



Курбатова И.В., Ракитина Д.В.

Идентификация плесневых грибов методом MALDI-TOF: подходы и перспективы (обзор литературы)

ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Федерального медико-биологического агентства, 119121, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

В обзоре систематизированы представленные в литературе сведения об адаптации метода MALDI-TOF к идентификации плесневых грибов. Масс-спектрометрическая идентификация бактерий методом MALDI-TOF является «золотым стандартом» в современной лабораторной диагностике. Точность, скорость, простота и невысокая стоимость одного анализа обеспечивают всё более широкое распространение этого метода. Однако применение технологии MALDI-TOF к другим микроорганизмам, в том числе плесневым грибам, затруднено, поскольку прочная стенка клеток грибного мицелия препятствует клеточному лизису и ионизации белков, а разнообразие клеток в культуре (гифы, споры, органы размножения) приводит к разнообразию ионов белков и усложняет получение единого воспроизводимого спектра для изолята. Для преодоления этих трудностей применяются различные методы культивирования, подготовки образцов, получения и обработки спектров. На рынке присутствуют готовые решения в этой области в виде коммерческих систем, однако и они требуют доработки.

Ключевые слова: масс-спектрометрия; MALDI-TOF; плесневые грибы; обзор

Для цитирования: Курбатова И.В., Ракитина Д.В. Идентификация плесневых грибов методом MALDI-TOF: подходы и перспективы (обзор литературы). *Гигиена и санитария*. 2025; 104(4): 503–509. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-4-503-509> <https://elibrary.ru/rmxyec>

Для корреспонденции: Курбатова Ирина Валентиновна, e-mail: IKurbatova@cspfmba.ru

Участие авторов: Курбатова И.В. — концепция обзора, редактирование; Ракитина Д.В. — подбор литературы, написание текста. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи и ответственность за целостность всех её частей.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование проведено в рамках НИР по теме «Разработка унифицированных методов, включающих отбор 8807 проб, для осуществления определения микробиологического и паразитологического загрязнения сточных вод» (шифр «Сточные воды»).

Поступила: 27.08.2024 / Принята к печати: 03.12.2024 / Опубликовано: 30.04.2025

Irina V. Kurbatova, Daria V. Rakitina

Identification of filamentous fungi with MALDI-TOF: methods and perspectives (literature review)

Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation

ABSTRACT

This review addresses various attempts of adaptation of MALDI-TOF method for identification of filamentous fungi. This method has become a golden standard in laboratory diagnostics. Accuracy, simplicity, and low cost per analysis promote making it a widespread technology. However, attempts of applying it to filamentous fungi face many problems. Solid cell wall of fungi mycelium is an obstacle to cell lysis and protein ionization. Heterogeneity of cells in culture — old and young hyphae, conidia etc, provides variety in ion patterns and prevents forming single reproducible spectra for the analyzed isolate. These issues are addressed by various optimizations in methods of cultivation, sampling, protein extraction, spectra recording, and data analysis. Commercial systems exist, offering ready solutions of the problem; however, these systems also require adjustments to be effective in the clinical laboratory practice.

Keywords: mass-spectrometry; MALDI-TOF; filamentous fungi; review

For citation: Kurbatova I.V., Rakitina D.V. Identification of filamentous fungi with MALDI-TOF: methods and perspectives (literature review). *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(4): 503–509. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-4-503-509> <https://elibrary.ru/rmxyec> (In Russ.)

For correspondence: Irina V. Kurbatova, e-mail: IKurbatova@cspfmba.ru

Contribution of the authors: Kurbatova I.V. — concept and design of the study, editing; Rakitina D.V. — literature search, writing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment. The research was carried out within the framework of the research work “Development of unified methods, including sampling, for the determination of microbiological and parasitological contamination of wastewater” (code “Wastewater”).

Received: August 27, 2024 / Accepted: December 3, 2024 / Published: April 30, 2025

Введение

Идентификация микроорганизмов методом масс-спектрометрии основана на регистрации масс-спектров ионов, получаемых из клеточной массы в результате воздействия химических веществ (матрицы) и облучения лазером. Набор этих ионов образуется из клеточных белков и является воспроизводимым и характерным для рода, вида, штамма. Таким образом, получив спектр неизвестного изолята, можно сравнить его со спектрами уже охарактеризованных и по степени сходства спектров найти наиболее родственные изоляту организмы и идентифицировать его. Метод получил название матрично-ассоциированной лазерной десорбционно-ионизационной времяпролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF).

Плюсы MALDI-TOF: уменьшение времени на анализ одного образца, снижение цены, валидированная достоверность, документированные (сохранённые) результаты идентификации, возможность выполнения анализа сотрудником, не имеющим дополнительной подготовки.

Есть примеры того, что MALDI-TOF гораздо эффективней, чем традиционные методы. Например, лучше совпадает с генетической идентификацией по сравнению с микроскопическими методами (99 и 78% совпадений соответственно [1]). Или показывает более высокий процент идентификаций (89%) по сравнению с микроскопией и биохимическими тестами (только 60% изолятов) [2]. Методика MALDI-TOF может использоваться не только для видовой идентификации, но и с целью определения чувствительности к лекарственным препаратам [3], дифференциации токсин-продуцирующих и непродуцирующих штаммов (*Aspergillus*) и выявления региона происхождения возбудителей болезни (отличие Пакистанских штаммов ржавчинного рака пихты *Melampsorella caryophyllacearum* от Индийских) [4]. Однако применение метода лазерной масс-спектрометрии для идентификации плесневых грибов встречает ряд серьёзных препятствий и ограничений. Описанию этих трудностей и методов их преодоления посвящён данный обзор.

Проблемы MALDI-TOF идентификации плесневых грибов

Идентификация плесневых грибов методом MALDI-TOF затруднена из-за нескольких причин [5].

1. Ионизация белков из цельных клеток, хорошо работающая для бактерий и дрожжей, часто неэффективна из-за высокопрочной клеточной стенки, состоящей из глюканов и хитина.

2. Гетерогенность клеток в культуре, присутствие мицелия, спор и органов размножения. Различные клетки содержат разный набор белков и, следовательно, продуцируют различные спектры, из-за чего спектр данной культуры трудно сравнить со спектром культуры из базы данных.

3. В самом мицелии между центром колонии и периферией имеются существенные различия. Более старые клетки, находящиеся в центре, часто производят вторичные метаболиты и пигменты в отличие от молодых недифференцированных клеток, находящихся на периферии колонии. Эффект возраста культуры показан, например, на *Pseudallescheria* и *Scedosporium* — колонии разного возраста демонстрировали разные спектры [6]. Reeve M.A. и соавт. [7] наблюдали сильные изменения спектров образцов из жидкой среды до третьего дня роста, а с третьего по десятый день спектр стабилизировался.

4. Некоторые метаболиты, вырабатываемые клетками грибов, могут подавлять ионизацию белков (например, пигменты). Имеются различные данные о влиянии пигментов на эффективность получения спектров MALDI-TOF. Классическая работа [8] демонстрирует явное ингибирование ионизации белков в присутствии тёмных пигментов *Aspergillus*. Это мнение считается общепринятым, однако в 2015 г. группа Kondori и соавт. не выявила негативного влияния на спектры пигментов меланизированного мицелия *Exophiala dermatitidis* [9].

Культивирование плесневых грибов

При MALDI-TOF-анализе применяют различные методы культивирования плесневых грибов.

Традиционный метод — культивирование на плотных селективных средах, при котором для анализа отбирается преимущественно растущий, молодой край мицелия (растущие гомогенные бесцветные гифы без признаков спороношения). Используются различные среды: агар Сабуро [10–18], агар Сабуро с хлорамфениколом и гентамицином [19, 20], агар с экстрактом солода [6, 7, 14], картофельный агар [7, 15, 17, 18], агар Микосел [17] и др. Недавно на рынке была представлена новая плотная среда IDFP (ID-грибные чашки), разработанная компанией Conidia (Франция). Эта среда, по идее производителя, должна ускорять рост плесневых грибов, а на поверхность агара помещена мембрана, что облегчает сбор мицелия. Исследователи, анализирующие эту среду, отмечают в публикациях лёгкость сбора материала, но не наблюдают ускорения роста грибов. Процент идентификаций при использовании среды IDFP несколько выше, чем на агаре Сабуро [21–23]. Культивирование на плотных средах проводится в течение 1–21 дня (обычно 3–5 дней) при температуре плюс 27–28 °C [15, 16], плюс 30 °C [11, 17, 19], плюс 35 °C [12, 18]. Коммерческая система идентификации BioMerieux Vitek предлагает культивирование именно на плотном агаре.

С целью преодоления перечисленных выше проблем идентификации плесневых грибов и получения одинаковых клеток в культуре (без спороношения, образования пигментов и т. д.) используется схема культивирования в жидком бульоне с перемешиванием. Эта методика требует дополнительного времени и трудозатрат, однако зарекомендовала себя достаточно хорошо, чтобы быть принятой как стандартный протокол при формировании библиотеки спектров Bruker и применяться во многих исследованиях [23–31]. Как правило, используется бульон Сабуро, культуры инкубируют при температуре плюс 28 °C, время роста 24–48 ч.

Культивирование в жидкой среде помогает идентифицировать изоляты, не продуцирующие качественных спектров при росте на агаре, и существенно увеличивает процент достоверно идентифицированных изолятов (с 55 до 78) [15]. Однако есть и работы, описывающие худшие результаты идентификации при использовании бульона (62% изолятов) по сравнению с плотной средой (87%) [32].

Особый метод культивирования был применён Reeve M.A. и соавт. [7]. Они использовали безбелковый бульон Чапека — Докса в объёме 5–10 мкл (засевали спорами), сверху покрывали минеральным маслом. Инкубировали 1–21 день (чаще 10 дней) при температуре плюс 23 °C. Однако этот метод не показал преимуществ в идентификации по сравнению со стандартными культурами на плотном агаре.

Другой метод получения культур [33] был применён для возбудителей мукормикоза. С поверхности культур, выращенных на бульоне Сабуро без перемешивания при температуре плюс 28 °C, собирали плёнчатые мини-колонии. Полученные таким образом спектры существенно отличались от спектров культур из толщи жидкой среды. Как преимущество метода авторы указывали минимизацию загрязнения среды аэрозолями аллергенных продуктов и спорами микромицетов.

Часто рекомендуется культивировать анализируемые образцы в тех же условиях, как и штаммы, входящие в базу данных, поскольку условия культивирования существенно влияют на спектры [34], что приводит к низкой эффективности идентификаций: менее 65% [23], менее 2% [10] и т. д. Reeve M.A. и соавт. [4] сообщают о том, что спектры культур из жидкой и плотной сред были настолько различны, что вызывали сомнение в традиционной гипотезе, согласно которой спектры плесневых грибов основаны на хаускипинг-белках, в основном рибосомных. С другой стороны, Vidal-Acuna и соавт. [27] показали высокую эффективность идентификаций образцов *Aspergillus* с плотных сред при использовании базы данных на основе жидких культур

(до 87–96% с точностью до вида). Об успешном анализе культур с плотных сред с помощью базы данных Bruker MBT Filamentous Fungi Library, составленной на основе культур, выращенных на жидких средах, сообщают K.R. Barker и соавт. [13].

Пробоподготовка образцов

Подготовка биологического материала для MALDI-TOF анализа проводится, как правило, одним из трёх методов: прямым нанесением на мишень, экстракцией белков на мишени или методом предварительной экстракции белков.

Для большинства образцов при MALDI-TOF используется метод прямого нанесения: клеточная масса наносится на металлическую мишень, покрывается раствором матрицы (раствор α -циано-4-гидроксикоричной кислоты или HCCA в 50%-м растворе ацетонитрила и 2,5%-м растворе трифторуксусной кислоты в воде), а затем ионизация белков проводится на цельных клетках под воздействием лазера. При необходимости экстракцию белков проводят непосредственно на мишени обработкой 80%-й муравьиной кислотой (именно такой вариант рекомендуется в протоколе к системе Andromas). Этот метод весьма эффективен для бактерий и дрожжей, идентификация достигает до 98% [34] как с применением 80%-й муравьиной кислоты, так и без. Однако во многих случаях для плесневых грибов не удаётся получить ионизацию из-за того, что лизис клеток на мишени не происходит из-за наличия у них прочной стенки, состоящей из глюканов и хитина.

Для преодоления этого препятствия разработан метод предварительной экстракции белков [34]. Он заключается в следующем. Мицелий 0,2–0,5 см в диаметре отбирают с плотного агара, не задевая среды (с переднего края роста), или трижды отмывают от жидкой среды деионизированной водой методом центрифугирования в течение 1–5 мин при 13 000 g. Затем мицелий обрабатывают для инактивации 1 мл 70%-го этанола, собирают центрифугированием (1–5 мин при 13 000 g), подсушивают в течение 5–10 мин при комнатной температуре. Осадок обрабатывают 80%-й муравьиной кислотой (10–50 мкл) для клеточного лизиса и перевода белков в растворимую форму, затем добавляют ацетонитрил до 50%. Полученный лизат наносят на мишень масс-спектрометра и покрывают раствором матрицы. Метод предварительной экстракции позволяет получить спектры от образцов, не дающих спектров при прямом нанесении [18], или повысить процент идентифицированных штаммов: с 48 до 63% (с точностью до вида [11]), с 49 до 100% (для дерматофитов [35]). Как сообщают Wilson D.A. и соавт. [36], предварительная экстракция белков повышает процент и достоверность идентификаций даже для дрожжей с 49 до 88%. Метод считается настолько эффективным, что компания Bruker внесла его в стандартный протокол определения плесневых грибов и предлагает использовать при обработке образцов для создания собственной базы спектров. Такая же экстракция рекомендуется в системе VITEK MS. Метод применялся при создании высокоэффективной базы NIH [10]. Дополнительным плюсом метода является равномерное покрытие биоматериалом поверхности мишени, что облегчает автоматическое снятие спектров.

В описанном виде метод предварительной экстракции занимает 15–20 мин, не очень удлинняя процедуру идентификации. Однако в ряде работ советуют продлить стадии инкубации с 70%-м этанолом, 80%-й муравьиной кислотой и в 50%-м ацетонитриле до 10–15 мин [13]. По мнению авторов, удлинённая инкубация приводит к более полному лизису клеток и растворению белков, что даёт более стабильные результаты идентификации с более высокими показателями достоверности.

Для повышения эффективности метода в ряде случаев дополнительно применяли различные способы разрушения мицелия. Чаще других использовали механическую гомогенизацию мицелия при помощи циркониевых или стеклянных

шариков в течение 5–15 мин в 250 мкл 70–100%-го этанола [10, 18, 34] с последующим центрифугированием и экстракцией белков из осадка муравьиной кислотой и ацетонитрилом. Ультразвуковая обработка применяется гораздо реже, например, в ультразвуковой бане (15 мин в присутствии 80%-й муравьиной кислоты) [37]. При этом использование ультразвукового и механического методов разрушения мицелия не давало существенного повышения процента идентификаций на платформе Vitek (75–79%) [38].

Есть вариант упрощённой экстракции белков, когда биоматериал смешивают с насыщенным раствором матрицы (в 60%-м ацетонитриле и 2,5%-м растворе трифторуксусной кислоты), а затем полученный лизат наносят на мишень [4].

Сравнение различных методов пробоподготовки говорит о целесообразности применения как культивации в жидкой среде, так и предварительной экстракции. Сочетание этих методов позволяет повысить процент идентификаций с точностью до вида с 48 до 76% [11], с 55 до 78% [15]. С другой стороны, есть сообщения, что полная экстракция по Bruker (83% идентификаций с точностью до вида, всего 95% до рода) не давала существенного эффекта по сравнению с инкубацией в 70%-й муравьиной кислоте в течение 10 мин (76% до вида, 95% до рода) [12].

Повторности образцов

Исследователи сходятся на том, что образцы плесневых грибов имеет смысл наносить на мишень MALDI-TOF в повторностях. Например, авторы [19, 23] считают целесообразным нанесение образца на четыре ячейки и подтверждают это результатами многочисленных испытаний. При этом учитывается самый высокий из полученных показателей достоверности идентификации при совпадении вида и рода.

Также отмечается, что биолого-механический повтор (повторное нанесение того же образца на новую мишень, повторная экстракция белков из того же образца, если остался неиспользованный материал, повторный отбор мицелия с чашки, культивация двух повторностей в жидкой среде) нередко позволяет получить спектры более высокого качества и определить изолят, который не удалось идентифицировать с первого раза [39].

Методы измерения (снятия спектров)

Спектры для MALDI-TOF-идентификации микроорганизмов получают в положительном режиме – регистрируют положительно заряженные ионы.

На платформе Bruker используется масс-спектрометр Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics). Частота лазера 20 Гц, диапазон масс 2–20 кДа, при этом пики для анализа выбираются в окне 3–15 кДа. По умолчанию в спектр суммируются 240 выстрелов лазера из шести точек на мишени, но для проблемных образцов рекомендуется суммировать 1000 выстрелов с отбором наилучших спектров вручную.

В системе Vitek MS v3.0 измерения проводят на масс-спектрометре Shimadzu AXIMA. Спектры снимают при частоте лазера 50 Гц с ускоряющим напряжением 20 кВ и временем отложенной экстракции 200 нс. Диапазон масс составлял 2–20 кДа. Для каждого спектра суммировали 500 выстрелов лазера, собранные в пяти точках на мишени.

Для бактерий и дрожжей снятие спектров производится в автоматическом режиме, однако для плесневых грибов это не всегда работает. Мицелий в отличие от бактериального материала не удаётся распределить равномерно по мишени, зачастую луч лазера попадает между клетками, и спектры не генерируются. Есть случаи, когда в половине образцов автоматический съём спектров не удаётся [23]. Тогда прибегают к ручному отстрелу спектров, выбирая точку приложения лазера и контролируя качество получаемого спектра для каждой серии выстрелов. В итоговый спектр суммируют только спектры достаточного качества (наличие большого количества хорошо различимых ионных пиков).

Некоторые исследователи применяют улучшения метода на уровне режима съёмки спектров — изменения интенсивности, расширение диапазона и др. Серьёзные изменения метода съёмки спектров предлагает метод PEAK MALDI [14]. Изменялись следующие параметры масс-спектрометра: существенно увеличивалось число лазерных выстрелов (до 10 000), минимальное значение сигнала уменьшали до трёх единиц, был включён рандомизированный поиск точки для лазерного выстрела. Использовалась предварительная экстракция белков. Новые параметры (при 2000 выстрелов) позволили увеличить как число пиков, так и соотношение «сигнал — шум» и показатели достоверности идентификации для образцов *Penicillium*.

Обработка результатов

Количественный показатель достоверности идентификации. Масс-спектрометр MALDI-TOF регистрирует набор сигналов от ионов, пролетающих от образца до детектора ионов. Получается набор сигналов, для которых вычисляют сравнительную интенсивность и соотношение массы иона к его заряду по времени, за которое ион пролетает времяпролётную трубу. Стандартный алгоритм обработки результатов анализа заключается в том, что сырые масс-спектры конвертируются (нормализацией, вычитанием базовой линии, отбором пиков и т. д.) в списки пиков (100 максимальных пиков для образца). Полученные списки пиков используют для сравнения образцов с референтными обобщёнными спектрами, записанными в базе данных.

При сравнении набора пиков измеренного образца с базой данных вычисляют скор — показатель сходства образца с каждой записью в базе, числовое выражение достоверности идентификации. Скор в системе Bruker учитывает долю совпадающих пиков от всех пиков образца, от всех пиков данной записи в базе, относительные интенсивности совпадающих пиков. Полученное значение умножают на 1000 и берут десятичный логарифм. Максимальное значение итогового скор равно 3 (показатель при сравнении спектра с самим собой). Для бактерий и дрожжей скор достоверной идентификации вида должен быть ≥ 2 , а показатель от 1,7 до 1,99 обозначает идентификацию с точностью до рода.

В ряде работ исследователям удаётся достигать соответствия требованиям скор, принятым для бактерий и дрожжей [13]. Вместе с тем показано, что для filamentных грибов снижение значения скор достоверности до 1,7 (а не 2, как для бактерий) приводит к более высокому проценту (в среднем на 20–30%) идентифицированных изолятов, при этом точность определения не снижается [11, 23, 26, 35]. Это же рекомендуется протоколом Bruker.

На платформе bioMérieux Vitek при сравнении спектра образца с записями в базе данных алгоритм вычисляет процент вероятности (доверительное значение), выражающий сходство в терминах наличия (отсутствия) определённого пика. Полное совпадение выражается как 99,9%. Достоверным считается сходство, выражаемое как более 60%. Такие же требования сохраняются при идентификации образцов плесневых грибов.

Базы данных

Коммерческие базы. В настоящее время четыре платформы MALDI-TOF лицензированы в Европе для диагностики filamentных грибов в клинических лабораториях: Bruker Biotyper (Bruker Daltonics, Германия), Vitek MS (bioMérieux, Франция) (единственная система, лицензированная для плесневых грибов в США), Axima@Saramis (Shimadzu/AnagnosTec, Германия) и Andromas System (Франция).

Фирма Bruker Daltonics представляет на рынок уже третью версию MBT HT Filamentous Fungi Library как часть платформы MALDI Biotyper, одобренной FDA (Food and Drug Administration) в США для применения в диагностических целях. Она включает 222 вида плесневых грибов из 52

родов, но в ряде случаев это скорее группы видов, так как база отмечает невозможность достоверного различия между несколькими видами. Например, группа *Aspergillus flavus/oryzae* мало отличается от группы *Aspergillus minisclerotigenes/parasiticus*. Для формирования базы спектров использовали 24-, 48-часовые культуры в жидкой среде и полную предварительную экстракцию белков. При валидации в нескольких лабораториях база данных Filamentous Fungi (разных версий) демонстрировала высокий процент идентификаций: 99% до вида и 100% до рода [40], 84% до рода и 79% до вида (скор выше 1,7) [26]. Есть варианты программного обеспечения, позволяющие пользователю создавать свои базы данных.

В базе данных bioMérieux VITEK MS V3 содержится 44 вида (видовых группы) плесневых грибов из 24 родов, в новую версию базы (VITEK MS V3.2.0 IVD CE-marked database) добавлены 55 новых видов грибов. Платформа получила одобрение FDA. Ранее использовавшаяся bioMérieux база Спектральная архивирующая и микробно-идентифицирующая система (SARAMIS), разработанная AnagnosTec (Германия), была переименована в VITEK MS (RUO — research use only, только для исследований). База VITEK MS Plus (RUO) объединяет базы VITEK MS и SARAMIS и позволяет пользователю создавать собственную базу данных. С использованием базы VITEK MS Knowledge Base version 3.0 разные группы получали значительно различающиеся показатели эффективности идентификаций до вида: 91% [39], 68,8% [41], 52% [42]. В работе McMullen AR и соавт. (2016) [41] дополнительный анализ в системе SARAMIS увеличивает число идентификаций до 77%.

В базу данных Andromas (Andromas SAS, Франция) включены только представители *Aspergillus* spp. При использовании быстрой экстракции муравьиной кислотой эта база показывает высокий процент идентификаций для представителей этого рода — 98% [43].

В последние годы на рынок вышел целый ряд китайских масс-спектрометрических систем. Из них сведения о базе для идентификации плесневых грибов удалось найти только для Autof MS 1000 (Autobio Diagnostics, Китай). Сообщается о высокой эффективности этой базы: 95% идентифицировано с точностью минимум до рода, 76% — с точностью до вида [12], но в настоящее время печатных работ на эту тему очень мало.

Следует отметить, что эффективность коммерческих баз данных неравномерна для разных групп плесневых грибов. Например, с использованием базы данных Vitek в работе [41] были идентифицированы корректно 99% изолятов *Aspergillus*, но только 65% *Fusarium*. Внутри одного рода эффективность идентификации также может сильно различаться для разных видов, например, от 100% для *Trichophyton rubrum* до 38% *Trichophyton violaceum* [39]. Противоречивые результаты получены и при исследовании меланизированных результатов клинических изолятов грибов. В одной работе и база Bruker, и внутрилабораторная показывают максимальную идентификацию — 100% [44]. В то же время другое исследование [45] выявило низкую эффективность базы Bruker для идентификации данной группы грибов (25%).

Сравнение коммерческих баз друг с другом. Немногие исследования сравнивают коммерческие базы напрямую. Это затруднено в первую очередь невозможностью кросс-платформенного сравнения — базы Vitek и Bruker могут быть использованы только для спектров, снятых в соответствующих системах. Экспорт спектров из одной системы в другую выполнить очень сложно, однако некоторые сравнительные данные есть. Например, при сравнении баз Vitek и Bruker [46] только четверть анализируемых изолятов была идентифицирована в обеих системах (50% в Vitek и 77% в Bruker). В работе [47] было показано, что для системы Bruker характерно более строгое определение. При сравнении тех видов, которые имелись в двух базах данных, Vitek MS идентифицировал больший процент (85 и 8% определены неверно) в сравнении с Bruker Biotyper (64%, без ошибочных определений). Из отсутствующих в базах

данных видов Bruker Biotyper не интерпретировал ошибочно ни один, в то время как Vitek MS ошибся в 36% случаев.

Внутрилабораторные базы. Собственные базы спектров изначально создавались на основе системы Bruker. Первая внутрилабораторная база плесневых грибов была создана Cassagne и соавт. [34]. В неё вошли спектры для 143 штаммов, и 87% идентификаций имели точность до вида. Следующая база, разработанная Lau и соавт. в 2013–2019 гг. [10, 48] (публично доступная база NIH (National Institutes of Health, Bethesda, MD), охватывала 294 штамма из 76 родов и 152 видов, выращенных на плотной среде с предварительной экстракцией белков, и идентифицировала 89% изолятов с точностью до вида со скором 2 и больше.

С тех пор разрабатывалось много внутрилабораторных баз, как на основе Bruker, так и систем VITEK MS/SARAMIS, показывавших разную эффективность: 95% идентификаций до вида [49]; база *Aspergillus*, повышающая идентификацию криптофических видов *Aspergillus* с 31 до 91% [50]. База VITEK MS V2.0.0 fungal knowledge base, дополненная дерматофитами, даёт до 95% идентификации [1, 51]. Becker P.T. и соавт. [23] создали собственную базу клинических изолятов (472 вида и 147 родов), а позднее — онлайн-приложение для идентификации MALDI-TOF спектров [2].

Самая впечатляющая база — платформа MSI, имеющая веб-приложение со свободным доступом, была разработана Normand A.C. и соавт. [19]. Вначале она содержала 11 851 спектр (938 видов и 246 родов), затем пополнилась, что позволило достичь идентификации 87% изолятов со скором выше 1,7. Спектры получали от культур, выращенных на плотной среде Сабуро в течение 48 и более часов, использовали предварительную экстракцию белков с удлинённой инкубацией.

Внутрилабораторные базы эффективны для своих задач. Часто собственные базы создаются не для всего спектра плесневых грибов, а для отдельных групп. Один из примеров этого — дерматофиты. С использованием базы Bruker процент идентификации невелик, однако внутрилабораторные базы на этой платформе весьма эффективны. База [52] давала идентификацию 97% изолятов (скор 1,7). Группа Da Cunha применяла метод прямого нанесения, и их база позволяла идентификацию 85% клинических изолятов дерматофитов при высокой точности (97% соответствовало генетической идентификации) [53].

Fusarium зачастую идентифицируется плохо из-за многих криптофических (или филогенетически близкородственных) видов и атипичных изолятов. Собственная база на основе Биотайпера позволила [54] идентифицировать 83% на уровне вида со скором больше 2. При этом авторы объединяли виды в один комплекс и считают неважным различие близкородственных видов.

Максимум возможностей коммерческой базы — идентификация до вида, однако внутрилабораторные базы способны на большее. Например, Dolatabadi и соавт. создали собственную базу высокой точности, благодаря которой удаётся дифференцировать трудно различимые варианты вида *Rhizopus arrhizus*, однако во многом это обусловлено и небольшим размером базы — только 30 штаммов двух видов *Rhizopus* [55].

Внутрилабораторные базы зачастую эффективнее коммерческих. Ранние версии Bruker MBT Filamentous Fungi Library значительно уступали лабораторным в процентах идентифицированных изолятов. База NIH [10] давала 89% идентификаций, а база Bruker — 16% с точностью до вида. В анализе [56] собственная база дерматофитов на основе системы Bruker давала 55% идентификаций со скором 2 и 90% со скором 1,7; FilFungi Library — 14 и 52% соответственно.

Можно было бы объяснить это небольшим объёмом ранних версий базы данных, но и в более поздних версиях разница была достаточно существенной и по-прежнему в пользу лабораторных баз. В коллекции изолятов, где база MSI [19] позволяла идентифицировать 87%, база Bruker

обеспечивала всего 39,8%. Анализ коллекции *Mucorales*, выполненный [57], показал идентификацию с помощью Bruker FilFungi Library на уровне 50% до вида, 67% до рода, а после добавления к этой библиотеке собственной базы — 81 и 100% соответственно. В работе Honsig [11] лабораторная база повышала процент идентификаций более чем на 20%. Сравнение базы, созданной [23], и библиотеки Bruker показало идентификацию 92,2% изолятов со скором выше 1,7 для собственной базы и 15% таких идентификаций для Bruker.

Масштабное сравнение коммерческой базы Bruker MBT Filamentous Fungi Library с двумя общедоступными библиотеками NIH и MSI было проведено [17]. Наиболее высокий процент идентификаций до вида показала MSI (72%) в сравнении с NIH (20%) и Bruker (14%). При этом корректность идентификаций была сравнимой (95–98% совпадало с результатами генетического анализа).

Для конкретных групп процент идентификаций может отличаться: *Aspergillus* (своя база 93%, Bruker 69%), *Fusarium* (своя база 84%, Bruker 42%), *Scedosporium* (своя база 94%, Bruker 18%) [58]. Другой пример [10] — база NIH в сравнении с Bruker: *Aspergillus* (NIH 93%, Bruker 69%), *Fusarium* (NIH 84%, Bruker 42%), *Scedosporium* (NIH 94%, Bruker 18%). В анализе Zvezdanova M.E. и соавт. [18] процент идентификаций против базы Bruker был низким в целом (40% до рода), но высоким для отдельных представителей (80% *Fusarium* с точностью до вида, 100% *Mucor circinelloides* до вида). При этом собственная база обеспечивала идентификацию 91% изолятов до вида и 100% до рода.

Всё вышеописанное приводит к выводу о целесообразности создания собственной базы данных в аналитической (клинической) лаборатории. Показательно, что большинство авторов строят свои базы, а не используют чужие.

Требования к созданию внутрилабораторной базы данных. Спектры для включения в базу данных необходимо снимать с использованием корректной калибровки точности, охватывающей используемый диапазон масс. В работах группы Lau A.F. и соавт. [10] предписывают использование спектров от четырёх биологических и десяти технических повторов одного изолята. Необходимо проводить предварительную оценку качества спектров перед добавлением их к суммированию для создания референтного спектра, вносимого в базу. Спектр должен включать минимум 25 пиков с разрешением выше 400 и 2 пика с разрешением выше 500. Normand A.C. и соавт. [19] показали, что идентификация существенно улучшалась при повышении числа изолятов в базе для каждого вида (минимум до трёх) и числа референтных спектров для изолята (до четырёх), в том числе после культивирования на разных средах. Напротив, число сырых спектров, суммированных для создания референтного спектра, входящего в базу данных, не оказывало существенного влияния (от 40 до 10 или 4). Система Bruker требует наличия 20 спектров для создания записи в базе данных (референтного спектра).

Заключение

На основании выполненного аналитического обзора установлено, что в большинстве случаев применяется следующий алгоритм использования MALDI-TOF при идентификации плесневых грибов: начинать с выращивания на плотной среде и прямого нанесения на мишень в повторностях (с применением муравьиной кислоты). При неудаче в автоматической съёмке спектров снимать вручную, суммируя 1000 выстрелов лазера. Считать достоверным скор выше 1,7 (для Bruker). Неидентифицированные культуры подвергать предварительной экстракции белка. В случае неудачи следует подвергать изоляты культивированию в жидком бульоне и предварительной экстракции белка (с продлённой инкубацией на всех этапах). Если получены качественные спектры, но идентификации не происходит, необходимо проводить генетическую идентификацию и добавлять спектры в собственную базу данных.

Литература

(п.п. см. 1–32, 34–58 References)

33. Рябинин И.А., Васильева Н.В., Борзова Ю.В. Характеристика сериновой протеазы *Syncephalastrum racemosum* Cohn, 1886. *Проблемы*

медицинской микологии. 2020; 22(2): 50–5. <https://doi.org/10.24412/1999-6780-2020-2-50-55> <https://elibrary.ru/ojvypis>

References

- Nenoff P., Erhard M., Simon J.C., Muylowa G.K., Herrmann J., Rataj W., et al. MALDI-TOF mass spectrometry – a rapid method for the identification of dermatophyte species. *Med. Mycol.* 2013; 51(1): 17–24. <https://doi.org/10.3109/13693786.2012.685186>
- Becker P., Normand A.C., Vanantwerpen G., Vanrobaeys M., Haesendonck R., Vercammen F., et al. Identification of fungal isolates by MALDI-TOF mass spectrometry in veterinary practice: validation of a web application. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2019; 31(3): 471–4. <https://doi.org/10.1177/1040638719835577>
- Giordano A.L.P.L., Pontes L., Beraquet C.A.G., Lyra L., Schreiber A.Z. Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry azole susceptibility assessment in *Candida* and *Aspergillus* species. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 2023; 118: e202013. <https://doi.org/10.1590/0074-02760220213>
- Reeve M.A., Buddie A.G., Pollard K.M., Varia S., Seier M.K., Offord L.C., et al. A highly-simplified and inexpensive MALDI-TOF mass spectrometry sample-preparation method with broad applicability to microorganisms, plants, and insects. *J. Biol. Methods.* 2018; 5(4): e103. <https://doi.org/10.14440/jbm.2018.261>
- Sanguinetti M., Posteraro B. Identification of molds by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 55(2): 369–79. <https://doi.org/10.1128/JCM.01640-16>
- Coulibaly O., Marinach-Patrice C., Cassagne C., Piarroux R., Mazier D., Ranque S. *Pseudallescheria*/*Scedosporium* complex species identification by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Med. Mycol.* 2011; 49(6): 621–6. <https://doi.org/10.3109/13693786.2011.555424>
- Reeve M.A., Bachmann D. MALDI-TOF MS protein fingerprinting of mixed samples. *Biol. Methods. Protoc.* 2019; 4(1): bpz013. <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpz013>
- Buskirk A.D., Hettick J.M., Chipinda I., Law B.F., Siegel P.D., Slaven J.E., et al. Fungal pigments inhibit the matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry analysis of darkly pigmented fungi. *Anal. Biochem.* 2011; 411(1): 122–8. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2010.11.025>
- Kondori N., Erhard M., Welinder-Olsson C., Groenewald M., Verkley G., Moore E.R. Analyses of black fungi by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS): species-level identification of clinical isolates of *Exophiala dermatitidis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2015; 362(1): 1–6. <https://doi.org/10.1093/femsle/fnu016>
- Lau A.F., Drake S.K., Calhoun L.B., Henderson C.M., Zelazny A.M. Development of a clinically comprehensive database and a simple procedure for identification of molds from solid media by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2013; 51(3): 828–34. <https://doi.org/10.1128/JCM.02852-12>
- Honsig C., Selitsch B., Hollenstein M., Vossen M.G., Spettel K., Willinger B. Identification of filamentous fungi by MALDI-TOF mass spectrometry: evaluation of three different sample preparation methods and validation of an in-house species cutoff. *J. Fungi (Basel).* 2022; 8(4): 383. <https://doi.org/10.3390/jof8040383>
- Ao K., Li X., Zhang W., Chen Z., Liu Y., Shu L., et al. Evaluation of the Autofms1000 mass spectrometry for rapid clinical identification of filamentous fungi. *BMC Microbiol.* 2023; 23(1): 228. <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02968-w>
- Barker K.R., Kus J.V., Normand A.C., Gharabaghi F., McTaggart L., Rotstein C., et al. A practical workflow for the identification of *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucorales* by MALDI-TOF MS: database, medium, and incubation optimization. *J. Clin. Microbiol.* 2022; 60(12): e0103222. <https://doi.org/10.1128/jcm.01032-22>
- Nellessen C.M., Nehl D.B. An easy adjustment of instrument settings ('Peak MALDI') improves identification of organisms by MALDI-TOF mass spectrometry. *Sci. Rep.* 2023; 13(1): 15018. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-42328-2>
- Fissel J.A., Holdren-Serrell C.K., Memon W., Zhang S.X. Performance of a matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry testing algorithm for the rapid identification of clinical filamentous molds. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2022; 12: 915049. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.915049>
- Gómez-Velázquez J.C., Loaiza-Díaz N., Norela Hernández G., Lima N., Mesa-Arango A.C. Development and validation of an in-house library for filamentous fungi identification by MALDI-TOF MS in a clinical laboratory in Medellín (Colombia). *Microorganisms.* 2020; 8(9): 1362. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091362>
- Stein M., Tran V., Nichol K.A., Lagacé-Wiens P., Pieroni P., Adam H.J., et al. Evaluation of three MALDI-TOF mass spectrometry libraries for the identification of filamentous fungi in three clinical microbiology laboratories in Manitoba, Canada. *Mycoses.* 2018; 61(10): 743–53. <https://doi.org/10.1111/myc.12800>
- Zvezdanova M.E., Escibano P., Ruiz A., Martínez-Jiménez M.C., Peláez T., Collazos A., et al. Increased species-assignment of filamentous fungi using MALDI-TOF MS coupled with a simplified sample processing and an in-house library. *Med. Mycol.* 2019; 57(1): 63–70. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx154>
- Normand A.C., Becker P., Gabriel F., Cassagne C., Accoceberry I., Gari-Toussaint M., et al. Validation of a new web application for identification of fungi by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 55(9): 2661–70. <https://doi.org/10.1128/JCM.00263-17>
- Heireman L., Patteet S., Steyaert S. Performance of the new ID-fungi plate using two types of reference libraries (Bruker and MSI) to identify fungi with the Bruker MALDI Biotyper. *Med. Mycol.* 2020; 58(7): 946–57. <https://doi.org/10.1093/mmy/myz138>
- Jeraldine V.M., Wim L., Ellen V.E. A comparative study for optimization of MALDI-TOF MS identification of filamentous fungi. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 2023; 42(10): 1153–61. <https://doi.org/10.1007/s10096-023-04652-3>
- Robert M.G., Romero C., Dard C., Garnaud C., Cognet O., Girard T., et al. Evaluation of ID fungi plates medium for identification of molds by MALDI Biotyper. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(5): e01687-19. <https://doi.org/10.1128/JCM.01687-19>
- Becker P.T., de Bel A., Martiny D., Ranque S., Piarroux R., Cassagne C., et al. Identification of filamentous fungi isolates by MALDI-TOF mass spectrometry: clinical evaluation of an extended reference spectra library. *Med. Mycol.* 2014; 52(8): 826–34. <https://doi.org/10.1093/mmy/myu064>
- Riat A., Hinrikson H., Barras V., Fernandez J., Schrenzel J. Confident identification of filamentous fungi by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry without subculture-based sample preparation. *Int. J. Infect. Dis.* 2015; 35: 43–5. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.04.013>
- Wilkendorf L.S., Bowles E., Buil J.B., van der Lee H.A.L., Posteraro B., Sanguinetti M., et al. Update on matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry identification of filamentous fungi. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(12): e01263-20. <https://doi.org/10.1128/JCM.01263-20>
- Schulthess B., Ledermann R., Mouttet F., Zbinden A., Bloemberg G.V., Böttger E.C., et al. Use of the Bruker MALDI Biotyper for identification of molds in the clinical mycology laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(8): 2797–803. <https://doi.org/10.1128/JCM.00049-14>
- Vidal-Acuña M.R., Ruiz-Pérez de Pipaón M., Torres-Sánchez M.J., Aznar J. Identification of clinical isolates of *Aspergillus*, including cryptic species, by matrix assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *Med. Mycol.* 2018; 56(7): 838–46. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx115>
- Paul S., Singh P., Rudramurthy S.M., Chakrabarti A., Ghosh A.K. Matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry: protocol standardization and database expansion for rapid identification of clinically important molds. *Future Microbiol.* 2017; 12: 1457–66. <https://doi.org/10.2217/fmb-2017-0105>
- Li Y., Wang H., Hou X., Huang J.J., Wang P.C., Xu Y.C. Identification by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and antifungal susceptibility testing of non-aspergillus molds. *Front. Microbiol.* 2020; 11: 922. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00922>
- Park J.H., Shin J.H., Choi M.J., Choi J.U., Park Y.J., Jang S.J., et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for identification of 345 clinical isolates of *Aspergillus* species from 11 Korean hospitals: comparison with molecular identification. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2017; 87(1): 28–31. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2016.10.012>
- Peng Y., Zhang Q., Xu C., Shi W. MALDI-TOF MS for the rapid identification and drug susceptibility testing of filamentous fungi. *Exp. Ther. Med.* 2019; 18(6): 4865–73. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.8118>
- Lecerf P., De Paape R., Jazaeri Y., Normand A.C., Martiny D., Packeu A. Evaluation of a Liquid Media MALDI-TOF MS Protocol for the Identification of Dermatophytes Isolated from Tinea capitis Infections. *J. Fungi (Basel).* 2022; 8(12): 1248. <https://doi.org/10.3390/jof8121248>
- Ryabinin I.A., Vasilyeva N.V., Borzova Y.V. Characteristics of serine proteinase from *Syncephalastrum racemosum* Cohn, 1886. *Problemy meditsinskoi mikologii*. 2020; 22(2): 50–5. <https://doi.org/10.24412/1999-6780-2020-2-50-55> <https://elibrary.ru/ojvypis> (in Russian)
- Cassagne C., Normand A.C., L'Olivier C., Ranque S., Piarroux R. Performance of MALDI-TOF MS platforms for fungal identification. *Mycoses.* 2016; 59(11): 678–90. <https://doi.org/10.1111/myc.12506>
- Calderaro A., Motta F., Montecchini S., Gorrini C., Piccolo G., Piergianni M., et al. Identification of Dermatophyte species after implementation of the in-house MALDI-TOF MS database. *Int. J. Mol. Sci.* 2014; 15(9): 16012–24. <https://doi.org/10.3390/jms150916012>
- Wilson D.A., Young S., Timm K., Novak-Weekley S., Marlowe E.M., Madisen N., et al. Multicenter evaluation of the Bruker MALDI Biotyper CA system for the identification of clinically important bacteria and yeasts. *Am. J. Clin. Pathol.* 2017; 147(6): 623–31. <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqw225>
- Lopes R.B., Faria M., Souza D.A., Bloch C. Jr., Silva L.P., Humber R.A. MALDI-TOF mass spectrometry applied to identifying species of insect-pathogenic fungi from the *Metarhizium anisopliae* complex. *Mycologia.* 2014; 106(4): 865–78. <https://doi.org/10.1385/13-401>
- Ning Y.T., Yang W.H., Zhang W., Xiao M., Wang Y., Zhang J.J., et al. Developing two rapid protein extraction methods using focused-ultrasonication and zirconia-silica beads for filamentous fungi identification by MALDI-TOF MS. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2021; 11: 687240. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.687240>
- Rychert J., Slechta E.S., Barker A.P., Miranda E., Babady N.E., Tang Y.W., et al. Multicenter evaluation of the Vitek MS v3.0 system for the identification of filamentous fungi. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(2): e01353-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01353-17>
- Huang Y., Zhang M., Zhu M., Wang M., Sun Y., Gu H., et al. Comparison of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems for the identification of clinical filamentous fungi. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2017; 33(7): 142. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2297-3>

Review article

41. McMullen A.R., Wallace M.A., Pincus D.H., Wilkey K., Burnham C.A. Evaluation of the Vitek MS matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry system for identification of clinically relevant filamentous fungi. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54(8): 2068–73. <https://doi.org/10.1128/JCM.00825-16>
42. Pinheiro D., Monteiro C., Faria M.A., Pinto E. Vitek® MS v3.0 system in the identification of filamentous fungi. *Mycopathologia.* 2019; 184(5): 645–51. <https://doi.org/10.1007/s11046-019-00377-0>
43. Bille E., Dauphin B., Leto J., Bounoux M.E., Beretti J.L., Lotz A., et al. MALDI-TOF MS Andromas strategy for the routine identification of bacteria, mycobacteria, yeasts, *Aspergillus* spp. and positive blood cultures. *Clin. Microbiol. Infect.* 2012; 18(11): 1117–25. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03688.x>
44. Singh A., Singh P.K., Kumar A., Chander J., Khanna G., Roy P., et al. Molecular and matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry-based characterization of clinically significant melanized fungi in India. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 55(4): 1090–103. <https://doi.org/10.1128/JCM.02413-16>
45. Paul S., Singh P., Sharma S., Prasad G.S., Rudramurthy S.M., Chakrabarti A., et al. MALDI-TOF MS-based identification of melanized fungi is faster and reliable after the expansion of in-house database. *Proteomics. Clin. Appl.* 2019; 13(3): e1800070. <https://doi.org/10.1002/prca.201800070>
46. Lévesque S., Dufresne P.J., Soualhine H., Domingo M.C., Bekal S., Lefebvre B., et al. A side by side comparison of Bruker Biotyper and Vitek MS: Utility of MALDI-TOF MS technology for microorganism identification in a public health reference laboratory. *PLoS One.* 2015; 10(12): e0144878. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0144878>
47. Hankins J.D., Amerson-Brown M.H., Brown C.A., Riegler A.N., Muldrew K.L., Dunn J.J. Comparison of Bruker Biotyper® and Vitek® MS matrix-assisted laser desorption/ionization-time-of-flight mass spectrometry platforms for the identification of filamentous fungi. *Future Microbiol.* 2023; 18: 553–61. <https://doi.org/10.2217/fmb-2023-0084>
48. Lau A.F., Walchak R.C., Miller H.B., Slechts E.S., Kamboj K., Riebe K., et al. Multicenter study demonstrates standardization requirements for mold identification by MALDI-TOF MS. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2098. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02098>
49. Quérou L., Girard V., Pawtowski A., Tréguer S., Weill A., Arend S., et al. Development and application of MALDI-TOF MS for identification of food spoilage fungi. *Food Microbiol.* 2019; 81: 76–88. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.05.001>
50. Américo M.F., Machado Siqueira P.L., Del Negro B.G.M., Favero Gimenes M.V., Trindade S.M.R., Motta L.A., et al. Evaluating VITEK MS for the identification of clinically relevant *Aspergillus* species. *Med. Mycol.* 2020; 58(3): 322–7. <https://doi.org/10.1093/mmy/myz066>
51. De Respini S., Monnin V., Girard V., Welker M., Arsac M., Cellière B., et al. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (MALDI-TOF) mass spectrometry using the Vitek MS system for rapid and accurate identification of dermatophytes on solid cultures. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(12): 4286–92. <https://doi.org/10.1128/JCM.02199-14>
52. Karabıçak N., Karatuna O., İlkit M., Akyar I. Evaluation of the Bruker matrix-assisted laser desorption-ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) system for the identification of clinically important dermatophyte species. *Mycopathologia.* 2015; 180(3–4): 165–71. <https://doi.org/10.1007/s11046-015-9898-x>
53. da Cunha K.C., Riat A., Normand A.C., Bosshard P.P., de Almeida M.T.G., Piarroux R., et al. Fast identification of dermatophytes by MALDI-TOF/MS using direct transfer of fungal cells on ground steel target plates. *Mycoses.* 2018; 61(9): 691–7. <https://doi.org/10.1111/myc.12793>
54. Triest D., Stubbe D., De Cremer K., Piérard D., Normand A.C., Piarroux R., et al. Use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of molds of the *Fusarium* genus. *J. Clin. Microbiol.* 2015; 53(2): 465–76. <https://doi.org/10.1128/JCM.02213-14>
55. Dolatabadi S., Kolecka A., Versteeg M., de Hoog S.G., Boekhout T. Differentiation of clinically relevant Mucorales *Rhizopus* microsporus and *R. arrhizus* by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). *J. Med. Microbiol.* 2015; 64(7): 694–701. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000091>
56. Packeu A., De Bel A., l'Ollivier C., Ranque S., Detandt M., Hendrickx M. Fast and accurate identification of dermatophytes by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry: validation in the clinical laboratory. *J. Clin. Microbiol.* 2014; 52(9): 3440–3. <https://doi.org/10.1128/JCM.01428-14>
57. Shao J., Wan Z., Li R., Yu J. Species identification and delineation of pathogenic mucorales by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56(4): e01886-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01886-17>
58. Sleiman S., Halliday C.L., Chapman B., Brown M., Nitschke J., Lau A.F., et al. Performance of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of *Aspergillus*, *Scedosporium*, and *Fusarium* spp. in the Australian Clinical Setting. *J. Clin. Microbiol.* 2016; 54(8): 2182–6. <https://doi.org/10.1128/JCM.00906-16>

Сведения об авторах

Курбатова Ирина Валентиновна, канд. мед. наук, ст. науч. сотр. лаб. микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: IKurbatova@cspfmba.ru

Ракитина Дарья Викторовна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. микробиологии и паразитологии ФГБУ «ЦСП» ФМБА России, 119121, Москва, Россия. E-mail: Rakitina@cspmrz.ru

Information about the authors

Irina V. Kurbatova, PhD (Biology), senior researcher, Laboratory of Microbiology and Parasitology, Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-3152-4862> E-mail: IKurbatova@cspfmba.ru

Daria V. Rakitina, PhD (Biology), senior researcher, Laboratory of Microbiology and Parasitology, Centre for Strategic Planning of the Federal medical and biological agency, Moscow, 119121, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-3554-7690> E-mail: Rakitina@cspmrz.ru