

Farklı Besiyerlerinin *Malassezia furfur*'un Kompozit Korelasyon İndeksine Dayalı MALDI-TOF MS Analizi Verilerine Etkisi

The Effect of Different Media on MALDI-TOF MS Analysis Data Based on the Composite Correlation Index of *Malassezia furfur*

Çağrı ERGİN¹(ID), Gözde Gülcan ÜNAL¹(ID), Tuğrul HOŞBUL²(ID), İlknur KALELİ¹(ID)

¹ Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Denizli.

¹ Pamukkale University Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Denizli, Türkiye.

² Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

² University of Health Sciences, Gülhane Faculty of Medicine, Department of Medical Microbiology, Ankara, Türkiye.

*Bu çalışma, XLI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi (13-17 Ekim 2024, Antalya, Türkiye)'nde poster bildirisi olarak sunulmuştur.

Makale Atfı: Ergin Ç, Ünal GG, Hoşbul T, Kaleli İ. Farklı besiyerlerinin *Malassezia furfur*'un kompozit korelasyon indeksine dayalı MALDI-TOF MS analizi verilerine etkisi. Mikrobiyol Bul 2025;59(4):517-524.

ÖZ

Matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş süresi kütle spektrometrisi [matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)] mikrobiyoloji alanında oldukça geniş kullanım alanı bulmuştur. Cihazdan elde edilen spektrumlar ile küçük pik verilerin de analize alındığı kompozit indeks [composite indicator (CI)] analizleri mikrobiyal farklılıkların incelenmesinde önemli bir yöntemdir. Dış faktörlerin hücre kompozisyonu üzerine etkilerinin incelenmesinde birleşik korelasyon indeksi (CCI); spektrum verilerinin grup halinde analizine imkan tanımaktadır. Son yıllarda, klinik örneklerden giderek artan sayıda *Malassezia furfur* izolasyonu yapılmaktadır. Bu patojenin lipide bağlı üreme özelliği nedeniyle Sabouraud'un dekstrozu agarı gibi rutin mikolojide kullanılan besiyerlerinde üremesi olmamaktadır. Gereksinim halinde her laboratuvarın kendine ait uygun besiyerini hazırlayarak kullanması önerilmektedir. Ancak *Malassezia* mayalarının üretilmesi için tanımlanan besiyerlerinde içerikler ve miktarları çok farklılıklar gösterir. Modifiye Dixon agar (mDA), modifiye Leeming and Notman agar (mLNA) ve FastFung agar (FFA) besiyerleri hem primer kültür ortamı olarak hem de araştırmalarda yaygın olarak kullanılır. Bu besiyerindeki içerik çeşitliliğinin farklı spektrumların oluşmasına neden olması mümkündür. Bu çalışmada, lipofilik *M.furfur* izolatlarının farklı besiyerlerinde üretilmelerinde elde edilen MALDI-TOF MS spektrumları arasındaki ilişkinin incelenmesi ve rutin uygulamada kullanılabilirliğinin sorgulanması amaçlanmıştır. Araştırmaya alınan 17 *M.furfur* izolatı mDA, mLNA ve FFA agarda üretilmiştir. İzolatların MALDI-TOF MS spektrumlarının CI analizleri yapılmış ve CCI verileri karşılaştırılmıştır. Araştırmaya alınan izolatlar için FFA ve mLNA besiyerleri arasında CI değerleri arasında fark saptanmazken ($p > 0.05$), her iki besiyeri de mDA besiyerine göre daha yüksek CI değerlerine sahip bulunmuştur ($p < 0.05$). Besiyerleri için basıklık (kurtosis) değerleri FFA, mLNA ve mDA için sırasıyla 1.83, -0.56 ve -1.16 olarak hesaplanmıştır. Çalışmada mDA besiyerinin platikurtik verilere sahip olması, yaygın olarak kullanılmasına rağmen zaman kaybettirecek spektroskopik analizlere neden olacağını düşündürmektedir. Tween 60 ile hazırlanan FFA ve mLNA besiyerlerinde yüksek CI değerlerinin bulunması, MALDI-TOF MS gibi yöntemlerin *M.furfur* analizlerinde standardizasyon için daha kullanılabilir olduğunu göstermektedir. Tween farklılıkları, MALDI-TOF

MS analizinde tween uzaklaştırma protokollerinin verimini de etkileyecektir. Farklı verilerin elde edilmesi, CI gibi küçük spektral verilerin işleme alınması protokollerinin besiyeri standardizasyonunda gereklilik olduğunu göstermektedir. Besiyeri birlikteliğinin sağlanması laboratuvarlar arasında karşılaştırılabilir verilerin elde edilmesini de kolaylaştıracaktır.

Anahtar kelimeler: MALDI-ToF MS; *Malassezia furfur*; Birleşik korelasyon indeksi.

ABSTRACT

Matrix-assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) is widely used in microbiology. Composite index (CI) analyses, which involve evaluating spectra obtained from the device as well as small peak data, are a crucial method for examining microbial differences. When analysing the impact of external factors on cell composition, the composite correlation index (CCI) facilitates the grouping of spectrum data. In recent years, a significant increase in the isolation of *Malassezia furfur* strains from clinical specimens has been observed. Due to its lipid-dependent growth characteristics, this pathogen does not grow on the media typically used in routine mycology, such as Sabouraud's dextrose agar. It is therefore recommended that each laboratory prepare and use its own appropriate media when necessary. However, the contents and their quantities in media used to cultivate *Malassezia* yeasts can vary considerably. Modified Dixon agar (mDA), modified Leeming & Notman agar (mLNA) and Fast Fung agar (FFA) are widely used as both primary culture media and in research. The variation in the composition of these media may lead to different spectra forming. This study aimed to investigate the relationship between MALDI-TOF MS spectra obtained from cultivating lipophilic *M.furfur* strains on different media and to assess their usability in routine practice. Seventeen *M.furfur* isolates included in the study were grown on mDA, mLNA and FFA agar. CI analyses of MALDI-TOF MS spectra of the strains were performed and CCI data were compared. While no difference was found in the CI values of the FFA and mLNA media for the strains included in the study ($p > 0.05$), the CI values of both media were higher than those of the mDA media ($p < 0.05$). Kurtosis values for the media were calculated as 1.83, -0.56, and -1.16, respectively, for FFA, mLNA and mDA. The platykurtic distribution of the mDA medium data in the study suggests that, despite its widespread use, it may lead to time-consuming spectroscopic analyses. The high CI values observed in FFA and mLNA media prepared with tween 60 indicate that methods such as MALDI-TOF MS are more suitable for standardization in the analysis of *M.furfur*. Differences in tween will also affect the efficiency of tween removal protocols in MALDI-TOF MS analyses. The acquisition of variable data and the requirement to process minor spectral parameters, such as CI values, underscore the importance of standardizing culture media protocols. Achieving consistency in media formulation will further support the generation of comparable data between laboratories.

Keywords: MALDI-ToF MS; *Malassezia furfur*; composite correlation index.

GİRİŞ

Matriks destekli lazer desorpsiyon iyonizasyon uçuş süresi/kütle spektrometrisi [matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)] mikrobiyoloji alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Genellikle rutin mikrobiyoloji laboratuvarında MALDI-TOF MS ile elde edilen spektrum, bilinen mikrobiyal spektrumlar ile karşılaştırılır. Tanımlamaya ait korelasyon fonksiyonları en yoğun olan spektral çıkıntıları ("pik"leri) aşırı vurgulama eğilimindedir, spektrumun geri kalanındaki küçük farklılıklar göz ardı edilir¹. Kompozit indeksler [composite indicators (CI) (bileşik göstergeler)] doğrudan ölçülemeyen verileri değerlendirmek için kullanılan matematiksel yöntemlerdir. Kompozit korelasyon indeksi (CCI), spektrumlar arasındaki ilişkileri ve benzerlikleri analiz eden istatistiksel bir otokorelasyon aracıdır. CCI değerleri, pikler ile elde edilen tekli "log" değerlerinden farklı olarak bileşik değişkendir². CCI verilerine ait çoklu veri setlerinin karşılaştırılması amacıyla mikrobiyolojik çalışmalarda etkin olarak kullanılabileceği gösterilmiştir^{1,3-9}.

Bazidiyomiçet maya mantarı *Malassezia furfur*, özellikle yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde kateter ilişkili enfeksiyonlar ve fungemi etkeni olarak sıklıkla bildirilmektedir. Ciddi invaziv enfeksiyonlarda dahi belirgin klinik semptomların ortaya çıkmaması, lipide bağımlı üreme zorunluluğu ve rutin mikrobiyoloji laboratuvarlarında kullanılan besiyeri farklılıkları, *M.furfur* fungemisinin tanımlanmasında genellikle gecikmelere yol açar¹⁰.

Mayalarda hücre duvarı üretildikleri kültür ortamında bulunan yapılardan etkilenir. Kanlı agar veya Sabouraud'un dekstroz agarı gibi lipid içermeyen besiyerleri veri kütüphanelerinin oluşturulmasında sıklıkla kullanılır. Bu veri tabanlarının *Malassezia* türlerinin tanımlanmasında kısmen başarılı olduğu bildirilmiştir^{11,12}. Ancak lipid bağımlı üreyen mayalar için veri tabanlarının standardizasyonuna yönelik bilgi bulunmamaktadır. Modifiye Dixon agar (mDA), modifiye Leeming and Notman agar (mLNA) ve FastFung agar (FFA) *Malassezia* türlerinin kültürü amacıyla kullanılır¹¹⁻¹³. Besiyerlerinin farklı modifikasyonları vardır ve rutin kültüründe kullanımı konusunda bir fikir birliği yoktur. Yaygın görüş, gerektiğinde ilgili literatürün rehberliğinde laboratuvarların kendi besiyerlerini hazırlamasıdır. Bu besiyerlerinde mayanın karbon kaynağı olarak kullanacağı moleküller genellikle tween grubu polisorbitatlar, oleik asit ve zeytinyağıdır. Farklı besiyerlerinde üretilen *M.furfur*'un hücre duvarı bileşenlerinde farklılıkların oluşması, MALDI-TOF MS spektrumlarında da değişikliklere neden olacaktır.

Bu çalışmada, lipofilik *M.furfur* izolatlarının farklı besiyerlerinde üretilmeleriyle elde edilen MALDI-TOF MS spektrumları arasındaki ilişkinin incelenmesi ve rutin uygulamada kullanılabilirliğinin sorgulanması amaçlanmıştır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma, Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı (Tarih: 14.05.2024 ve Karar No: 09).

Çalışmaya bir referans izolat (CBS 1878) ve 16 *M.furfur* izolatı dahil edildi. Klinik suşlar, daha önceki araştırmalar ile yenidoğanlardan deri mikrobiyota üyesi olarak izole edilerek tanımlanmıştır¹⁴. Kısaca, tüm lipofilik izolatların tanımlanmasında çeşitli lipid asimilasyonları (tween 20, 40, 60, 80 ve Hint yağı), üreaz aktivitesi, beta-glukozidaz aktivitesi ve 40 °C sıcaklığa tolerans yöntemleri kullanıldı^{14,15}. Rastgele seçilen üç suşun 26S rDNA'sının D1/D2 bölgesi 5'-TAA CAA GGA TTC CCC TAG TA-3' ve 5'-ATT ACG CCA GCA TCC TAA G-3' primerleri kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonuyla çoğaltıldı ve ardından dizi analiziyle doğrulandı¹⁶.

Araştırmada kullanılan besiyerleri laboratuvar ortamında hazırlandı. Tüm besiyerlerinin pH'ı 6.0 ± 0.5 'e ayarlandı (Tablo I). İzolatlar, kısa süreli stok olarak bulunduruldukları +4 °C ortamdaki mDA besiyerine pasajlandı ve 33 °C'de yeterli üreme sağlanıncaya dek kültüre edildi. Üreyen mayalar, 3-5 farklı koloniye dokundurulan öze yardımıyla mDA, mLNA ve FFA besiyerleri yüzeylerine yayılarak ekildi. Beş gün boyunca 33 °C'de inkübe edilen ekimlerden elde edilen maya hücreleri 1 ml %50 etanol içinde süspanse edilerek vorteksleildi¹¹. Örnekler 3000 rpm'de üç dakika santrifüj edildikten sonra süpernatant

Tablo 1. Çalışmada Kullanılan Besiyerlerinin İçeriği (litre başına)

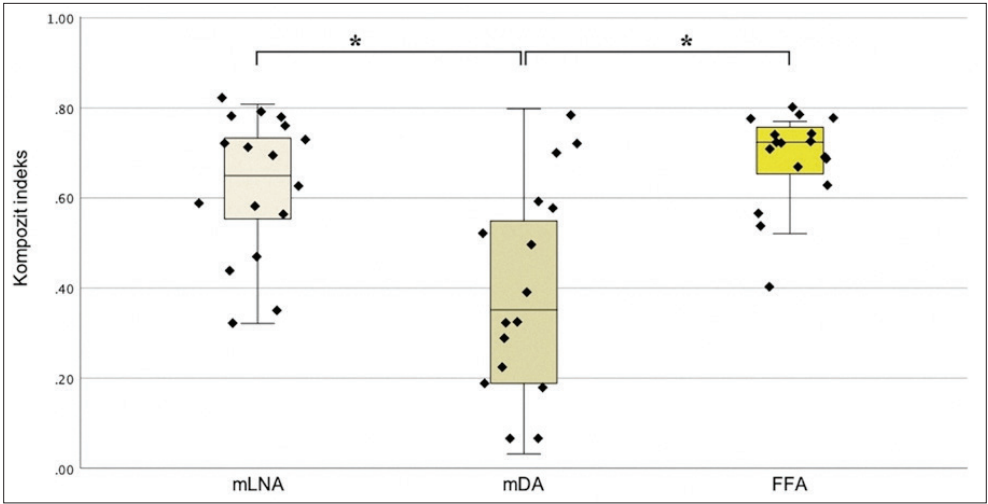
	Dixon agar (modifiye)	FastFung agar	Leeming and Notman agar (modifiye)
Malt özütü (gr)	36	10	-
Pepton (gr)	10	20	10
Glukoz (gr)	-	10	10
Maya özütü (gr)	-	-	2
Siğır safrası (gr)	20	5	8
Gliserol (ml)	2	2.5	10
Gliserol monostearat (ml)	-	-	0.5
Tween 40 (ml)	10	-	-
Tween 60 (ml)	-	5	0.5
Oleik asid (ml)	2	2	-
Zeytinyağı (ml)	-	-	2
Schædler agar (gr)	-	43	-
Agar (gr)	15	-	15

uzaklaştırıldı. Çökelti içerisinde kalması muhtemel etanolün uzaklaştırılması için çökelti oda sıcaklığında kurutuldu. Ardından üzerine 50 µL distile su eklenerek yeniden süspansiyon edildi. Elde edilen süspansiyondan 1 µL MALDI-TOF MS plakasına damlatıldı ve damla oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Takiben her bir noktanın üzerine 0.8 µL %98'lik formik asit eklendi. Formik asidin havada kurutulmasından sonra, noktalar 1 µL matris (1 mg α-siyano-4-hidroksisinnamik asit, 2.5 µL trifloroasetik asit, 50 µL asetonitril ve 47.5 µL bidistile su) çözeltisiyle kaplandı. Kütle spektrometrisi spektrumu için MALDI-TOF MS Sirius (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) cihazı (2-20 kDa aralığı için 60 Hz lazer frekansında doğrusal pozitif mod) kullanıldı. Spektrum verileri BDAL v12.0 (Bruker Daltonics GmbH, Bremen, Almanya) kütüphanesi ile MBT Compass HT'den elde edildi. Her analizin spektrumları R-Studio (R v4.2.3) programına aktarıldı. Her izolat için piklerin saptandığı ve en yüksek log değerine sahip spektrum kullanıldı. CI ve CCI işlemleri R programında CompindexR paketiyle yapıldı¹⁷. Eşleştirilmemiş örneklerde t testi ve yaygınlık göstergeleri SPSS (v29.0, IBM, Amerika Birleşik Devletleri) programıyla incelendi.

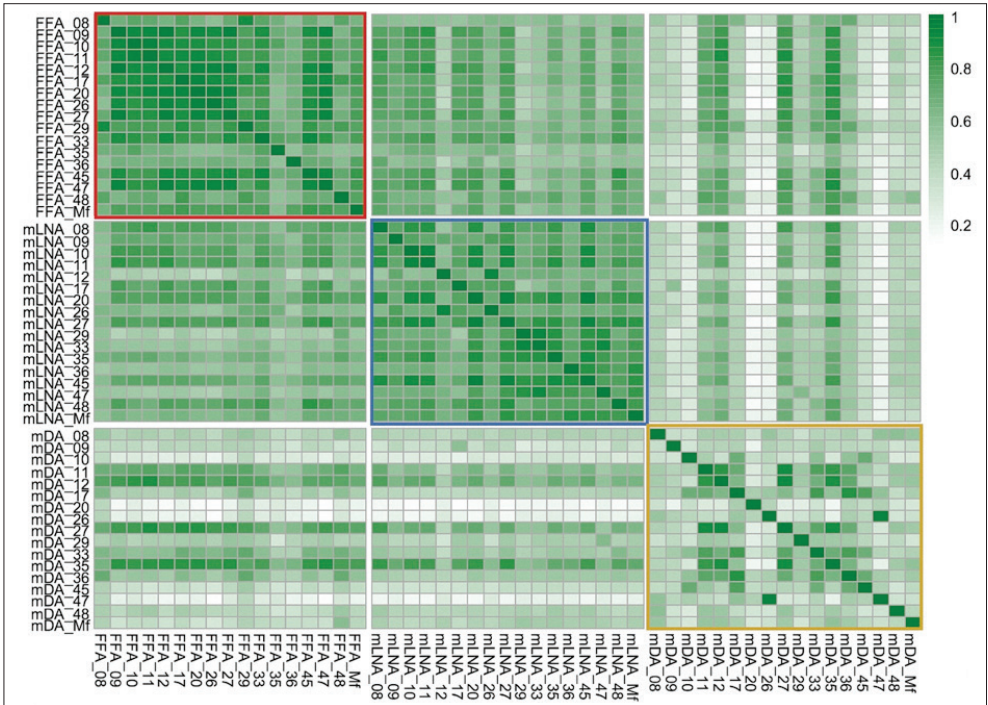
BULGULAR

Araştırmaya alınan izolatların spektrumlarından elde edilen CCI verileri; FFA, mLNA ve mDA olmak üzere üç farklı besiyerine göre gruplandırılmıştır. FFA ve mLNA besiyerleri arasında CI değerleri arasında fark bulunmazken ($p > 0.05$), her iki besiyerinin de mDA besiyerine göre daha yüksek CI değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$) (Şekil 1).

Besiyerleri için basıklık (kurtosis) değerleri FFA, mLNA ve mDA için sırasıyla 1.83-0.56 ve -1.16 olarak hesaplanmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar (CCI verileri) ısı-haritası olarak Şekil 2'de sunulmuştur.



Şekil 1. Laboratuvarda hazırlanan mLNA, mDA ve FFA üzerinde üretilen *M.furfur* izolatlarının MALDI-TOF MS ile elde edilen kompozit indeks değerleri (* $p < 0.05$).



Şekil 2. FFA (kırmızı çerçeve), mLNA (mavi çerçeve) ve mDA (kahverengi çerçeve) ile gruplandırılmış 17 *M.furfur* (besiyeri_Mf: *M.furfur* CBS1878) suşunun bileşik korelasyon indeksi ısı haritası.

TARTIŞMA

Literatürde *M.furfur*'un primer ve sürekli kültürleri için farklı besiyerleri tanımlanmaktadır. Sunulan araştırmada, mLNA ve FFA besiyerinde üretilen mayaların kütle spektroskopilerinde elde edilen küçük piklerin önem kazandığı durumlarda daha karşılaştırılabilir veri sağladığı görülmüştür. Bu durumun klinik mikolojide en yararlı olduğu alan, mantar duvarı değişimlerinin öngörüldüğü (örn. azol direnci gibi) araştırmalardır. *Trichophyton*, *Aspergillus* ve *Candida* türleriyle yapılan araştırmalarda CI verileri yararlı olmuştur^{3-5,8,9,18}.

Yaygın olarak kullanılan mDA besiyerinin tekrarlanan testlerde sınıf içi korelasyonu düşük bulunmuştur. MALDI-TOF MS'nin tekrarlanabilirliği çoğu bakteri suşu için uyumluyken, hücre duvarında lipit içeren mayalar ile elde edilen sonuçlar daha belirsizdir. Bu tutarsızlık, literatür desteğinde bu alandaki sınırlı deneyime bağlanabilir. Mevcut literatür verileri CI yerine log değerlerine dayanmaktadır. Ancak log değerleri sadece yüksek pik değerlerini algoritmaya alır. Benzer şekilde piklerin elde edilememesi de deneyimli ekiplerle rağmen görülebilmektedir^{11,12}. Bu durum, mLNA ve FFA gibi CI verilerinin daha toplu olduğu (leptokörtik) besiyerlerine ihtiyacı desteklemektedir.

Malassezia mayaları için MALDI-TOF MS analizi öncesi teknik işlem olarak lipit giderme ve buharlaştırma basamakları bulunur. Yöntemler yeni olmamakla birlikte bu faktörlerin *Malassezia* tanımlamasında laboratuvarlar arasında farklılıklara neden olabileceği öngörülebilir. Yöntemle ilgili olarak protein ile etkileşmeyen diğer lipit çözücülerin kullanılması sorunun çözümünde yardımcı olabilir. Ancak çeşitli kimyasal lipit çözücülerin kullanılması, analitik tekniği uygulamadan önce bu kimyasalların ortadan kaldırılmasını da gerektirmektedir.

Kütle spektroskopisi ile tanımlama sorunlarından biri de Kolečka ve arkadaşları¹² tarafından öne sürüldüğü gibi, besiyerindeki lipit kalıntıları nedeniyle test plakası üzerindeki materyalin kurummasının gecikmesiyle ilgili teknik sorunlar olabilir. mDA besiyerinden farklı olarak, FFA ve mLNA besiyerleri tween 40 yerine tween 60 içerir. Tweenlerin adsorpsiyon ve agregasyon özellikleri, polioksietilen zincirlerinin konformasyonuna bağlı olarak değişebilir¹⁹. Tween 40 ortam sıcaklığında sıvı halde kalır ancak tween 60 daha düşük viskozite sergiler ve besiyeri hazırlama sırasında sıcaklık düştüğünde agar yüzeylerinde kalıntı bırakmaya daha yatkındır. Bu aşamada işlemi yapan teknik ekibin deneyimi de analizi etkileyecektir. Bulgularımız, daha önce Kolečka ve arkadaşları¹² tarafından önerilen, *Malassezia* izolatlarının tanımlanmasında her laboratuvarın kendisine ait MALDI-TOF MS protokollerinde kendi veri tabanlarını oluşturmaları gerektiği önerisini desteklemektedir.

Malassezia'nın tanımlanmasına ilişkin yayınlar, veri toplama tekniğinin MALDI-TOF MS cihazının pozitif yük konfigürasyonundan da yararlandığını göstermektedir¹¹. Teknik olarak, negatif yüklü cihaz kullanılabilir. Bu modifikasyon, elde edilen veriler kullanılarak oluşturulan kütüphanede tutarsızlıklara neden olabilir. Özellikle ekstraksiyon aşamasından sonra lipit kalıntılarının kalma ihtimali, lipitlerin negatif iyonlarla farklı davranması nedeniyle farklı spektrumlara neden olacaktır. Bu durum kütle-yük oranı olarak gösterilen m/z değerlerinin ana tepe noktalarının elde edilmesinde bir sorun yaratmasa da

küçük değişkenlerin etkili olabildiği CI analizlerinde arttırılmış verilere neden olabilir². Benzer şekilde, ekstraksiyon (deterjan vb.) protokollerinin ve negatif yük yöntemlerinin varyasyonları da kütle spektroskopisi analizinde hücre zarı proteinlerinin çözünürlüğünü arttırmak için kullanılabilir²⁰.

Bu çalışmanın bazı kısıtlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle sonuçlarımız farklı *Malassezia* türleri için genelleştirilememektedir. Aynı zamanda verilerimiz yalnızca kolonize olan *M.furfur* suşlarından oluşmaktadır. Patojenik *M.furfur* suşları arasında hücre duvarlarında potansiyel varyasyonlar ve diğer *Malassezia* türleri için CCI verilerinde de farklılıklar beklenmelidir. Dikkate alınması gereken son sınırlılık, kurum içinde hazırlanan besiyerlerinde kullanılan ve üreticiye bağlı olan temel bileşenlerdeki (malt özütü, pepton, maya özütü vb.) farklılıklardır. Bu bileşenler, üretim sırasında kullanılan tekniğe bağlı olarak farklı protein yapıları içerebilir. Sonuç olarak, yapılan çalışmalarda üreticinin adının yer alması karşılaştırmalı verilerin analizini kolaylaştırabilir. Sunulan çalışmada, tek-rarlayan besiyeri hazırlamalarında aynı üreticinin tek bir ürünü (Lot değişimi olmaksızın) kullanılmıştır.

MALDI-TOF MS analizi verilerinde etkenlerin ürettikleri besiyerlerinin bileşenleri mayaların yapıları üzerinde etkili olmaktadır. Üç farklı besiyeri ve bileşenlerinin *M.furfur*'un MALDI-TOF MS analizi üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmamızda, FFA ve mLNA besiyerlerinde uyumlu CI değerlerinin bulunması, bu besiyerlerinin *M.furfur* kütle spektroskopik analizlerinde standardizasyon için daha kullanılabilir olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte analizlerin karşılaştırılabilir olması için standardizasyon konusunda daha fazla veriye ihtiyaç bulunmaktadır.

ETİK KURUL ONAYI

Bu çalışma, Pamukkale Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Tarih: 14.05.2024 ve Karar no: 09).

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Arnold RJ, Reilly JP. Fingerprint matching of *E. coli* strains with matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry of whole cells using a modified correlation approach. *Rapid Commun Mass Spectrom* 1998; 12: 630-6. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0231\(19980529\)12:12<630::AID-RCM206>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0231(19980529)12:12<630::AID-RCM206>3.0.CO;2-0)
2. Song MK, Lin FC, Ward SE, Fine JP. Composite variables: When and how. *Nurs Res* 2013; 62: 45-9. <https://doi.org/10.1097/NNR.0b013e3182741948>
3. Gitman MR, McTaggart L, Spinato J, Poopalarajah R, Lister E, Husain S, et al. Antifungal susceptibility testing of *Aspergillus* spp. by using a composite correlation index (CCI)-based matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry method appears to not offer benefit over traditional broth microdilution testing. *J Clin Microbiol* 2017; 55: 2030-4. <https://doi.org/10.1128/JCM.00254-17>
4. Paul S, Singh P, A SS, Rudramurthy SM, Chakrabarti A, Ghosh AK. Rapid detection of fluconazole resistance in *Candida tropicalis* by MALDI-TOF MS. *Med Mycol* 2018; 56: 234-41. <https://doi.org/10.1093/mmy/myx042>

5. De Carolis E, Vella A, Florio AR, Posteraro P, Perlin DS, Sanguinetti M, et al. Use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for caspofungin susceptibility testing of *Candida* and *Aspergillus* species. J Clin Microbiol 2012; 50: 2479-83. <https://doi.org/10.1128/JCM.00224-12>
6. Vella A, De Carolis E, Vaccaro L, Posteraro P, Perlin DS, Kostrzewa M, et al. Rapid antifungal susceptibility testing by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry analysis. J Clin Microbiol 2013; 51: 2964-9. <https://doi.org/10.1128/JCM.00903-13>
7. De Carolis E, Marchionni F, La Rosa M, Meis JF, Chowdhary A, Posteraro B, et al. Are we ready for nosocomial *Candida auris* infections? Rapid identification and antifungal resistance detection using MALDI-TOF mass spectrometry may be the answer. Front Cell Infect Microbiol 2021; 11: 645049. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.645049>
8. Giordano A, Pontes L, Beraquet CAG, Lyra L, Schreiber AZ. Matrix-assisted laser desorption/ionisation-time of flight mass spectrometry azole susceptibility assessment in *Candida* and *Aspergillus* species. Mem Inst Oswaldo Cruz 2023; 118: e220213. <https://doi.org/10.1590/0074-02760220213>
9. Oviano M, Bou G. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for the rapid detection of antimicrobial resistance mechanisms and beyond. Clin Microbiol Rev 2019; 32. <https://doi.org/10.1128/CMR.00037-18>
10. Zhang X, Jin F, Ni F, Xu Y, Lu Y, Xia W. Clinical data analysis of 86 patients with invasive infections caused by *Malassezia furfur* from a tertiary medical center and 37 studies. Front Cell Infect Microbiol 2023; 13: 1079535. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1079535>
11. Honnavar P, Ghosh AK, Paul S, Shankarnarayan SA, Singh P, Dogra S, et al. Identification of *Malassezia* species by MALDI-TOF MS after expansion of database. Diagn Microbiol Infect Dis 2018; 92: 118-23. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2018.05.015>
12. Kolečka A, Khayhan K, Arabatzis M, Velegraki A, Kostrzewa M, Andersson A, et al. Efficient identification of *Malassezia* yeasts by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Br J Dermatol 2014; 170: 332-41. <https://doi.org/10.1111/bjd.12680>
13. Atsu N, Ergin C, Caf N, Turkoglu Z, Dogen A, Ilkit M. Effectiveness of FastFung agar in the isolation of *Malassezia furfur* from skin samples. Mycoses 2022; 65: 704-08. <https://doi.org/10.1111/myc.13450>
14. Okul M, Özdemir ÖMA, Ergin H, Ergin Ç. Presence of *Malassezia* species in patients admitted to the neonatal intensive care unit and antifungal sensitivity of *Malassezia furfur*. Mediterr J Infect Microb Antimicrob 2024; 13: 5-5.
15. Sancak B, Ayhan M, Karaduman A, Arikan S. Yenidoğanlardan izole edilen *Malassezia* suşlarının ketokonazol, itrakonazol ve terbinafine in vitro duyarlılığı. Mikrobiyol Bul 2005; 39: 301-8.
16. Mirhendi H, Makimura K, Zomorodian K, Yamada T, Sugita T, Yamaguchi H. A simple PCR-RFLP method for identification and differentiation of 11 *Malassezia* species. J Microbiol Methods 2005; 61: 281-4. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2004.11.016>
17. Aydin O, Kuc Czarnecka M, Pietrzak MB. ompindexR: An R package for calculating composite indicators. uRos Conference 2022; 2022.
18. Roberto AEM, Xavier DE, Vidal EE, Vidal CFL, Neves RP, Lima-Neto RG. Rapid detection of echinocandins resistance by MALDI-TOF MS in *Candida parapsilosis* complex. Microorganisms 2020; 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8010109>
19. Szymczyk K, Zdziennicka A, Janczuk B. Adsorption and aggregation properties of some polysorbates at different temperatures. J Solution Chem 2018; 47: 1824-40. <https://doi.org/10.1007/s10953-018-0823-z>
20. Chen F, Gerber S, Heuser K, Korkhov VM, Lizak C, Mireku S, et al. High-mass matrix-assisted laser desorption ionization-mass spectrometry of integral membrane proteins and their complexes. Anal Chem 2013; 85: 3483-8. <https://doi.org/10.1021/ac4000943>



Bu eser CC BY-NC Atf-GayriTicari Türev Eser Yaratma 4.0 Uluslararası Lisansı kapsamında lisanslanmıştır.

Veri Paylaşım Beyanı: Bu çalışmanın bulgularını destekleyen veriler, makul talepler doğrultusunda sorumlu yazardan temin edilebilir.

©Telif Hakkı 2025 Mikrobiyoloji Bülteni'ne aittir. Makale metnine www.mikrobiyolbul.org web sayfasından ulaşılabilir.