

## ГИДРОФОБНЫЕ СВОЙСТВА ГРИБОВ РОДА MALASSEZIA

В работе представлены данные о гидрофобности поверхности грибов рода *Malassezia*, изолированных от больных с перхотью, отрубевидным лишаем и себорейным дерматитом. Показано, что грибы рода *Malassezia*, выделенные от больных поверхностными микозами кожи, в целом характеризуются выраженной гидрофобностью. При этом наблюдаются достоверные патовариантные отличия грибов *Malassezia* по гидрофильно-липофильному балансу их поверхности. Как гидрофобность, так и вариабельность по этому признаку грибов *Malassezia* убывала в ряду групп культур микроорганизмов: «перхоть – отрубевидный лишай – себорейный дерматит».

В дерматологической практике заболеваемость грибковыми поражениями занимает ведущие позиции, не уступая по актуальности ни одному дерматозу. По разным источникам на долю микозов приходится до 40 % всех заболеваний кожи и ногтей.

Дрожжи рода *Malassezia* (синоним *Pityrosporum*) – униполярно почкующиеся липофильные дрожжи, относящиеся к базидиомицетам. Они являются представителями нормальной микрофлоры кожи теплокровных животных, вызывающими при определенных условиях поверхностные кожные инфекции. Различают *M. furfur*, *M. pachydermatis*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*, *M. dermatis*, *M. equi*.

Считается, что не менее 90% всего населения являются носителями *Malassezia*. Наибольшая плотность колонизации кожи (до  $10^5$  на  $1 \text{ мм}^2$ ) отмечается в богатых сальными железами участках: в области волосистой части головы, на лице, посередине груди и спины, а также в области гениталий. Грибы концентрируются вокруг сальных желез и используют их секрет для роста и развития. Интенсивность колонизации изменяется с возрастом: она крайне низкая у новорожденных и затем постепенно повышается к пубертатному периоду, по мере возрастающей активности сальных желез. На качественные и количественные характеристики колонизации могут влиять климатогеографические условия, чем объясняют большую вероятность носительства и развития разноцветного лишая в жарких странах.

Доказано, что в патогенезе таких распространенных заболеваний как себорейный дерматит, отрубевидный лишай, розацеа, ладонно-подошвенный пустулез, себорей-

ный псориаз – ключевую роль играют грибы рода *Malassezia*. Кроме того, *Malassezia furfur* и *Malassezia pachydermatis* являются причиной части инвазивных человеческих инфекций, включая интраваскулярный катетер-ассоциированный сепсис.

Принято считать, что при определенных условиях грибок может трансформироваться в патогенную – мицелиарную – форму, что способствует увеличению доли грибов *Malassezia* в микробном биоценозе кожи, нарушениям барьерных функций кожи и возникновению воспалительных изменений. Подобного рода изменения связаны с такими заболеваниями, как отрубевидный лишай, фолликулит, себорейный дерматит и некоторыми формами атопического дерматита. В настоящее время ведущая роль *Malassezia* в патогенезе данных заболеваний, а так же перхоти подтверждена многочисленными клиническими и лабораторными исследованиями.

Липофильность *Malassezia* всегда рассматривалась в качестве одного из факторов их патогенности. Однако внимание исследователей в этом вопросе, как правило, сконцентрировано на наличии у них липаз и других подобных ферментов. Вопросы же патовариантных отличий грибов рода *Malassezia* по гидрофобности их поверхности остаются открытыми.

**Цель исследования** – определить гидрофобные свойства грибов рода *Malassezia*, выделенных от больных отрубевидным лишаем, себорейным дерматитом и перхотью.

### Материал и методы исследования

В работе использовано 58 культур грибов рода *Malassezia*, изолированных от 58

больных отрубевидным лишаем (38 человек), себорейным дерматитом (8) и перхотью (12).

Для микробиологической диагностики микозов [1] использовали методы микроскопии чешуек из очагов поражения после просветления раствором щелочи. Во всех случаях типичными считали наличие скоплений округлых почкующихся клеток размером 3-8 мкм, коротких, изогнутых, редко ветвящихся гиф шириной 2-4 мкм, а также вытянутых, слегка изогнутых коротких нитей и спор до 8 мкм в диаметре, которые располагались поодиночке или гроздьями. Выделение культур грибов *Malassezia* осуществляли путем прямого посева чешуек кожи на среду Сабуро, обогащенную натуральными растительными липидами (среда с оливковым маслом). Культивирование проводили в течение 2-3 суток при температуре 34°C. Идентификацию производили по типичным для *Malassezia* культуральным свойствам (кремовые, гладкие, мягкие, округлые, сливающиеся колонии из почкующихся клеток диаметром 2-5\*3-6 мкм), положительному тесту на уреазу.

Для измерения степени гидрофобности поверхности клеток был применен принцип двухфазного разделения взвеси микроорганизмов в системе «жидкость-жидкость» с несмешивающимися водными фазами, обогащенными полиэтилен гликолем (PEG 6000) и декстраном (Т500) [2, 3]. Конечные концентрации указанных компонентов в системе доводились до уровня 4,5% декстрана и 6,2% полиэтиленгликоля, что обеспечивало достаточный диапазон чувствительности и уровень межфазного поверхностного натяжения. В качестве растворителя использовали 0,15М раствор NaCl. Эмульгирование смеси производили непосредственно после добавления в нее взвеси микроорганизмов путем интенсивного встряхивания при комнатной температуре на вортексе (около 2000 об/мин) в течение 120 секунд.

Расслаивание осуществляли мягким центрифугированием при 1000 об/мин в течение 5 минут с последующим отстаиванием при комнатной температуре в течение 30 минут. Оптические плотности верхней (обогащенной PEG6000, гидрофобной) и нижней (обогащенной декстраном, гидрофильной) фаз

производили на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 541 нм в 1-сантиметровой кювете.

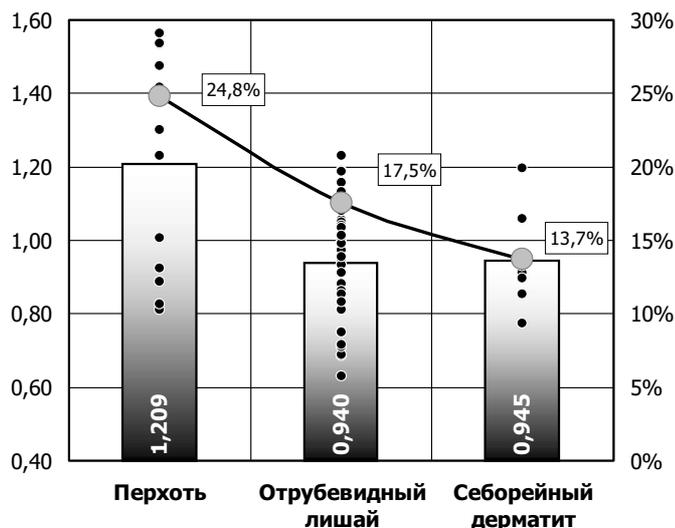
Оценку гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) поверхности микроорганизмов осуществляли по формуле:  $ГЛБ = Lg(OD_{PEG} / OD_{Dextran})$ , где  $OD_{PEG}$  – оптическая плотность верхней фазы,  $OD_{Dextran}$  – оптическая плотность нижней фазы системы после расслоения.

### Результаты исследования

Поверхность грибов рода *Malassezia*, как показало наше исследование, характеризовалась выраженными гидрофобными свойствами, что подтверждает сведения о липофильности этих микроорганизмов. Среднее значение гидрофильно-липофильного баланса составило  $0,996 \pm 0,029$  ( $M \pm m$ ), что существенно (примерно на порядок) выше среднего уровня клеток крови (фагоцитов) и определяет выраженную способность клеток данных микроорганизмов к адгезии.

Вместе с тем, ГЛБ грибов *Malassezia*, изолированных при перхоти ( $1,209 \pm 0,087$ ), существенно отличался от ГЛБ грибов, выделенных при микозах, сопровождающихся воспалительными изменениями на коже: при отрубевидном лишае ( $0,940 \pm 0,027$ ;  $P < 0,05$ ) и себорейном дерматите ( $0,945 \pm 0,046$ ;  $P < 0,05$ ). При этом отмечены также существенные отличия по уровню внутригруппового разнообразия исследуемых микроорганизмов по гидрофобности (коэффициенты вариабельности грибов, изолированных при перхоти, отрубевидном лишае и себорейном дерматите составили соответственно 24,8%; 17,5% и 13,7%).

Таким образом, грибы рода *Malassezia*, выделенные от больных поверхностными микозами кожи, характеризуются выраженной гидрофобностью поверхности. При перхоти, отрубевидном лишае и себорейном дерматите наблюдаются достоверные патовариантные отличия грибов *Malassezia* по гидрофильно-липофильному балансу их поверхности. Микроорганизмы, изолированные при микозах, сопровождавшихся воспалительными изменениями на коже, менее гидрофобны. Вариабельность гидрофильно-липофильного баланса грибов *Malassezia* убывает в ряду



Обозначения: по левой оси ординат – гидрофильно-липофильный баланс. По правой оси ординат – коэффициент вариации (%). Столбцами обозначены средние значения ГЛБ в группах культур, выделенных от больных с соответствующими микозами.

Рисунок 1. Гидрофобность поверхности грибов рода *Malassezia*, выделенных от больных с различными микозами кожи.

групп штаммов «перхоть – отрубевидный лишай – себорейный дерматит».

Полученные сведения соотносятся с ранее показанными нами патовариантными различиями по гидрофобности, наблюдаемыми у бактерий, и указывают на взаимосвязь ГЛБ поверхности грибов *Malassezia* с

эпитопом обитания и патогенностью. При этом остаются открытыми вопросы, касающиеся причинно-следственных связей внутри описанного феномена, также как и межвидовые отличия грибов *Malassezia* по изучаемому свойству, что и определяет перспективу наших дальнейших исследований.

**Список использованной литературы:**

1. Сергеев А.Ю. Сергеев Ю.В. // Грибковые инфекции: Рук-во для врачей. - М.: Бином, 2004.
2. Джерсон Д. Применение методов физики поверхностей в иммунологии // Иммунология. Методы исследования: Пер. с англ./ Д. Джерсон; под ред. И. Лефковитса, Б. Перниса – М.: Мир, 1983. – С.122-158.
3. Magnusson K.E., Johansson G. Probing the surface Salmonella typhimurium SR and R bacreria by aqueous biphasic partitioning in system containing hydrophobic and charged polymers // FEMS. Microbiol. Lett. – 1977. – V.2. –P. 225-228.