

Оценка диапазонов pH для роста дрожжей кишечника в различных температурных режимах культивирования

В.В. Прокопьев^{1,2}

¹ ООО КДЛ «Здоровье», Барнаул

² ФГБОУ ВО Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России, Барнаул

Assessment of pH ranges for intestinal yeast growth at various cultivation temperatures

V.V. Prokopiev^{1,2}

¹ Ltd. Clinical-diagnostic laboratory "Zdorovie", Barnaul, Russia

² Altai State Medical University, Barnaul, Russia

Аннотация

Цель. Оценка диапазонов pH для роста базидиомицетных (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon* spp.) и аскомицетных (*Candida albicans*, *Geotrichum candidum*, *Pichia* spp., *Wickerhamiella pararugosa*) дрожжей при трёх температурных режимах инкубации (25, 35 и 42°C).

Материалы и методы. Штаммы, использованные в данной работе, были получены при бактериологическом исследовании кала пациентов многопрофильного медицинского центра. Идентификация дрожжей проводилась при помощи масс-спектрометра «Microflex». Для оценки физиологических диапазонов pH исследуемые микромицеты засеивали в микропланшеты со средой Сабуро с pH от 2 до 11. Рост культуры при различных значениях pH оценивали по разности оптической плотности среды при длине волны 450 нм через 96 часов инкубации и сразу после посева микроорганизмов (ΔOD). Жизнеспособность грибов при крайних значениях pH оценивали путём посева культуры после 96 часовой инкубации на агар Сабуро и при помощи окраски трипановым синим.

Результаты. Показаны существенные различия в физиологических диапазонах pH у исследованных видов грибов. Выявлено сильное влияние температуры культивирования на физиологические диапазоны pH роста микроорганизмов. *C. albicans* и *P. kudriavzevii* показали способность расти в диапазоне pH от 2 до 11, при всех температурных режимах.

Выводы. Определение диапазонов pH позволяет оценить возможность изученных дрожжей вызывать заболевания в различных биотопах организма человека с различными значениями pH, а также лучше понять патогенез микозов, вызванных исследуемыми микроорганизмами. Полученные данные также могут быть использованы для экологической и биотехнологической оценки исследованных дрожжей.

Ключевые слова

Физиологические диапазоны pH, базидиомицетные дрожжи, аскомицетные дрожжи, температура культивирования.

Summary

Aim. To evaluate the pH ranges supporting the growth of basidiomycetous (*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon* spp.) and ascomycetous (*Candida albicans*, *Geotrichum candidum*, *Pichia* spp., *Wickerhamiella pararugosa*) yeasts at three incubation temperatures (25, 35, and 42°C).

Materials and Methods. The strains used in this study were isolated from fecal samples of patients at a multidisciplinary medical center during bacteriological examination. Fungal identification was performed using a Microflex mass spectrometer. To assess physiological pH ranges, the fungi were inoculated into microplates containing Sabouraud medium adjusted to pH values ranging from 2 to 11. Microbial growth at different pH levels was evaluated by measuring the difference in optical density (ΔOD) at 450 nm after 96 hours of incubation compared to the initial post-inoculation readings. Viability of the fungi at extreme pH values was confirmed by subculturing onto Sabouraud agar after 96 hours of incubation and by trypan blue staining.

Results. Significant differences in physiological pH ranges were observed among the studied fungal species. Cultivation temperature strongly influenced the pH ranges supporting microbial growth. *Candida albicans* and *Pichia kudriavzevii* demonstrated the ability to grow across the entire tested pH range (2-11) at all incubation temperatures.

Conclusions. Determining the pH ranges helps assess the potential of the studied fungi to cause infections in different human biotopes with varying pH levels and provides insights into the pathogenesis of mycoses caused by these microorganisms. The obtained data may also be useful for ecological and biotechnological evaluations of the studied yeasts.

Keywords

Physiological pH ranges, basidiomycetous yeasts, ascomycetous yeasts, cultivation temperature.

Введение

На основе анализа большого количества секвенированных геномов на 75 генах методом молекулярных часов было установлено, что расхождение царств грибов, растений и животных произошло 1576 ± 88 миллионов лет назад [1]. Распространение грибов совпало с колонизацией земли и произошло в кембрийском периоде, в большей степени за счёт различных типов симбиотических взаимоотношений с растениями [2]. В то же время были колонизированы и другие таксономические группы, включая позвоночных. На сегодняшний день на основе соотношения «грибы : растения», методов экологического секвенирования и разграничения видов, методик масштабирования и других подходов предсказано существование от 2,2 до 3,8 миллионов видов грибов [3]. Количество описанных видов по данным www.speciesfungorum.org на момент написания статьи составляет 165393, т.е. менее 10% от общего количества представителей царства *Mycota*.

Эволюционно грибы в большей степени ориентированы на сапрофитный образ жизни в окружающей среде, и организм человека является неблагоприятной средой для их существования, и из всего множества грибов только 600 видов взаимодействуют с человеком в качестве комменсалов или патогенов [4]. Согласно работе Julia R. Köhler et al. для инфицирования человека грибы должны расти при температуре человеческого тела, проникать через тканевые барьеры, вызывать лизис тканей и быть способными преодолевать иммунную защиту человека [5]. Тем не менее, ежегодно грибковые патогены вызывают более миллиарда инфекционных заболеваний и более 1,6 миллиона смертей [6], что превышает уровень смертности от малярии и сопоставимо с показателями смертности от туберкулёза и ВИЧ-инфекции [7]. Несмотря на социальную значимость и широкое распространение микозов, данная группа заболеваний остаётся недооценённой как со стороны врачей клинических специальностей, так и со стороны организаций здравоохранения. Во многих странах учёт грибковой заболеваемости не производится.

Улучшение идентификации возбудителей инфекционных заболеваний, благодаря внедрению в рутинную лабораторную диагностику такого инструмента как масс-спектрометрия, привело к расширению спектра выявляемых микроорганизмов, в том числе и дрожжевых грибов. Обнаружение в различных типах патологического материала редко встречающихся грибов поставило вопрос об их роли во взаимо-

отношении с человеком, что привело к необходимости изучения патогенетического потенциала найденных микроорганизмов, т.е. совокупности физиологических особенностей микроорганизмов и факторов патогенности, необходимых для возникновения заболевания человека.

Зачастую при изучении факторов патогенности микроорганизмов из виду упускается тот факт, что экспериментальные условия *in vitro* существенно отличаются от микроокружения, в которое попадает микроорганизм в теле человека. И если при исследовании факторов вирулентности температурный режим, соответствующий телу человека, обычно соблюдается, то уровень различных газов, микроэлементный состав, вязкость, осмолярность среды, рН остаются за рамками исследования. Более того, вышеуказанные абиотические параметры среды не являются константными величинами и могут иметь разные значения в разных биотопах человеческого организма. Так, в отличие от парциального давления кислорода в атмосфере ~ 145 мм Hg (на уровне моря, при 21% O₂) в кишечнике человека он варьирует от 3 до 71 мм Hg, в лёгких этот уровень не поднимается выше 110 мм Hg [8]. Тем не менее, уровень кислорода может быть существенным фактором для реализации факторов патогенности [9,10,11]. Уровень железа существенно влияет на метаболизм и биосинтез макромолекул дрожжей [12,13], повышенная концентрация меди может быть частью врождённого иммунного ответа хозяина и существенно подавлять размножение микроорганизмов [14], уровень цинка может влиять на экспрессию ряда генов факторов патогенности [15]. Уровень других микроэлементов также может быть важным фактором для реализации патогенного потенциала микроорганизма. Вязкость и осмолярность среды также влияют на вирулентность микроорганизмов [16,17].

Реализация большинства факторов патогенности связана с ферментативной активностью микроорганизмов. Для оптимальной работы ферментов агрессии необходимо их нахождение в изоэлектрической точке с оптимальной кислотностью среды. рН большинства тканей человека соответствует 7,0–7,4, но может варьировать от $1,92 \pm 1,28$ в желудочном соке до 8,8 в соке поджелудочной железы [18]. Помимо изменения осевой рН (по ходу кишечника) отмечаются и радиальные изменения с увеличением рН от просвета к энтероцитам [19,20].

В нашем исследовании мы *in vitro* оценили диапазоны рН, в которых могут расти наиболее часто встречающиеся базидиомицетные

(*Rhodotorula mucilaginosa*, *Trichosporon* spp.) и аскомицетные (*Candida albicans*, *Geotrichum candidum*, *Pichia* spp., *Wickerhamiella pararugosa*) дрожжи кишечника при трёх температурных режимах культивирования (25°C, 35°C, 42°C).

Материалы и методы

Нами были исследованы базидиомицетные дрожжи: *Rhodotorula mucilaginosa* (26 штаммов), *Trichosporon asahii* (3 штамма), *Trichosporon ovoides* (3 штамма) и аскомицетные дрожжи *Geotrichum candidum* (24 штамма), *Candida albicans* (12 штаммов), *Pichia kudriavzevii* (10 штаммов), *Pichia manshurica* (2 штамма), *Pichia fermentas* (2 штамма), *Pichia cactophila* (1 штамм), *Pichia klueverii* (1 штамм), *Wickerhamiella pararugosa* (1 штамм). Все штаммы были получены из кала пациентов в многопрофильном медицинском центре. Для получения штаммов производили посев материала на среду Сабуро с 2% глюкозы и 0,4 г/л хлорамфеникола с инкубацией в течение 72 часов при температуре 35°C с последующей инкубацией при 25°C в течение недели.

Идентификацию дрожжей проводили на основании их морфологических, культуральных, биохимических свойств с подтверждением методом масс-спектрометрии на приборе «Microflex» («Bruker Daltonik GmbH & Co. KG», Германия) при помощи программного обеспечения «MALDI Biotyper».

Для оценки диапазона pH для роста культуры микромицетов после 24 часов (для родов *Candida*, *Pichia*, *Wickerhamiella*) или 48 часов (для родов *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Geotrichum*) инкубации в бульоне Сабуро (Оболенск, Россия) при помощи физиологического раствора на денситометре «Densi-La-Meter II» («Erba Group», EU) доводили до оптической плотности равной 1,0 Мак Фарланда для *Rh. mucilaginosa*, *C. albicans*, *Pichia* spp., *W. pararugosa*, 1,5 – для *G. candidum* и 2,5 для *T. asahii*, что соответствовало 10^7 КОЕ/мл (рассчитано при помощи камеры Горяева).

pH среды доводили до необходимых значений при помощи 30% (6,9N) гидроокиси калия химически чистой (ХЧ) (ЗАО «Союзхимпром», Россия) или соляной кислоты ХЧ (ООО «Торговая компания АНТ», Россия). Измерение pH проводили на pH-метре pH-420 (ООО «НПО Аквилон», Россия).

В лунки полистирольных 96-луночных планшетов с 190 мкл бульона Сабуро, доведённого до необходимого уровня pH, вносили 10 мкл каждого штамма исследуемых микроорганизмов (в трёх

повторах). Засеянные планшеты инкубировали при трёх температурных режимах (25°C, 35°C и 42°C) в аэробных условиях. Оптическую плотность измеряли при помощи 8-канального микропланшетного фотометра «Реал Р» («Вектор-Бест-Балтика», Россия) при длине волны 450 нм сразу после посева микроорганизмов, через 24, 48, 72 и 96 часов инкубации.

Оптическая плотность (OD) незасеянного бульона Сабуро (pH=5,6±0,2 при 25°C) при длине волны 450 нм соответствует 0,3. Данная оптическая плотность сохраняется в диапазоне pH от 4 до 9. При значениях pH менее 4 наблюдается увеличение мутности среды и OD достигает значений 0,6 и выше, при значениях pH более 10 также отмечается увеличение OD >0,350. В связи с этим для оценки роста микроорганизмов при различных значениях pH оценка проводилась по разнице оптической плотности после 96 часов инкубации и сразу после посева исследуемых культур $\Delta OD(96ч-0ч)$.

Несмотря на то, что определение оптической плотности является общепринятой методикой оценки роста микробной популяции в жидкой питательной среде на величину OD, помимо клеток живых микроорганизмов, могут влиять мёртвые клетки, продукты метаболизма и аутолиза. Чтобы минимизировать данные факторы, при крайних значениях pH (<3,0 и >10) для оценки жизнеспособности грибов мы выборочно проводили высев из лунок полистирольных планшетов на агар Сабуро. Для оценки жизнеспособности клеток также была использована методика с использованием трипанового синего [21], в которой 15 мкл 0,4% трипанового синего смешивали с 15 мкл культуры исследуемых микроорганизмов и после 2 минут культивирования микроскопировали в гемоцитометре. Жизнеспособные клетки не окрашивались, нежизнеспособные окрашивались в синий цвет.

Для оценки основных характеристик выборок исследуемых микроорганизмов (стандартное отклонение, коэффициент вариации, дисперсия выборочная) был использован Microsoft Excel.

Результаты и обсуждение

Полученные результаты показали существенные различия в физиологических диапазонах pH у различных дрожжей кишечника человека. Выявлено сильное влияние температуры культивирования на физиологические границы допустимой для роста кислотности среды (рис. 1).

Для большинства исследованных видов оптимальная температура роста – 25°C, при 35°C



Рис. 1. Рост дрожжей кишечника в зависимости от pH среды и температуры культивирования

отмечается значительное снижение роста микромицетов. При температуре 42°C, за исключением *C. albicans* и *P. kudriavzevii*, рост практически отсутствует. *W. pararugosa*, в отличие от других исследованных нами грибов, лучше росла при температуре 35°C.

Большинство исследованных нами видов активно растут в диапазоне pH 4-6, что может говорить о преимущественной ацидофильности дрожжей. Исключением можно назвать базидиомицет *Rh. mucilaginosa*, показавший оптимальный рост при pH равной 8. Два других исследованных нами базидиомицета *T. ovoides* и *T. asahii*

могли расти в относительно узком диапазоне pH с оптимумом pH 5 и 6 соответственно.

При pH < 4 и pH > 10 рост практически отсутствует. Тем не менее, некоторые дрожжи сохраняли способность к размножению при pH равной 2. С другой стороны, микромицеты оказались менее устойчивыми к высоким значениям pH. Нами не было обнаружено культур дрожжей, сохранявших способность к росту и размножению при pH более 11.

Выраженных отличий в результатах, полученных при исследовании базидиомицетных и аскомицетных дрожжей, обнаружено не было.

Наиболее широким pH диапазоном при всех температурных режимах обладали *C. albicans* и *P. kudriavzevii*.

Ещё одной выявленной особенностью было то, что даже в случае исследования близкородственных видов (нами исследовано пять видов рода *Pichia*), диапазон pH при разных температурных режимах существенно различается.

Количество исследованных нами штаммов позволило статистически оценить характеристику выборок штаммов *Rh. mucilaginosa*, *Trichosporon* spp., *G. candidum*, *C. albicans*, *P. kudriavzevii* (таблица 1).

Данные диапазонов pH других исследованных нами грибов ввиду небольшого количества штаммов могут носить ориентировочный характер.

Указанные в таблице 1 данные показывают существенные колебания значений стандартного отклонения, коэффициента вариации и выборочной дисперсии. Высокие цифры указанных значений в основном наблюдаются при крайних значениях pH.

За последние десятилетия количество публикаций, посвящённых изучению дрожжей, по данным pubmed.ncbi.nlm.nih.gov, значительно увеличилось, несмотря на это физиологическим аспектам размножения дрожжей уделяется недостаточно внимания.

Основной задачей нашего исследования была оценка диапазонов физиологических значений pH в контексте возможных взаимоотношений исследуемых дрожжей с организмом человека,

т.к. на патогенез инфекционного заболевания может существенно влиять pH среды биотопа, в котором происходит взаимодействие микроорганизма и организма хозяина. В то же время оценка диапазона pH является ключевым аспектом для понимания биологии дрожжей. Изучение pH имеет важное значение как для фундаментальной науки, так и для практического применения в биотехнологии, медицине и экологии.

Другим аспектом нашего исследования была оценка влияния температуры инкубации на pH диапазон дрожжевых микромицетов. Температура культивирования и pH среды тесно связаны. Так, изменение температуры может изменить оптимальный pH. Причина взаимного влияния pH в большей степени связана с работой ферментов, имеющих оптимальную температуру для своей активности и изоэлектрическую точку фермента, показывающую оптимальный pH для их работы. Выбор температурных режимов обусловлен следующим: температура 25°C позволяет показать температурные условия окружающей среды, что может быть косвенным указанием на сапрофитный характер существования микроскопических грибов, 35°C – соответствующие температуре человеческого организма, температура 42°C является условно пограничной температурой между мезофильными и термотолерантными микроорганизмами, к тому же данный температурный режим может быть использован в качестве теста для идентификации дрожжевых грибов [22].

Таблица 1. Статистическая характеристика выборок исследуемых штаммов

	Количество штаммов	Стандартное отклонение σ			Коэффициент вариации			Дисперсия выборочная s^2		
		25°C	35°C	42°C	25°C	35°C	42°C	25°C	35°C	42°C
Базидиомицетные дрожжи										
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	26	0,157-0,488	0,103-0,249	0,026-0,218	8,3%-30,6%	6,52%-31,8%	4,76%-28,4%	0,103-0,238	0,004-0,062	0,001-0,025
<i>Trichosporon ovoides</i>	3	0,042-0,479	0,040-0,401	-	1,5%-24%	2%-40,1%	-	0,002-0,305	0,0019-0,299	-
<i>Trichosporon asahii</i>	3	0,062-0,547	0,070-0,605	0,019-0,467	2,6%-46,6%	3,3%-48,9%	6,6%-45,7%	0,004-0,299	0,005-0,367	0,014-0,158
Аскомицетные дрожжи										
<i>Geotrichum candidum</i>	24	0,106-0,378	0,125-0,502	0,096-0,466	5,6%-24,9%	19,6%-47,9%	18,9%-50,3%	0,011-0,143	0,016-0,287	0,011-0,218
<i>Candida albicans</i>	12	0,042-0,139	0,022-0,397	0,019-0,510	2,8%-10,5%	2,6%-20,1%	2,8%-34,8%	0,002-0,034	0,002-0,157	0,002-0,256
<i>Pichia kudriavzevii</i>	10	0,039-0,207	0,027-0,118	0,025-0,330	3%-11,3%	3,3%-8,7%	4,2%-12,3%	0,003-0,043	0,004-0,014	0,006-0,126

Оценка диапазонов рН для роста грибов, имеющих медицинское значение, в литературе встречается редко. В статье [23] были исследованы физиологические диапазоны рН токсигенных мицелиарных грибов родов *Aspergillus*, *Penicillium* и *Fusarium* в разных температурных режимах (25, 30 и 37°C), в котором авторы получили схожие результаты, о возможности некоторых грибов размножаться при экстремальных значениях рН. В нашем исследовании мы исследовали рН диапазоны дрожжевых микромицетов при 25, 35 и 42°C.

S. albicans и *P. kudriavzevii* (телеморф *S. krusei* [24]) показали наиболее широкий диапазон рН при всех температурных режимах культивирования при отсутствии значимой разницы при 25°C и 35°C. Снижение ΔOD было заметно при 42°C только в случае экстремальных значений рН.

S. albicans, будучи оппортунистом организма человека, играет большую роль и в заболеваемости человека, причём данные микроорганизмы часто являются причиной инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи [25]. Грибы рода *Candida* могут заселять различные биотопы организма человека, не вызывая патологических изменений. Колонизация желудочно-кишечного тракта человека составляет от 20 до 80% [26]. Показанный в нашей работе диапазон рН для роста *S. albicans* говорит о способности данных грибов поражать все отделы кишечника, несмотря на существенные различия в их уровне рН. Стабильная температура теплокровных животных, включая человека, эволюционно «отсекла» большое число грибковых патогенов из-за их неспособности жить при температуре человеческого тела [27]. Показанная нами термотолерантность кандид в широком диапазоне рН свидетельствует об их способности противостоять такому врождённому защитному механизму человека, как лихорадка. Известно, что рН среды существенно влияет на диморфизм грибов [28] и образование биоплёнок [29], что связано с вирулентностью грибов. В связи с этим возможность *Candida* расти и размножаться в широком диапазоне рН можно рассматривать как ещё один аспект патогенности этих дрожжей.

В нашем исследовании мы проанализировали пять представителей рода *Pichia*. Данный род, по данным Mucobank и NCBI, включает более ста видов. И если в отношении вида *P. kudriavzevii* не возникает вопросов по поводу его значимости в патологии человека, то роль других представителей рода вызывает вопросы. *P. kudriavzevii* была внесена Всемирной организацией здравоохранения в лист приоритетных грибковых патогенов

[30], в то же время данный микроорганизм рассматривается в качестве пробиотика и имеет большой биотехнологический потенциал [31]. В исследовании [32] была показана высокая способность *P. kudriavzevii* к различным типам стрессового воздействия, включая температуру, галотолерантность, микроэлементный состав и т.д., что сопоставимо с результатами, полученными в нашем исследовании о широком физиологическом диапазоне рН в разных температурных режимах. Физиологические особенности данного микромицета позволяют колонизировать все отделы кишечника, как и другие биотопы человека, выживая при различных значениях рН и температуры, что в совокупности с другими факторами патогенности этого микроорганизма делает *P. kudriavzevii* важным этиологическим агентом заболеваний человека. Другие исследованные нами виды рода *Pichia* показали высокие цифры прироста оптической плотности ΔOD при температуре человеческого тела в диапазоне рН от 3 до 10, причём только *P. fermentas* обладала термотолерантностью в широком диапазоне рН. Физиологические диапазоны рН при температуре тела человека вместе с другими факторами патогенности изученных микроорганизмов допускают роль исследованных дрожжей в патологии человека.

Базидомицетные дрожжи *Rh. mucilaginosa*, в отличие от других исследованных нами грибов, показали значительное снижение оптической плотности при температурном режиме 35°C и более высокие цифры оптимума рН (6-8) при всех температурных режимах культивирования. Роль данных микроорганизмов во взаимодействии с человеком противоречива. С одной стороны, данные грибы – доказанные патогены человека, с другой стороны, эти дрожжи могут быть использованы в биотехнологии и даже имеют пробиотический потенциал [33]. Известные клинические случаи заболеваний, вызванные *Rh. mucilaginosa*, чаще связаны с системой крови (рН 7,35–7,45), что может быть патогенетически обосновано оптимальным рН данного микроорганизма.

T. ovoides и *T. asahii* считаются редкими патогенами человека и вызывают в основном заболевания сердечно-сосудистой системы у иммунокомпрометированных пациентов [34,35]. Узкий физиологический диапазон рН и отсутствие термотолерантности, по всей видимости, влияют на невысокий патогенетический потенциал данных микроорганизмов.

Wickerhamiella pararugosa – малоизученные аскомицетные дрожжи семейства *Tricho-*

topascaceae. Несмотря на небольшое количество публикаций, посвящённых этому микромицету, данные микроорганизмы могут вызвать патологию человека [36]. В нашем исследовании мы обнаружили более высокие цифры ΔOD в диапазоне pH от 5 до 9 при температурном режиме 35°C, чем при 25°C, что может косвенно говорить о большей приспособленности данного вида к симбиотическим отношениям с теплокровными животными, чем к сапрофитному образу жизни.

G. candidum имеет биотехнологическую значимость [37] и способен вызывать заболевания человека [38]. Рост этих грибов при температуре 35°C существенно ниже, чем при 25°C, что говорит о большей приспособленности данных

микроорганизмов к сапрофитному образу жизни. В то же время оптимальный pH при 35°C – 7, что при определённых условиях позволяет данным грибам вызвать патологию человека.

Заключение

Полученные в работе данные расширяют наши знания о физиологии ряда дрожжевых грибов, что даёт возможность более глубоко понять возможность исследованных дрожжей вызывать заболевания человека в биотопах с различными значениями pH. Данные о физиологических диапазонах pH могут быть полезны для оценки экологических и биотехнологических свойств микроорганизмов.

Литература

1. Wang DY, Kumar S, Hedges SB. Divergence time estimates for the early history of animal phyla and the origin of plants, animals and fungi. *Proc Biol Sci*. 1999 Jan 22;266(1415):163-71. doi: 10.1098/rspb.1999.0617. PMID: 10097391; PMCID: PMC1689654.
2. Brundrett MC. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants. *New Phytol*. 2002 May;154(2):275-304. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00397.x. PMID: 33873429.
3. Hawksworth DL, Lücking R. Fungal Diversity Revisited: 2.2 to 3.8 Million Species. *Microbiol Spectr*. 2017 Jul;5(4):10.1128/microbiolspec.funk-0052-2016. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0052-2016. PMID: 28752818; PMCID: PMC11687528.
4. One Health: Fungal Pathogens of Humans, Animals, and Plants: Report on an American Academy of Microbiology Colloquium held in Washington, DC, on October 18, 2017. Washington (DC): American Society for Microbiology; 2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549988/> doi: 10.1128/AAMCol.18Oct.2017
5. Köhler JR, Hube B, Puccia R, et al. Fungi that Infect Humans. *Microbiol Spectr*. 2017 Jun;5(3):10.1128/microbiolspec.funk-0014-2016. doi: 10.1128/microbiolspec.FUNK-0014-2016. PMID: 28597822; PMCID: PMC11687496.
6. Rokas A. Evolution of the human pathogenic lifestyle in fungi. *Nat Microbiol*. 2022 May;7(5):607-619. doi: 10.1038/s41564-022-01112-0. Epub 2022 May 4. PMID: 35508719; PMCID: PMC9097544.
7. Brown GD, Denning DW, Gow NA, et al. Hidden killers: human fungal infections. *Sci Transl Med*. 2012 Dec 19;4(165):165rv13. doi: 10.1126/scitranslmed.3004404. PMID: 23253612.
8. 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. Epub 2020 Jun 5. PMID: 32503843; PMCID: PMC7383395.
9. Прокопьев В.В., Карабасова Е.Б., Крафт Л.А., и др. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2023;4:48-53. doi: 10.14427/jirai.2023.4.48.
10. Прокопьев В.В., Эпп Е.В., Карабасова Е.Б. Оценка уреазной активности редких дрожжей кишечника человека в разных температурных и кислородных режимах культивирования. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А. Овчинникова* 2024; 20(2):93–100.
11. Голошва Е.В. Влияние биотических и абиотических факторов на биоленкообразование бактерий. *Эпидемиология и*
- инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2017;2:50-61. EDN YMVLP.
12. Jordá T, Puig S. Regulation of Ergosterol Biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genes (Basel)*. 2020 Jul 15;11(7):795. doi: 10.3390/genes11070795. PMID: 32679672; PMCID: PMC7397035.
13. Philpott CC, Leidgens S, Frey AG. Metabolic remodeling in iron-deficient fungi. *Biochim Biophys Acta*. 2012 Sep;1823(9):1509-20. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.01.012. Epub 2012 Jan 27. PMID: 22306284; PMCID: PMC3348335.
14. Ladomersky E, Petris MJ. Copper tolerance and virulence in bacteria. *Metallomics*. 2015 Jun;7(6):957-64. doi: 10.1039/c4mt00327f. PMID: 25652326; PMCID: PMC4464932.
15. Velasco E, Wang S, Sanet M, et al. A new role for Zinc limitation in bacterial pathogenicity: modulation of α -hemolysin from uropathogenic *Escherichia coli*. *Sci Rep* 8, 6535 (2018). doi: 10.1038/s41598-018-24964-1.
16. Kümmerli R, Griffin AS, West SA, et al. Viscous medium promotes cooperation in the pathogenic bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. *Proc Biol Sci*. 2009 Oct 7;276(1672):3531-8. doi: 10.1098/rspb.2009.0861. Epub 2009 Jul 15. PMID: 19605393; PMCID: PMC2817189.
17. Takabe K, Nakamura S, Ashihara M, et al. Effect of osmolarity and viscosity on the motility of pathogenic and saprophytic *Leptospira*. *Microbiol Immunol*. 2013 Mar;57(3):236-9. doi: 10.1111/1348-0421.12018. PMID: 23278547.
18. Gaohua L, Miao X, Dou L. Crosstalk of physiological pH and chemical pKa under the umbrella of physiologically based pharmacokinetic modeling of drug absorption, distribution, metabolism, excretion, and toxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2021 Sep;17(9):1103-1124. doi: 10.1080/17425255.2021.1951223. Epub 2021 Jul 31. PMID: 34253134.
19. Evans DF, Pye G, Bramley R, et al. Measurement of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects. *Gut*. 1988 Aug;29(8):1035-41. doi: 10.1136/gut.29.8.1035. PMID: 3410329; PMCID: PMC1433896.
20. Avdeef A. Physicochemical profiling (solubility, permeability and charge state). *Curr Top Med Chem*. 2001 Sep;1(4):277-351. doi: 10.2174/1568026013395100. PMID: 11899112.
21. Strober W. Trypan Blue Exclusion Test of Cell Viability. *Curr Protoc Immunol*. 2015 Nov 2;111:A3.B.1-A3.B.3. doi: 10.1002/0471142735.ima03bs111. PMID: 26529666; PMCID: PMC6716531.
22. Оганесян Э.Г., Гусева А.О., Чилина Г.А., Тараскина А.Е., Васильева Н.В.. "Термотолерантность и галотолерантность

Candida auris – ключи для видовой идентификации?” Проблемы медицинской микологии, vol. 26, no. 1, 2024, pp. 46-53. doi:10.24412/1999-6780-2024-1-46-53

23. Wheeler KA, Hurdman BF, Pitt JI. Influence of pH on the growth of some toxigenic species of *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*. *Int J Food Microbiol*. 1991 Feb;12(2-3):141-9. doi: 10.1016/0168-1605(91)90063-u. PMID: 2049282.

24. Douglass AP, Offei B, Braun-Galleani S, et al. Population genomics shows no distinction between pathogenic *Candida krusei* and environmental *Pichia kudriavzevii*: one species, four names. *PLoS Pathog*. 2018; 14 (7): e1007138. doi: 10.1371/journal.ppat.1007138

25. Pappas PG, Lionakis MS, Arendrup MC, Ostrosky-Zeichner L, Kullberg BJ. Invasive candidiasis. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 May 11;4:18026. doi: 10.1038/nrdp.2018.26. PMID: 29749387.

26. Poulain D. *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. *Crit Rev Microbiol*. 2015 Jun;41(2):208-17. doi: 10.3109/1040841X.2013.813904. Epub 2013 Aug 20. PMID: 23962107.

27. Robert VA, Casadevall A. Vertebrate endothermy restricts most fungi as potential pathogens. *J Infect Dis*. 2009 Nov 15;200(10):1623-6. doi: 10.1086/644642. PMID: 19827944.

28. Buffo J, Herman MA, Soll DR. A characterization of pH-regulated dimorphism in *Candida albicans*. *Mycopathologia*. 1984 Mar 15;85(1-2):21-30. doi: 10.1007/BF00436698. PMID: 6374461.

29. Pumeesat P, Muangkaew W, Ampawong S, et al. *Candida albicans* biofilm development under increased temperature. *New Microbiol*. 2017 Oct;40(4):279-283. Epub 2017 Aug 21. PMID: 28825445.

30. Nguyen TA, Kim HY, Stocker S, et al. *Pichia kudriavzevii* (*Candida krusei*): A systematic review to inform the World Health Organisation priority list of fungal pathogens. *Med Mycol*. 2024 Jun 27;62(6):myad132. doi: 10.1093/mmy/myad132. PMID: 38935911; PMCID: PMC11210618.

31. Chu Y, Li M, Jin J, et al. Advances in the Application of the Non-Conventional Yeast *Pichia kudriavzevii* in Food and Biotechnology Industries. *J Fungi* (Basel). 2023 Jan 27;9(2):170. doi: 10.3390/jof9020170. PMID: 36836285; PMCID: PMC9961021.

32. Mukherjee V, Radecka D, Aerts G, et al. Phenotypic landscape of non-conventional yeast species for different stress tolerance traits desirable in bioethanol fermentation. *Biotechnol Biofuels*. 2017 Sep 13;10:216. doi: 10.1186/s13068-017-0899-5. PMID: 28924451; PMCID: PMC5597992.

33. Hof H. *Rhodotorula* spp. in the gut – foe or friend? *GMS Infect Dis*. 2019 Sep 2;7:Doc02. doi: 10.3205/id000042. PMID: 31538040; PMCID: PMC6734584.

34. Li H, Guo M, Wang C, et al. Epidemiological study of *Trichosporon asahii* infections over the past 23 years. *Epidemiol Infect*. 2020 Jul 24;148:e169. doi: 10.1017/S0950268820001624. PMID: 32703332; PMCID: PMC7439294.

35. Mohd Tap R, Sabaratnam P, Ramli NY, et al. Subcutaneous Infection Associated with *Trichosporon ovoides*: A Case Report and Review of Literature. *Mycopathologia*. 2016 Apr;181(3-4):285-90. doi: 10.1007/s11046-015-9958-2. Epub 2015 Oct 22. PMID: 26493614.

36. Murata S, Mimura K, Kawamura T, et al. Bloodstream infection caused by *Wickerhamiella pararugosa* in a patient with intestinal obstruction: A case report. *J Infect Chemother*. 2024 Sep;30(9):942-945. doi: 10.1016/j.jiac.2024.02.014. Epub 2024 Feb 16. PMID: 38369124.

37. 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. PMID: 36981051; PMCID: PMC10048088.

38. 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. PMID: 35345161; PMCID: PMC8257100.

Сведения об авторе

Прокопьев Василий Валерьевич – к.б.н., доцент, доцент кафедры эпидемиологии, микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России. 656057, г. Барнаул, пр. Ленина, 40. E-mail: prokopievvv@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7151-3899.

Поступила 21.04.2025.