

Фосфолипазная и протеазная активность дрожжей кишечника человека в различных условиях культивирования

В.В. Прокопьев^{1,2}, Е.Б. Карabasова², Л.А. Крафт², Н.В. Куклина², В.А. Юрова²

¹ Клинико-диагностическая лаборатория «Здоровье», Барнаул

² Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул

Phospholipase and protease activity of human intestinal yeast under various cultivation conditions

V.V. Prokopiev^{1,2}, E.B. Karabasova², L.A. Kraft², N.V. Kuklina², V.A. Yurova²

¹ Clinical diagnostic laboratory «Zdorovie», Barnaul

² Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Аннотация

Цель. Оценить протеолитическую и фосфолипазную активность кишечных штаммов базидиомицетных (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon* spp.) и аскомицетных (*Candida albicans*, *Geotrichum candidum*, *Pichia* spp., *Wickerhamiella pararugosa*, *Coniochaeta hoffmannii*, *Brettanomyces bruxellensis*) дрожжей при 25°C и 37°C температурном режиме инкубации, в аэробных, анаэробных условиях и при 10% CO₂.

Методы. Фосфолипазная активность оценивалась по диаметру преципитационной зоны вокруг исследуемых микроорганизмов на желточном агаре. Оценка протеазной активности проводилась путём измерения неокрашенной (окраска 0,5% амидо-чёрным) зоны вокруг исследуемых микромицетов после инкубации на среде с 0,2% бычьего сывороточного альбумина. Оценка проводилась после 96 часов инкубации: в аэробных условиях при 37°C и 25°C, при концентрации CO₂ 10% (37°C) и в анаэробных условиях (25°C).

Результаты. Было установлено, что *C. albicans* проявляет фосфолипазную активность при всех условиях культивирования. *P. kudriavzevii* и *G. candidum* способны к фосфолипазной активности в аэробных и гиперкапнических условиях. *Rh. mucilaginosa* разлагала фосфолипиды только в аэробных условиях. Протеолитическая активность в аэробных условиях и в присутствии 10% CO₂ была обнаружена только у *C. albicans* и *P. kudriavzevii*.

Выводы. Способность *C. albicans* и *P. kudriavzevii* к гидролитическому расщеплению белков и фосфолипидов при температуре и содержании кислорода, сопоставимых с условиями органов и тканей человека, позволяет обосновать высокий патогенный потенциал этих грибов. Отсутствие протеолитической активности у *G. candidum* и *Rh. mucilaginosa* позволяет предположить низкий патогенный потенциал или наличие иных факторов, способствующих заболеванию человека.

Summary

Aim. To evaluate the protease and phospholipase activity of intestinal strains of basidiomycete (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon* spp.) and ascomycete (*Candida albicans*, *Geotrichum candidum*, *Pichia* spp., *Wickerhamiella pararugosa*, *Coniochaeta hoffmannii*, *Brettanomyces bruxellensis*) yeasts under different temperature conditions, aerobic, anaerobic and hypercapnic conditions.

Methods. Phospholipase activity was assessed by the diameter of the precipitation zone around the studied microorganisms on yolk agar. Protease activity was assessed by measuring the unstained (0.5% amido-black) zone after incubation on a medium containing 0.2% bovine serum albumin. The evaluation was carried out after 96 hours under aerobic conditions at 37°C and 25°C, under hypercapnic conditions (10% CO₂) at 37°C and under anaerobic conditions at 25°C.

Results. *C. albicans* exhibited phospholipase activity under all culture conditions. *P. kudriavzevii* and *G. candidum* exhibited phospholipase activity under aerobic and hypercapnic conditions. *Rh. mucilaginosa* degraded phospholipids only under aerobic conditions. Proteolytic activity under aerobic conditions and in the presence of 10% CO₂ was exhibited only by *C. albicans* and *P. kudriavzevii*.

Conclusions. The metabolic ability of *C. albicans* and *P. kudriavzevii* under various temperature and oxygen conditions, similar to the conditions of various biotopes of the human body, allows for the substantiation of high pathogenic potential of these micromycetes. The lack of proteolytic activity in *G. candidum* and *Rh. mucilaginosa* suggests low pathogenic potential or the presence of other factors contributing to human disease.

Ключевые слова

Кишечный микробиом, фосфолипазная активность, протеолитическая активность, аскомицетные дрожжи, базидиомицетные дрожжи, условия культивирования.

Введение

Основоположником изучения микрофлоры человека можно считать Илью Ильича Мечникова, который при исследовании феномена старения связал долголетие сельских жителей Болгарии с употреблением кисломолочных продуктов, а именно с *Lactobacillus bulgaricus*, которую он выделил из этого продукта. Помимо понимания факта значимости микрофлоры в физиологических процессах человека Илья Ильич также предложил изменять микрофлору путём заселения кишечника данной бактерией [1–3].

Несмотря на многолетнее изучение, микробное сообщество кишечника человека остаётся одним из наименее изученных «органов» человека. Распространение и увеличение доступности таких современных методов, как масс-спектрометрия и секвенирование нового поколения, в некотором смысле сделали ситуацию более запутанной. Помимо «привычных» таксонов, выделяемых из кишечника человека, стали выявляться микроорганизмы, тип симбиотического взаимодействия которых с организмом человека не ясен. Более того, методы метагеномики и метатаксономики позволили обнаруживать большое количество некультивируемых микроорганизмов.

Доступность современного молекулярно-биологического инструментария привело к росту количества работ по исследованию микробиома человека. Так, по данным PubMed NCBI, в 2013 году была опубликована 161 работа по микробиому кишечника, тогда как в 2023 году данной тематике была посвящена уже 2461 работа.

Большинство работ, посвящённых изучению микробиома кишечника, направлено на изучение бактериального компонента. Грибковому компоненту микробиома кишечника уделяется существенно меньшее внимание: за тот же промежуток времени было опубликовано лишь 114 работ.

На данный момент считается, что в кишечнике человека находится около 10^{14} микроорганизмов, относящихся приблизительно к тысяче видов [4]. Таким образом, в нашем кишечнике мы имеем тысячу уникальных геномов, кодирующих уникальные молекулы и метаболические пути, которые зачастую не имеют аналогов в организме человека. Всё это приводит к образованию в кишечнике большого количества разнообразных

Keywords

Intestinal microbiome, phospholipase activity, protease activity, ascomycete yeast, basidiomycete yeast, cultivation conditions.

метаболитов микроорганизмов, которые могут оказывать влияние на другие микроорганизмы, на организм человека [5], на метаболизм лекарственных средств [6] и т.д.

Грибы-симбионты составляют лишь 0,1% от количества всех микроорганизмов микробиома кишечника человека [7]. Показано, что дрожжевые грибы встречаются чаще, чем плесневые, как в случае болезней кишечника, так и у здоровых людей [8,9]. Несмотря на относительно небольшое количество, микромицеты кишечника играют большую роль в физиологических [10] и патологических процессах человека [11–13].

Для оценки роли того или иного микроорганизма для организма человека необходима всесторонняя оценка его факторов патогенности и возможных пробиотических свойств.

Для инвазии в ткани человека микроорганизмы должны обладать способностью синтезировать гидролитические ферменты, способные разрушать клетки и ткани макроорганизма. Липиды и белки цитоплазматических мембран являются важной мишенью для действия экзогенных протеаз и фосфолипаз, и наличие фосфолипазной и протеолитической активности коррелирует с патогенностью микроорганизмов [14].

В нашей работе мы оценили протеолитическую и фосфолипазную активность базидиомицетных (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon asahii*, *Trichosporon ovoides*) и аскомицетных (*Candida albicans*, *Geotrichum candidum*, *Pichia* spp., *Wickerhamiella pararugosa*, *Coniochaeta hoffmannii*, *Brettanomyces bruxellensis*) дрожжей кишечника человека в различных температурных и кислородных условиях культивирования.

Материалы и методы

В работе были исследованы базидиомицеты *Trichosporon ovoides* (2 штамма), *Trichosporon asahii* (3 штамма), *Rhodotorula mucilaginosa* (25 штаммов), и аскомицеты *Coniochaeta hoffmannii* (1 штамм), *Wickerhamiella pararugosa* (1 штамм), *Pichia kudriavzevii* (10 штаммов), *Pichia fermentans* (2 штамма), *Pichia cactophila* (1 штамм), *Pichia kluyveri* (1 штамм), *Pichia manshurica* (2 штамма), *Brettanomyces bruxellensis* (2 штамма), *Geotrichum candidum* (22 штамма), *Candida albicans* (12 штаммов). Все штаммы были получены при культу-

ральном исследовании кала пациентов поликлинического отделения медицинского центра.

Кал засеивался на среду Сабуро с 2% глюкозы и хлорамфениколом (0,4 г/л). После первичной инкубации при 35°C в течение 72 часов дальнейшая инкубация проводилась при 25°C температурном режиме. Для первичной идентификации исследовались культуральные, морфологические и биохимические свойства дрожжей при помощи Atlas of Clinical Fungi de Hoog GS et al. (2020). Первичная идентификация подтверждалась при помощи масс-спектрометра Microflex (Bruker Daltonik GmbH & Co. KG, Германия), с программным обеспечением MALDI Biotyper.

Фосфолипазная активность исследуемых штаммов оценивалась по методике Borst and Fluit [15] на желточном агаре. Использовались чашки с Сабуро-декстрозным агаром (Condalab, Испания) с добавлением 1 М NaCl, 0,005 М CaCl₂ и 8% стерильной эмульсии яичного желтка. При помощи 0,9% NaCl 48-часовые культуры исследуемых штаммов на денситометре Densi-La-Meter II (Erba Group, EU) доводились до оптической плотности 1,0 МакФарланда для *R. mucilaginosa*, *B. bruxellensis*, *C. hoffmannii*, *W. pararugosa*, *C. albicans*, *Pichia* spp., 1,5 для *G. candidum* и 2,5 для *Trichosporon* spp., что соответствовало 107 КОЕ/мл (рассчитано при помощи камеры Горяева). После ряда разведений в лунки 25-луночных планшетов штампа репликатора с 180 мкл 0,9% NaCl вносилось по 20 мкл суспензии грибов, до конечной концентрации 10⁴ КОЕ/мл в лунке. Полученные суспензии при помощи 25-пинового (дл. 20 мм, d 2,0 мм) штампа репликатора наносились на чашки со средой. Диаметр нанесённой капли с бактериальной суспензией был равен ~6 мм. Засеянные чашки инкубировали в течение 96 часов в аэробных условиях при 35°C и 25°C, при 35°C с повышенной до 10% концентрацией углекислого газа и при 25°C в анаэробных условиях. Для создания гиперкапнических условий был использован CO₂ инкубатор ИЛМ-170 (ЗАО «Ламинарные системы», Россия). При помощи анаэрогата Thermo Scientific™ Oxoid™ Anaero Jar™ 2.5L и газ-пакетов AnaeroGen™ 2.5L (Thermo Scientific) была получена бескислородная среда. Контроль анаэробных условий проводился при помощи Anaerobic indicator (Oxoid). В качестве отрицательного контроля использовались незасеянные лунки с бульоном Сабуро. Каждый штамм засеивался в трёх повторях.

После инкубации измерялся диаметр колонии и диаметр преципитационной зоны по методике Price et al. [16]. Оценивали отношение преципитационной зоны к диаметру засеянных микро-

организмов, на основе чего выделялось четыре группы активности: Pz – 1 (Отрицательно); Pz – 0,9–1 +; Pz – 0,89–0,80 ++; Pz – 0,79–0,70 +++; Pz – <0,69 ++++ [17].

Оценка протеолитической активности проводилась по методике De Bernardis F et al. [18] на среде с 0,2% бычьего сывороточного альбумина (HiMedia, Индия), 1,17% углеводной основы для классификации дрожжей (HiMedia, Индия), 0,01% дрожжевого экстракта (Condalab, Испания) с добавлением 2% агара. После 96-часовой инкубации чашки окрашивали 0,5% амидо-чёрным. Измеряли неокрашенную зону вокруг колонии. Посев, культивирование и интерпретацию полученных результатов проводили по вышеописанной методике для оценки фосфолипазной активности.

Штамм *C. albicans* ATCC 10231 был использован в качестве контрольного штамма для обоих ферментов.

Статистическая обработка была проведена при помощи расчёта t-критерия Стьюдента. В случае статистической оценки 3-х и более групп сравнения был использован критерий Краскела-Уоллиса (p<0,05). Статистический анализ выполнен на сайте <https://www.statskingdom.com> при помощи онлайн-калькуляторов.

Результаты и обсуждение

Использованные нами методы являются стандартными и общепринятыми для определения фосфолипазной и протеолитической активности, но они не позволяют оценить тонкие межмолекулярные механизмы реализации протеолитической и фосфолипазной активности. Тем не менее фенотипические проявления данных гидролитических ферментов могут дать представление о патогенетическом потенциале исследуемых микромицетов. Количество исследованных нами штаммов позволяет достоверно оценить активность протеазы и фосфолипазы у *C. albicans*, *P. kudriavzevii*, *G. candidum* и *Rh. mucilaginosa*. Результаты исследования других микромицетов носят ориентировочный характер и требуют дальнейшего изучения на большем количестве штаммов.

В результате оценки фосфолипазной активности (рис. 1) было обнаружено, что только *C. albicans* проявляла высокую активность Pz 0,4–0,49 во всех кислородных и температурных режимах культивирования, с понижением активности в условиях недостатка кислорода. При расчёте H-критерия Краскела-Уоллиса отмечается значительная разница в зависимой переменной между различными группами, $\chi^2(3)=21,58$,

$p < 0,001$, со средним ранговым баллом 30,88 для группы 1 (аэробные условия 37°C), 34 для группы 2 (аэробные условия 25°C), 23 для группы 3 (гиперкапнические условия), 10,13 для группы 4 (анаэробные условия). Типовой штамм *C. albicans* ATCC 10231 на желточном агаре в аэробных условиях при 37°C образовывал преципитационную зону диаметром 18 мм.

Высокая фосфолипазная активность была обнаружена у *P. kudriavzevii* (телеморф *Candida krusei*) в аэробных ($Pz = 0,46$ при 37°C, 0,37 при 25°C) и гиперкапнических условиях ($Pz = 0,5$). Достоверность различия зоны преципитации при культивировании в различных температурных и кислородных условиях подтверждена при помощи критерия Краскела-Уоллиса ($\chi^2(2) = 20,2$, $p < 0,001$). В анаэробных условиях культивирования фосфолипазная активность отсутствовала.

P. fermentans и *P. kluyveri* проявляли активность в аэробных условиях и в присутствии 10% CO_2 , *P. cactophila* была активна только в аэробных условиях при 25°C.

Фосфолипазная активность *G. candidum* и *Rh. mucilaginosa* наблюдалась в аэробных условиях при 25°C и 37°C, причём активность при 25°C была статистически достоверно выше. *G. candidum* проявлял фосфолипазную активность и в гиперкапнических условиях ($Pz = 0,71$).

Фосфолипазная активность остальных исследованных нами штаммов отсутствовала при всех условиях культивирования.

При анализе протеолитической активности (рис. 2) обнаружено, что только *C. albicans* и все исследованные виды рода *Pichia* проявляли высокую активность в аэробных и гиперкапнических условиях ($Pz < 0,5$) при отсутствии активности в анаэробных условиях. Статистический анализ

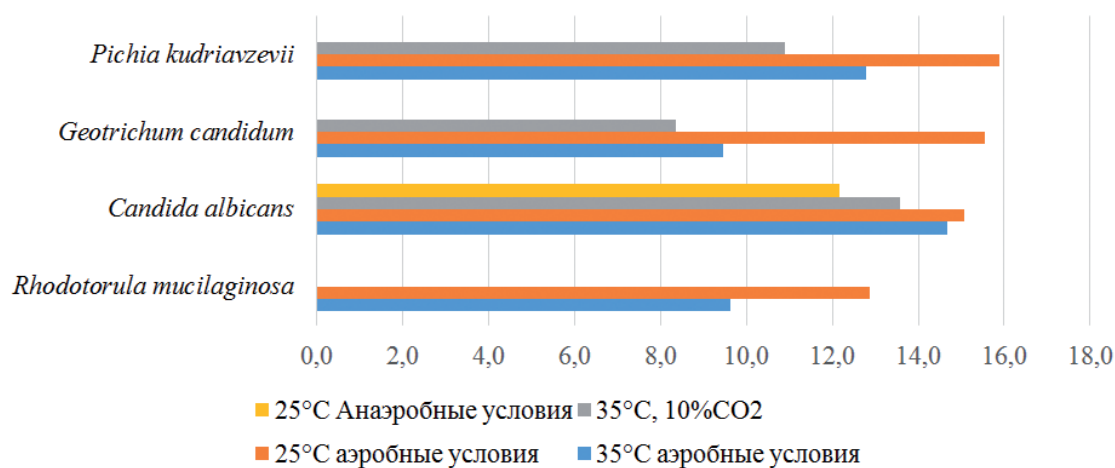


Рис. 1. Фосфолипазная активность дрожжей кишечника (указан диаметр преципитационной зоны)

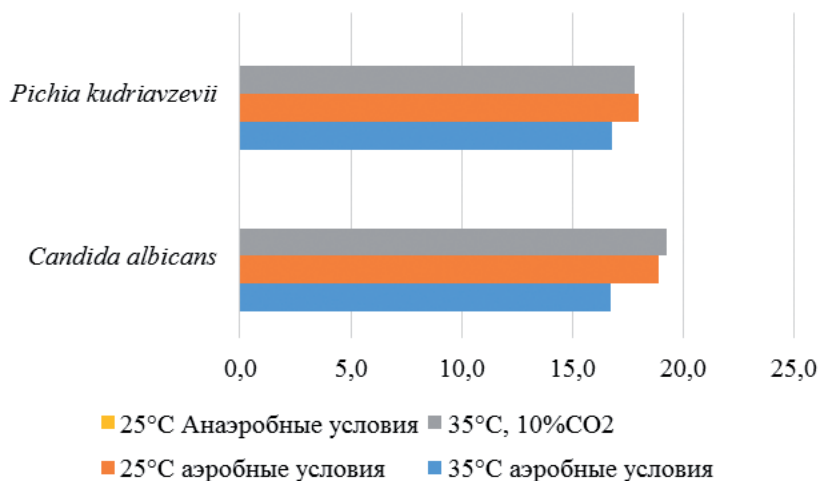


Рис. 2. Протеолитическая активность дрожжей кишечника (указан диаметр преципитационной зоны)

полученных данных не показал значимых отличий протеазной активности при различных условиях культивирования. Типовой штамм *C. albicans* ATCC10231 на среде с сывороточным бычьим альбумином в аэробных условиях при 37°C давал преципитационную зону диаметром 20 мм.

Протеолитическая активность других исследованных нами микромицетов отсутствовала при всех условиях культивирования.

Факторы патогенности *C. albicans*, как одного из основных условно-патогенных грибов человека, хорошо изучены, включая протеолитическую и фосфолипазную активность [19]. Причём показано, что штаммы, полученные из различных биотопов, обладают различной активностью гидролитических ферментов [20,21]. В настоящем исследовании показано, что штаммы, полученные из кишечника человека, также обладают выраженной фосфолипазной и протеазной активностью не только в аэробных условиях, но и в условиях, близких к физико-химическим условиям кишечника человека, связанных с низкими значениями парциального давления кислорода [22].

P. kudriavzevii также хорошо известен в качестве этиологического агента микозов человека [23,24]. Несмотря на доказанную патогенность, данный микромицет рассматривается рядом авторов в качестве пробиотика [25,26]. Ранее в исследовании Alexandra M. Montoya [27] была проведена оценка гидролитических ферментов клинических штаммов не-*albicans* штаммов грибов рода *Candida*, где была показана высокая протеолитическая активность ($P_z = 0,27$) *P. kudriavzevii*, тогда как уровень фосфолипазной активности был значительно ниже ($P_z = 0,69$). В нашем исследовании мы впервые проанализировали активность гидролитических ферментов кишечных штаммов *P. kudriavzevii* в различных температурных и кислородных условиях. Обнаруженная нами протеазная и фосфолипазная активность подтверждает высокий патогенный потенциал данного микромицета.

Rh. mucilaginosa, как и *P. kudriavzevii*, рассматривается в качестве этиологического агента ряда заболеваний [28,29], а также в качестве пробиотика [30]. В нашем исследовании фосфолипазная активность этих бизидиомицетных дрожжей проявлялась только в аэробных условиях. Учитывая то, что большинство тканей человека имеют низкое парциальное давление кислорода по сравнению с условиями окружающей среды, можно предположить, что данный микромицет может поражать органы и ткани организма человека с относительно высоким парциальным давлением кислорода. Не-

смотря на обнаружение протеазной активности, у штаммов *Rh. mucilaginosa*, выделенных с объектов окружающей среды [31,32], мы не обнаружили протеолитическую активность штаммов, полученных из кишечника человека. Отсутствие гидролитической активности в отношении белков и фосфолипазной активности в условиях недостатка кислорода говорит о незначительном патогенном потенциале данного микроорганизма в тканях с низким парциальным давлением кислорода.

В литературе можно найти немало сообщений, описывающих заболевания, вызванные аскомицетными дрожжами *G. candidum* у иммунокомпromетированных пациентов [33–35]. С другой стороны, данный микроорганизм описывается как микромицет с большим биотехнологическим потенциалом в пищевой промышленности [36] и как пробиотик для сельскохозяйственных животных [37]. В нашем исследовании была показана высокая фосфолипазная активность в аэробных условиях при 25°C ($P_z = 0,38$). При температуре 37°C и при повышенной концентрации CO_2 активность фосфолипазы достоверно снижалась ($P_z = 0,63$ и $0,71$ соответственно). Протеолитическая активность *G. candidum* отсутствовала при всех условиях культивирования. Полученные нами данные позволяют предположить невысокий патогенный потенциал *G. candidum*.

Другие исследованные нами микромицеты известны как возбудители заболеваний человека, но в нашей работе мы не обнаружили ни протеолитической, ни фосфолипазной активности при различных температурно-кислородных условиях культивирования, что позволяет предположить незначительный патогенный потенциал или наличие других факторов патогенности, приводящих к возникновению заболеваний.

Выводы

Способность *C. albicans* и *P. kudriavzevii* к протеолитической и фосфолипазной активности в условиях, сопоставимых по температуре и уровню кислорода с таковыми в тканях и органах человека подтверждает высокий патогенный потенциал этих грибов и их способность вызывать поражения тканей человека в условиях сниженного парциального давления кислорода.

Отсутствие протеолитической активности при всех условиях культивирования у *Rh. mucilaginosa* и *G. candidum* и неспособность к фосфолипазной активности при снижении концентрации кислорода у *Rh. mucilaginosa* позволяет предположить невысокую способность данных микроорганизмов вызывать заболевания человека.

Литература

1. О диетическомъ значеніи «кислаго молока» проф. Мечникова. Клиническія наблюденія из СПб морского госпиталя доктора Г.А. Макарова. Изданіе К.Л. Риккерса, 1907.
2. Кляритская И.Л., Мошко Ю.А., Максимова Е.В., и др. Современные концепции применения пробиотиков в гастроэнтерологии. Крымский терапевтический журнал. 2021;1:9-19.
3. Cresci GA, Bawden E. Gut Microbiome: What We Do and Don't Know. *Nutr Clin Pract*. 2015 Dec;30(6):734-746. doi:10.1177/0884533615609899
4. Xie Y, Hu F, Xiang D, et al. The metabolic effect of gut microbiota on drugs. *Drug Metab Rev*. 2020 Feb;52(1):139-156. doi:10.1080/03602532.2020.1718691
5. Heintz-Buschart A, Wilmes P. Human Gut Microbiome: Function Matters. *Trends Microbiol*. 2018 Jul;26(7):563-574. doi:10.1016/j.tim.2017.11.002
6. Weersma RK, Zhernakova A, Fu J. Interaction between drugs and the gut microbiome. *Gut*. 2020 Aug;69(8):1510-1519. doi:10.1136/gutjnl-2019-320204
7. Zhang F, Aschenbrenner D, Yoo JY, et al. The gut mycobiome in health, disease, and clinical applications in association with the gut bacterial microbiome assembly. *Lancet Microbe*. 2022 Dec;3(12):e969-e983. doi:10.1016/S2666-5247(22)00203-8
8. Прокопьев В.В., Кукулина Н.В., Емельянова И.В., и др. Анализ культивируемых грибов кишечника у пациентов с патологией желудочно-кишечного тракта и клинически здоровых людей. *Проблемы медицинской микологии*. 2023;25(1):19-24. doi:10.24412/1999-6780-2023-1-19-24
9. Belvonicikova P, Splichalova P, Videnska P, et al. The Human Mycobiome: Colonization, Composition and the Role in Health and Disease. *J Fungi (Basel)*. 2022 Oct 4;8(10):1046. doi:10.3390/jof8101046
10. Vivas W, Leonhardt I, Hünninger K, et al. Multiple Signaling Pathways Involved in Human Dendritic Cell Maturation Are Affected by the Fungal Quorum-Sensing Molecule Farnesol. *J Immunol*. 2019 Dec 1;203(11):2959-2969. doi:10.4049/jimmunol.1900431
11. Wu X, Xia Y, He F, et al. Intestinal mycobiota in health and diseases: from a disrupted equilibrium to clinical opportunities. *Microbiome*. 2021 Mar 14;9(1):60. doi:10.1186/s40168-021-01024-x
12. Liguori G, Lamas B, Richard ML, et al. Fungal Dysbiosis in Mucosa-associated Microbiota of Crohn's Disease Patients. *J Crohns Colitis*. 2016 Mar;10(3):296-305. doi:10.1093/ecco-jcc/jjv209
13. Zou R, Wang Y, Duan M, et al. Dysbiosis of Gut Fungal Microbiota in Children with Autism Spectrum Disorders. *J Autism Dev Disord*. 2021 Jan;51(1):267-275. doi:10.1007/s10803-020-04543-y
14. Карпунина Т.И., Олина А.А., Машуров М.Г., и др. Фосфолипазы оппортунистических грибов: их возможная роль в патогенезе и диагностике микозов. *Проблемы медицинской микологии*. 2006;8(4):41-46.
15. Borst A, Fluit AC. High levels of hydrolytic enzymes secreted by *Candida albicans* isolates involved in respiratory infections. *J Med Microbiol*. 2003 Nov;52(Pt 11):971-974. doi:10.1099/jmm.0.05228-0
16. Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO. Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 1982 Mar;20(1):7-14. doi:10.1080/00362178285380031
17. Kumar CP, Kumar SS, Menon T. Phospholipase and proteinase activities of clinical isolates of *Candida* from immunocompromised patients. *Mycopathologia*. 2006 Apr;161(4):213-218. doi:10.1007/s11046-005-0157-4
18. De Bernardis F, Chiani P, Ciccozzi M, et al. Elevated aspartic proteinase secretion and experimental pathogenicity of *Candida albicans* isolates from oral cavities of subjects infected with human immunodeficiency virus. *Infect Immun*. 1996 Feb;64(2):466-471. doi:10.1128/iai.64.2.466-471.1996
19. Schaller M, Borelli C, Korting HC, et al. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*. 2005 Nov;48(6):365-377. doi:10.1111/j.1439-0507.2005.01165.x
20. Kantarcioglu AS, Yücel A. Phospholipase and protease activities in clinical *Candida* isolates with reference to the sources of strains. *Mycoses*. 2002 Jun;45(5-6):160-165. doi:10.1046/j.1439-0507.2002.00727.x
21. Basu S, Gugnani HC, Joshi S, et al. Distribution of *Candida* species in different clinical sources in Delhi, India, and proteinase and phospholipase activity of *Candida albicans* isolates. *Rev Iberoam Microbiol*. 2003 Dec;20(4):137-140. PMID: 15456350.
22. Singhal R, Shah YM. Oxygen battle in the gut: Hypoxia and hypoxia-inducible factors in metabolic and inflammatory responses in the intestine. *J Biol Chem*. 2020 Jul 24;295(30):10493-10505. doi:10.1074/jbc.REV120.011188
23. Nagarathnamma T, Chunchanur SK, Rudramurthy SM, et al. Outbreak of *Pichia kudriavzevii* fungaemia in a neonatal intensive care unit. *J Med Microbiol*. 2017 Dec;66(12):1759-1764. doi:10.1099/jmm.0.000645
24. Al Bshabshe A, Joseph MRP, Battayah ES, et al. Fungal peritonitis caused by *Pichia kudriavzevii* following sleeve gastrectomy. *Ann Saudi Med*. 2019 May-Jun;39(3):205-208. doi:10.5144/0256-4947.2019.205
25. Tran KD, Le-Thi L, Vo HH, et al. Probiotic Properties and Safety Evaluation in the Invertebrate Model Host *Galleria mellonella* of the *Pichia kudriavzevii* YGM091 Strain Isolated from Fermented Goat Milk. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2023 Jun 27. doi:10.1007/s12602-023-10114-1
26. Hong SM, Kwon HJ, Park SJ, et al. Genomic and probiotic characterization of SJP-SNU strain of *Pichia kudriavzevii*. *AMB Express*. 2018 May 17;8(1):80. doi:10.1186/s13568-018-0609-0
27. Montoya AM, Luna-Rodríguez CE, Gracia-Robles G, et al. In vitro lytic activity and antifungal susceptibility of infrequently isolated yeasts. *Arch Microbiol*. 2019 Oct;201(8):1147-1149. doi:10.1007/s00203-019-01684-2
28. Arendrup MC, Boekhout T, Akova M, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Fungal Infection Study Group; European Confederation of Medical Mycology. ESCMID and EMM joint clinical guidelines for the diagnosis and management of rare invasive yeast infections. *Clin Microbiol Infect*. 2014 Apr;20 Suppl 3:76-98. doi:10.1111/1469-0691.12360
29. Capoor MR, Aggarwal S, Raghvan C, et al. Clinical and microbiological characteristics of *Rhodotorula mucilaginosa* infections in a tertiary-care facility. *Indian J Med Microbiol*. 2014 Jul-Sep;32(3):304-309. doi:10.4103/0255-0857.136576
30. Fernández-Pacheco P, Rosa IZ, Arévalo-Villena M, et al. Study of potential probiotic and biotechnological properties of non-*Saccharomyces* yeasts from fruit Brazilian ecosystems. *Braz J Microbiol*. 2021 Dec;52(4):2129-2144. doi:10.1007/s42770-021-00541-z
31. de Sousa JRP, Gonçalves VN, de Holanda RA, et al. Pathogenic potential of environmental resident fungi from ornithogenic soils of Antarctica. *Fungal Biol*. 2017 Dec;121(12):991-1000. doi:10.1016/j.funbio.2017.09.005
32. Lario LD, Chaud L, Almeida MDG, et al. Production, purification, and characterization of an extracellular acid protease from the marine Antarctic yeast *Rhodotorula mucilaginosa* L7. *Fungal Biol*. 2015 Nov;119(11):1129-1136. doi:10.1016/j.funbio.2015.08.012
33. Henrich TJ, Marty FM, Milner DA Jr, et al. Disseminated *Geotrichum candidum* infection in a patient with relapsed acute myelogenous leukemia following allogeneic stem cell transplantation and review of the literature. *Transpl Infect Dis*. 2009 Oct;11(5):458-62. doi:10.1111/j.1399-3062.2009.00418.x

34. Meena S, Singh G, Dabas Y, et al. *Geotrichum candidum* in Infective Endocarditis. *J Glob Infect Dis.* 2017 Jul-Sep;9(3):127-128. doi:10.4103/jgid.jgid_112_16.

35. Ghosh P, Boler AK. *Geotrichum candidum*: A rare primary pathogen in pulmonary geotrichosis. *Indian J Med Res.* 2020 Nov;152(Suppl 1):S123-S124. doi:10.4103/ijmr.IJMR_2202_19

36. Kamilari E, Stanton C, Reen FJ, et al. Uncovering the Biotechnological Importance of *Geotrichum candidum*. *Foods.* 2023 Mar 7;12(6):1124. doi:10.3390/foods12061124

37. Zaman S, Gohar M, Kanwal H, et al. Impact of Probiotic *Geotrichum candidum* QAUGC01 on Health, Productivity, and Gut Microbial Diversity of Dairy Cattle. *Curr Microbiol.* 2022 Nov 3;79(12):376. doi:10.1007/s00284-022-03074-2

Сведения об авторах

Прокопьев Василий Валерьевич – доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии Алтайского государственного медицинского университета; врач бактериолог ООО КДЛ «Здоровье», г. Барнаул. 656000 г. Барнаул, пр. Ленина, 40. E-mail: vasily78@mail.ru. ORCID 0000-0001-7151-3899

Карабасова Елена Борисовна – доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии Алтайского государственного медицинского университета. E-mail: basilissa@mail.ru. ORCID 0000-0002-4404-5679.

Крафт Лидия Андреевна – доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии Алтайского государственного медицинского университета. E-mail: kraft_lidiya@mail.ru.

Куклина Наталья Вальфридовна – доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии Алтайского государственного медицинского университета. E-mail: nvkuklina@list.ru. ORCID 0009-0006-1187-4987.

Юрова Вера Александровна – доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии Алтайского государственного медицинского университета. E-mail: yurowa.veraalex54@yandex.ru. ORCID 0000-0003-2709-6244.

Поступила 18.04.2024.