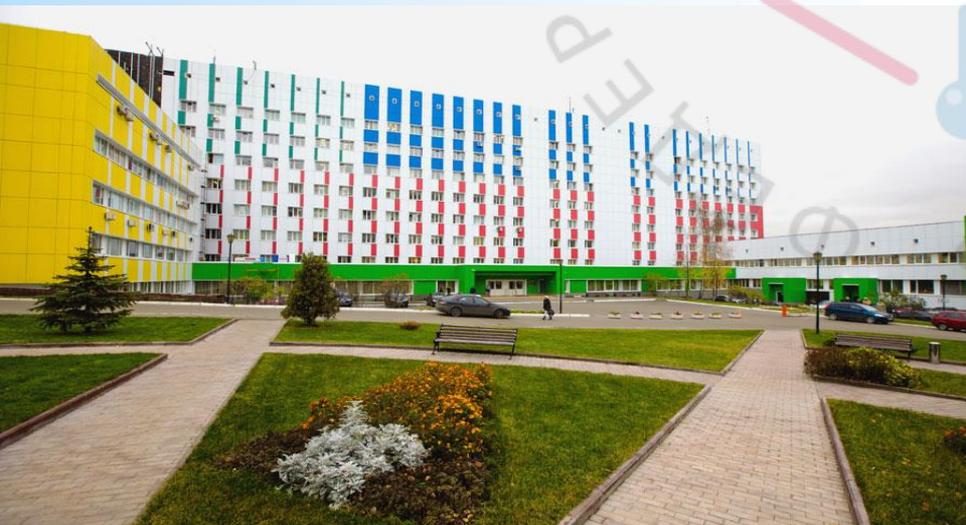




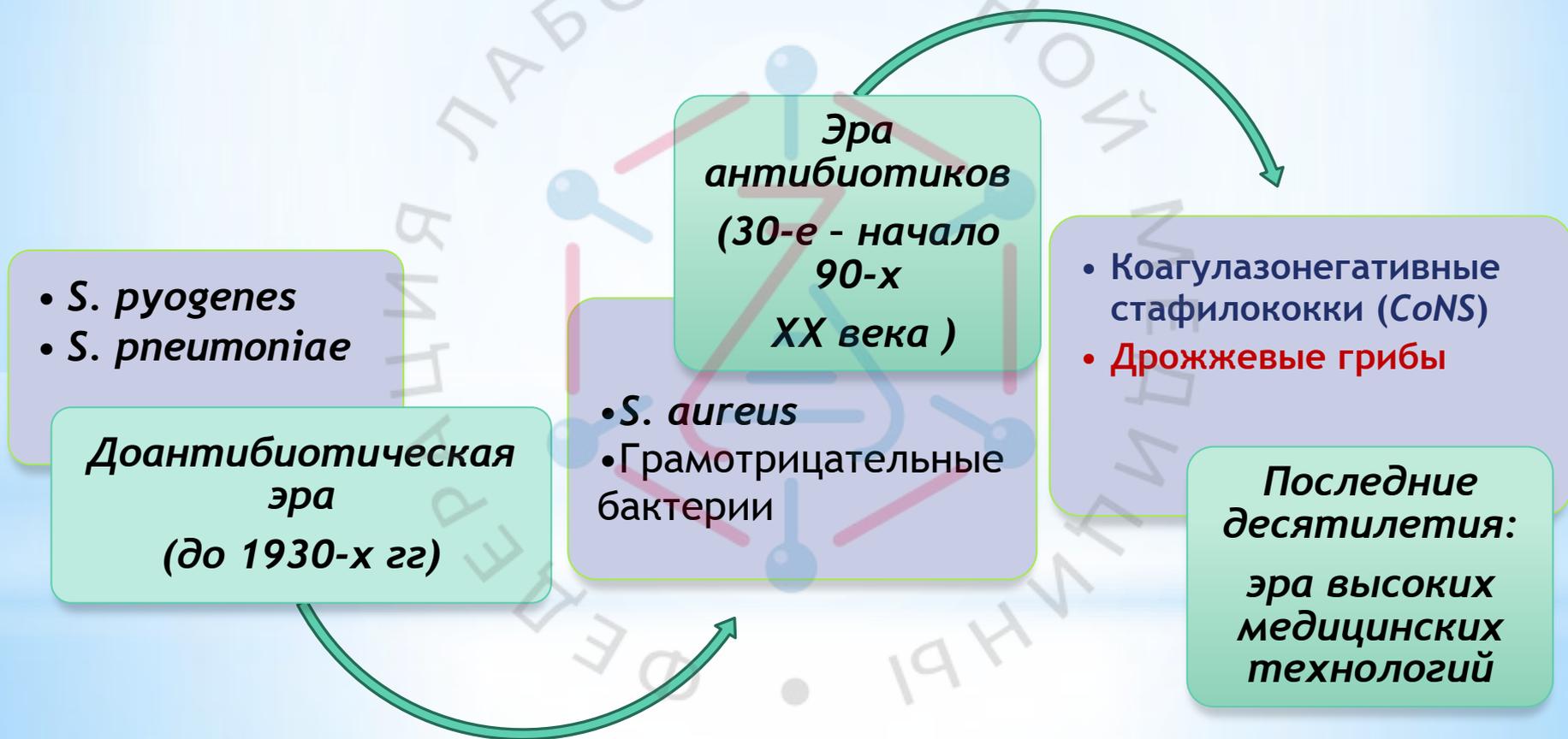
ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства,
гинекологии и перинатологии имени академика В.И. Кулакова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Алгоритм идентификации *Malassezia spp.*, диагностические возможности и средства



д.м.н., Припутневич Т.В.

Этиология нозокомиальных неонатальных инфекций в ОРИТ новорожденных



Инфекции новорожденных

Ранние

S. agalactiae

E. coli

E. faecalis

S. aureus

C. albicans

Поздние

Coagulase negative staphylococci (CoNS)

Klebsiella pneumoniae

MRSA

Грибы (*Candida non-albicans*, *Malassezia spp.*, плесневые грибы)

Факторы риска развития поздних неонатальных инфекций:

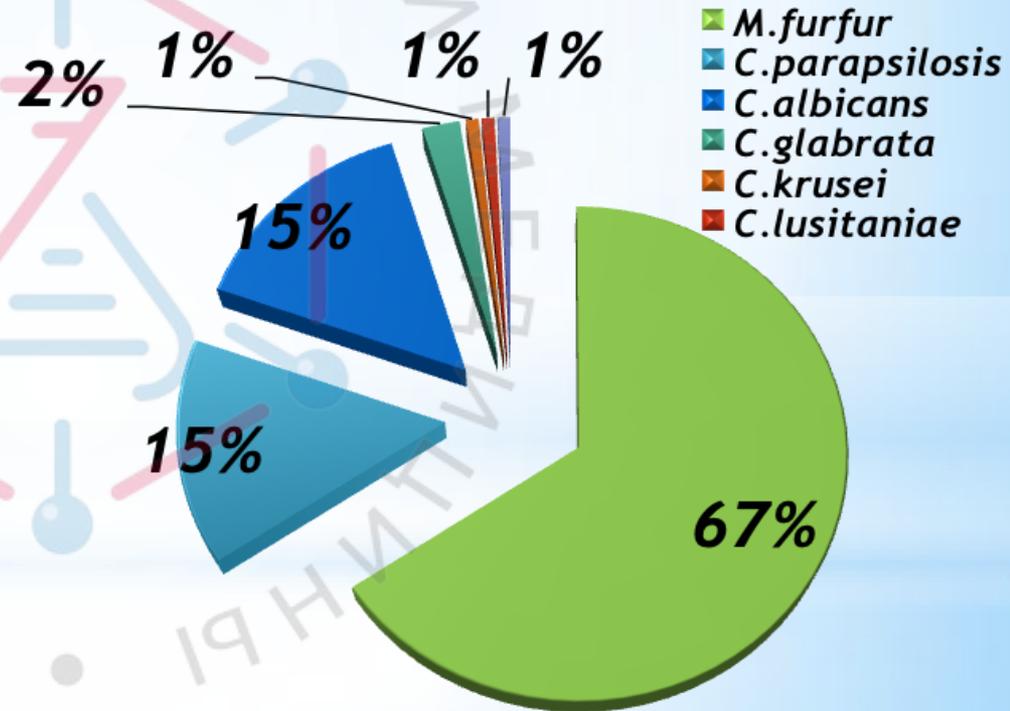
- Новорожденные с низкой и очень низкой массой тела
- Центральный венозный катетер (ЦВК)
- Антибактериальная терапия
- Парентеральное питание
- Абдоминальные операции
- Некротизирующий энтероколит

Динамика видового состава дрожжевых грибов, выделенных у новорожденных ОРВИ

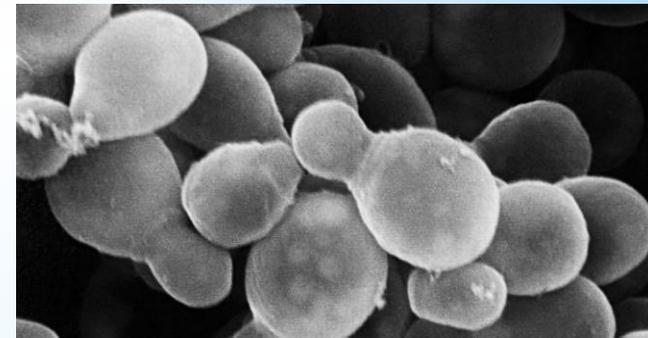


Данные многолетнего микробиологического мониторинга НЦАГиП, 2000-2016гг

Видовой состав всех выделенных грибов в неонатальных отделениях Центра



- *Malassezia spp.* является представителем нормальной микрофлоры человека и некоторых теплокровных животных, а также может быть причиной различных заболеваний
- В настоящее время такие заболевания, как отрубевидный лишай, фолликулит, себорейный дерматит, атопический дерматит распространены повсеместно, а ведущая роль в патогенезе данных заболеваний занимает *Malassezia*
- В мировой литературе описаны случаи фунгемии, вызванной *Malassezia furfur* у пациентов с иммунодефицитом, детей с низкой массой тела при рождении, получающих парентеральное питание липидами
- Основным фактором риска фунгемии является парентеральное питание липидными растворами



Результаты видовой идентификации положительных гемокультур в неонатальных ОРИТ

	ОХРИТН	ОРИТН
<i>CoNS</i>	13	38
<i>S.aureus</i>	0	8
<i>Candida parapsilosis, Candida lusitanae</i>	23	0
<i>M.furfur</i>	9	5
<i>Acinetobacter spp., Pseudomonas aeruginosa</i>	0	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (БЛРС+)	3	0
<i>Enterobacter cloacae</i> (БЛРС+)	1	1

ОХРИТН - Отделение хирургии, реанимации и интенсивной терапии новорожденных
ОРИТН - Отделение реанимации и интенсивной терапии новорожденных

Почему важна ранняя видовая идентификация дрожжевых грибов

Candida albicans

Флуконазол

Candida parapsilosis

Candida krusei

Candida glabrata

Candida lusitanae

Эхинокандины

Malassezia furfur

Амфотерицин

Диагностика грибковых инфекций

- Микроскопия мазков
- Серологические методы (ранние диагностические тесты)
- Культуральная диагностика (посевы крови, ликвора, трахеобронхиального аспирата и др.) с последующей биохимической и/или *MALDI-TOF-MS* идентификацией грибов
- Прямая *MALDI-TOF-MS* идентификация в биологических жидкостях (кровь, моча)
- Молекулярно-генетические методы (ПЦР в режиме реального времени, секвенирование 18(26)S рРНК)

Недостатки существующих методов диагностики грибов для детекции *Malassezia furfur*

- Серологические методы диагностики: для аспергиллеза, криптококкоза, кандидоза

Для *Malassezia spp.* не разработано!

- Молекулярно-генетические методы (ПЦР в режиме реального времени 18(26)SpPHK)

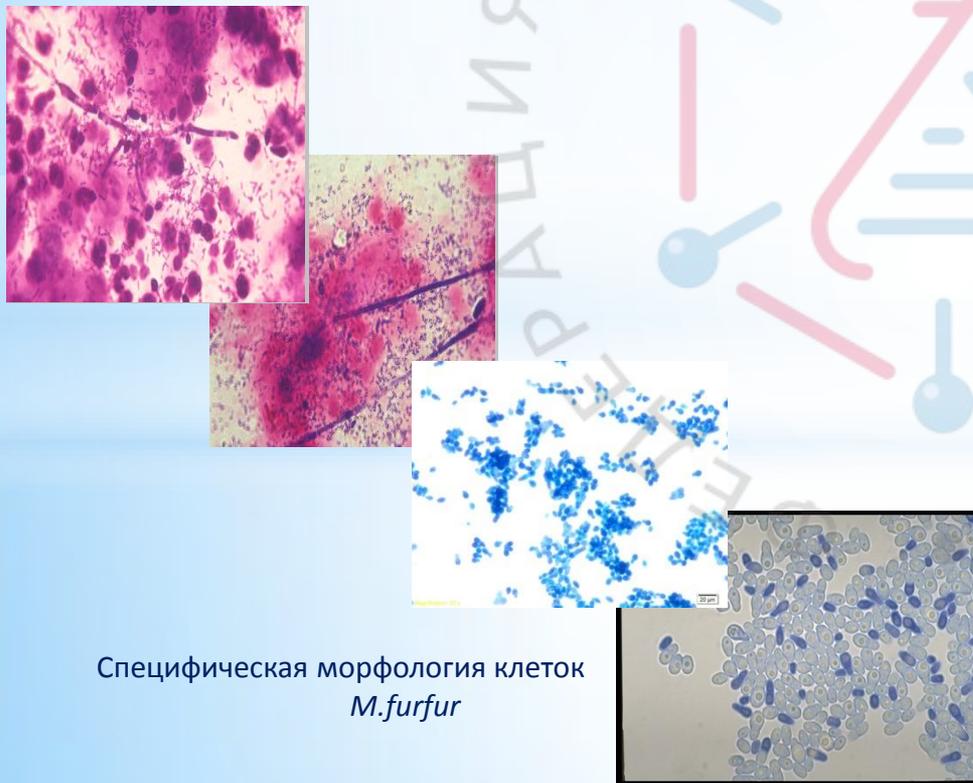
Для *Malassezia spp.* ПЦР-тест системы не разработаны!

- MALDI-TOF-MS идентификация из чистой культуры и прямая и из биологических жидкостей

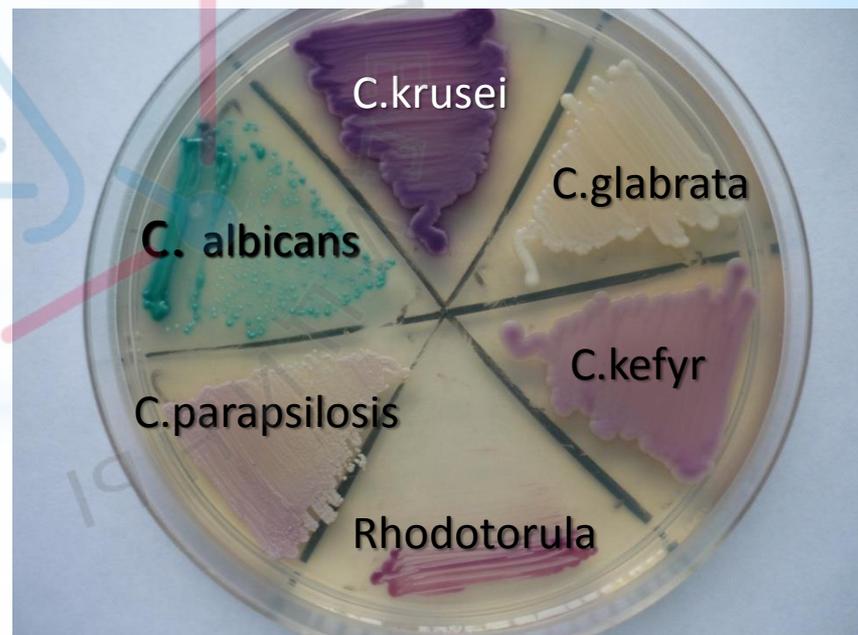
Затруднена - в базе спектров прибора отсутствуют данные на некоторые штаммы!

Методы диагностики грибковых инфекций

Микроскопия мазков со слизистых оболочек и соскобов кожи



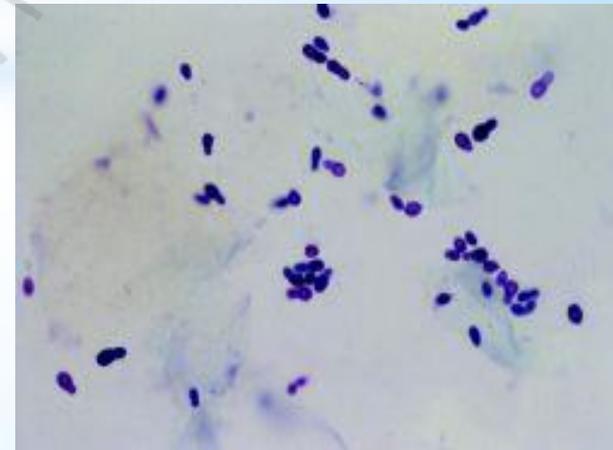
Культуральное исследование



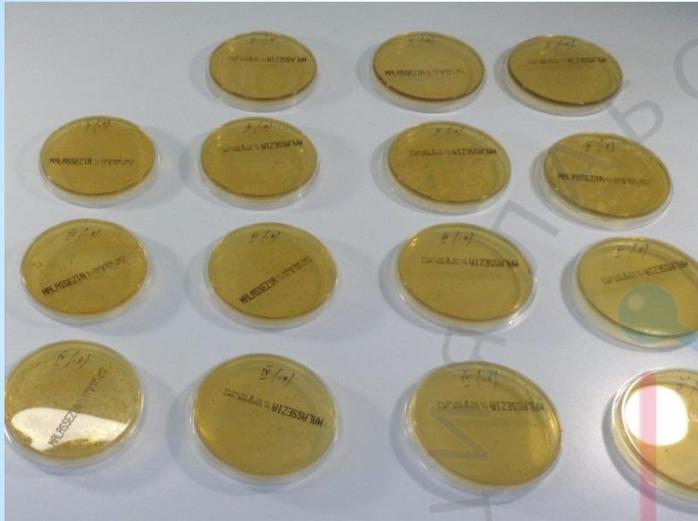
Специфическая морфология клеток
M.furfur

Особенности культивирования *Malassezia furfur*

- особенный метаболизм, для роста грибов необходимо наличие в питательной среде жирных кислот с длиной цепи C12-C24, которые *Malassezia* не способны синтезировать самостоятельно
- отсутствует потребность в углеводах, а в качестве единственного источника углерода могут выступать липиды
- не нуждаются в микроэлементах, витаминах, электролитах и не способны ферментировать сахара
- в качестве единственного источника азота они способны использовать соли аммония (NH_4Cl , $\text{NH}_4\text{H}_2\text{SO}_4$, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$), однако не ассимилируют KNO_3
- успешно ассимилируют мочевину, креатин, креатинин, практически все аминокислоты, за исключением цистеина
- способны расти в диапазоне pH 4,0- 8,0; при значениях pH 1,0-3,0 и 9,0-10,0 рост ингибируется



Среды для культивирования грибов рода *Malassezia*



- среда Леминга-Нотмана (Leeming & Notman)
- среда Сабуро с добавлением оливкового масла
- среда Фергеманна-Фредексона
- модифицированная среда Диксона (mDixon)

!!! Готовые среды для выделения грибов рода *Malassezia* не сертифицированы в России, необходимо приготовление агара по прописи Диксон с добавлением олеиновой кислоты



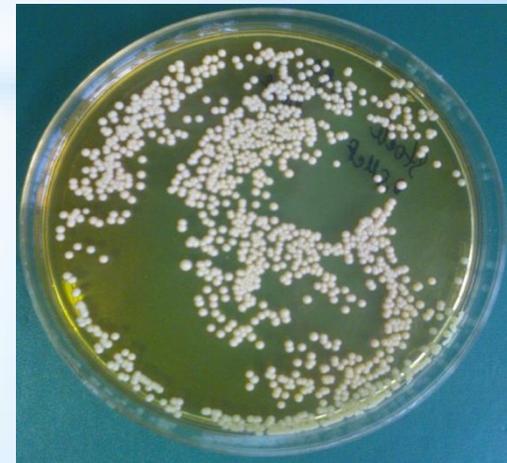
Среда Сабуро

Лактобактагар

Среда Диксона

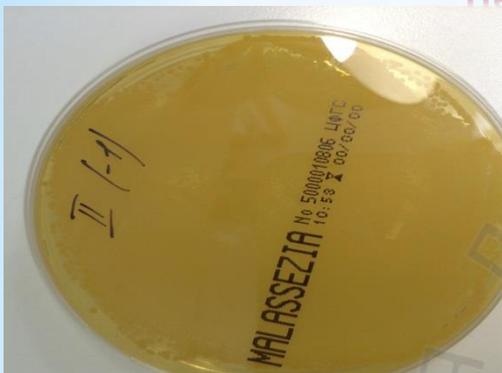
Приготовление агара по прописи Диксон с добавлением олеиновой кислоты :

- рост культуры даже в низких разведениях
- среда оптимальна для длительного хранения (9 мес.) культур *Malassezia spp.*
- сбалансированная питательная среда (в состав среды входят мальтозный экстракт, пептон, бычья желчь, Твин-40, глицерин, олеиновая кислота и агар-агар)
- среда получила широкое распространение в диагностике
- колонии сферической формы, жёлтого цвета, размером 2-4 мм

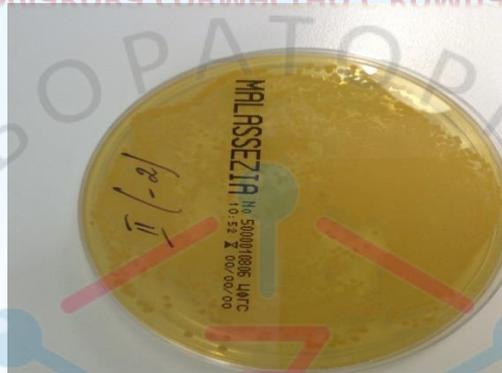


Разработка отечественной готовой среды для *Malassezia furfur*

Центр Кулакова совместно с компанией ГЕМ



10^7



10^6



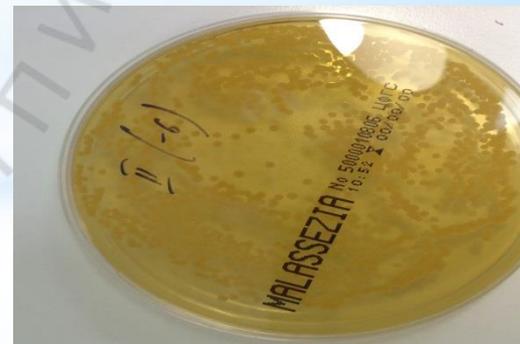
10^5



10^4



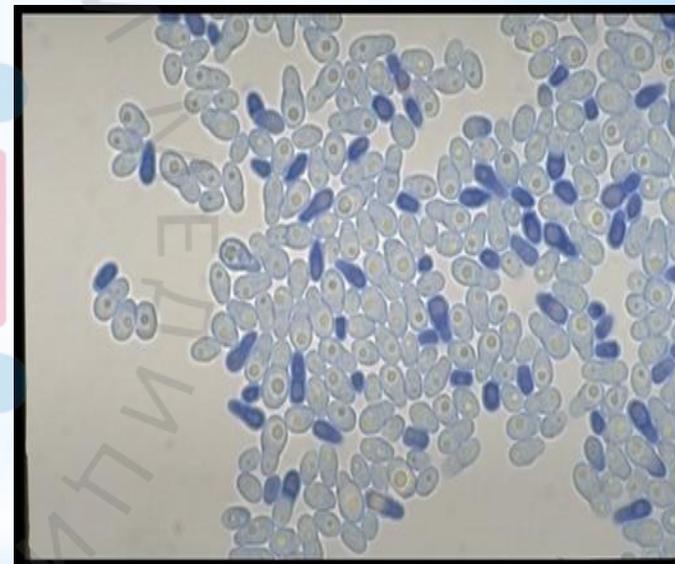
10^3



10^2

Наши дальнейшие планы

- Внедрение в практику микробиологических лабораторий разработанной питательной среды для малацезий.
- Изучение возможности определения чувствительности *M. furfur* к антимикотическим препаратам с использованием разработанной питательной среды и E-теста.
- Разработка и внедрение в практику алгоритма микробиологической диагностики инфекций, вызванных *M.furfur* у новорожденных, пребывающих в ОРИТ.



A collection of approximately 15 petri dishes arranged in a grid-like pattern. Each dish contains a different bacterial culture, showing various colors (orange, green, pink, purple, yellow, red, blue) and growth patterns (streaks, spots, confluent growth). The background is dark, making the colorful cultures stand out.

Спасибо за внимание!