-спектро-профили в основном специфичные и идентичные между собой для каждой отдельной МО. Наибольшие различия установлены для штаммов разного географического происхождения.

Результаты сравнительного анализа белковых профилей культур подтвердили сведения литературы о перспективности использования технологии MALDI-TOF/TOF MS для дифференциации микроорганизмов на уровне штаммов, поскольку для всех культур были получены индивидуальные штаммоспецифичные спектры, на основании сходства которых выделено 4 кластера, объединяющих представителей одного таксона - *M. furfur*.

Подобные инструменты анализа спектров могут использоваться для внутривидового типирования в рамках эпидемиологических исследований вспышек с целью идентификации источника/источников ВБИ, вызванных *M. furfur*.



Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии,  
клинической микологии и иммунологии (XXV Кашкинские чтения)  
8-10 июня 2022 г., Санкт-Петербург, Россия