

Розробка методу оцінки життєздатності грибів за допомогою полімеразної ланцюгової реакції

Я.Ф. Кутасевич, І.О. Олійник, К.Г. Супрун, О.А. Сокол
ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України»

Резюме. У роботі наводиться обґрунтування необхідності вдосконалення методів діагностики життєдіяльності грибів у процесі саногенезу оніхомікозів. Запропоновано власну методику на основі виявлення комплементарної ДНК шляхом зворотної транскрипції полімеразної ланцюгової реакції. Наведено алгоритм оцінки елімінації збудників оніхомікозу.

Ключові слова: оніхомікоз, діагностика, полімеразна ланцюгова реакція зі зворотною транскрипцією, комплементарна ДНК.

DOI: 10.33743/2308-1066-2023-2-11-14

Вступ

За останні два десятиріччя у структурі дерматозів відмічається прогресивне підвищення питомої ваги мікотичної інфекції шкіри та її придатків, обумовленої патогенними і особливо умовно-патогенними мікроміцетами. Розповсюдженість оніхомікозів варіює залежно від країни, але залишається стабільно високою. Дослідження, яке проводилося в 10 країнах світу, показало, що частка оніхомікозів серед усіх захворювань стоп інфекційної та неінфекційної природи сягає 30%. Захворюваність у загальній популяції земної кулі коливається у межах 8–13% [4, 13, 14].

Грибкова інфекція спричиняє від 50% до 60% випадків захворювань нігтів. В інших випадках патологія нігтів має негрибкову природу й спричинена багатьма патологічними процесами, зокрема: оніхії та пароніхії при різних шкірних захворюваннях (псоріаз, екзема, червоний плоский лишай, червоний вовчак, склеродермія, червоний волосяний лишай, бульозні дерматози тощо); ураження нігтів при інфекційних захворюваннях негрибкової етіології (сифіліс, лепра, туберкульоз, малярія, черевний тиф тощо); травматичні ураження нігтів; новоутворення нігтів; ураження нігтів при нервово-психічних та ендокринних захворюваннях; ураження нігтів при ураженні внутрішніх органів (легень, серця і великих судин); вроджені та спадкові ураження нігтів; професійні ураження нігтів [1, 5].

На сьогодні для діагностики оніхомікозу застосовують регламентовані методи, що передбачають мікроскопічне та культуральне дослідження. Мікроскопія є базовим і найчастіше використовуваним методом лабораторної діагностики оніхомікозів. Нині найчастіше використовується мікроскопія незабарвлених препаратів із попереднім обробленням (просвітленням) досліджуваного матеріалу. При мікроскопії є необхідність досліджувати декілька препаратів, щоб збільшити

надійність аналізу й уникнути псевдопозитивних результатів [9]. Помилки в мікроскопічній діагностиці грибів можуть виникнути у зв'язку з дефектами приготування препарату, а також недостатньою досвідченістю лаборанта. Дефекти дослідження передусім пов'язані з перегріванням препарату, що може призвести до випадання кристалів луґу, руйнування матеріалу та появи дрібнозернистого розпаду в патологічному матеріалі. Лінійне розташування подовжених рівних кристалів луґу дуже нагадує нитки септимованого міцелію навіть на чистому склі без патологічного матеріалу. Чутливість традиційної мікроскопії сягає тільки 60%, причому не може бути ідентифікований вид дерматофіту [7]. Культуральне дослідження є високочутливим і специфічним методом лабораторної діагностики оніхомікозів та вважається «золотим стандартом» діагностики. Його необхідно робити незалежно від результатів мікроскопії, оскільки культуральний метод дозволяє іноді виявляти збудника при негативних даних мікроскопії, а також визначати рід і вид збудника. Тому культуральне дослідження залишається традиційним способом мікологічної діагностики в дерматології [9].

Одним із сучасних та перспективних методів діагностики оніхомікозів вважається молекулярно-генетичний аналіз. Численні дослідження, проведені з використанням молекулярно-генетичного методу, довели, що пряме виділення ДНК є більш чутливим, точним та швидким, ніж традиційні методи, що базуються на культуральному дослідженні [8]. Ефективний метод полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) розроблений для швидкого виявлення видів дерматофітів безпосередньо з клінічних зразків протягом 24 годин. Пряме виділення ДНК із клінічних зразків методом ПЛР забезпечує швидкий, відтворюваний і чутливий ефект для виявлення та розрізнення основних дерматофітів

на видовому рівні, незалежно від морфологічних і біохімічних показників [11]. За даними деяких дослідників, при проведенні порівняльного аналізу даних стандартних методів дослідження та ПЛР було встановлено, що чутливість ПЛР складає 91,9%, тоді як мікроскопія та засів лише 75,9% та 47,3% відповідно [5].

Висока чутливість методу ПЛР є надзвичайно важливим показником для виявлення хворих на оніхомікози та при встановленні факту елімінації збудника виникають складності, бо цим методом виявляються навіть поодинокі екземпляри ДНК, які у свою чергу можуть бути (у зв'язку з впливом антигрибкових засобів, які мають властивість накопичуватися у нігтьових пластинках) нежиттєздатними, тобто не потребувати подальшого впливу лікувальних засобів. Треба підкреслити, що лікування оніхомікозів триває здебільшого місяцями. Тому скорочення терміну застосування антигрибкових засобів, у першу чергу системних, має дуже велике значення з точки зору зниження курсової дози та можливих побічних ефектів їх застосування.

Виявлення РНК у досліджуваному матеріалі свідчило би про життєздатність збудника, але методологічно це дуже складна задача. Для вирішення цієї задачі було запропоновано використовувати визначення комплементарної ДНК (кДНК). кДНК – це ДНК-копія молекули РНК, що виробляється за допомогою зворотної транскриптази, ДНК-полімерази, яка може використовувати РНК як матрицю [12, 15].

Метою роботи було дослідити можливість динамічного спостереження за ефективністю терапії оніхомікозів та оцінити доцільність запропонованого методу ПЛР зі зворотної транскрипцією (ЗТ ПЛР) для рутинної лабораторної діагностики щодо визначення життєздатності грибів при оніхомікозі.

Матеріали і методи

Дослідження проводилися в лабораторії імунології, патоморфології та молекулярної генетики лабораторно-експериментального відділу Державної установи «Інститут дерматології та венерології НАМН України» (свідоцтво про відповідність системи вимірювань вимогам ДСТУ ISQ 10012:2005 № 01–0007/2023 від 06 лютого 2023 р.).

Зразки нігтьових пластин були отримані від 70 осіб віком від 23 до 78 років. Середній вік становив (51,0 ± 0,7) року. Серед них 47 осіб були проліковані з приводу оніхомікозів у клініці Державної установи «Інститут дерматології та венерології НАМН України» та 23 пацієнти, що були репрезентативні за віком і статтю і склали групу контролю, в яких були здорові нігтьові пластини без клінічних проявів оніхомікозу з негативними результатами мікроскопічного дослідження.

У дослідженні взяли участь усього 195 осіб. Серед обстежених і пролікованих пацієнтів було 85 чоловіків і 110 жінок віком від 23 до 78 років. З них 172 пацієнти одержували лікування з приводу оніхомікозу стоп і 23 пацієнти

Виділення ДНК і РНК проводили з використанням набору реагентів для екстракції тотальної РНК / ДНК з клінічного матеріалу RIBO-prep nucleic acid extraction kit варіант 100, ТОВ «ІнтерЛабСервіс-Україна», який містить розчин для лізису, розчин для преципітації, розчини для відмивання та РНК-буфер.

Частину суміші продуктів екстракції тотальної РНК / ДНК відбирали для проведення ПЛР з метою підтвердження наявності специфічної ділянки ДНК грибів у матеріалі, що досліджується.

З метою деградації ДНК до суміші продуктів екстракції тотальної РНК / ДНК додавали розчин ДНКазу I, вільної від РНКазу, з відповідним буфером виробництва ThermoScientific (Литва) та інкубували при 37 °С протягом ночі. Після інкубації частину суміші відбирали для проведення ПЛР з метою підтвердження відсутності специфічної ділянки ДНК.

Реакцію зворотної транскрипції (ЗТ) проводили з використанням набору реагентів REVERTA-FL RT reagents kit варіант 100 виробництва AmpliSens. Після реакції ЗТ частину суміші відбирали для проведення ПЛР з метою підтвердження відсутності чи присутності дезоксирибонуклеїнової кислоти, яка отримана після реакції зворотної транскрипції (кДНК).

Для проведення ПЛР використовували пандерматофітні праймери ITS4 і ITS5, Таq ДНК-полімерази виробництва ThermoScientific, Литва. ПЛР проводили в мікропробірках на 0,6 мл; обсяг реакційної суміші у всіх випадках становив 25 мкл [6, 10].

Для ампліфікації використовували наступний температурний та часовий режим: 1 цикл: попередня денатурація при 95°С протягом 10 хв. 45 циклів: денатурація при 94°С 30 с, віджиг при 60°С 30 с, елонгація 72°С 30 с.

Детекцію продуктів ампліфікації проводили методом електрофорезу в 2% агарозному гелі на транслюмінаторі при довжині хвилі 310 нм.

Результати та їх обговорення

При дослідженні 23 зразків нігтьових пластинок осіб контрольної групи методом ПЛР 21 зразок цієї групи був негативним і два зразки показали позитивний результат на наявність генетичного матеріалу грибів.

Результати проведення ПЛР аналізу представлено в табл. 1.

Представляє інтерес аналіз можливих причин двох позитивних результатів дослідження на *T. rubrum* у групі контролю, до яких можна віднести:

1) хибнопозитивний результат, пов'язаний з контамінацією ампліконами. Для виключення цього потрібне проведення повторного дослідження з включенням серії контролів, що дозволяють виключити контамінацію;

2) хибнопозитивний результат може бути наслідком випадкового потрапляння збудника в досліджуваний матеріал (ніготь) поза лабораторією. Це може бути пов'язано з поширеною контамінацією грибами оточуючого середовища, особливо у разі відвідування басейнів, лазень загального користування, а також у разі наявності мікологічного ураження стоп у осіб, з якими проживає людина. У такому разі необхідне посилення санітарно-гігієнічних заходів як колективних, так і індивідуальних;

3) можливо, отриманий позитивний результат відображає початкову стадію інфекції, коли збудник вже впровадився в тканину, але зміну структури його ще важко виявити. Потрібне повторне спостереження за клінікою.

Для уточнення діагнозу було проведено повторну мікроскопію, ПЛР, специфічну до *T. rubrum*, і проведено дерматоскопічне дослідження (як доповнення до візуальної оцінки). В одного досліджуваного повторні

Таблиця 1. Результати ПЛР діагностики в обстежених контрольній групі

Результат ПЛР	Кількість пацієнтів без патології нігтів (контрольна група)	
	Абс.	%
Позитивний	2	8,6
Негативний	21	91,4
Усього	23	100

дослідження ПЛР, а також мікроскопічні виявилися негативними. У зв'язку з тим, що він проживає у складних епідемічних умовах (батьки хворіють на оніхомікоз) рекомендовано батьків пролікувати і посилити санітарно-гігієнічні заходи.

У другій особі при дерматоскопічному дослідженні були виявлені перші ознаки початкового оніхомікозу. На підставі проведених обстежень пацієнтці поставлено діагноз: оніхомікоз і призначена відповідна терапія. Хвора після постановки діагнозу була виключена з групи контролю. Можливо, відсутність позитивного результату мікроскопічного дослідження у цієї пацієнтки можна пояснити невеликою ділянкою ураження нігтьової пластинки (яка виявилася непомітною візуально) і відповідно до незначної кількості матеріалу зі збудником, міцелію. Таким чином, використання ПЛР-діагностики дозволило виявити оніхомікоз на ранній стадії захворювання і вчасно попередити подальше поширення інфекції. Після проведеного лікування зразки, отримані від хворої, давали стабільно негативні результати, і відзначалося клінічне одужання виявлених мікотичних осередків, підтверджене дерматоскопічним дослідженням.

Одержані дані підкреслюють необхідність використання ПЛР діагностики в процесі саногенезу захворювання. Отже, ПЛР забезпечує можливість визначити мінімальну кількість ДНК, дозволяючи тим самим виявити генетичний матеріал грибів у концентрації, набагато меншій за нижню межу детекції інших діагностичних тестів.

На попередніх етапах наших досліджень [2] було вивчено чутливість, специфічність та діагностичну точність методів дослідження, що на сьогоднішній день використовуються для лабораторної верифікації грибкового ураження нігтьових пластинок. Після відповідних розрахунків було доведено перевищення чутливості ПЛР над мікроскопічним дослідженням на 16,0%. Цей показник виявився стабільним і в наших дослідженнях.

Не дивлячись на те, що ПЛР має високу чутливість, яка перевищує стандартні методи діагностики оніхомікозів та дає можливість виявити навіть поодинокі екземпляри ДНК грибів. Цей метод не відповідає на питання про життєздатність грибів, не дає можливість відповісти на питання, чи потребує подальшого лікування хворий на оніхомікоз чи ні. Отже, встановлення факту життєдіяльності грибів у нігтьових пластинках при оніхомікозі дасть можливість відповісти на ці питання.

Для встановлення факту життєдіяльності грибів, що виявляються методом ПЛР в процесі саногенезу, використовували визначення комплементарної ДНК (кДНК) – це ДНК-копія молекули РНК, що виробляється за допомогою зворотної транскриптази,

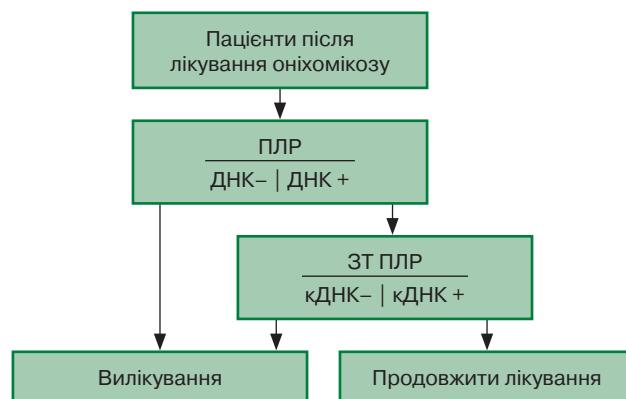


Рисунок 1. Алгоритм оцінки елімінації збудників оніхомікозу

ДНК-полімерази, яка може використовувати РНК як матрицю [12, 15], яка є копією молекули РНК, що виробляється за допомогою зворотної транскриптази, ДНК-полімерази і може використовувати РНК як матрицю. Наявність кДНК у нігтьових пластинках свідчить про життєздатність грибів [3].

Для визначення кДНК за допомогою ЗТ ПЛР методом рандомізації було обрано 47 хворих на оніхомікоз після лікування. При проведених ПЛР встановлено, що у 15 хворих (31,9%) було виявлено генетичний матеріал грибів, а у 32 (68,1%) результати дослідження були негативними. За результатами ЗТ ПЛР визначено, що кДНК виявлено у 9 (19,1%) хворих, що свідчить про відсутність елімінації грибів, у зв'язку з чим лікування було продовжено. кДНК не виявлено у 6 (12,8%) пацієнтів, що свідчило про відсутність життєздатних грибів і ці хворі не потребували подальшого лікування.

Використання методу ЗТ ПЛР дозволяє удосконалити алгоритм обстеження після лікування з метою встановлення факту елімінації збудника (рис. 1).

Розроблений алгоритм оцінки елімінації збудників оніхомікозу з використанням ЗТ ПЛР може бути застосований в якості контролю ефективності лікування хворих на оніхомікози. Якщо в нігтьових пластинах хворих методом ПЛР не виявляється ДНК грибів, у пацієнта констатують мікологічне видужання. Якщо методом ПЛР виявляється генетичний матеріал грибів у нігтьових пластинках, то проводиться ЗТ ПЛР. У разі негативного результату ЗТ ПЛР пацієнт вважається мікологічно видужаним, а у протилежному випадку – потребує подальшого етіологічного лікування.

Висновки

1. Проведення молекулярного дослідження ЗТ ПЛР дозволяє визначити життєздатність збудників оніхомікозів, що дає можливість встановити мікологічну елімінацію та знизити відсоток хибнопозитивних результатів традиційної ПЛР.

2. Розроблений алгоритм оцінки елімінації збудників із використанням ЗТ ПЛР може бути застосований в якості контролю ефективності лікування хворих на оніхомікози, коли необхідно визначити наявність або відсутність життєздатних збудників.

3. Впровадження алгоритму дозволить підвищити загальну ефективність лабораторного дослідження, істотно скоротити терміни її проведення, своєчасно завершити терапію, знизити ймовірність розвитку ускладнень.

Список літератури

1. Айзятупов Р.Ф. Этиология, патогенез, клиника и комплексная терапия микозов стоп, онихомикозов. *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія*. 2013. № 9–10 (68–69). С. 53–56.
2. Застосування ПЛР для виявлення ДНК грибів у зразках нігтів хворих на оніхомікоз / Я.Ф. Кутасевич, О.П. Білозоров, Г.С. Чеховська та ін. *Дерматологія та венерологія*. 2014. № 3 (65). С. 43–50.
3. Рішення про державну реєстрацію корисної моделі № 4856/ЗУ/23 від 09.05.2023, МПК G01N33/48, G01N1/28. Тест-система для оцінки життєздатності грибів у нігтьових пластинах / Я.Ф. Кутасевич, І.О. Олійник, К.Г. Супрун, С.П. Голубко, О.І. Мілютіна, О.А. Сокол; заявник і патентовласник ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України». № u202204785; заявл. 15.12.2022.
4. Святенко Т.В., Пышняк Ф.С. Онихомикозы: распространенность, особенности течения и возможности терапии на современном этапе в Украине. *Український журнал дерматології, венерології, косметології*. 2018. № 3. С. 127–132.
5. Сучасний погляд на діагностику та лікування оніхомікозів (огляд літератури) / Я.Ф. Кутасевич, І.О. Олійник, К.Е. Іщейкін та ін. *Журнал НАМН України*. 2019. Т. 25, № 3. С. 263–270.
6. Brillowska-Dabrowska A., Saunte D.M., Arendrup M.C. Five-hour diagnosis of dermatophyte nail infections with specific detection of *Trichophyton rubrum*. *J. Clin. Microbiol.* 2007. Vol. 45, No. 4. P. 1200–1204.
7. Diagnosing Onychomycosis: What's New? / A. K. Gupta, D. C. Hall, E. A. Cooper, M. A. Ghannoum. *J Fungi (Basel)*. 2022. Vol. 8, iss. 5. Article ID464.
8. Evaluation of different DNA extraction methods based on steel-bullet beating for molecular diagnosis of onychomycosis / M. Motamedi, A. Amini, S. Yazdanpanah et al. *J Clin Lab Anal.* 2022. Vol. 36, iss. 10. P. e24657.
9. Falotico J.M., Lipner S.R. Updated Perspectives on the Diagnosis and Management of Onychomycosis. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2022. Vol. 15. P. 1933–1957.
10. Identification and typing of *Malassezia* species by amplified fragment length polymorphism and sequence analyses of the internal transcribed spacer and large-subunit regions of ribosomal DNA / A. K. Gupta, T. Boekhout, B. Theelen et al. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004. Vol. 42, No. 9. P. 4253–4260.
11. Identification of Dermatophyte and Non-Dermatophyte Agents in Onychomycosis by PCR and DNA Sequencing – A Retrospective Comparison of Diagnostic Tools / I. Pospischil, C. Reinhardt, O. Bontems et al. *J Fungi (Basel)*. 2022. Vol. 8, iss. 10. Article ID1019.
12. Litwack G. *Nucleic Acids and Molecular Genetics*. Ch. 10 / Ed. by G. Litwack. Human Biochemistry. Academic Press, 2018. P. 257–317.
13. Onychomycosis: a review / A.K. Gupta, N. Stec, R.C. Summerbell et al. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020. Vol. 34, iss. 9. P. 1972–1990.
14. Onychomycosis: An Updated Review / A.K.C. Leung, J.M. Lam, K.F. Leong et al. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2020. Vol. 14, iss. 1. P. 32–45.
15. Pelley J.W. 18 – Recombinant DNA and Biotechnology / Ed. by J.W. Pelley. Elsevier's Integrated Review Biochemistry (Second Edition). 2012. P. 161–169.

References

1. Aizyatulov RF. Etiology, pathogenesis, clinic and complex therapy of mycoses of the feet, onychomycosis [Etiology, pathogenesis, clinic and complex therapy of mycoses of the feet, onychomycosis]. *Klinichna imunologiya. Alerholohiya. Infektologiya*. 2013; 9–10 (68–69): 53–56.
2. Kutasevych YaF, Bilozorov OP, Chekhovska HS et al. Zastosuvannia PLR dlia vyavlennia DNK hryviv u zrazkakh nihtiv khvorykh na onikhomikoz [Use of PCR to detect fungal DNA in nail samples of patients with onychomycosis]. *Dermatologiya ta venerologiya*. 2014; 3 (65): 43–50.
3. Rishennia pro derzhavnu reiestratsiiu korysnoi modeli # 4856/ZU/23 vid 09.05.2023, MPK G01N33/48, G01N1/28. Test-systema dlia otsinky zhyttiezdatnosti hryviv u nihtovykh plastynakh [Test system for assessing the viability of fungi in nail plates] / YaF Kutasevych, IO Oliinyk, KH Suprun, SP Holubko, OI Miliutina, OA Sokol; zaiavnyk i patentovlasnyk DU «Instytut dermatologii ta venerologii NAMN Ukrainy». # u202204785; zaiavl. 15.12.2022.
4. Svyatenko TV, Pyshtnyak FS. Onihomikozy: rasprostranennost', osobennosti techeniya i vozmozhnosti terapii na sveremennom etape v Ukraine [Onychomycosis: prevalence, course features and treatment options at the current stage in Ukraine]. *Ukrainskyi zhurnal dermatologii, venerologii, kosmetologii*. 2018; 3: 127–132.
5. Kutasevych YaF, Oliinyk IO, Ishcheikin Kle et al. Suchasnyi pohliad na diahnozyku ta likuvannia onikhomikoziv (ohliad literatury) [A modern view of the diagnosis and treatment of onychomycosis (literature review)]. *Zhurnal NAMN Ukrainy*. 2019; 25 (3): 263–270.
6. Brillowska-Dabrowska A, Saunte DM, Arendrup MC. Five-hour diagnosis of dermatophyte nail infections with specific detection of *Trichophyton rubrum*. *J. Clin. Microbiol.* 2007; 45 (4): 1200–1204.
7. Gupta AK, Hall DC, Cooper EA, Ghannoum MA. Diagnosing Onychomycosis: What's New? *J Fungi (Basel)*. 2022; 8 (5): 464.
8. Motamedi M, Amini A, Yazdanpanah S et al. Evaluation of different DNA extraction methods based on steel-bullet beating for molecular diagnosis of onychomycosis. *J Clin Lab Anal.* 2022; 36 (10): e24657.
9. Falotico JM, Lipner SR. Updated Perspectives on the Diagnosis and Management of Onychomycosis. *Clin Cosmet Investig Dermatol.* 2022; 15: 1933–1957.
10. Gupta AK, Boekhout T, Theelen B et al. Identification and typing of *Malassezia* species by amplified fragment length polymorphism and sequence analyses of the internal transcribed spacer and large-subunit regions of ribosomal DNA. *Journal of Clinical Microbiology*. 2004; 42 (9): 4253–4260.
11. Pospischil I, Reinhardt C, Bontems O et al. Identification of Dermatophyte and Non-Dermatophyte Agents in Onychomycosis by PCR and DNA Sequencing – A Retrospective Comparison of Diagnostic Tools. *J Fungi (Basel)*. 2022; 8 (10): 1019.
12. Litwack G. *Nucleic Acids and Molecular Genetics*. Ch. 10 / Ed. by G. Litwack. Human Biochemistry. Academic Press; 2018: 257–317.
13. Gupta AK, Stec N, Summerbell RC et al. Onychomycosis: a review. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020; 34 (9): 1972–1990.
14. Leung AKC, Lam JM, Leong KF et al. Onychomycosis: An Updated Review. *Recent Pat Inflamm Allergy Drug Discov.* 2020; 14 (1): 32–45.
15. Pelley JW. 18 – Recombinant DNA and Biotechnology / Ed. by J.W. Pelley. Elsevier's Integrated Review Biochemistry (Second Edition); 2012: 161–169.

DEVELOPMENT OF THE METHOD FOR ASSESSING THE VIABILITY OF FUNGI USING THE POLYMERASE CHAIN REACTION

Kutasevych Ya.F., Oliinyk I.O., Suprun K.H., Sokol O.A.

SE «Institute of Dermatology and Venereology of NAMS of Ukraine»

Abstract. The work provides justification for the need to improve the diagnosing methods of the life activity of fungi in the sanogenesis process of onychomycosis. The proprietary technique based on the detection of complementary DNA by reverse transcription of the polymerase chain reaction is proposed. The algorithm for evaluating the elimination of onychomycosis pathogens has been given.

Keywords: onychomycosis, diagnosis, polymerase chain reaction with reverse transcription, complementary DNA.

Відомості про авторів:

Кутасевич Яніна Францізна – д-р мед. наук, професор, директор ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків. E-mail: otdderm@ukr.net.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8706-1487>

Олійник Ірина Олександрівна – д-р мед. наук, ст. наук. співроб., головний наук. співроб. відділу дерматології, інфекційних та паразитарних захворювань шкіри ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків. E-mail: otdderm@ukr.net.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6408-830X>

Супрун Ксенія Григоріївна – мол. наук. співроб. відділу дерматології, інфекційних і паразитарних захворювань шкіри ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків. E-mail: liza100413@ukr.net.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2540-9147>

Сокол Оксана Анатоліївна – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник лабораторії мікробіології, імунології та молекулярної генетики ДУ «Інститут дерматології та венерології НАМН України», м. Харків. E-mail: oksanasokol@yahoo.co.uk.

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9162-1416>