

ООО Издательская группа  
«Медиа Сфера»

Акционерное общество  
«ЭКОлаб»

Журнал зарегистрирован  
Федеральной службой по надзору  
в сфере связи, информационных  
технологий и массовых коммуникаций

# Д КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

Том 70  
8 • 2025

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

Е Ж Е М Е С Я Ч Н Ы Й    Н А У Ч Н О - П Р А К Т И Ч Е С К И Й    Ж У Р Н А Л

АВГУСТ

Журнал основан в январе 1955 г.

**Учредители:**

ООО Издательская группа  
«Медиа Сфера» (печатное издание)  
127238, г. Москва, Дмитровское ш., 46  
кор. 2;

Акционерное общество «ЭКОлаб»  
(электронное издание)  
142530, Московская область,  
г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1

**Издатель:**  
Акционерное общество «ЭКОлаб»

Телефон редакции:  
+7-(908)-763-75-80  
E-mail: klinlab@internet.ru

**Зав. редакцией:**  
*Л.А.Шанкина*

**Технический редактор:**  
*Ч.А.Сафаров*

Ответственность за достоверность  
информации, содержащейся в рекламных  
материалах, несут рекламодатели

Сдано в набор 18.07.2025  
Подписано в печать 25.07.2025  
Формат 60 × 88½  
Печать офсетная  
Печ. л. 8,00  
Уч.-изд. л. 8,95

**WWW страница:** <https://clinlabdia.ru/>

ПИ № ФС77-37760 от 07.10.2009 г.  
ЭЛ № ФС77-80929 от 21.04.2021 г.

Все права защищены. Ни одна часть этого из-  
дания не может быть занесена в память  
компьютера либо воспроизведена любым  
способом без предварительного письменного  
разрешения издателя

Журнал представлен в базе данных Российско-  
го индекса научного цитирования (РИНЦ) и в  
следующих международных информационно-  
справочных изданиях: Abstracts of Microbiology,  
Adis International Ltd Reactions Weekly, Chemical  
Abstracts (Print), Chemical Titles, EBCOhost Biologi-  
cal Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE, Elsevier  
BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract Journals,  
Index Medicus, Index to Dental Literature, OCLC  
Article First, Reactions Weekly (Print), Thomson Re-  
uters Biological Abstracts (Online), Thomson Reuters  
BIOSIS Previews, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal,  
Ulrich's International Periodicals Directory

**Индекс Ф81645 — для подписчиков**  
**Подписка через Интернет:**  
<https://www.pressa-rf.ru/cat/1/edition/e81645/Под->  
**писка на электронную версию:**  
[https://elibrary.ru/title\\_about\\_new.asp?id=7849;](https://elibrary.ru/title_about_new.asp?id=7849;)  
<https://www.pressa-rf.ru/rucnt/edition/331548/>

ISSN: 0869-2084 (Print)  
ISSN: 2412-1320 (Online)

Клин. лаб. диагностика. 2025. Том 70. № 8.  
526-588

**ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:**

**А.Ю. МИРОНОВ**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)

**ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:**

**Харсеева Г.Г.**, д.м.н., профессор, (Ростов-на-Дону, Россия);

**НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР:**

**Чеботарь И.В.**, д.м.н. (Москва, Россия);

**ОТВЕТСТВЕННЫЙ СЕКРЕТАРЬ:**

**Андреева И.И.**, д.м.н., доцент (Ростов-на-Дону, Россия);

**ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:**

**Гильманов А.Ж.**, д.м.н., профессор (Уфа, Россия);  
**Добровольский А.Б.**, д.б.н., профессор (Москва, Россия);  
**Земсков В.М.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия)  
**Иванов А.А.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия);  
**Ипполитов Е.В.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия);  
**Кочетов А.Г.**, д.м.н., профессор (Москва, Россия);  
**Марданлы С.Г.**, д.м.н., профессор (Электрогорск, Россия);  
**Тотолян А.А.**, академик РАН, д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)

**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:**

**Арипов А.Н.**, д.м.н., профессор (Ташкент, Узбекистан);  
**Вавилова Т.В.**, д.м.н., профессор (Санкт-Петербург, Россия);  
**Горбунов В.А.**, к.м.н., доцент (Минск, Беларусь);  
**Долгих Т.И.**, д.м.н., профессор (Омск, Россия);  
**Ельчанинова С.А.**, д.м.н., профессор (Барнаул, Россия);  
**Керимов С.Г.**, д.м.н., профессор (Баку, Азербайджан);  
**Кушлинский Н.Е.**, академик РАН, д.м.н., профессор (Москва, Россия);  
**Маматкулов И.Х.**, д.м.н., профессор (Ташкент, Узбекистан);  
**Осман Халил Ареф**, к.б.н. (Хомс, Сирия)  
**Сергеев А.Ю.**, д.м.н., профессор (Томск, Россия);  
**Талыбов Т.Г.**, академик НАН, д.б.н., профессор (Нахчыван, Азербайджан);  
**Тартаковский И.С.**, д.б.н., профессор (Москва, Россия);  
**Шатохин Ю. В.** д.м.н., профессор (Ростов-на-Дону, Россия);  
**Яровая Г.А.**, д.б.н., профессор (Москва, Россия)

LLC Publishing Group  
"Media Sphera"

Joint Stock Company  
"EKOLab"

# D KLINICHESKAYA LABORATORNAYA iagnostika

Volume 70  
8 • 2025

Russian Clinical Laboratory Diagnostics

SCIENTIFIC PRACTICAL MONTHLY JOURNAL

AUGUST

The Journal is founded in 1955

**Founders:**

LLC "Publishing Group "Media Sphera"  
(print edition)

127238, Moscow, Dmitrovskoe sh., 46 k.  
b. 2;

Joint Stock Company "EKOLab"  
(electronic edition)

142530, Moscow region, Elektrogorsk,  
St. Budyonnogo, 1

**Publisher:**

Joint Stock Company "EKOLab"

Editorial office phone:

+7-(908)-763-75-80

E-mail: klinlab@internet.ru

**Managing editor:**

L.A. Shankina

**Technical editor:**

Ch.A. Safarov

The responsibility for credibility of information  
contained in advertising materials is accounted  
for advertisers

WWW страница: <https://clinlabdia.ru/>

PI No. FS77-37760 dated 10/07/2009

EL No. FS77-80929 dated 04/21/2021

All rights reserved. Any part of this edition can not  
be entered computer memory nor be reproduced  
with any other mode without preliminary permission  
of editor in written form.

The Journal is presented in data base of the Rus-  
sian index of scientific quotation (RiNZ) and in fol-  
lowing I&R editions: Abstracts of Microbiology, Adis  
International Ltd Reactions Weekly, Chemical  
Abstracts (print), Chemical Titles, EBCOhost Bio-  
logical Abstracts (Online), Elsevier BV EMBASE,  
Elsevier BV Scopus, Excerpta Medica, Abstract  
Journals, Index Medicus, Index to Dental Litera-  
ture, OCLC Article First, Reactions Weekly (Print),  
Thomson Reuters Biological Abstracts (Online),  
Thomson Reuters BIOSIS Previews, VINITI RAN  
Referativnyi Zhurnal, Ulrich's International Periodi-  
cals Directory

ISSN: 0869-2084 (Print)  
ISSN: 2412-1320 (Online)

**EDITOR-IN-CHIEF:**

A.Yu. MIRONOV, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia)

**DEPUTIE EDITOR-IN-CHIEF:**

Galina G. Kharseeva, Dr. Sci. (Med.), Professor (Rostov-on-Don, Russia);

**SCIENTIFIC EDITOR:**

Igor V. Chebotar, Dr. Sci. (Med.) (Moscow, Russia);

**EXECUTIVE SECRETARY:**

Irina I. Andreeva, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor (Rostov-on-Don, Russia);

**EDITORIAL BOARD MEMBERS:**

Aleksandr Zh. Gilmanov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Ufa, Russia);

Anatoliy B. Dobrovolsky, Dr. Sci. (Biol.), Professor (Moscow, Russia);

Vladimir M. Zemskov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia);

Evgeny V. Ippolitov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia);

Aleksey A. Ivanov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia);

Anatoliy G. Kochetov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Moscow, Russia);

Seifaddin G. Mardanly, Dr. Sci. (Med.), Professor (Elektrogorsk, Russia);

Areg A. Totolian, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor (St.  
Petersburg, Russia)

**EDITORIAL COUNCIL MEMBERS:**

Abdumalik N. Aripov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Tashkent, Uzbekistan);

Tatiana V. Vavilova, Dr. Sci. (Med.), Professor (St. Petersburg, Russia);

Vladimir A. Gorbunov, Cand. Sci. (Med.), Associate Professor (Minsk, Belarus);

Tatiana I. Dolgikh, Dr. Sci. (Med.), Professor (Omsk, Russia);

Svetlana A. Elchaninova, Dr. Sci. (Med.), Professor (Barnaul, Russia);

Sanan G. Kerimov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Baku, Azerbaijan);

Nikolay E. Kushlinskii, the RAS Academician, Dr. Sci. (Med.), Professor  
(Moscow, Russia);

Ibrokhim Kh. Mamatkulov, Dr. Sci. (Med.), Professor (Tashkent, Uzbekistan);

Osman Khalil Aref, Cand. Sci. (Biol.), (Homs, Syria)

Aleksey Yu. Sergeev, Dr. Sci. (Med.), Professor (Tomsk, Russia);

Tariel G. Talybov, the NAN Academician, Dr. Sci. (Biol.), Professor (Nakh-  
chivan, Azerbaijan);

Igor S. Tartakovsky, Dr. Sci. (Biol.), Professor (Moscow, Russia);

Yuriy V. Shatokhin, Dr. Sci. (Med.), Professor (Rostov-on-Don, Russia);

Galina A. Yarovaya, Dr. Sci. (Biol.), Professor (Moscow, Russia)

## СОДЕРЖАНИЕ

### ИММУНОЛОГИЯ

*Авдеева А.С., Четина Е.В., Горбунова Ю.Н., Панафидина Т.А., Попкова Т.В.*

Интерфероновый «автограф» у пациентов с системной красной волчанкой – взаимосвязь с лабораторными и клиническими показателями. . . . .530

### МИКРОБИОЛОГИЯ

*Биканова М.Г., Захарова Ю.В., Якименко А.В., Соболева О.М., Сухих А.С., Ле В.М.*

Особенности элементного состава *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра . . . . .536

*Орлова В.В., Муминджонов С.А., Ермоленко Е.И.*

Влияние цитостатиков на представителей микробиоты кишечника, пробиотические и аутопробиотические бактерии. . . . .543

### ИССЛЕДОВАНИЯ ПО МЕСТУ ЛЕЧЕНИЯ

*Гальвидис И.А., Суровой Ю.А., Алимов А.И., Царенко С.В., Соболев П.Д., Шарипов В.Р., Буркин М.А.*

Иммуноферментный анализ для изучения фармакокинетики нагрузочной дозы тигециклина у пациентов с сепсисом . . . . .551

*Жукова Е.М., Бондаренко Е.И., Шварц Я.Ш., Аглетдинов Э.Ф., Дёмина О.К., Ставицкая Н.В.*

Клинические особенности у больных туберкулезом органов дыхания с выявленными генетическими маркерами возбудителя лихорадки Ку . . . . .558

### ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ

*Половец Н.В., Липницкий А.В., Муругова А.А.*

О проблеме клинической лабораторной диагностики эндемических микозов в Российской Федерации (обзор литературы). . . . .566

*Кочетов А.Г.*

Администрирование и документирование системы мер биологической безопасности в медицинской лаборатории. Часть 1. Анализ нормативно-правовых актов . . . . .574

#### ВНИМАНИЮ АВТОРОВ И ЧИТАТЕЛЕЙ!

Журнал «Клиническая лабораторная диагностика» входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы результаты диссертаций на соискание учёной степени доктора и кандидата наук

## CONTENTS

### IMMUNOLOGY

- Avdeeva A.S., Tchetina E.V., Gorbunova Yu.N., Panafidina T.A., Popkova T.V.*  
Interferon signature in patients with systemic lupus erythematosus – relationship  
with laboratory and clinical parameters (preliminary results) .....530

### MICROBIOLOGY

- Bikanova M.G., Zakharova Yu.V., Yakimenko A.V., Soboleva O.M., Sukhikh A.S., Le V.M.*  
Features of the elemental composition of *Klebsiella pneumoniae* producing  
extended-spectrum  $\beta$ -lactamases .....536
- Orlova V.V., Mumindzhonov S.A., Ermolenko E.I.*  
Effect of cytostatics on representatives of intestinal microbiota, probiotic  
and autoprobiotic bacteria. ....543

### POINT-OF-CARE STUDIES

- Galvidis I.A., Surovoy Y.A., Alimov A.I., Tsarenko S.V., Sharipov V.R.,  
Sobolev P.D., Burkin M.A.*  
Enzyme-linked immunosorbent assay used to study the pharmacokinetics of  
tigecycline loading dose in patients with sepsis .....551
- Zhukova E.M., Bondarenko E.I., Schwartz Ya.S., Agletdinov E.F.,  
Demina O.K., Stavitskaya N.V.*  
Clinical features in patients with tuberculosis of the respiratory system with identified  
genetic markers of the causative agent of Q fever .....558

### ORGANIZATION OF THE LABORATORY SERVICE

- Polovets N.V., Lipnitsky A.V., Murugova A.A.*  
On problem of clinical laboratory diagnostics of endemic mycoses in the  
Russian Federation (review of literature) .....566
- Kochetov A.G.*  
Administration and documentation of biological safety measures in medical  
laboratory settings. Part 1. Regulatory and legal analysis .....574



Авдеева А.С., Четина Е.В., Горбунова Ю.Н., Панафидина Т.А., Попкова Т.В.

## ИНТЕРФЕРОНОВЫЙ «АВТОГРАФ» У ПАЦИЕНТОВ С СИСТЕМНОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКОЙ – ВЗАИМОСВЯЗЬ С ЛАБОРАТОРНЫМИ И КЛИНИЧЕСКИМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ (пилотное исследование)

ФГБНУ Научно-исследовательский институт ревматологии им В.А. Насоновой, 115522, Москва, Россия

**Актуальность.** В патогенезе системной красной волчанки (СКВ) важное значение играют нарушения в работе как врожденного, так и адаптивного типов иммунного ответа. Нарушения врожденного типа иммунного ответа проявляются в избыточной продукции интерферонов (ИФН) I типа плазматойдными дендритными клетками (пДК).

**Цель:** изучить экспрессию интерферонстимулированных генов (ИСГ) у пациентов с СКВ и уточнить ее взаимосвязь с клиническими и лабораторными показателями.

**Материал и методы.** В исследование были включены 139 пациентов (123 женщины (88%) и 16 мужчин (12%)), с достоверным диагнозом СКВ. Длительность заболевания составила 3,0 [0,3;12,0] года, SLEDAI-2K 7 [4;11] баллов, SDI 0 [0;1] баллов. Для оценки ИФН «автографа» были отобраны 3 гена (MX1, RSAD2, EPSTI1). Общую РНК выделяли из цельной крови, используя коммерческий набор «РИБО-зол-А» (ИнтерЛабСервис, Москва). Обратную транскриптазную (ОТ) реакцию проводили с помощью коммерческого набора «Реверта» (ИнтерЛабСервис, Москва). Для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени применяли прибор модели Quant Studio 5 (Applied Biosystems) и наборы для экспрессии генов (Applied Biosystems, USA);  $\beta$ -актин использовали в качестве эндогенного контроля.

**Результаты.** Экспрессия ИСГ у пациентов с СКВ была достоверно выше, по сравнению со здоровыми донорами: MX1 - 8,77 (2,6-15,57); RSAD2 - 24,2 (5,29-46,9); EPSTI1 - 14,4 (5,76-29,29); у доноров – 1,25 (0,79-1,65); 1,01 (0,69-1,73); 1,08 (0,74-2,11), соответственно,  $p < 0,05$ . ИФН «автограф» присутствовал у 55 (72,4%) пациентов и отсутствовал у 21 (27,6%). Отмечалась позитивная корреляционная взаимосвязь уровня экспрессии ИСГ с титром АНФ, уровнем АТ к dsDNA, Sm и отрицательная взаимосвязь с компонентами комплемента,  $p < 0,05$ . Взаимосвязи между экспрессией ИСГ и активностью заболевания по SLEDAI -2K получено не было. Пациенты с эритемой на лице, нерубцовой алопецией, лейкопенией имели более высокий уровень экспрессии ИФН стимулированных генов, поражение нервной системы, напротив ассоциировалось с более низкой экспрессией генов интерферона,  $p < 0,05$ .

**Заключение.** Гиперэкспрессия ИСГ отмечается приблизительно у 70% пациентов; ассоциируется с более высокой иммунологической активностью, поражением кожи, развитием гематологических нарушений. Подробное изучение данного фенотипа может позволить всесторонне охарактеризовать его особенности и персонализировать терапию.

**Ключевые слова:** системная красная волчанка; интерфероны I типа; экспрессия генов; аутоантитела; активность заболевания

**Для цитирования:** Авдеева А.С., Четина Е.В., Горбунова Ю.Н., Панафидина Т.А., Попкова Т.В. Интерфероновый «автограф» у пациентов с системной красной волчанкой – взаимосвязь с лабораторными и клиническими показателями. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (8): 530-535.

DOI: https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-530-535

EDN: YHUYLQ

**Для корреспонденции:** Авдеева Анастасия Сергеевна, д-р мед. наук, зав. лаб. иммунологии и молекулярной биологии ревматических заболеваний; e-mail: 9056249400@mail.ru

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена за счет средств бюджетного финансирования на выполнение государственного задания по теме 1021051402790-6.

Поступила 03.05.2025

Принята к печати 17.07.2025

Опубликовано 25.07.2025

Avdeeva A.S., Tcheta E.V., Gorbunova Y.N., Panafidina T.A., Popkova T.V.

## INTERFERON SIGNATURE IN PATIENTS WITH SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS – RELATIONSHIP WITH LABORATORY AND CLINICAL PARAMETERS (preliminary results)

V.A. Nasonova Research Institute of Rheumatology, Moscow, Russia

In the pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE), disturbances in both the innate and adaptive immune response types play an important role. Disturbances in the innate immune response type are manifested in excessive production of type I interferons (IFN) by plasmacytoid dendritic cells (pDCs).

**Objective.** To study the expression of interferon-stimulated genes (ISG) in patients with systemic lupus erythematosus (SLE); to clarify the relationship between the expression of interferon-stimulated genes and clinical and laboratory parameters.

**Material and methods.** The analysis included 139 patients (123 women (88%) and 16 men (12%)) with a reliable diagnosis of SLE. The duration of the disease was 3.0 [0.3; 12.0] years, SLEDAI-2K 7 [4; 11] points, SDI 0 [0; 1] points. To assess the IFN "signature", 3 genes (MX1, RSAD2, EPSTI1) were selected. Total RNA was isolated from whole blood using the commercial RIBO-zol-A kit



(InterLabService, Moscow). Reverse transcriptase (RT) reaction was performed using the commercial Reverta kit (InterLabService, Moscow). Real-time polymerase chain reaction was performed using a Quant Studio 5 (Applied Biosystems) and gene expression kits (Applied Biosystems, USA);  $\beta$ -actin was used as an endogenous control.

**Results.** Expression of IFN-stimulated genes in SLE patients was significantly higher than in healthy donors: MX1 - 8.77 (2.6-15.57); RSAD - 24.2 (5.29-46.9); EPST1 - 14.4 (5.76-29.29); in donors - 1.25 (0.79-1.65); 1.01 (0.69-1.73); 1.08 (0.74-2.11), respectively,  $p < 0.05$ . IFN "autograph" was present in 55 (72.4%) patients and absent in 21 (27.6%) patients. There was a positive correlation between the level of IFN-stimulated genes expression and the level of ANA, the level of antibodies to dsDNA, Sm and a negative relationship with complement components,  $p < 0.05$ . No relationship was obtained between the expression of IFN-stimulated genes and disease activity according to SLEDAI-2K. Patients with facial erythema, non-scarring alopecia, leukopenia had a higher level of expression of IFN-stimulated genes, damage to the nervous system, on the contrary, was associated with lower interferon activity,  $p < 0.05$ .

**Conclusion.** Disturbances in the production of type I IFN are important in the pathogenesis of SLE and are observed in approximately 70% of patients. Hyperexpression of IFN-stimulated genes is associated with higher immunological activity, skin damage, and the development of hematological disorders. A detailed study of the IFN immunophenotype may allow a comprehensive characterization of its features and personalization of therapy.

**Key words:** systemic lupus erythematosus; type I interferons; gene expression; autoantibodies; disease activity

**For citation:** Avdeeva A.S., Tchetina E.V., Gorbunova Yu.N., Panafidina T.A., Popkova T.V. Interferon signature in patients with systemic lupus erythematosus – relationship with laboratory and clinical parameters (preliminary results). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (8): 530-535 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-530-535>

EDN: YHUYLQ

**For correspondence:** Avdeeva Anastasia Sergeevna, Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Immunology and Molecular Biology of Rheumatic Diseases; e-mail: 9056249400@mail.ru

#### Information about authors:

Avdeeva A.S., <https://orcid.org/0000-0003-3057-9175>;

Tchetina E.V., <https://orcid.org/0000-0001-7312-2349>;

Gorbunova Y.N., <https://orcid.org/0000-0002-2024-6927>;

Panafidina T.A., <https://orcid.org/0000-0003-1053-6952>;

Popkova T.V., <https://orcid.org/0000-0001-5793-4689>.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Acknowledgment.** The article was prepared under the program no. 1021051402790-6 "Study of Immunopathology, Diagnosis and Therapy in the Early Stages of Systemic Rheumatic Diseases".

Received 03.05.2025

Accepted 17.07.2025

Published 25.07.2025

Системная красная волчанка (СКВ) - хроническое мультисистемное аутоиммунное заболевание неизвестной этиологии с широким спектром клинических проявлений и непредсказуемым течением. Для СКВ характерно наличие в сыворотке высоких титров органо-неспецифических аутоантител к различным компонентам клеточного ядра. [1] Долгое время основой терапии СКВ были глюкокортикоиды (ГК) и иммуносупрессанты, применение которых способствовало уменьшению органных поражений и улучшало выживаемость больных, однако в отдаленной перспективе приводило к накоплению нежелательных лекарственных реакций и снижению качества жизни [2]. Внедрение в клиническую практику генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) и ингибиторов JAK – киназ, воздействующих на ключевые звенья патогенеза заболевания, позволило сформулировать новые цели терапии – достижение ремиссии заболевания, отсутствие обострений и органных повреждений [3]. Несмотря на два разработанных в настоящее время ГИБП для терапии СКВ – это препарат бедимумаб (человеческие моноклональные антитела к B<sub>L</sub>yS - B lymphocyte stimulator) [2] и анифролумаб (человеческие моноклональные антитела к субъединице 1 рецептора интерферона I типа) [4,5], большинство клинических исследований препаратов молекулярного действия оказалось неудачными [6]. Одна из возможных причин подобных результатов – это выраженная гетерогенность иммунологических нарушений при СКВ, которая может лежать в основе

непостоянной эффективности терапии на популяции пациентов в целом. У пациентов с СКВ сложно выделить какой-либо ведущий патогенетический механизм, лежащий в основе развития заболевания. Исходя из этого представляется разумным деление пациентов с СКВ на подтипы в зависимости от превалирования тех или иных звеньев патогенеза что может позволить выявить важные особенности отдельных подгрупп пациентов, а также разработать персонифицированный подход к терапии.

Патогенез СКВ включает нарушения в работе как врожденного, так и адаптивного типов иммунного ответа. Нарушения адаптивного иммунитета заключаются в чрезмерной активации и дифференцировке аутореактивных Т-лимфоцитов, что сопровождается усилением дифференцировки В-лимфоцитов и плазматических клеток, продуцирующих аутоантитела. Нарушения врожденного типа иммунного ответа проявляются в избыточной продукции интерферонов (ИФН) I типа плазматоцитодными дендритными клетками (пДК), распознающими иммунные комплексы, состоящие из собственной нуклеиновой кислоты и аутоантител [1,7].

ИФН I типа действуют на все ядросодержащие клетки для подавления репликации вирусов, а также имеют ряд иммуностимулирующих свойств, в том числе индуцируют созревание и активацию миелоидных ДК, поляризуют иммунный ответ по Th1 типу, способствуют активации В лимфоцитов, продукции антител и переключению класса иммуноглобулинов [8,9]. Активность

ИФН 1 типа обычно измеряется на основании экспрессии ИФН-стимулированных генов (ИСГ), которую называют «интерфероновый автограф» [9]. Наличие ИФН «автографа» положительно коррелирует с тяжестью СКВ [10,11]. Так пациенты с повышенным уровнем экспрессии ИСГ в мононуклеарных клетках периферической крови имели больше диагностических критериев заболевания, у них чаще развивалось поражение ЦНС, почек и выраженные гематологические нарушения [10,11]. Цель работы - изучить экспрессию интерферон-стимулированных генов (ИСГ) у пациентов с системной красной волчанкой (СКВ) и уточнить ее взаимосвязь с клиническими и лабораторными показателями.

**Материал и методы.** В наблюдательное проспективное исследование включены 139 пациентов: 123 женщины (88%) и 16 мужчин (12%), с достоверным диагнозом СКВ, соответствующим классификационным критериям Международного объединения клиник по СКВ (Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) 2012г [12]. Медиана возраста на момент включения составила 34 (26;41) года. Все пациенты наблюдались в клинике ФГБНУ НИИР им. В.А.Насоновой и подписали информированное согласие на участие в исследовании. Проведение исследования было одобрено локальным этическим комитетом (протокол № 25 от 23.12.2021 г.). Критерии не включения: возраст моложе 18 лет или старше 70 лет, применение любых генно-инженерных биологических препаратов (ГИБП) в течение последних 2-х лет, наличие беременности/лактации, тяжелой сопутствующей патологии (активные инфекции (СПИД, туберкулез, активный вирусный гепатит и др.), тяжелое поражение центральной нервной системы (ЦНС) (судороги, психоз, делирий, галлюцинации, кома), любые злокачественные новообразования или предраковые состояния на момент обследования и в анамнезе за последние 5 лет, алкогольная и наркотическая зависимости, параллельное участие в клинических исследованиях различных препаратов.

При включении в исследование медиана длительности СКВ составила 3,0 (0,3;12,0) года, активность заболевания соответствовала средней - SLEDAI-2K 7 (4;11) баллов, индекс повреждения - низкому: SDI 0 (0;1) баллов. Среди включенных в исследование пациентов 84 были с длительностью СКВ более 18 месяцев, 50 пациентов с ранней СКВ (длительностью заболевания менее 18 месяцев). На момент включения в исследование основными клиническими проявлениями СКВ являлись: гематологические нарушения (57%) с преобладанием лейкопении (37%), поражение суставов (артриты/артралгии) (40%), волчаночный нефрит (27%) с преобладанием IV (35%) и V (31%) классов по данным нефробиопсии, нерубцовая алопеция (25%), livedo reticularis (19%) и интерстициальное поражение легких (16%). Подавляющее большинство пациентов (94%) имели положительные антинуклеарный фактор (АНФ), антитела к двуспиральной ДНК (анти-дс-ДНК) (70%) и гипокомплементемии по C3 и/или C4 компонентам комплемента (64%). Из лекарственных препаратов наибольшее число пациентов, включенных в исследование, принимали преднизолон (84%) в низких дозах (М<sub>е</sub> 10,0 [6,25; 20,0] мг/сут) в сочетании с гидроксихлорохином (ГХ) (81%) в дозе 200 мг/сут. Кроме того, 19/139 (14%) пациентов не получали терапию — это были как

впервые заболевшие, так и длительно болеющие СКВ, но самостоятельно отменившие лечение.

Всем пациентам проводилось общепринятое клиническое, лабораторное и инструментальное обследование с использованием стандартных методов [13]. Активность СКВ определили с помощью индекса Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index в модификации 2K (SLEDAI-2K) [13]. Для оценки необратимых органических повреждений применяли индекс Systemic Lupus International Collaborating Clinics Damage Index (SDI) [14]. Уровень антинуклеарного фактора (АНФ) определялся методом непрямой реакции иммунофлюоресценции (НРИФ) с использованием коммерческого набора реагентов «IMMCO Diagnostics», США. Специфические АНА (антинуклеарные антитела) к отдельным ядерным антигенам определялись с использованием коммерческих наборов реагентов («ORGENTEC Diagnostika», Германия). По рекомендации фирмы-изготовителя нормальные значения составляли: анти-дс ДНК – 0,0-20,0 МЕ/мл, анти-Sm – 0,0-25,0 Ед/мл, анти-Ro/SS-A – 0,0-25,0 Ед/мл, анти- La/SS-B – 0,0-25,0 Ед/мл, аКЛ-IgG – 0,0-10,0 GPL, аКЛ-IgM – 0,0-7,0 MPL, аβ2-ГП I IgG – 0,0-8,0 Ед/мл, аβ2-ГП I IgM – 0,0-8,0 Ед/мл.

Для оценки ИФН «автографа» на основании анализа литературных данных были отобраны 3 гена (MX1, RSAD2, EPSTI1). Общую РНК выделяли из цельной крови, используя коммерческий набор «РИБО-золь-А» (ИнтерЛабСервис, Москва). Обратно транскриптазную (ОТ) реакцию проводили с помощью коммерческого набора «Реверта» (ИнтерЛабСервис, Москва). Для полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени применяли прибор модели Quant Studio 5 (Applied Biosystems) и наборы для экспрессии генов (Applied Biosystems, USA): MX1 (Hs00895608\_m1), RSAD2 (Hs00369813\_m1), EPSTI1 (Hs01566789\_m1); β-актин использовали в качестве эндогенного контроля. Было рассчитано среднее значение экспрессии трех анализируемых генов - ИФН score.

Контрольную группу составили 20 здоровых доноров, сопоставимых по полу и возрасту с обследованными пациентами.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 10.0 (StatSoft, США), включая общепринятые методы параметрического и непараметрического анализа. Для параметров, распределение которых отличалось от нормального, при сравнении двух групп использовали критерий Манна-Уитни, а при сравнении трех и более групп – критерий Краскела-Уоллеса, результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом [25–75-й процентиля]. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Экспрессия ИФН стимулированных генов, ИФН score, у пациентов с СКВ была достоверно выше, по сравнению со здоровыми донорами: MX 1- 8,77 (2,6-15,57); RSAD- 24,2 (5,29-46,9); EPST I -14,4 (5,76-29,29); ИФН score - 17,4 (3,9-37,44) у доноров – 1,25 (0,79-1,65); 1,01 (0,69-1,73); 1,08 (0,74-2,11), 1,13 (0,88-1,55) соответственно,  $p < 0,05$ . ИФН «автограф» присутствовал у 55 (72,4%) пациентов и отсутствовал у 21 (27,6%).

Корреляционные взаимосвязи между экспрессией ИСГ и клинико-лабораторными показателями пациентов с СКВ представлены в табл. 1.

Таблица 1

Корреляционная взаимосвязь экспрессии ИФН стимулированных генов с клинико-лабораторными показателями

Показатель	SLEDAI-2K	АНФ	Анти-дсДНК	Анти-Sm	C3	C4	Анти-Ro-SSA	Анти-La-SSB
MX 1	-	r=0,3		r=0,5		r=-0,3	-	-
RSAD	-	r=0,37		r=0,4			-	-
EPST I	-	r=0,25	r=0,25	r=0,59	r=-0,28	r=-0,36	-	-
ИФН score	-	r=0,29		r=0,52		r=-0,24	-	-

Примечание.  $p < 0,05$  во всех случаях.

Как видно из табл. 1, отмечалась позитивная корреляционная взаимосвязь экспрессии ИСГ с титром АНФ, уровнем АТ к дсДНК, Sm и отрицательная взаимосвязь с фракциями C3 и C4 комплемента. Взаимосвязи между экспрессией ИСГ и активностью заболевания по SLEDAI -2K получено не было.

Также были выявлены взаимосвязи между экспрессией отдельных генов и основными клиническими доменами СКВ. Отмечалась положительная корреляционная взаимосвязь экспрессии гена MX 1 с наличием эритемы на лице ( $r=0,31$ ), нерубцовой аллопецией ( $r=0,25$ ), лейкопенией ( $r=0,26$ ); гена RSAD с дискоидными высыпаниями ( $r=0,28$ ), лейкопенией ( $r=0,33$ ); гена EPST I с эритемой на лице ( $r=0,28$ ), наличием диско-

идных элементов ( $r=0,32$ ), нерубцовой аллопецией ( $r=0,26$ ); ИФН score с эритемой на лице ( $r=0,3$ ), дискоидными высыпаниями ( $r=0,33$ ), нерубцовой аллопецией ( $r=0,23$ ), лейкопенией ( $r=0,28$ ); обратная корреляция всех анализируемых генов и ИФН score с поражением нервной системы ( $r=-0,34, -0,29, -0,3, -0,31$ ) соответственно,  $p < 0,05$  во всех случаях.

Учитывая полученную позитивную корреляцию ряда ИФН стимулированных генов с органами поражениями, был проанализирован уровень экспрессии отдельных ИФН стимулированных генов, а также ИФН score в группах с наличием и отсутствием поражения кожи, аллопецией и гематологическими нарушениями (табл.2).

Таблица 2

Уровень экспрессии ИФН стимулированных генов в зависимости от органических поражений

Параметры		MX1	RSAD	EPST I	ИФН score
Эритема на лице	Присутствует ( $n=31$ )	10,88 (5,8-24,8)	29,09 (16,04-63,8)	16,86 (10,44-38,7)	23,6 (12,88-49,28)
	Отсутствует ( $n=45$ )	5,22 (1,54-12,68)*	22,06 (2,45-42,3)	12,49 (3,98-23,19)*	13,59 (2,8-28,35)*
Нерубцовая аллопеция	Присутствует ( $n=33$ )	12,3 (3,4-22,1)	27,9 (9,3-57,9)	20,7 (9,2-37,0)	23,6 (11,2-40,9)
	Отсутствует ( $n=43$ )	5,8 (1,51-13,1)*	23,3 (3,53-43,8)	13,1 (2,8-23,1)*	14,6 (3,03-28,6)*
Лейкопения/лимфопения	Присутствует ( $n=58$ )	9,4 (4,2-18,6)	28,6 (11,5-50,8)	15,9 (9,2-32,4)	19,4 (11,2-37,5)
	Отсутствует ( $n=18$ )	3,02 (0,97-12,3)*	5,9 (0,94-25,9)*	5,76 (2,03-17,2)	6,4 (2,05-15,9)*
Поражение нервной системы	Присутствует ( $n=12$ )	1,9 (1,36-4,79)	2,83 (1,28-16,4)	5,76 (1,68-8,93)	3,22 (1,75-9,74)
	Отсутствует ( $n=64$ )	9,7 (3,9-17,4)*	27,8 (13,4-47,8)*	16,3 (9,9-32,4)*	19,1 (11,2-37,5)*

Примечание. \* -  $p < 0,05$  между группами.

Как видно из табл. 2, пациенты с эритемой на лице, нерубцовой аллопецией, лейкопенией имели более высокий уровень экспрессии ИФН стимулированных генов, поражение нервной системы, напротив ассоциировалось с более низкой активностью интерферона. Достоверных различий в уровне экспрессии ИСГ в зависимости от других клинических проявлений СКВ (нефрита, поражения суставов, серозитов) выявлено не было.

**Обсуждение.** Реализация концепции персонализированной, прецизионной медицины достижима с использованием молекулярно-таргетной терапии основанной на сложной биомолекулярной информации, сочетающей в себе клинические, геномные маркеры, данные об субпопуляциях клеток врожденного и адаптивного иммунитета, показателях цитокинового профиля и ряда других маркеров. Учитывая выраженную

гетерогенность СКВ, наличие ряда подтипов заболевания на молекулярном уровне, применение подобного подхода к терапии на данный момент крайне затруднительно. Рядом исследователей предпринимаются попытки выделения отдельных иммунологических фенотипов заболевания, ассоциированных с клиническими проявлениями, активностью и тяжестью заболевания [15]. В большинстве таких исследований выделяется отдельный фенотип болезни, характеризующийся гиперактивацией системы ИФН I типа. Так, анализ транскриптома периферической крови 158 пациентов с СКВ позволил выделить 7 групп пациентов в зависимости от преобладающих иммунологических нарушений. Гиперактивация генов ИФН I типа наблюдалась наиболее часто – 84,8%, что было связано с прогрессированием заболевания. [16]. В результате работы, авторы предло-



жили стратифицировать пациентов с СКВ на три иммунологических фенотипа: ИФН-зависимый, с активацией миелоидных клеток/нейтрофилов и плазмобластов.

J.M. Guthridge и соавторы [17] проанализировали широкий спектр протеомных и транскриптомных биомаркеров в группе из 198 пациентов с СКВ с участием машинного обучения. Авторам удалось выявить семь иммунологических субтипов заболевания: для трех кластеров была характерна экспрессия ИФН – стимулированных генов, что было связано с повышением показателей воспаления, уровня интерферона, и максимальной частотой нефрита. Клинические проявления заболевания были сходны для всех субтипов; показатели SLEDAI коррелировали с ИФН автографом, уровнями ИФН-а, и были максимальны в кластерах с гиперэкспрессией ИСГ. Результаты данной работы свидетельствуют, что изучение молекулярных профилей может позволить выделить отдельные подгруппы пациентов при сходной клинической симптоматике.

Учитывая важное значение нарушения в работе системы ИФН I типа в патогенезе СКВ и наличие зарегистрированного лекарственного препарата, влияющего на активность системы ИФН, характеристика субтипа заболевания с преобладающей активностью ИФН I типа представляется бесспорно важной и актуальной [11]. Нами было продемонстрировано, что активация системы ИФН I типа характерна для 72,4% пациентов с СКВ, что согласуется с данными литературы [16,18]. По данным различных авторов, гиперэкспрессия ИСГ в мононуклеарных клетках периферической крови отмечается у 60–80% пациентов с СКВ [18,19], при этом сывороточная активность ИФН-а у 40-50% пациентов не отличается от нормальных значений [18], что позволяет говорить о важной патогенетической роли ИФН I типа не для всех пациентов с СКВ и подтверждает существенную гетерогенность иммунологических нарушений. Высокий уровень циркулирующего ИФН типа I значимо коррелирует с наличием анти Ro/SSA и антител к рибонуклеопротеину [20]. Уровни данных аутоантител, как правило, существенно не меняются на протяжении заболевания, что может свидетельствовать о стабильном уровне ИФН типа I у данного подмножества пациентов. В нашей работе отмечалась позитивная корреляционная взаимосвязь экспрессии ИСГ с титром АНФ, уровнем АТ к дсДНК, Sm и обратная – с содержанием фракции C3 и C4 комплемента. Установлено, что наличие ИФН «автографа» положительно коррелирует с тяжестью СКВ [10]. Так, пациенты с повышенным уровнем экспрессии ИСГ имели больше диагностических критериев заболевания, у них чаще развивались выраженные гематологические нарушения [10], что совпадает с полученными нами данными.

При анализе взаимосвязи экспрессии ИСГ и клинических проявлений заболевания было установлено, что для пациентов с более высокой экспрессией ИСГ характерно преимущественное поражение кожи, аллопеция; поражение нервной системы, напротив, встречалось реже. Преимущественное поражение кожи у пациентов с наличием ИФН автографа, вероятно, связано с эпидермальным синтезом ИФН I типа, что сопровождается локальным воспалением и фоточувствительностью.

**Заключение.** Таким образом, гиперэкспрессия ИСГ отмечается приблизительно у 70% пациентов с СКВ

и ассоциируется с более высокой иммунологической активностью, поражением кожи, развитием гематологических нарушений. Подробное изучение данного иммунофенотипа может позволить всесторонне охарактеризовать его особенности и персонализировать терапию.

#### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 2 - 10, 12 - 20 см. REFERENCES)

1. Насонов Е.Л., Соловьев С.К., Аршинов А.В. Системная красная волчанка: история и современность. *Научно-практическая ревматология*. 2022; 60(4):397-412. DOI: 10.47360/1995-4484-2022-397-412.
11. Насонов Е.Л., Авдеева А.С. Иммуновоспалительные ревматические заболевания, связанные с интерфероном типа I: новые данные. *Научно-практическая ревматология*. 2019; 57(4):452-61. DOI:10.14412/1995-4484-2019-452-461.
13. Насонов Е.Л., ред. Российские клинические рекомендации. Ревматология. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2020.

#### REFERENCES

1. Nasonov E.L., Soloviev S.K., Arshinov A.V. Systemic lupus erythematosus: history and modernity. *Nauchno-Prakticheskaya Revmatologiya*. 2022; 60(4):397-412. DOI: 10.47360/1995-4484-2022-397-412. (in Russian)
2. Tanaka Y. State-of-the-art treatment of systemic lupus erythematosus. *Int. J. Rheum. Dis.* 2020; 23: 465–71. DOI: 10.1111/1756-185X.13817.
3. Van Vollenhoven R.F., Mosca M., Bertias G., Isenberg D., Kuhn A., Lerström K. et al. Treat-to-target in systemic lupus erythematosus: Recommendations from an international task force. *Ann. Rheum. Dis.* 2014; 73: 958. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-205139.
4. Morand E.F., Furie R., Tanaka Y., Bruce I.N., Askana A.D., Richez C. et al. Trial of anifrolumab in active systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.* 2020; 382: 211–21. DOI: 10.1056/NEJMoa1912196.
5. Tanaka Y., Tummala R. Anifrolumab, a monoclonal antibody to the type I interferon receptor subunit 1, for the treatment of systemic lupus erythematosus: An overview from clinical trials. *Mod. Rheumatol.* 2021; 31: 1–12. DOI: 10.1080/14397595.2020.1812201.
6. Murphy G., Isenberg D.A. New therapies for systemic lupus erythematosus - past imperfect, future tense. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2019; 15: 403-12. DOI: 10.1038/s41584-019-0235-5.
7. Tsokos G.C. Systemic lupus erythematosus. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365: 2110–21. DOI: 10.1056/NEJMr1100359.
8. Longhi M.P., Trumpfheller C., Idoyaga J., Caskey M., Matos I., Kluger C. et al. Dendritic cells require a systemic type I interferon response to mature and induce CD4+ Th1 immunity with poly IC as adjuvant. *J. Exp. Med.* 2009; 206:1589-1602. DOI: 10.1084/jem.20090247.
9. Le Bon A., Thompson C., Kamphuis E., Durand V., Rossmann C., Kalinke U. et al. Cutting edge: enhancement of antibody responses through direct stimulation of B and T cells by type I IFN. *J. Immunol.* 2006; 176:2074-8. DOI: 10.4049/jimmunol.176.4.2074.
10. Baechler E.C., Batliwalla F.M., Karypis G., Gaffney P.M., Ortmann W.A., Espe K.J. et al. Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100:2610-5. DOI: 10.1073/pnas.0337679100.
11. Nasonov E.L., Avdeeva A.S. Immunoinflammatory rheumatic diseases associated with type I interferon: new evidence. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2019; 57(4):452-61. DOI: 10.14412/1995-4484-2019-452-461. (in Russian)
12. Petri M., Orbai A.M., Alarcón G.S., Gordon C., Merrill J.T., Fortin P.R. et al. Derivation and validation of the systemic lupus international collaborating clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012; 64(8):2677-86. DOI: 10.1002/art.34473.
13. Nasonov E.L., ed. Russian clinical guidelines. Rheumatology [Ros-

- siyskie klinicheskie rekomendatsii. *Revmatologiya*. Moscow: GEO-TAR-Media; 2020. (in Russian)
14. Gladman D.D., Ginzler E., Goldsmith C., Fortin P., Liang M., Urowitz M. et al. The development and initial validation of the systemic lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology (SLICC/ACR) damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthr. Rheum.* 1996; 39(3):363-9. DOI: 10.1002/art.1780390303.
15. Toro-Domínguez D., Martorell-Marugán J., Goldman D., Petri M., Carmona-Sáez P., Alarcón-Riquelme M.E. et al. Longitudinal Stratification of Gene Expression Reveals Three SLE Groups of Disease Activity Progression. *Arthr. Rheum.* 2018; 70(12): 2025-35. DOI: 10.1002/art.40653.
16. Banchereau R., Hong S., Cantarel B., Baldwin N., Baisch J., Edens M. et al. Personalized immunomonitoring uncovers molecular networks that stratify lupus patients. *Cell*. 2016; 165:551-65. DOI: 10.1016/j.cell.2016.03.008.
17. Guthridge J.M., Wagner C.A., James J.A. The promise of precision medicine in rheumatology. *Nat. Med.* 2022; 28(7):1363-71. DOI: 10.1038/s41591-022-01880-6.
18. Bengtsson A.A., Rönnblom L. Role of interferons in SLE. *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2017; 31(3):415-28. DOI: 10.1016/j.berh.2017.10.0.
19. Eloranta M.L., Rönnblom L. Cause and consequences of the activated type I interferon system in SLE. *J. Mol. Med. (Berl)*. 2016; 94(10):1103-10. DOI: 10.1007/s00109-016-1421-4.
20. Weckerle C.E., Franek B.S., Kelly J.A., Kumabe M., Mikolaitis R.A., Green S.L. et al. Network analysis of associations between serum interferon- $\alpha$  activity, autoantibodies, and clinical features in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011;63(4):1044-53. DOI: 10.1002/art.30187.

## МИКРОБИОЛОГИЯ



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

<https://elibrary.ru/uyqilk>

Биканова М.Г.<sup>1</sup>, Захарова Ю.В.<sup>1</sup>, Якименко А.В.<sup>1</sup>, Соболева О.М.<sup>1</sup>, Сухих А.С.<sup>2</sup>, Ле В.М.<sup>2</sup>

### ОСОБЕННОСТИ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*, ПРОДУЦИРУЮЩИХ $\beta$ -ЛАКТАМАЗЫ РАСШИРЕННОГО СПЕКТРА

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 650056, Кемерово, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» Минобрнауки России, 650000, Кемерово, Россия

Данные об элементном составе *K. pneumoniae* ограничены, что затрудняет разработку экспресс-методов дифференциации клинически значимых штаммов клебсиелл.

**Цель исследования:** оценка элементного статуса у клинических штаммов *K. pneumoniae*, обладающих  $\beta$ -лактамазами расширенного спектра (БЛРС), выделенных из мокроты пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ).

**Материал и методы.** Исследованы 38 штаммов *K. pneumoniae*, изолированные из мокроты пациентов ОРИТ. Выделяли клебсиеллы количественно на среде Эндо, идентификацию проводили в ПЦР. Наличие БЛРС изучали методом двойных дисков. Элементы у бактерий исследованы методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой. Статистическая обработка проведена программой IBM SPSS Statistics («IBM/Predictive Solutions»).

**Результаты.** У штаммов-продуцентов БЛРС общая масса элементов составила 795,65 мкг/мг, у штаммов *K. pneumoniae*, не продуцирующих БЛРС в 3 раза ниже - 256,32 мкг/мг ( $U=14$ ,  $p=0,02$ ). Установлены отличия структуры элементов у БЛРС-продуцирующих *K. pneumoniae* ( $\chi^2=78,45$ ;  $df=8$ ;  $p=0,01$ ). Общее содержание серы выше у БЛРС-продуцирующих *K. pneumoniae* (433,9 мкг/мг, против 103 мкг/мг) ( $U=48,5$ ;  $p=0,021$ ). Различия регистрировали в отношении кальция, содержание которого составило 144 мкг/мг у БЛРС-продуцирующих штаммов и 27,51 мкг/мг у штаммов без БЛРС ( $U=34$ ,  $p=0,011$ ). Содержание железа ( $U=74,5$ ,  $p=0,001$ ) и цинка ( $U=67$ ;  $p=0,003$ ) у продуцирующих БЛРС штаммов в 10 раз выше, чем у штаммов группы сравнения.

**Заключение.** Особенности элементного состава БЛРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* характеризуются высоким содержанием серы, кальция, железа, цинка, являющихся кофакторами ферментов вирулентности и адаптации к окружающей среде.

**Ключевые слова:** элементный состав; *Klebsiella pneumoniae*; антибиотикорезистентность; вирулентность

**Для цитирования:** Биканова М.Г., Захарова Ю.В., Якименко А.В., Соболева О.М., Сухих А.С., Ле В.М. Особенности элементного состава *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующих  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70(8): 536-542.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-536-542>

EDN: UYQILK

**Для корреспонденции:** Захарова Юлия Викторовна, профессор кафедры микробиологии и вирусологии; e-mail: yvz@bk.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарность.** Авторы выражают благодарность лаборантскому составу кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО Кемеровского ГМУ за техническое обслуживание научно-исследовательской работы.

Поступила 17.04.2025

Принята к печати 05.06.2025

Опубликовано 25.07.2025

Bikanova M.G.<sup>1</sup>, Zakharova Yu.V.<sup>1</sup>, Yakimenko A.V.<sup>1</sup>, Soboleva O.M.<sup>1</sup>, Sukhikh A.S.<sup>2</sup>, Le V.M.<sup>2</sup>

### FEATURES OF THE ELEMENTAL COMPOSITION OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCING EXTENDED-SPECTRUM $\beta$ -LACTAMASES

<sup>1</sup>FSBI HPE «Kemerovo State Medical University» Ministry of Health Russia. 650056. Kemerovo, Russia;

<sup>2</sup>FSBI HPE «Kemerovo State University» Ministry of Education and Science of the Russian Federation, 650000, Kemerovo, Russia

Data on the elemental composition of *K. pneumoniae* are limited, which complicates the development of new methods for rapid differentiation of clinically significant *Klebsiella*.

**The aim** was an assessment of the elemental status of clinical extended-spectrum  $\beta$ -lactamases *K. pneumoniae* isolated from sputum of patients in the intensive care unit.

**Material and methods.** We studied 38 strains of *K. pneumoniae* isolated from the sputum of patients in the intensive care and anesthesiology department. *Klebsiella* were isolated quantitatively on Endo medium, identification was in the polymerase chain reaction. The presence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBL) was studied using the double-disk method. Elements in bacteria were studied using the inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy method. Statistical processing was performed using the IBM SPSS Statistics program («IBM/Predictive Solutions»).

**Results.** In strains with ESBL, the total mass of elements was 795.65 mcg/mg, while in *Klebsiella* not producing ESBL it was 3 times lower - 256.32 mcg/mg ( $U=14$ ,  $p=0.02$ ). Differences in the structure of elements were found in ESBL-producing *K. pneumoniae* ( $\chi^2=78.45$ ;  $df=8$ ;  $p=0.01$ ). The total sulfur content was higher in ESBL-producing *K. pneumoniae* (433.9 mcg/mg versus 103 mcg/mg)

( $U=48.5$ ;  $p=0.021$ ). Differences were also recorded in calcium, the content of which was 144 mcg/mg in ESBL-producing strains and 27.51 mcg/mg in strains without ESBL ( $U=34$ ,  $p=0.011$ ). The content of iron ( $U=74.5$ ,  $p=0.001$ ) and zinc ( $U=67$ ;  $p=0.003$ ) in ESBL-producing strains was 10 times higher than in the comparison strains.

**Conclusion.** The features of the elemental composition of ESBL-producing strains *K. pneumoniae* are characterized by a high content of sulfur, calcium, iron and zinc, which are cofactors of virulence enzymes and adaptation to the environment.

**Key words:** elemental composition; *Klebsiella pneumoniae*; antibiotic resistance; virulence

**For citation:** Bikanova M.G., Zakharova Yu.V., Yakimenko A.V., Soboleva O.M., Sukhikh A.S., Le V.M. Features of the elemental composition of *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70(8): 536-542 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-536-542>

EDN: UYQILK

**For correspondence:** Zakharova Yulia Viktorovna, professor of the Department of Microbiology and Virology; e-mail: yvz@bk.ru

**Information about authors:**

Bikanova M.G., <https://orcid.org/0000-0001-7482-4887>;

Zakharova Yu.V., <https://orcid.org/0000-0002-3475-9125>;

Yakimenko A.V., <https://orcid.org/0009-0000-9265-5159>;

Soboleva O.M., <https://orcid.org/0000-0001-8929-7725>;

Sukhikh A.S., <https://orcid.org/0000-0001-9300-5334>;

Le V.M., <https://orcid.org/0000-0002-9546-6633>.

**Funding.** The study had no sponsor support.

**Conflicts of interest.** The authors declare absence of conflict of interest.

**Acknowledgement.** The authors express their gratitude to the laboratory staff of the Department of Microbiology and Virology of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education KemSMU for technical support of the research work.

Received 17.04.2025

Accepted 05.06.2025

Published 25.08.2025

**Введение.** *Klebsiella pneumoniae* относят к приоритетным патогенам с растущей антибиотикорезистентностью, вызывающие тяжелые инфекции, наносящие существенный социальный и экономический ущерб [1, 2]. *K. pneumoniae* являются условно-патогенными микроорганизмами, обычно встречающимися в микробиоме носа, ротоглотки, кожи, желудочно-кишечного тракта здоровых людей [3], но они могут вызывать ряд инфекций, включая пневмонию [1, 4], инфекции мягких тканей и хирургических ран [5, 6], инфекции мочевыводящих путей [7], инфекции кровотока [8 - 10]. Большая часть инфекций, вызываемых *Klebsiella spp.*, обусловлена двумя основными патотипами, а именно классическими клонами (Крс) с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ) и гипервирулентными (Крhv) штаммами [11]. Гипервирулентность клебсиелл связана с высокими адаптивными свойствами, что проявляется образованием фимбрий, формированием биопленок, экспрессией факторов инвазии, активным поглощением железа из сред организма [12, 13].

Клебсиеллам, как и другим бактериям, для жизнедеятельности требуются биогенные и зольные микро- и макроэлементы. Для синтеза компонентов клеток они нуждаются в углероде, кислороде, азоте, водороде, сере, фосфоре [14]. Макроэлементы входят в состав ферментов дыхательной цепи, гидрогеназ, транспортных белков [14]. Содержание некоторых элементов у клебсиелл ассоциируют с вирулентностью и устойчивостью к антимикробным препаратам (АМП). Цинк является кофактором металло- $\beta$ -лактамаз у карбапенемрезистентных штаммов *K. pneumoniae*, с ним связана работа эффлюксовых насосов, обуславливающих резистентность к биоцидам [11]. Цинк необходим для функционирования протеаз, ДНК и РНК-полимераз, являющихся патогенетически значимыми ферментами

инвазии при бактериальных инфекциях [8]. Содержание железа определяет характер межмикробных взаимодействий в многокомпонентных сообществах микробов и количественные уровни условно-патогенных энтеробактерий в кишечнике [15 - 17]. Ионами железа регулируется экспрессия фимбрий 3 типа ( $T_3F$ ) и гипермукоидной капсулы *K. pneumoniae* [12, 18, 19]. В присутствии железа у *K. pneumoniae* наблюдается значительно более высокая адгезия штаммов к эпителиальным клеткам толстой кишки, образование биопленок на абиотических поверхностях [13].

Сведения, демонстрирующие взаимосвязь содержания элементов и биологических свойств *K. pneumoniae*, ограничены данными по железу и цинку, тогда как в отношении других органогенных и зольных элементов практически отсутствуют. Чаще всего, исследования направлены на изучение антимикробных эффектов различных ионов металлов в отношении возбудителей инфекционных заболеваний [20], использование металлов, как мишеней для инактивации ферментов антибиотикорезистентности и биопленкообразования у бактерий [21, 22] или на конструирование питательных сред для культивирования бактерий, в том числе, селективных. Отсутствует полное понимание того, возможно ли использовать данные об элементном статусе *K. pneumoniae* в лабораторной диагностике клебсиеллезных инфекций для оценки вирулентных свойств и патотипа бактерий, скрининга резистентности к АМП, для биопротипирования штаммов в процессе эпидемиологического надзора за ИСМП.

**Цель исследования:** оценка элементного статуса у клинических штаммов *K. pneumoniae*, обладающих  $\beta$ -лактамазами расширенного спектра (БЛРС), выделенных из мокроты пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ)



**Материал и методы.** В качестве объектов исследования использованы 38 штаммов *K. pneumoniae*, изолированных из мокроты пациентов ОРИТ ГАУЗ «Кузбасская клиническая больница скорой медицинской помощи имени М.А. Подгорбунского» в период с сентября по декабрь 2024 года. Исследование проводили при информировании пациентов и их согласия в обработке данных для представления результатов в открытых источниках (протокол Этического комитета № 331/к от 11.09.2024). Штаммы разделены на две группы - основная ( $n=20$ ) - *K. pneumoniae*, продуцирующие БЛРС, и группа сравнения ( $n=18$ ) - *K. pneumoniae*, без БЛРС.

В качестве биоматериала использована мокрота, собранная от пациентов в день исследования в стерильные одноразовые пластиковые контейнеры (ООО «Пластилаб Индустрия», Россия). Мокроту окрашивали по Граму, микроскопировали под микроскопом Primo Star Zeiss (Carl Zeiss, Германия), разжижали муколитиками и встряхивали со стеклянными стерильными бусами. Готовили разведения мокроты в 2% пептонной воде и проводили посев на питательные среды. Для выделения клебсиелл использована дифференциально-диагностическая среда Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), посева на которую осуществляли из разведений  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$ . Через 48 часов культивирования при 37 °C отбирали подозрительные колонии, окрашивали по Граму, микроскопировали и отсеивали для накопления на среду Клигера (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Предварительную идентификацию вида *K. pneumoniae* осуществляли на основании морфологических, тинкториальных, культуральных свойств. Диагностически значимым считали содержание бактерий в мокроте не менее 5 lg КОЕ/мл.

Окончательную видовую идентификацию клебсиелл проводили в ПЦР. ДНК клинических изолятов *K. pneumoniae* выделяли с помощью набора РеалБест Сорбитус (АО «Вектор Бест», Россия) согласно инструкции производителя. Видовую идентификацию осуществляли с помощью набора РеалБест ДНК *Klebsiella pneumoniae/Pseudomonas aeruginosa* (комплект 1) (АО «Вектор Бест», Россия).

Наличие у *K. pneumoniae* БЛРС изучали фенотипическим методом двойных дисков на агаре Мюллера-Хинтона (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск)<sup>1</sup>. Использовали диски с цефотаксимом (30 мкг/диск), с цефтазидимом (30 мкг/диск), с амоксициллином/клавуланатом (20/10 мкг/диск).

Оценивали факторы вирулентности штаммов. Продукцию клебсиеллами липаз изучали на Tributyrin Agar Base (HIMEDIA, Индия), протеолитическую активность с помощью набора Микро-ЖЕЛАТИНАЗА (НИЦФ, Санкт-Петербург), гемолитические свойства на 5% кровяном МПА (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск). Проводили постановку «стринг» теста для выявления гипермукоидных штаммов. Клебсиеллы считали гипермукоидными при наличии тянущейся за петлей нити длиной более 5 мм.

Элементный состав бактериальных клеток исследовали методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП). В рам-

ках пробоподготовки образцов готовили взвеси чистых культур *K. pneumoniae* мутностью 0,5 ед. МакФарленда ( $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл). Навеску взвеси 2 мг помещали в 1 мл концентрированной азотной кислоты. Образец переносили в полимерный контейнер из тетрафторэтилена (PTFE), доводили объем до 4 мл концентрированной азотной кислотой по ГОСТ<sup>2</sup> и осуществляли минерализацию в микроволновой станции пробоподготовки TOPEX+ (PreeKem Ltd, КНР). Процедуру минерализации проводили при следующих параметрах: 160 °C в течение 2 минут.

Образцы охлаждали, фильтровали через беззольный бумажный фильтр в полиэтиленовую пробирку объемом не менее 10 мл, разбавляли деионизированной водой (1:10 об/об). Минерализованные образцы помещали в атомно-эмиссионный спектрометр с индуктивно связанной плазмой ISP-AES 9820 (Shimadzu, Япония) и определяли содержание эссенциальных элементов (Ca, S, P, K, Na, Zn, Fe, Cu, Mg) в бактериальной массе с последующим пересчетом на 1 мкг сухого вещества. В качестве контроля использована 2% пептонная вода. Обработка полученных результатов выполнена с использованием ПО ICPE -9820 Version 1.11, в качестве стандарта применён «Мультиэлементный стандарт 23 элементов, 1000 мг/л» (Merch KGaA, Германия).

Статистическая обработка данных проведена с использованием комплекса IBM SPSS Statistics («IBM/Predictive Solutions»). При выборе метода статистической обработки с помощью критерия Колмогорова-Смирнова определена нормальность распределения данных. Количественные данные представлены в виде абсолютных показателей, их сравнение осуществляли с помощью U-критерия Манна-Уитни. Качественные признаки описывали абсолютными и относительными значениями, сравнение осуществляли на основании критерия  $\chi^2$ . Если сравниваемых значений было менее 5, то пользовались поправкой Йетса. Различия между данными в группах микроорганизмов считали достоверными при  $p \leq 0,05$ .

**Результаты.** Все клебсиеллы выделены в этиологически значимых количествах из мокроты пациентов, находящихся на интенсивной терапии в ОРИТ. Среднее содержание бактерий в 1 мл мокроты составило  $6 \pm 0,5$  lg КОЕ. В связи с тем, что микро- и макроэлементы играют важную роль в функционировании жизненно важных ферментов метаболизма, ферментов размножения, ферментов вирулентности бактерий, изучен вирулентный фенотип сравниваемых популяций *K. pneumoniae*. Установлено отсутствие различий по распространенности факторов вирулентности у клебсиелл с разным фенотипом резистентности к АМП ( $p > 0,05$ ) (см. таблицу).

В минерализованных образцах *K. pneumoniae* независимо от наличия или отсутствия ферментов антибиотикорезистентности регистрировали наличие 9 химических элементов: натрия, магний, фосфор, сера, кальций, алюминий, хром, железо, цинк. Общее содержание химических элементов отличалось. У штаммов, продуцирующих БЛРС, их масса составила 795,65 мкг/мг сухого вещества, у клебсиелл, не продуцирующих БЛРС - в 3 раза ниже - 256,32 мкг/мг ( $U=14$ ,  $p=0,02$ ).

<sup>2</sup> ГОСТ 1125-84 Кислота азотная особой чистоты. Технические условия: издание официальное: утвержден и введен в действие Министерством минеральных удобрений СССР 01 января 1986 г. М.; 1986.

<sup>1</sup> МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам»: методические указания: издание официальное: утверждён и введён в действие Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 04 марта 2004 г. М.; 2004.

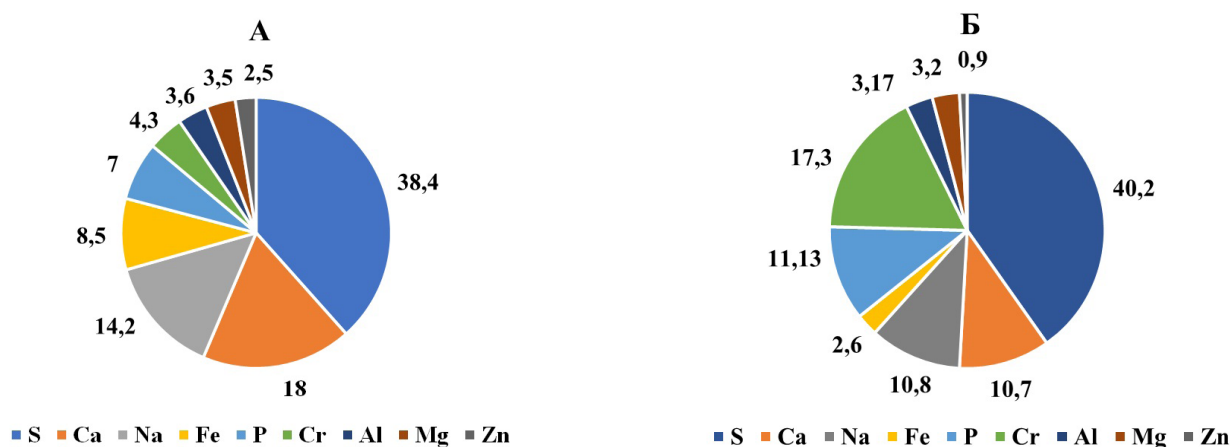
Частота обнаружения факторов вирулентности у *K. pneumoniae*, обладающих разным фенотипом антибиотикорезистентности

Фактор вирулентности	<i>K. pneumoniae</i> БЛРС+, абс/отн (%) (n=20)	<i>K. pneumoniae</i> БЛРС-, абс/отн (%) (n=18)	$\chi^2_{(1)}$	Значимость различий
Гемолизин	13/65	7/38,9	2,59	0,11
Липаза	12/60	7/38,9	1,69	0,19
Протеаза	7/35	8/44,4	0,35	0,55
Гипермукоидный фенотип	6/30	1/5,6	2,32	0,13

В минерализованных образцах *K. pneumoniae* независимо от наличия или отсутствия ферментов антибиотикорезистентности регистрировали наличие 9 химических элементов: натрий, магний, фосфор, сера, кальций, алюминий, хром, железо, цинк. Общее содержание химических элементов отличалось. У штаммов,

продуцирующих БЛРС, их масса составила 795,65 мкг/мг сухого вещества, у клебсиелл, не продуцирующих БЛРС - в 3 раза ниже - 256,32 мкг/мг ( $U=14$ ,  $p=0,02$ ).

Установлены отличия структуры химических элементов у БЛРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* ( $\chi^2=78,45$ ;  $df=8$ ;  $p=0,01$ ) (см. рисунок).



Структура элементного состава *Klebsiella pneumoniae*, обладающих разным фенотипом антибиотикорезистентности (в %).

А – популяция *K. pneumoniae*, продуцирующая БЛРС, Б - популяция *K. pneumoniae*, не продуцирующая БЛРС.

У штаммов-продуцентов БЛРС в структуре доминировали сера, кальций, натрий. У штаммов *K. pneumoniae* без БЛРС наибольшая доля приходилась на серу, хром, фосфор. Железо и цинк у антибиотикорезистентных *K. pneumoniae* имели больший удельный вес в структуре элементного состава, чем у клебсиелл без БЛРС. На долю железа в основной группе клебсиелл приходилось 8,5%, в группе сравнения 2,6%. Цинк среди элементов у БЛРС-позитивных *K. pneumoniae* составил 2,5%, у БЛРС-негативных штаммов, только 0,9%.

Разница в структуре элементного состава клебсиелл с разными биологическими свойствами связана с достоверными различиями в содержании элементов в минерализованных образцах бактериальных клеток. Содержание биогенного фосфора в популяции клебсиелл с БЛРС составило 56,2 мкг/мг, против 28,52 мкг/мг в группе сравнения ( $U=85$ ;  $p=0,32$ ). Общее содержание серы выше у БЛРС-продуцирующих *K. pneumoniae*, оно составило 433,9 мкг/мг, против 103 мкг/мг у клебсиелл, не продуцирующих БЛРС ( $U=48,5$ ;  $p=0,021$ ). Различия регистрировали в отношении кальция у штаммов *K. pneumoniae* продуцирующих БЛРС и без БЛРС, содержание которого 144 и 27,51 мкг/мг соответственно ( $U=34$ ,  $p=0,011$ ). Масса натрия и магния у клебсиелл не отличалась и составила 113,3 мкг/мг и 27,7 мкг/мг ( $U=65,5$ ,  $p=0,052$ ) и 28,11 мкг/мг и 2,28 мкг/мг ( $U=60$ ,

$p=0,052$ ) соответственно.

У штаммов клебсиелл, продуцирующих БЛРС, содержание железа в 10 раз выше, чем у штаммов группы сравнения - 67,56 мкг/мг против 6,79 мкг/мг ( $U=74,5$ ,  $p=0,001$ ). Достоверные различия регистрировали по содержанию цинка, масса которого в популяции клебсиелл с БЛРС составила 19,8 мкг/мг, у штаммов без БЛРС - 1,96 мкг/мг ( $U=67$ ;  $p=0,003$ ).

На основании ранжирования массы химических элементов в убывающем порядке составлены профили популяций клебсиелл по химическому составу, которые отличались ранговым местом железа, вследствие его высокого содержания у БЛРС-продуцирующих штаммов. У БЛРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* элементный профиль -  $S>Ca>Na>Fe>P>Cr>Mg>Al>Zn$ . У БЛРС-отрицательных штаммов *K. pneumoniae* -  $S>Cr>P>Na>Ca>Mg>Al>Fe>Zn$ .

**Обсуждение.** Большая распространенность клебсиеллезных инфекций в медицинской практике [1, 2] диктует необходимость поиска новых подходов в клинической лабораторной диагностике, направленных на дифференциацию патотитов клебсиелл, ускоренное выявление антибиотикорезистентности штаммов, новых возможностей для разработки иммунохроматографических методов обнаружения факторов вирулентности у бактерий. Перспективы раскрывает изучение

химического состава бактерий: жирных кислот, аминокислот, состава сахаров, в том числе и элементного состава бактериальных клеток [23].

Эссенциальные элементы играют огромную роль в жизнедеятельности бактерий, как непатогенных, так и возбудителей инфекционных заболеваний, определяя особенности метаболизма и адаптационные способности бактерий. В последние годы фундаментальные исследования элементного состава микроорганизмов вышли за рамки изучения питательных потребностей с целью разработки питательных сред, иммунобиологических препаратов [24, 25]. Установлена связь между содержанием ионов некоторых металлов с вирулентностью и резистентностью бактерий к АМП. Открываются перспективы использования металлов в составе антисептических и дезинфицирующих средств, для борьбы с биоплёнками [22]. Данное исследование проведено для выявления особенностей элементного состава у *K. pneumoniae*, обладающих различным фенотипом антибиотикорезистентности, что перспективно для разработки экспресс-методов выявления клинически значимых штаммов клебсиелл.

Установлено, что у БЛРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* регистрируется достоверно более высокое содержание химических элементов в клетках, что свидетельствует о высокой активности обменных процессов и высоком адаптационном потенциале бактерий в условиях взаимодействия с организмом. Независимо от фенотипа антибиотикорезистентности у штаммов *K. pneumoniae* в структуре химических элементов доминировала сера, хотя абсолютное содержание серы в стандартизированных образцах бактерий достоверно выше у БЛРС-продуцирующих штаммов ( $p=0,021$ ). По данным ряда авторов, сера у *K. pneumoniae* входит в состав фермента цистеиндисульфгидразы [26]. Этот фермент используется в синтезе пирувата - источника энергии для клебсиелл и, в то же время, образующиеся катаболиты - сульфиды, снижают видовое разнообразие микробного сообщества, то есть фермент используется клебсиеллами, как средство межвидовой борьбы, поэтому содержание серы может указывать на способность штаммов к формированию популяции с высоким количественным уровнем.

У штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих БЛРС, отмечено достоверно высокое содержание кальция ( $p=0,011$ ). Кальций является кофактором фермента протеазы, имеющего патогенетическое значение в возникновении инфекционного процесса. Несмотря на различия в содержании данного химического элемента у разных групп клебсиелл, различия в частоте продукции протеаз между БЛРС-продуцирующими и БЛРС-непродуцирующими штаммами клебсиелл отсутствуют ( $p=0,55$ ). В данном случае можно утверждать об ограничениях исследования, вследствие отсутствия определения количества протеаз, продуцируемых клебсиеллами разных групп для установления связи между содержанием кальция и протеазами. Кальций является основным элементом спор у спорообразующих бактерий, что обуславливает их высокую устойчивость в окружающей среде [27], поэтому более высокое содержание кальция у БЛРС-продуцирующих штаммов косвенно свидетельствует о их высокой способности к выживанию в окружающей среде.

Установлено достоверно высокое содержание железа ( $p=0,001$ ) и цинка ( $p=0,003$ ) у штаммов *K. pneumoniae* с БЛРС. С содержанием этих ионов традиционно связывают жизнедеятельность вирулентных бактерий, поскольку в условиях дефицита железа в организме патогенные бактерии выработали эффективные системы получения этого металла [28]. Железо необходимо бактериям для функционирования дыхательной цепи, для регуляции экспрессии генов патогенности и персистенции [15, 17], цинк является кофактором ДНК-полимеразы [14]. Железо играет важную роль в реализации вирулентности условно-патогенных представителей кишечной микробиоты, к которой относят клебсиелл [29, 30]. *K. pneumoniae* обладают железосодержащим белком IroP, подавляющим активность промотора хромосомных фимбрий 3-го типа (ТЗФ), вследствие чего нарушается активность образования биопленок. При внешних условиях богатых железом повышается продукция ТЗФ и снижается вязкость слизистой капсулы, что приводит к образованию биопленки, защищающей бактерии от АМП (механический способ защиты). И наоборот, дефицит железа приводит к активации железосвязывающих систем бактерий, активному его поглощению, что переключает транскрипцию на выработку гипермукоидных капсул и подавляет образование фимбрий ТЗФ. Такие штаммы являются активными продуцентами БЛРС. В нашем исследовании, действительно, регистрировали более высокую частоту обнаружения гипермукоидных штаммов среди БЛРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* (30% против 5,6%,  $p=0,13$ ), что косвенно подтверждает роль железа в регуляции не только вирулентности, но и антибиотикорезистентности клебсиелл.

**Заключение.** У БЛРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* общее содержание химических элементов в 2 раза выше, чем у штаммов без БЛРС ( $p=0,02$ ), что свидетельствует об особенностях метаболизма и адаптационных механизмов антибиотикорезистентных штаммов. Установлены отличия структуры элементного состава у БЛРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* ( $p=0,01$ ), что связано с высоким содержанием серы ( $p=0,021$ ), кальция ( $p=0,011$ ), железа ( $p=0,001$ ), цинка ( $p=0,003$ ) - химических элементов, являющихся кофакторами ферментов вирулентности и адаптации. Полученные данные представляют ценность для разработки экспресс-методов дифференциации вирулентных, антибиотикорезистентных клинических изолятов *K. pneumoniae*.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Боронина Л.Г., Кочнева Н.А., Саматова Е.В., Асновская А.Г., Устюгова С.С., Панова С.А. и др. Сравнительная характеристика бактериальных патогенов, выделенных от пациентов реанимационных отделений детского стационара. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69(5): 215-21. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-5-215-221.
2. Михайловская В.С., Селиванова П.А., Кузнецова М.В. Распространённость генов *qacEΔ1*, *qacE*, *oqxA*, *oqxV*, *acrA*, *cepA* и *zitB* среди мультирезистентных *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в кардиохирургическом стационаре. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2024; 101 (4): 502-11. DOI: 10.36233/0372-9311-548.
3. Кукалевская Н.Н., Бажукова Т.А., Давидович Н.В., Сабанаев



- M.A., Хомеча В.А. Характер микробиоты толстой кишки у молодых лиц г. Архангельска. *Астраханский медицинский журнал*. 2024; 19 (4): 46-59. DOI: 10.17021/1992-6499-2024-4-46-59.
4. Zhang F., Aschenbrenner D., Youn Y.J., Tao Zuo T. The gut microbiome in health, disease, and clinical applications in association with the gut bacterial microbiome assembly. *The Lancet Microbe*. 2022; 3: 969-83. DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00203-8.
5. Ивушкина Л.В., Миронов А.Ю. Микробиологический мониторинг *Klebsiella pneumoniae* и механизмы их резистентности к антимикробным препаратам у больных туберкулёзом г. Москвы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69(4): 131-41. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-4-131-141.
6. You X., Wang L., Wang H., Xu Y., Chen Y., Xu H., Ji X., Ma X., Xu X. Liver abscess induced by intestinal hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* through down-regulation of tryptophan-IPA-IL22 axis. *iScience*. 2024; 27: 110849-70. DOI: 10.1016/j.isci.2024.110849.
7. Леванова Л.А., Марковская А.А., Отдушкина Л.Ю. Захарова Ю.В. Роль кишечной микробиоты в развитии инфекций мочевыводящих путей у детей. *Фундаментальная и клиническая медицина*. 2021; 6 (2): 24-30. DOI: 10.23946/2500-0764-2021-6-2-24-30.
8. Ju Ch., Li J., Huang F., Fang I.U., Cao Y.A., Zhang K. Clinical characteristics, risk factors and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* pneumonia developing secondary *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection. *BMC Pulmonary Medicine*. 2023; 23 (1): 102-13. DOI: 10.1186/s12890-023-02394-8.
9. Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н., Аксенова Е.И., Садеева З.З., Новикова И.Е. и др. Геномные особенности резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных из кровяного русла и ликвора пациентов детского стационара. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2023; 100 (6): 399-409. DOI: 10.36233/0372-9311-430.
10. Deroche L., Rozenholc A., Arrivé F., Martellosio J., Moal G., Thille A.W., Barraud O., Marchand S., Buyck J. M. Emergence of cefiderocol resistance during therapy in NDM-5-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring siderophore receptors mutations. *International Journal of Infectious Diseases*. 2025; 151: 107321-25. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971224003965>.
11. Агеев В.А., Агеев И.В., Сидоренко С.В. Конвергенция множественной резистентности и гипervирулентности у *Klebsiella pneumoniae*. *Инфекция и иммунитет*. 2022; 12 (3): 450-60. <https://iimmun.ru/iimm/article/view/1825/1510>.
12. Berry S.K., Rust S., Irving L., Bartholdson Scott J., Weinert L.A., Dougan G. et al. Characterization of mAbs against *Klebsiella pneumoniae* type 3 fimbriae isolated in a target-independent phage display campaign. *Microbiology Spectrum*. 2024; 12: 400-24. DOI: 10.1128/spectrum.00400-24.
13. Игнатова Н.И., Александрова Н.А., Заславская М.И., Абрамичева Д.В. Влияние условий культивирования на интенсивность биоплёнокообразования штаммами *Klebsiella pneumoniae*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(8): 512-15. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-8-512-515.
14. Телишевская Л.Я., Ночевный В.Т. Минеральные элементы в жизнедеятельности и метаболизме патогенных бактерий. *Ветеринарная патология*. 2015; 4: 19-28. <https://www.vetpat.ru/jour/article/view/365/293>.
15. Козлов А.В., Лямин А.В., Жестков А.В. Обмен железа в бактериальной клетке: от физиологического значения к новому классу антимикробных препаратов. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2022; 24 (2): 165-70. DOI: 10.36488/стас.2022.2.165-170.
16. Constante M., Frago G., Lupien-Meilleur J., Calve A., Santos M. Iron supplements modulate colon microbiota composition and potentiate the protective effects of probiotics in dextran sodium sulfate-induced colitis. *Inflamm. Bowel Dis*. 2017; 23: 753-66. DOI: 10.1097/mib.0000000000001089.
17. Бухарин О.В. Адаптивные стратегии взаимодействия возбудителя и хозяина при инфекции. *Вестник Российской академии наук*. 2018; 88(7): 637-43. DOI: 10.31857/S086958730000087-3.
18. Орлов Ю.П., Говорова Н.В., Лукач В.Н. Метаболизм железа в условиях инфекции. Обзор литературы. *Вестник интенсивной терапии им. А.И. Салтанова*. 2020; 1: 90-9. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-1-90-99.
19. Chu W.H.W., Tan Y.H., Tan S.Y., Chen Y., Yong M., Lye D.C., Kalimuddin Sh., Archuleta S., Gan Y-H. Acquisition of regulator on virulence plasmid of hypervirulent *Klebsiella* allows bacterial lifestyle switch in response to iron. *mBio*. 2023; 14 (2): 1-24. DOI: 10.1128/mbio.01297-23.
20. Царев В.Н., Подпорин М.С., Царева Т.В., Царева В.В., Козодаев М.Г., Ипполитов Е. В. Антиадгезивное и антимикробное действие покрытия из оксида титана с кристаллической структурой анатаз в экспериментах *in vitro* для имплантируемых медицинских изделий. *Клиническая стоматология*. 2024; 27(3): 6-13. DOI: 10.37988/1811-153X\_2024\_3\_6.
21. Корзун А.О., Плотникова Ю.А., Барышева Е.С., Баранова О.В. Механизмы ингибирования металло-β-лактамаз. *Микроэлементы в медицине*. 2024; 25(3): 59-61. DOI: 10.19112/2413-6174-2024-25-3-26.
22. Фадеева Т.В., Невежина А.В. Новые стратегии лечения инфекций, вызванных биоплёнокопродукующими *Klebsiella pneumoniae*. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024; 9(6): 63-75. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.6.7.
23. Сухих А.С., Захарова Ю.В. Особенности строения липотейховых кислот бифидобактерий по данным ТСХ и ИК-ФТ. *Сорбционные и хроматографические процессы*. 2017; 17 (5): 764-71. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30295801>.
24. Sullivan M.J., Terán I., Goh K.G.K., Ulett G.C. Resisting death by metal: metabolism and Cu/Zn homeostasis in bacteria. *Emerg. Top Life Sci*. 2024; 8 (1): 45-56. DOI: 10.1042/ETLS20230115.
25. Peng W., Xu Y., Yin Y., Xie J., Ma R., Song G. et al. Biological characteristics of manganese transporter MntP in *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere*. 2024; 9: 77-24. DOI: 10.1128/msphere.00377-24.
26. Hicks J.L., Oldham K., McGarvie J., Walker E.J. Combating antimicrobial resistance via the cysteine biosynthesis pathway in bacterial pathogens. *Biosci Rep*. 2022; 42 (10): 1-25. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.107272.
27. Olaonipekun B.A., Buys E.M. The effect of citric acid, heat, and high-pressure on the morphology and physiology of *Bacillus* spores: Simulating high-pressure processing of complementary foods. *LWT*. 2025; 215: 117181-9. DOI: 10.1016/j.lwt.2024.117181.
28. Bakoena A., Hetsa B.A., Asante J., Mbanga J., Amoako D.G., Abia A.L.K. et al. Genomic analysis of virulent, multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* from bloodstream infections, South Africa. *Microbial. Pathogenesis*. 2025; 200: 107272-11. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.107272.
29. Yilmaz B., Li H. Gut microbiota and iron: the crucial actors in health and disease. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2018; 11 (4): 98. DOI: 10.3390/ph11040098.
30. Леонов В.В., Булатов И.А., Миронов А.Ю. Рост и экспрессия факторов вирулентности условно-патогенных микроорганизмов в сыворотке крови при разных вариантах гомеостаза железа. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2016; 61 (8): 498-501. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-8-498-501.

## REFERENCES

1. Boronina L.G., Kochneva N. A., Samatova E.V., Asnovskaya A.G., Ustyugova S.S., Panova S.A. et al. Comparative characteristics of bacterial pathogens isolated from patients in intensive care units of a children's hospital. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2024; 69(5): 215-21. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-5-215-221. (in Russian)
2. Mixaylovskaya V.S., Selivanova P.A., Kuznetszova M.V. Prevalence of qacEΔ1, qacE, oqx A, oqx B, acrA, cepA and zitB genes among multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolated in a cardiac surgery hospital. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2024; 101(4): 502-11. DOI: 10.36233/0372-9311-548. (in Russian)
3. Kukalevskaya N.N., Bazhukova T.A., Davidovich N.V., Sabanaev M.A., Xomecha V.A. The nature of the colon microbiota in young people in Arkhangelsk. *Astraxanskyj meditsinskiy zhurnal*. 2024; 19(4): 46-59. DOI: 10.17021/1992-6499-2024-4-46-59. (in Russian)
4. Zhang F., Aschenbrenner D., Youn Y.J., Tao Zuo T. The gut microbiome in health, disease, and clinical applications in association with the gut bacterial microbiome assembly. *The Lancet Microbe*. 2022; 3: 969-83. DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00203-8.
5. Ivushkina L.V., Mironov A.Yu. Microbiological monitoring of *Klebsiella pneumoniae* and mechanisms of their resistance to antimicrobial



- drugs in patients with tuberculosis in Moscow. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2024; 69(4): 131-41. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-4-131-141. (in Russian)
6. You X., Wang L., Wang H., Xu Y., Chen Y., Xu H., Ji X., Ma X., Xu X. Liver abscess induced by intestinal hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* through down-regulation of tryptophan-IPA-IL22 axis. *iScience*. 2024; 27: 110849-70. DOI: 10.1016/j.isci.2024.110849.
7. Levanova L.A., Markovskaya A.A., Otdushkina L.Yu. Zakharova Yu.V. The role of intestinal microbiota in the development of urinary tract infections in children. *Fundamental'naya i klinicheskaya meditsina*. 2021; 6(2): 24-30. DOI: 10.23946/2500-0764-2021-6-2-24-30. (in Russian)
8. Ju Ch., Li J., Huang F., Fang I.U., Cao Y.A., Zhang K. Clinical characteristics, risk factors and outcomes of *Klebsiella pneumoniae* pneumonia developing secondary *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infection. *BMC Pulmonary Medicine*. 2023; 23(1): 102-13. DOI: 10.1186/s12890-023-02394-8.
9. Voronina O.L., Kunda M.S., Ry'zhova N.N., Aksenova E.I., Sadeeva Z.Z., Novikova I.E. et al. Genomic features of resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates isolated from the bloodstream and cerebrospinal fluid of patients in a children's hospital. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2023; 100 (6): 399-409. DOI: 10.36233/0372-9311-430. (in Russian)
10. Deroche L., Rozenholc A., Arrivé F., Martellosio J., Moal G., Thille A.W., Barraud O., Marchand S., Buyck J.M. Emergence of cefiderocol resistance during therapy in NDM-5-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring siderophore receptors mutations. *International Journal of Infectious Diseases*. 2025; 151: 107321-25. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971224003965>.
11. Ageevets V.A., Ageevets I.V., Sidorenko S.V. Convergence of multiple resistance and hypervirulence in *Klebsiella pneumoniae*. *Infektsiya i immunitet*. 2022; 12 (3): 450-60. <https://iimmun.ru/iimmun/article/view/1825/1510>. (in Russian)
12. Berry S.K., Rust S., Irving L., Bartholdson Scott J., Weinert L.A., Dougan G. et al. Characterization of mAbs against *Klebsiella pneumoniae* type 3 fimbriae isolated in a target-independent phage display campaign. *Microbiology Spectrum*. 2024; 12: 400-24. DOI: 10.1128/spectrum.00400-24.
13. Ignatova N.I., Aleksandrova N.A., Zaslavskaya M.I., Abramychova D.V. The influence of cultivation conditions on the intensity of biofilm formation by *Klebsiella pneumoniae* strains. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2020; 65(8): 512-5. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-8-512-515. (in Russian)
14. Telishevskaya L.Ya., Nochevnyi V.T. Mineral elements in the vital activity and metabolism of pathogenic bacteria. *Veterinarnaya patologiya*. 2015; 4: 19-28. <https://www.vetpat.ru/jour/article/view/365/293>. (in Russian)
15. Kozlov A.V., Lyamin A.V., Zhestkov A.V. Iron metabolism in bacterial cells: from physiological significance to a new class of antimicrobial drugs. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2022; 24(2): 165-70. DOI: 10.36488/cmac.2022.2.165-170. (in Russian)
16. Constante M., Fragoso G., Lupien-Meilleur J., Calve A., Santos M. M. Iron supplements modulate colon microbiota composition and potentiate the protective effects of probiotics in dextran sodium sulfate-induced colitis. *Inflamm. Bowel Dis*. 2017; 23: 753-66. DOI: 10.1097/mib.0000000000001089.
17. Bukharin O.V. Adaptive strategies of interaction between the pathogen and the host during infection. *Vestnik Rossiyskoy akademii nauk*. 2018; 88(7): 637-43. DOI: 10.31857/S086958730000087-3. (in Russian)
18. Orlov Yu.P., Govorova N.V., Lukach V.N. Iron metabolism under infection conditions. Literature review. *Vestnik intensivnoy terapii im. A.I. Saltanova*. 2020; 1:90-9. DOI: 10.21320/1818-474X-2020-1-90-99. (in Russian)
19. Chu W.H.W., Tan Y.H., Tan S.Y., Chen Y., Yong M., Lye D.C., Kalimuddin Sh., Archuleta S., Gan Y-H. Acquisition of regulator on virulence plasmid of hypervirulent *Klebsiella* allows bacterial lifestyle switch in response to iron. *mBio*. 2023; 14 (2): 1-24. DOI: 10.1128/mbio.01297-23.
20. Tsarev V.N., Podporin M.S., Tsareva T.V., Tsareva V.V., Kozodaev M.G., Ippolitov E.V. Anti-adhesive and antimicrobial activity of titanium oxide coating with anatase crystal structure in vitro experiments for implantable medical devices. *Klinicheskaya stomatologiya*. 2024; 27(3): 6-13. DOI: 10.37988/1811-153X\_2024\_3\_6. (in Russian)
21. Korzun A.O., Plotnikova Yu.A., Barysheva E.S., Baranova O.V. Mechanisms of metallo- $\beta$ -lactamase inhibition. *Mikroelementy v meditsine*. 2024; 25(3): 59-61. DOI: 10.19112/2413-6174-2024-25-3-26. (in Russian)
22. Fadeeva T.V., Nevezhina A.V. New strategies for the treatment of infections caused by biofilm-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024; 9(6): 63-75. DOI: 10.29413/ABS.2024-9.6.7. (in Russian)
23. Sukhikh A.S., Zakharova Yu.V. Structural features of lipoteichoic acids of bifidobacteria according to TLC and IR-FT data. *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*. 2017; 17 (5): 764-71. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=30295801>. (in Russian)
24. Sullivan M.J., Terán I., Goh K.G.K., Ulett G.C. Resisting death by metal: metabolism and Cu/Zn homeostasis in bacteria. *Emerg. Top Life Sci*. 2024; 8(1): 45-56. DOI: 10.1042/ETLS20230115.
25. Peng W., Xu Y., Yin Y., Xie J., Ma R., Song G. et al. Biological characteristics of manganese transporter MntP in *Klebsiella pneumoniae*. *mSphere*. 2024; 9: 77-24. DOI: 10.1128/msphere.00377-24.
26. Hicks J.L., Oldham K., McGarvie J., Walker E.J. Combatting antimicrobial resistance via the cysteine biosynthesis pathway in bacterial pathogens. *Biosci. Rep.* 2022; 42(10): 1-25. DOI: 10.1016/j.lwt.2024.117181.
27. Olaonipekun B.A., Buys E.M. The effect of citric acid, heat, and high-pressure on the morphology and physiology of *Bacillus* spores: Simulating high-pressure processing of complementary foods. *LWT*. 2025; 215: 117181-9. DOI: 10.1016/j.lwt.2024.117181.
28. Bakoena A., Hetsa B.A., Asante J., Mbanga J., Amoako D.G., Abia A.L.K. et al. Genomic analysis of virulent, multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* from bloodstream infections, South Africa. *Microbial. Pathogenesis*. 2025; 200: 107272-11. DOI: 10.1016/j.micpath.2024.107272.
29. Yilmaz B., Li H. Gut microbiota and iron: the crucial actors in health and disease. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2018; 11 (4): 98. DOI: 10.3390/ph11040098.
30. Leonov V.V., Bulatov I.A., Mironov A.Yu. Growth and expression of virulence factors of opportunistic microorganisms in blood serum under different variants of iron homeostasis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2016; 61 (8): 498-501. DOI: 10.18821/0869-2084-2016-61-8-498-501. (in Russian)

Орлова В.В., Муминджонов С.А., Ермоленко Е.И.

## ВЛИЯНИЕ ЦИТОСТАТИКОВ НА ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА, ПРОБИОТИЧЕСКИЕ И АУТОПРОБИОТИЧЕСКИЕ БАКТЕРИИ

<https://elibrary.ru/ufzwat>



ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», 197022, Санкт-Петербург, Россия

**Введение.** Онкологические заболевания являются одной из лидирующих причин смертности в мире. При лечении онкопатологии обычно используются цитостатики. Влияние химиопрепаратов на микробиоценоз пациента и на пробиотические штаммы, вводимые с целью коррекции возникающего дисбиоза, в практической медицине обычно не учитывается.

**Цель:** разработка метода оценки влияния цитостатиков на представителей микробиоты, пробиотические и аутопробиотические штаммы бактерий для прогнозирования видовых и количественных изменений в составе микробиоценоза и подбора пробиотиков и аутопробиотиков при химиотерапии онкологических заболеваний. **Материал и методы.** В работе использованы штаммы из американской коллекции типовых культур (ATCC), пробиотические и аутопробиотические лактобациллы, энтерококки, эшерихии, клинические изоляты энтеробактерий. Определение чувствительности к различным концентрациям цитостатиков (фторурацил, оксалиплатин) проводили капельным и турбидиметрическими методами с использованием плотных и жидких питательных сред (Мюллера-Хинтона и МРС), соответственно. **Результаты.** Капельный метод оказался малоинформативным. При помощи турбидиметрического метода определены минимальные ингибирующие концентрации (МИК) для фторурацила и оксалиплатина. Путем введения дополнительных критериев удалось разделить исследованные бактериальные штаммы на чувствительные, обладающие промежуточной чувствительностью и устойчивые к цитостатикам. Выявлены высокая устойчивость энтеробактерий к действию использованных цитостатиков и наличие к ним штаммоспецифической устойчивости пробиотических и аутопробиотических лактобацилл и энтерококков.

**Заключение.** Предложенный вариант применения турбидиметрического метода с использованием ATCC штаммов эшерихий, энтерококков, лактобацилл, стафилококков для стандартизации метода, может быть рекомендован для практического использования при подборе пробиотиков и аутопробиотиков, прогнозирования изменений микробиоценоза с учетом селективного преимущества устойчивых к цитостатикам представителей микробиоты.

**Ключевые слова:** фторурацил; оксалиплатин; пробиотики; аутопробиотики

**Для цитирования:** Орлова В.В., Муминджонов С.А., Ермоленко Е.И. Влияние цитостатиков на представителей микробиоты кишечника, пробиотические и аутопробиотические бактерии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (8): 543-550  
DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-543-550>  
EDN: UFZWAT

**Для корреспонденции:** Ермоленко Елена Игоревна, д-р мед. наук, зав. лабораторией биомедицинской микрoэкологии; e-mail: [ermolenko1@yandex.ru](mailto:ermolenko1@yandex.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа профинансирована из средств Государственного задания, регистрационный № 1022041101032-1-1.6.2, шифр научной темы FGWG-2025-0010.

Поступила	12.04.2025
Принята к печати	17.07.2025
Опубликовано	25.07.2025

Orlova V.V., Muminjonov S.A., Ermolenko E.I.

## THE INFLUENCE OF CYTOSTATICS ON GUT MICROBIOTA REPRESENTATIVES, PROBIOTIC AND AUTOPROBIOTIC BACTERIA

Federal State Budgetary Scientific Institution «Institute of Experimental Medicine», St. Petersburg, Russia

**Introduction.** Oncological diseases are one of the leading causes of mortality all over the world. Cytostatics are usually used for the treatment of oncopathology. However, the effect of chemotherapy on the patient's microbiocenosis is usually not taken into account in medical practice, as well as its effect on probiotic strains, introduced for correction of occurring dysbiosis.

**The aim.** The aim was to develop the method of assessing the influence of cytostatics on gut microbiota representatives, probiotic and autoprobiotic strains of bacteria for predicting qualitative and quantitative changes in the composition of microbiocenosis and the selection of probiotics and autoprobiotics in the chemotherapy of oncological diseases.

**Material and methods.** The American Type Culture Collection (ATCC) strains, probiotic and autoprobiotic lactobacilli, enterococci and escherichia, as well as clinical isolates of enterobacteria were tested in the study. Sensitivity to various concentrations of cytostatics (5-fluorouracil and oxaliplatin) was carried out by drip and turbidimetric methods using solid and liquid nutrient media (Mueller-Hinton and MRS), respectively.

**Results.** The drip method turned out to be uninformative. Minimal inhibitory concentration (MIC) for 5-fluorouracil and oxaliplatin were determined using the turbidimetric method. By introducing additional criteria, we divided the studied bacterial strains into sensitive, intermediately sensitive and resistant to cytostatics. The greater resistance of enterobacteria to both of used cytostatics and presence of strain-specific resistance of probiotic and autoprobiotic lactobacilli and enterococci were revealed.

**Conclusion.** The proposed version of the turbidimetric method can be recommended for practical use when selecting probiotics and autoprobiotics as well as for predicting changes in patient's microbiota, considering the selective advantage of cytostatic-resistant microbiota representatives. Using the ATCC strains of bacteria allows to standardize the method.

**Key words:** fluorouracil; oxaliplatin; probiotics; autoprobiotics

**For citation:** Orlova V.V., Muminzhonov S.A., Ermolenko E.I. Effect of cytostatics on representatives of intestinal microbiota, probiotic and autoprobiotic bacteria. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025;

70(8): 543-550 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-543-550>

EDN: UFZWAT

**For correspondence:** Ermolenko E.I., M.D., head of the laboratory of biomedical microecology; e-mail: [lermolenko1@yandex.ru](mailto:lermolenko1@yandex.ru)

**Information about authors:**

Orlova V.V., <https://orcid.org/0000-0003-2152-1019>;

Muminjonov S.A., <https://orcid.org/0000-0003-4167-6747>;

Ermolenko E.I., <https://orcid.org/0000-0002-2569-6660>.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Funding.** The work was funded by the State Assignment, registration № 1022041101032-1-1.6.2, scientific topic code FGWG-2025-0010.

Received 12.04.2025

Accepted 17.07.2025

Published 00.08.2025

**Введение.** Онкологические заболевания являются одной из лидирующих причин смертности в мире. По данным ВОЗ за 2022 год, количество выявленных случаев и смертей от рака составило 20 и 9,7 млн человек, соответственно [1]. В процессе лечения онкологических заболеваний врачи прибегают к оперативному вмешательству, радиотерапии, иммунотерапии, использованию цитостатиков. Все эти методы лечения вместе, и изолированное использование химиопрепаратов, вызывают развитие у пациентов ряда побочных эффектов, сказывающихся на их состоянии и качестве жизни. Большое количество побочных эффектов связано с тем, что, помимо опухолевых клеток, цитостатики влияют на микробиоту пациентов и усугубляют дисбиоз, который, как правило, сопутствует развитию онкологического процесса [2-8].

Химиопрепараты подразделяются на несколько групп, в зависимости от механизма действия и строения действующего вещества: алкилирующие цитостатики, антиметаболиты, противоопухолевые антибиотики, препараты растительного происхождения [9]. Большинство этих препаратов обладает антимикробной активностью. Влияние цитостатиков на представителей микробиоты кишечника анализируется в системах *in vitro* и *in vivo*. Имеется информация о различных спектрах их антимикробного действия.

В исследовании *in vitro* в 1984 году определена антимикробная активность нескольких химиопрепаратов, включая фторурацил, митомидин-С, доксорубин, метотрексат. Цитостатики, относящиеся к группе антиметаболитов, в частности, фторурацил и метотрексат, обладают более выраженной активностью в отношении грамположительных бактерий, по сравнению с грамотрицательными микроорганизмами и грибами [10]. В 1985 году изучена антибактериальная активность 12 химиопрепаратов в отношении 101 изолята аэробных и анаэробных микроорганизмов, входящих в состав микробиоты человека. Минимальные ингибирующие концентрации определяли методом двукратных серийных разведений в агаре. Только три цитостатика, фторурацил, митомидин, этопозид, обладали антимикробной активностью в отношении 50% (и более) тестируемых штаммов бактерий [11].

Наибольшее количество исследований *in vivo* посвящено противомикробному действию фторурацила, введение которого часто приводит к развитию кишечного мукозита [12]. В опытах на мышах, получавших

фторурацил, у животных развивался дисбиоз кишечника: увеличивались популяции *Staphylococcus* spp. и *Clostridium* spp., снижалась представленность бактерий и лактобацилл [13]. В результате использования фторурацила у лабораторных животных увеличивалось процентное содержание представителей семейства *Enterobacteriaceae* [14, 15].

Преимущественно на примере колоректального рака (КРР) описано влияние кишечной микробиоты на противоопухолевую активность химиопрепаратов при терапии различных онкологических заболеваний [16]. КРР является одной из наиболее распространенных онкопатологий, требующих использования комплексной терапии, в том числе, назначения нескольких цитостатиков, чаще всего фторурацила и оксалиплатина.

Для предотвращения развития дисбиоза и его коррекции, развития мукозита и других осложнений после химиотерапии рекомендовано назначение пробиотиков. Их положительная роль доказана как на лабораторных животных, так и в клинических исследованиях [17-21].

Используемые пробиотики не всегда эффективны для борьбы с последствиями химиотерапии, что может быть объяснено подавлением роста некоторых пробиотических культур цитостатиками. Чувствительность к химиопрепаратам различных штаммов даже внутри одного вида микроорганизма может значительно различаться [22-26].

Целесообразно оценивать не только влияние используемых цитостатиков на состав микробиоты, но и устойчивость к ним пробиотических штаммов, вводимых для нивелирования побочных эффектов химиотерапии [11].

В настоящее время отсутствуют стандартизованные методы определения чувствительности штаммов микроорганизмов к химиопрепаратам. Использование подходов для определения чувствительности бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом и определения их МИК в жидкой среде турбидиметрическим методом могут служить основой для разработки методов определения чувствительности микроорганизмов к цитостатикам.

**Цель исследования:** разработка метода оценки влияния цитостатиков на представителей микробиоты, пробиотические и аутопробиотические штаммы бактерий для дальнейшего подбора пробиотиков и прогнозирования видовых и количественных изменений в



составе кишечного микробиоценоза.

**Материал и методы.** Для исследования выбраны два химиопрепарата, наиболее часто применяемые при терапии колоректального рака: фторурацил-ЛЭНС (Veropharm, Россия) и оксалиплатин медак (Медак ГмбХ, Германия).

Исследована антимикробная активность цитостатиков в отношении следующих штаммов пробиотических бактерий: *Enterococcus faecium* L3 (Ламинолакт ООО «Авена», Россия), *E. faecium* ENCfa-68 (Бифиформ, «GlaxoSmithKline», Италия), *Lactiplantibacillus plantarum* 8R-A3 (Лактобактерин, НПО «Микроген», Россия), *Lactocaseibacillus rhamnosus* ATCC 53103 (LGG®, Адипол Форте, «Отисифарм», Россия), *Lactobacillus delbrueckii* 7 (кисломолочный продукт, Таджикистан), *Escherichia coli* M17 (Колибактерин, НПО «Микроген», Россия).

Использованы аутопробиотические штаммы (*L. rhamnosus* A1, *L. rhamnosus* A2, *L. plantarum* A10, *L. plantarum* A11, *E. faecium* P15, *E. faecium* S35); клинические изоляты представителей семейства *Enterobacteriaceae*, выделенные из кишечника больных с КРР (*Klebsiella pneumoniae* V1, *Klebsiella oxytoca* 5, *Escherichia coli* MV, *Citrobacter farmer* 5, *Proteus mirabilis* V2, *Enterobacter cloacae* V2); референс-штаммы коллекции ATCC (*E. coli* 25922, *E. faecalis* 29212, *Staphylococcus aureus* 6538).

Штаммы бактерий хранились при температуре -80°С в криопробирках с бусинами (Deltalab, Испания). Для выращивания энтерококков и лактобацилл использован МРС-агар (Condalab, Испания), для *S. aureus* и представителей семейства *Enterobacteriaceae* - LB-агар (Condalab, Испания). Полученная биомасса бактерий разводилась в фосфатном буфере (pH 7,4) до концен-

трации 8 lg КОЕ/мл с использованием стандарта мутности МакФарланда 0,5. В экспериментах использована суспензия бактерий, дополнительно разведенная в 100 раз (6 lg КОЕ/мл).

Для оценки антибактериального действия химиопрепаратов использован капельный и турбидиметрический методы исследования.

Оценка противомикробной активности цитостатиков капельным методом проведена на плотных питательных средах: агар Мюллера-Хинтона (HiMedia, Индия) для *S. aureus* и представителей семейства *Enterobacteriaceae* и MRS-агар для энтерококков и лактобацилл. *S. aureus*, энтеробактерии, энтерококки культивировали в аэробных условиях при температуре 37 °С в течение 24 часов. Лактобациллы культивировали с использованием газогенерирующих пакетов GasPak (BD Biosciences, США) при температуре 37 °С в течение 48 часов. Суспензию бактерий наносили на соответствующую плотную питательную среду в объеме 100 мкл и растирали по поверхности агара шпателем для получения роста газомом. Предварительно приготовлены десятикратные разведения химиопрепаратов (500-0,5 мкг/мл). Каждое разведение указанных цитостатиков нанесено капельно на поверхность только что засеянного бактериального газона в объеме 5 мкл. Результаты анализировали после окончания сроков инкубации. МИК определяли, принимая во внимание зоны задержки роста более 10 мм.

Изучение антибактериальной активности цитостатиков проводили турбидиметрическим методом, модифицированным ранее [27]. Схема внесения реагентов и образцов в 96-луночный плоскодонный планшет представлена на рис. 1.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK
B	OK	Ф-500	Ф-50	Ф-5	Ф-0,5	ПК1	О-500	О-50	О-5	О-0,5	ПК1	OK
C	OK	Ф-500	Ф-50	Ф-5	Ф-0,5	ПК2	О-500	О-50	О-5	О-0,5	ПК2	OK
D	OK	Ф-500	Ф-50	Ф-5	Ф-0,5	ПК3	О-500	О-50	О-5	О-0,5	ПК3	OK
E	OK	Ф-500	Ф-50	Ф-5	Ф-0,5	ПК4	О-500	О-50	О-5	О-0,5	ПК4	OK
F	OK	Ф-500	Ф-50	Ф-5	Ф-0,5	ПК5	О-500	О-50	О-5	О-0,5	ПК5	OK
G	OK	Ф-500	Ф-50	Ф-5	Ф-0,5	ПК6	О-500	О-50	О-5	О-0,5	ПК6	OK
H	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK	OK

Рис. 1. Схема внесения компонентов в 96-луночный плоскодонный планшет для исследования антибактериальной активности цитостатиков турбидиметрическим методом. ОК - отрицательный контроль (питательная среда без добавления цитостатиков и культур). ПК - положительный контроль (питательная среда без цитостатиков с внесенными микробными культурами; порядковые номера культур - 1-6 (ПК1, ПК2, ПК3, ПК4, ПК5, ПК6)). Ф - фторурацил, О - оксалиплатин. 500, 50, 5, 0,5 - концентрация цитостатика в мкг/мл.

В лунки плоскодонного 96-луночного планшета вносили 180 мкл жидкой питательной среды: МРС-бульона (Condalab, Испания) для тестирования энтерококков и лактобацилл или бульона Мюллера-Хинтона (HiMedia, Индия) - для *S. aureus* и энтеробактерий. В лунки с В по G рядов 2 и 7 вносили 20 мкл соответствующего цитостатика в концентрации 5000 мкг/мл, получая разведение химиопрепарата в десять раз (500 мкг/мл). Готовили серийные десятикратные разведения тестируемых цитостатиков (50 мкг/мл, 5 мкг/мл и 0,5 мкг/мл) в последующих лунках (с 3 по 5 и с 8 по 10). В результате данных манипуляций в лунках рядов 5 и 10 (с В по G) оказывалось 200 мкл максимального

разведения. Для выравнивания объема содержимого из каждой лунки максимального разведения (с В по G) рядов 5 и 10 удалено 20 мкл. Все лунки планшета содержали суммарный объем компонентов, равный 180 мкл. После приготовления разведений во все лунки, за исключением ОК, вносили 9 мкл суспензий культур микроорганизмов (6 lg КОЕ/мл). Каждая отдельно взятая тестируемая культура вносилась в предназначенный для нее «буквенный» ряд. Планшеты инкубировали в аэробных условиях при температуре 37 °С в течение 24 часов. При использовании турбидиметрического метода наличие роста бактерий устанавливали с помощью спектрофотометра с длиной волны 630 нм. Чувстви-



тельной к химиопрепарату считали культуру бактерий, которая после окончания культивирования не изменяла оптическую плотность среды более, чем на 10%, по сравнению с исходной.

**Результаты.** Определение чувствительности к цистостатикам проводили двумя методами, чтобы выбрать оптимальные условия тестирования, отличающиеся простотой проведения эксперимента и информативностью.

**Капельный метод.** При оценке результатов и опре-

делении МИК капельным методом принималось во внимание лишь наличие зоны задержки роста более 10 мм. При тестировании всех исследуемых культур бактерий МИК оксалиплатина установить не удалось, поскольку она была более 5000 мкг/мл и требовала дополнительных повышенных концентраций официального препарата. Обобщенные результаты использования капельного метода при исследовании активности фторурацила и оксалиплатина приведены в табл. 1.

Таблица 1

МИК фторурацила и оксалиплатина при исследовании их антимикробной активности капельным методом

Штаммы бактерий	МИК (мкг/мл)	
	Фторурацил	Оксалиплатин
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> 8R-A3	500	>5000
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> A1	5000	>5000
<i>L. rhamnosus</i> A2	5000	>5000
<i>Enterococcus faecium</i> L3	5000	>5000
<i>E. faecium</i> P15	500	>5000
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	50	>5000
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	50	>5000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>5000	>5000
<i>E. coli</i> M	>5000	>5000
<i>E. coli</i> M 17	>5000	>5000
<i>Klebsiella pneumoniae</i> V1	>5000	>5000
<i>K. oxytoca</i> 5	>5000	>5000
<i>Enterobacter cloacae</i> V2	>5000	>5000
<i>Proteus mirabilis</i> V2	>5000	>5000
<i>Citrobacter farmeri</i> 5	>5000	>5000

Примечание. Подчеркнуты пробиотические штаммы.

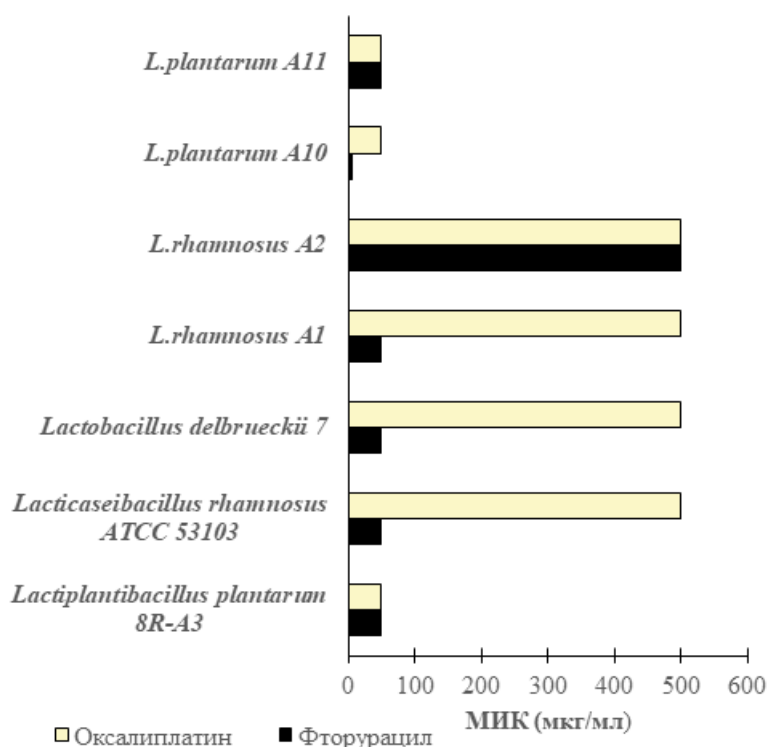


Рис. 2. МИК фторурацила и оксалиплатина в отношении лактобацилл (турбидиметрический метод).

В использованных концентрациях фторурацил действовал на все бактерии, кроме штаммов, принадлежащих к семейству *Enterobacteriaceae*. Наиболее чувствительными к действию фторурацила оказались *S. aureus* ATCC 6538 и *E. faecalis* ATCC 29212, для них МИК препарата составила 50 мкг/мл. Промежуточной чувствительностью к фторурацилу обладали пробиотический штамм *L. plantarum* 8R-A3 и аутопробиотический штамм *E. faecium* P15 с МИК 500 мкг/мл. Наиболее

устойчивыми к действию фторурацила оказались энтеробактерии, аутопробиотические штаммы лактобацилл и пробиотический штамм *E. faecium* L3, их МИК составила 5000 мкг/мл и более.

**Турбидиметрический метод** оказался более чувствительным и позволил охарактеризовать спектр антибактериальной активности фторурацила и оксалиплатина. Результаты использования турбидиметрического метода представлены на рис. 2, 3, 4.

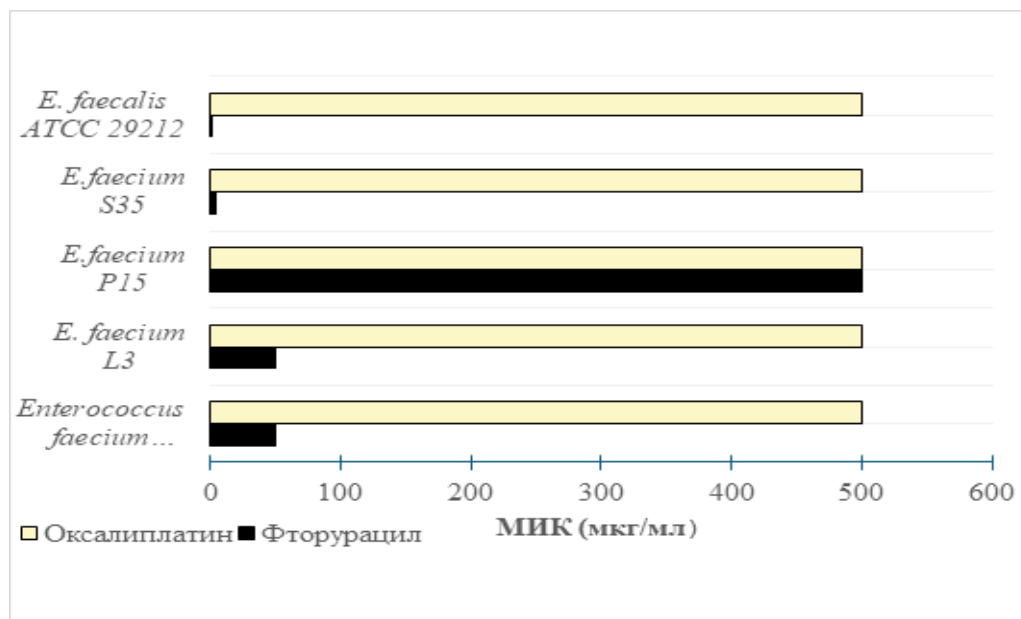


Рис. 3. МИК фторурацила и оксалиплатина в отношении энтерококков (турбидиметрический метод).

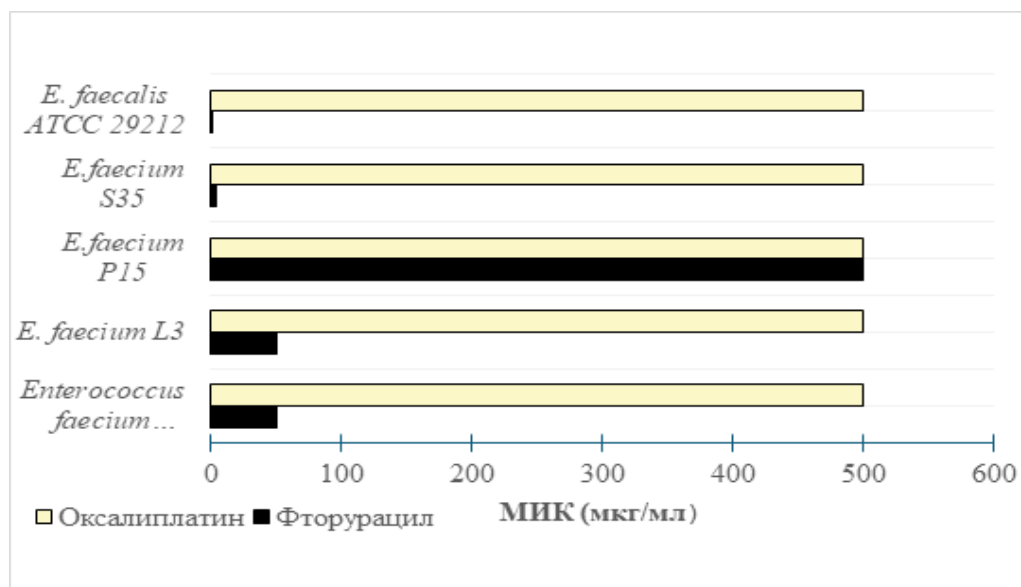


Рис. 4. МИК фторурацила и оксалиплатина в отношении стафилококков и энтеробактерий (турбидиметрический метод).

Выявлены штаммовые различия в устойчивости к химиопрепаратам. Все исследованные культуры микроорганизмов имели промежуточную чувствительность, либо устойчивы к действию оксалиплатина (МИК 50 мкг/мл -  $\geq 500$  мкг/мл). Энтеробактерии ока-

зались более устойчивы к действию фторурацила (МИК  $\geq 500$  мкг/мл), по сравнению с лактобациллами, энтерококками и стафилококками (МИК от 0,5 мкг/мл до 50 мкг/мл). Среди аутопробиотических энтерококков и лактобацилл выявлены штаммы, обладающие большей

устойчивостью к действию цитостатиков (*L. rhamnosus* A2, *E. faecium* P15). Определено, что пробиотический штамм *E. coli* M17 обладает большей устойчивостью к фторурацилу, по сравнению с другими тестируемыми штаммами эшерихий.

Существенные различия в значениях МИК позво-

ли разделить исследованные штаммы на группы S (sensitive) - МИК 0,5-5 мкг/мл, I (intermediate) - МИК 50 мкг/мл, R (resistant) - МИК 500 мкг/мл и более. Окончательные результаты условного разделения на группы по чувствительности к цитостатикам, определенные турбидиметрическим методом, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Характеристика исследованных бактериальных штаммов по чувствительности к цитостатикам

Штаммы бактерий	Химиопрепараты	
	Фторурацил	Оксалиплатин
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> 8R-A3	I	I
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> ATCC 53103	I	I
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> 7	I	R
<i>L. rhamnosus</i> A1	I	R
<i>L. rhamnosus</i> A2	R	R
<i>L. plantarum</i> A10	S	I
<i>L. plantarum</i> A11	I	I
<i>Enterococcus faecium</i> L3	I	R
<i>E. faecium</i> P15	R	R
<i>E. faecium</i> S35	S	R
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	S	R
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	S	R
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	I	R
<i>E. coli</i> M17	R	R
<i>E. coli</i> MV	I	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> V1	R	R
<i>K. oxytoca</i> 5	R	R
<i>Enterobacter cloacae</i> V2	R	R
<i>Proteus mirabilis</i> V2	R	R
<i>Citrobacter farmeri</i> 5	R	R

Примечание. S - 0,5-5 мкг/мл; I - 50 мкг/мл; R - 500 и более мкг/мл, подчеркнуты пробиотические штаммы.

Выявлены существенные штаммовые различия в устойчивости к химиопрепаратам. Все исследованные культуры микроорганизмов устойчивые, либо имеют промежуточную чувствительность к действию оксалиплатина в использованных концентрациях (МИК 50 мкг/мл -  $\geq$  500 мкг/мл). Энтеробактерии оказались более устойчивы к действию фторурацила (МИК  $\geq$  500 мкг/мл), по сравнению с лактобациллами, энтерококками, стафилококками (МИК от 0,5 мкг/мл до 50 мкг/мл). Среди аутопробиотических энтерококков и лактобацилл выявлены штаммы, обладающие большей устойчивостью к действию цитостатиков (*L. rhamnosus* A2 и *E. faecium* P15). Определено, что пробиотический штамм *E. coli* M17 обладает большей устойчивостью к фторурацилу, по сравнению с другими тестируемыми штаммами эшерихий.

**Обсуждение.** До сих пор антимикробный эффект цитостатиков, их влияние на микробиоценоз и жизнеспособность вводимых пробиотических микроорганизмов не принимались во внимание в практической медицине. Не ставилась задача разработать метод прогнозирования особенностей дисбиозов при химиотерапии и подбора пробиотиков, устойчивых к цитостатикам. В случае использования аутопробиотиков при терапии онкологических заболеваний [28, 29] открыва-

ется возможность выбора штамма индигенного непатогенного микроорганизма, устойчивого к используемому цитостатику. Ранее такой подход для поиска кандидатов для создания новых эффективных пробиотиков уже использован. Среди аутопробиотических лактобацилл отобраны штаммы, обладающие высокой адгезионной способностью и антагонистической активностью по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* [30].

В представленной работе на примере двух химиопрепаратов (фторурацила и оксалиплатина), наиболее часто используемых для терапии КРР исследована чувствительность клинических изолятов условно-патогенных бактерий, выделенных из фекалий при данной патологии, пробиотических и аутопробиотических штаммов. С использованием перечисленных штаммов и бактериальных референс-культур впервые проведено сравнение двух методов: капельного и турбидиметрического.

Капельный метод исследования противомикробной активности цитостатиков в отношении культур микроорганизмов оказался менее чувствительным по сравнению с турбидиметрическим методом. Он не позволил определить МИК к одному из тестируемых препаратов (оксалиплатин) в доступной для исследования концентрации, достигаемой в организме пациента. Капель-

ный метод позволил определить МИК фторурацила для меньшего количества штаммов микроорганизмов, а основное исследование проведено с помощью турбидиметрического метода. Принципиально важно подобрать рабочие концентрации, позволяющие выявить штаммовые особенности, на которые указывали ранее и другие авторы [11]. При анализе чувствительности к фторурацилу и оксалиплатину при помощи предлагаемого варианта использования турбидиметрического метода определена МИК для всех культур.

В результате лечения фторурацилом и оксалиплатином следует ожидать увеличения популяции условно-патогенных бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, отмеченное ранее в литературе [10, 14, 15] и угнетения роста *Enterococcus* spp. и представителей семейства *Lactobacillaceae*, что делает более актуальным назначение пробиотических и аутопробиотических энтерококков и лактобацилл, *E. coli* M17 в ходе химиотерапии. Доказана необходимость учитывать наличие штаммоспецифической устойчивости к химиопрепаратам бактерий, входящих в состав пробиотиков и аутопробиотиков, с целью выбора наиболее устойчивых. Этот метод, безусловно, может быть использован при исследовании других видов бактерий и микробных консорциумов с расширением перечня тестируемых цитостатиков и их комбинаций.

**Заключение.** Турбидиметрический метод может быть рекомендован для подбора пробиотиков и аутопробиотиков, для прогнозирования влияния цитостатиков на условно-патогенные бактерии и резидентных представителей микробиоты, что позволит повысить эффективность персонализированной комплексной терапии онкологических заболеваний с использованием цитостатиков и пробиотических или аутопробиотических средств.

#### ЛИТЕРАТУРА (П.П. 1-4, 6-8, 10-21, 23-25, 28 СМ. REFERENCES)

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L., Laversanne M., Soerjomataram I., Jemal A., Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021; 71(3): 209-49. DOI: 10.3322/caac.21660.
2. Abhyankar D, McKee KT Jr, Vukojevic P. Gut microbiota and response to immunotherapeutic drugs in oncology: more questions than answers. *Clin. Med. Insights Oncol.* 2020; 14: 1179554920933868. DOI: 10.1177/1179554920933868.
3. Kim J., Lee H.K. Potential role of the gut microbiome in colorectal cancer progression. *Front. Immunol.* 2022; 12: 807648. DOI: 10.3389/fimmu.2021.807648.
4. Cammarota G., Ianiro G. Gut microbiota and cancer patients: a broad-ranging relationship. *Mayo Clin. Proc.* 2017; 92(11): 1605-7. DOI: 10.1016/j.mayocp.2017.09.009.
5. Luft V.M., Luft A.V. Nutritional support for cancer patients: opportunities and contradictions. *Annaly intensivnoy terapii.* 2008; 2: 43-50. (in Russian)
6. Zhao Y., Liu Y., Li S., Peng Z., Liu X., Chen J., Zheng X. Role of lung and gut microbiota on lung cancer pathogenesis. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2021; 147(8): 2177-86. DOI: 10.1007/s00432-021-03644-0.
7. Matsukawa H., Iida N., Kitamura K., Terashima T., Seishima J., Makino I. et al. Dysbiotic gut microbiota in pancreatic cancer patients form correlation networks with the oral microbiota and prognostic factors. *Am. J. Cancer Res.* 2021; 11(6): 3163-75. PMID: 34249452; PMCID: PMC8263681.
8. Tesolato S., Ortega-Hernández A., Gómez-Garre D., Claver P., De Juan C., De la Serna S. et al. Gut microbiota profiles in feces and paired tumor and non-tumor tissues from colorectal cancer patients. Relationship to the body mass index. *PLoS One.* 2023 Oct 5; 18(10): e0292551. DOI: 10.1371/journal.pone.0292551.
9. Ermachenkova K.Yu., Simakova E.K. The structure of the cytostatic drugs group (classification). *Innovatsii v nauke I praktike.* Collection of scientific articles based on the materials of the XII International Scientific and Practical Conference. 2023; 3: 14-20. (in Russian)
10. Hamilton-Miller J.M. Antimicrobial activity of 21 anti-neoplastic agents. *Br. J. Cancer.* 1984; 49(3): 367-9. DOI: 10.1038/bjc.1984.58.
11. Bodet C.A. 3<sup>rd</sup>, Jorgensen J.H., Drutz D.J. Antibacterial activities of antineoplastic agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1985; 28(3): 437-9. DOI: 10.1128/AAC.28.3.437.
12. Li H.L., Lu L., Wang X.S., Qin L.Y., Wang P., Qiu S.P. et al. Alteration of gut microbiota and inflammatory cytokine/chemokine profiles in 5-fluorouracil induced intestinal mucositis. *Front. Cell Infect. Microbiol.* 2017; 7: 455. DOI: 10.3389/fcimb.2017.00455.
13. Stringer A.M., Gibson R.J., Logan R.M., Bowen J.M., Yeoh A.S., Hamilton J., Keefe D.M. Gastrointestinal microflora and mucins may play a critical role in the development of 5-Fluorouracil-induced gastrointestinal mucositis. *Exp. Biol. Med. (Maywood).* 2009; 234 (4): 430-41. DOI: 10.3181/0810-RM-301.
14. Stringer A.M., Gibson R.J., Bowen J.M., Logan R.M., Ashton K., Yeoh A.S. et al. Irinotecan-induced mucositis manifesting as diarrhoea corresponds with an amended intestinal flora and mucin profile. *Int. J. Exp. Pathol.* 2009; 90(5): 489-99. DOI: 10.1111/j.1365-2613.2009.00671.x.
15. Takemura N., Kawasaki T., Kunisawa J., Sato S., Lamichhane A., Kobiyama K. et al. Blockade of TLR3 protects mice from lethal radiation-induced gastrointestinal syndrome. *Nat. Commun.* 2014; 18 (5): 3492. DOI: 10.1038/ncomms3492.
16. Yin B., Wang X., Yuan F., Li Y., Lu P. Research progress on the effect of gut and tumor microbiota on antitumor efficacy and adverse effects of chemotherapy drugs. *Front. Microbiol.* 2022; 23 (13): 899111. DOI: 10.3389/fmicb.2022.899111.
17. Górski A., Przystupski D., Niemczura M.J., Kulbacka J. Probiotic bacteria: a promising tool in cancer prevention and therapy. *Curr. Microbiol.* 2019; 76(8): 939-49. DOI: 10.1007/s00284-019-01679-8.
18. Quaresma M., Damasceno S., Monteiro C., Lima F., Mendes T., Lima M. et al. Probiotic mixture containing *Lactobacillus* spp. and *Bifidobacterium* spp. attenuates 5-fluorouracil-induced intestinal mucositis in mice. *Nutr. Cancer.* 2020; 72(8): 1355-65. DOI: 10.1080/01635581.2019.1675719.
19. Yeung C.Y., Chan W.T., Jiang C.B., Cheng M.L., Liu C.Y., Chang 2023; 68 (8): 480-8. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-8-480-488.

#### REFERENCES



- S.W. et al. Amelioration of chemotherapy-induced intestinal mucositis by orally administered probiotics in a mouse model. *PLoS One*. 2015; 10(10): e0141402. DOI: 10.1371/journal.pone.0141402.
20. Tooley K.L., Howarth G.S., Lymn K.A., Lawrence A., Butler R.N. Oral ingestion of streptococcus thermophilus diminishes severity of small intestinal mucositis in methotrexate treated rats. *Cancer Biol. Ther.* 2006; 5(6): 593-600. DOI: 10.4161/cbt.5.6.2659.
21. Osterlund P., Ruotsalainen T., Korpela R., Saxelin M., Ollus A., Valta P. et al. Lactobacillus supplementation for diarrhoea related to chemotherapy of colorectal cancer: a randomised study. *Br. J. Cancer*. 2007; 97(8): 1028-34. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603990.
22. Serzhantov I.A., Zhirkova A.G., Shapoval O.G. Sensitivity of probiotic strains of lactobacilli to doxorubicin. *Mezhdunarodnyi zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya*. 2016; 10(2): 261-2. (in Russian)
23. Typlins' ka K.V., Sovetova O.V., Gorchakov V.Y. The adaptation of disk method for express evaluation of resistance to cytostatics. *Naukovi visti NTUU-KPI*. 2009; 1 (4): 118.
24. Hamilton-Miller J.M. Antimicrobial activity of 21 anti-neoplastic agents. *Br. J. Cancer*. 1984; 49(3): 367-9. DOI: 10.1038/bjc.1984.58.
25. Peiris V., Oppenheim B.A. Antimicrobial activity of cytotoxic drugs may influence isolation of bacteria and fungi from blood cultures. *J. Clin. Pathol.* 1993; 46(12): 1124-5. DOI: 10.1136/jcp.46.12.1124.
26. Orlova V.V., Ermolenko E.I., Kovalev S.A., Suvorov A.N. Influence of cytostatics on probiotic, autoprobiotic and reference strains of bacteria. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2023; 25(S1): 44. (in Russian)
27. Orlova V.V., Kovalisa S.A., Novikova N.S., Ilyin S., Baryshnikova N.V. Ermolenko E.I. et al. A method for selecting probiotic and autoprobiotic strains of microorganisms for resistance to cytostatics in the treatment of colorectal cancer. Patent RF RU2835581; 2025. (in Russian)
28. Ermolenko E., Baryshnikova N., Alekhina G., Zakharenko A., Ten O., Kashchenko V. et al. Autoprobiotics in the treatment of patients with colorectal cancer in the early postoperative period. *Microorganisms*. 2024; 13; 12(5): 980. DOI: 10.3390/microorganisms12050980.
29. Ermolenko E.I., Alyokhina G.G., Kashchenko V.A., Zakharenko A.A., Ten O.A., Morozova A.S. et al. Intestinal microbiota in combined treatment of colorectal cancer using autoprobiotics. *Eksperimental'naya i klinicheskaya gastroenterologiya*. 2023; 10: 63-76. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-218-10-63-76. (in Russian)
30. Khakimova L.R., Potapova S.M., Akhmetova L.R., Gimranova I.A. Study of biological properties of *Lactobacillus* spp. to create probiotics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika*. 2023; 68 (8): 480-8. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-8-480-488. (in Russian)

## ИССЛЕДОВАНИЯ ПО МЕСТУ ЛЕЧЕНИЯ



<https://elibrary.ru/tdfcie>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Гальвидис И.А.<sup>1</sup>, Суровой Ю.А.<sup>2</sup>, Алимов А.И.<sup>1,3</sup>, Царенко С.В.<sup>3</sup>, Соболев П.Д.<sup>4</sup>,  
Шарипов В.Р.<sup>4</sup>, Буркин М.А.<sup>1</sup>

### ИММУНОФЕРМЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ НАГРУЗОЧНОЙ ДОЗЫ ТИГЕЦИКЛИНА У ПАЦИЕНТОВ С СЕПСИСОМ

<sup>1</sup> ФГБНУ «Научно-исследовательский институт вакцин и сывороток имени И.И. Мечникова», 105064, Москва, Россия;

<sup>2</sup> Больница Университетского колледжа Лондона, Лондон NW1 2BU, Великобритания;

<sup>3</sup> Факультет фундаментальной медицины, МГУ им. М. В. Ломоносова. 119234, Москва, Россия;

<sup>4</sup> ООО «Экзакт Лабс», 117246, Москва, Россия

Тигециклин (ТГЦ), представитель тетрациклинов 3 поколения, является реанимационным антимикробным препаратом (АМП) «последнего рубежа» с противоречивой репутацией и неоднозначной фармакокинетикой (ФК).

**Материал и методы.** В настоящем исследовании для оценочной ФК нагрузочной дозы - после первого введения ТГЦ использован непрямой конкурентный иммуноферментный анализ (ИФА).

**Результаты.** Разработанный селективный ИФА позволял количественно определять АМП в терапевтическом диапазоне концентраций с извлечением 103-110%. Предварительная процедура депротеинизации обеспечила унификацию образцов, нивелируя возможные интерференции белков плазмы. Правильность измерения ТГЦ в сыворотках пациентов (n=24) с помощью ИФА подтверждена референсным методом, высокоэффективной жидкостной хроматографией с tandemной масс-спектрометрией (ВЭЖХ-МС/МС). Высокая степень корреляции между методами ( $R^2=0,97$ ) и соответствие результатов в пределах 95%-го интервала согласия с незначительным средним смещением 4,5 нг/мл по методу Бланда-Альмана позволяет считать измерение аналита корректным.

**Обсуждение.** Первичный анализ ФК нагрузочной дозы ТГЦ, выполненный с помощью разработанного ИФА, выявил значительную межиндивидуальную вариабельность параметров ФК в демографически и клинически неоднородной группе пациентов с сепсисом (n=6). Необходимость дальнейшей оптимизации нагрузочной дозы ТГЦ требует индивидуального мониторинга препарата.

**Заключение.** Предложенный анализ пригоден в качестве инструмента для контроля терапии и может использоваться для оптимизации дозирования ТГЦ у разных категорий реанимационных пациентов.

**Ключевые слова:** иммуноанализ; тигециклин; терапевтический лекарственный мониторинг; фармакокинетика; нагрузочная доза

**Для цитирования:** Гальвидис И.А., Суровой Ю.А., Алимов А.И., Царенко С.В., Соболев П.Д., Шарипов В.Р., Буркин М.А. Иммуноферментный анализ для изучения фармакокинетики нагрузочной дозы тигециклина у пациентов с сепсисом. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (8): 551-557.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-551-557>

EDN: TDFCIE

**Для корреспонденции:** Гальвидис Инна Александровна, канд. мед. наук, вед. науч. сотрудник лаборатории биоконъюгатов; e-mail: galvidis@yandex.ru

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 03.04.2025

Принята к печати 03.06.2025

Опубликовано 25.07.2025

Galvidis I.A.<sup>1</sup>, Surovoy Y.A.<sup>2</sup>, Alimov A.I.<sup>1,3</sup>, Tsarenko S.V.<sup>3</sup>, Sharipov V.R.<sup>4</sup>, Sobolev P.D.<sup>4</sup>, Burkin M.A.<sup>1</sup>

ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY USED TO STUDY THE PHARMACOKINETICS OF  
TIGECYCLINE LOADING DOSE IN PATIENTS WITH SEPSIS

<sup>1</sup> I. Mechnikov research institute of vaccines and sera, 115088, Moscow, Russia;

<sup>2</sup> University College of London Hospital, London NW1 2BU, UK;

<sup>3</sup> Faculty of Medicine, M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow 119991, Russia;

<sup>4</sup> Exacte Labs LLC, Moscow 117246, Russia

Tigecycline (TGC), a third-generation tetracycline, is an antibiotic of last resort with a controversial reputation and ambiguous pharmacokinetics (PK).

**Material and methods.** In the present study, an indirect competitive enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to estimate the PK of the loading dose after the first administration of TGC.

**Results.** The developed ELISA allowed the selective quantitative determination of the antibiotic in the therapeutic concentration range with a recovery of 103-110%. A preliminary deproteinization procedure was used to unify the samples and eliminate potential

interferences from plasma proteins. The adequacy of TGC measurement in patient sera ( $n=24$ ) by ELISA was confirmed by a reference method, high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry (HPLC-MS/MS). A high correlation between the methods ( $R^2=0.97$ ) and agreement of the results within the 95% agreement interval with an insignificant mean bias of 4.5 ng/ml according to the Bland-Altman method allows us to consider the analyte measurement correct.

**Discussion.** The initial PK analysis of the TGC loading dose, performed with the developed ELISA, revealed significant interindividual variability of PK parameters in a demographically and clinically heterogeneous group of patients with sepsis ( $n=6$ ). The need for further optimization of TGC loading dose requires individual drug monitoring and the proposed analysis is suitable as a tool for therapeutic monitoring and can be used to optimize TGC dosing in different categories of intensive care patients.

**Key words:** ELISA; tigecycline; therapeutic drug monitoring; pharmacokinetics; loading dose

**For citation:** Galvidis I.A., Surovoy Y.A., Alimov A.I., Tsarenko S.V., Sharipov V.R., Sobolev P.D., Burkin M.A. Enzyme-linked immunosorbent assay used to study the pharmacokinetics of tigecycline loading dose in patients with sepsis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (8): 551-557 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-551-557>

EDN: TDFCIE

**For correspondence:** Galvidis Inna A., senior researcher at the laboratory of bioconjugates; e-mail: [galvidis@yandex.ru](mailto:galvidis@yandex.ru)

**Information about authors:**

Galvidis I.A., <https://orcid.org/0000-0001-6442-7343>;

Surovoy Y.A., <https://orcid.org/0000-0002-2300-048X>;

Alimov A.I., <https://orcid.org/0000-0002-0123-3899>;

Tsarenko S.V., <https://orcid.org/0000-0002-7065-5331>;

Sharipov V.R., <https://orcid.org/0009-0003-6382-2474>;

Sobolev P.D., <https://orcid.org/0000-0003-3634-596X>;

Burkin M.A., <https://orcid.org/0000-0003-1946-430X>.

**Conflict of interests.** The authors declare no conflict of interests.

**Funding.** This research received no external funding.

Received 03.04.2025

Accepted 03.06.2025

Published 25.07.2025

**Введение.** Персонализированный подход при лечении реанимационных пациентов предусматривает контроль и коррекцию дозирования резервных антимикробных препаратов (АМП) с узким терапевтическим окном посредством лекарственного мониторинга. Контроль за поддержанием эффективной концентрации АМП в биожидкостях у пациентов, находящихся в критическом состоянии (септический шок, дыхательная и почечная недостаточность), особенно востребован при заместительной почечной терапии и экстракорпоральной мембранной оксигенации [1, 2]. Системы детекции, основанные на распознавании анализируемого соединения специфическими антителами, технически просты и пригодны для использования в клинических лабораториях. Применение таких инструментов позволяет не только исследовать индивидуальную фармакокинетику (ФК), но и на ее основе разрабатывать популяционные ФК-модели для разных категорий пациентов. Терапевтический лекарственный мониторинг (ТЛМ) целого спектра АМП резерва рекомендован для оптимизации терапии, контроля и коррекции дозирования препаратов [3]. Одним из АМП «последнего рубежа» является тигециклин (ТГЦ), тетрациклин третьего поколения с широким спектром действия. Активность в отношении карбапенем-устойчивых штаммов *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, устойчивых к метициллину *Staphylococcus aureus* обуславливает его применение для лечения инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами [4, 5]. Авторы некоторых исследований отмечают повышенный риск летальности при назначении ТГЦ, который вероятно вызван не только тяжестью состояния пациентов, но и неоптимальной дозировкой АМП [6].

В других работах неудачи терапии ТГЦ у пациентов в критическом состоянии связывают с недостаточной дозировкой АМП [7]. Особенностью ТГЦ является нелинейное связывание с белками плазмы (71–95%), при этом свободная фракция уменьшается по мере увеличения концентрации ТГЦ [8]. Это нетипичное связывание вероятно приводит к значительной вариабельности общего клиренса препарата (CL) [9]. По сравнению с другими тетрациклинами для ТГЦ характерен большой объем распределения (выше плазматического объема) и быстрое распределение в тканях организма [4]. В качестве предиктора эффективности терапии ТГЦ предложен показатель соотношения площади под кривой зависимости концентрации АМП в плазме крови от времени наблюдения 0–24 ч ( $AUC_{24}$ ) к минимальной ингибирующей концентрации (МИК) –  $AUC/МИК$  [10]. Этот показатель значительно варьирует в зависимости от локализации инфекционного процесса и сочетанного применения других АМП [7]. Еще более осложняет ситуацию то, что в настоящее время отсутствуют критерии чувствительности для определения МИК ТГЦ, и установлены лишь пограничные значения  $МИК \leq 2$  мг/л для восприимчивых и  $>8$  мг/л для резистентных микроорганизмов [11, 12].

Серьезной побочной реакцией, связанной с терапией ТГЦ, является гипофибриногенемия, которая может вызвать необходимость прерывания терапии. В исследовании 2025 года, обнаружено, что оптимальным предиктором гипофибриногенемии, связанной с назначением ТГЦ, может служить показатель экспозиции АМП  $AUC_{24}$ . Пороговое значение определено как  $AUC_{24} = 17 \text{ мг} \cdot \text{ч/л}$ , а для гарантии безопасности и эффективности лечения рекомендовано тщательно кон-

тролировать концентрацию ТГЦ в плазме у пациентов [13]. Корректное определение  $AUC_{24}$  производят лишь после установления устойчивой концентрации АМП в плазме, обычно не ранее, чем через 48 часов антибиотикотерапии. А для максимально быстрого достижения устойчивой терапевтической концентрации и лечебного эффекта выработана практика применения нагрузочной дозы. Исследование ФК нагрузочной дозы ТГЦ проведено лишь на здоровых добровольцах [14] и не апробировано на клиническом материале, у пациентов в критическом состоянии. Восполнение информации по этому вопросу весьма актуально для такого неоднозначного препарата, как ТГЦ.

**Цель исследования:** сопоставление результатов ИФА ТГЦ, с данными референсного метода ВЭЖХ-МС/МС; исследование нагрузочной дозы ТГЦ у пациентов с сепсисом, вызванным полирезистентными микроорганизмами.

**Материал и методы.** Образцы сывороток крови отобраны у здоровых добровольцев и от 6 пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) с сепсисом, получавших терапию ТГЦ. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией, национальными и институциональными стандартами. Исследование одобрено независимым этическим комитетом клиники МЕДСИ, Москва, Россия (Протокол № 29 апреля 15, 2021). Форма информированного согласия подписана законными представителями пациентов. Терапия ТГЦ в виде однократной инфузии проводилась в связи с развитием вторичной инфекции, вызванной полирезистентными грамотрицательными микроорганизмами. Нагрузочная доза 100-200 мг однократно, и последующие поддерживающие дозы 100-50 мг дважды в сутки назначались по усмотрению лечащего врача.

Чтобы оценить корректность измерения АМП в сыворотке крови человека, в образцы сыворотки здоровых добровольцев вводили ТГЦ в терапевтическом диапазоне концентраций (100-1500 нг/мл) и оценивали соответствие между измеренной и созданной концентрациями. После инкубации образцов в течение 1 ч при 37 °С сыворотки анализировались в ИФА. Для исследования фармакокинетики (ФК) у пациентов отбирали образцы крови (по 4 мл) в пробирки с ЭДТА перед введением нагрузочной дозы ТГЦ и затем через 5 мин, 0,5, 1, 2, 4, 8; 11 часов после инфузии. Образцы крови центрифугировали в течение 10 мин, отделенные сыворотки немедленно замораживали и хранили при температуре -40 °С в течение 10-90 дней до проведения анализа. Образцы сывороток пациентов анализировались параллельно в ИФА и ВЭЖХ-МС/МС.

Использованы стандарт ТГЦ (European Pharmacopoeia), козы антигенов к IgG кролика, конъюгированные с пероксидазой хрена (АК-ПХ) (Имтек, Россия), двухкомпонентный раствор субстрата тетраметилбензидина (ТМБ) (Биосервис, Россия), трихлоруксусная кислота (ТХУ), 0,05М карбонатно-бикарбонатный буфер (КББ, pH 9,5) для адсорбции антигенов в лунках планшетов, 0,15 М фосфатно-солевой раствор (ФСБ), содержащий 0,05% твина 20, pH 7.2 (ФСБ-Т), который использован для отмывки планшетов и разбавления проб. Определение концентрации ТГЦ в образцах сывороток проведено с помощью непрямого

конкурентного ИФА, разработанного на основе ранее полученных иммунореагентов - конъюгированной желатины (ЖЕЛ) с ТГЦ и кроличьих поликлональных антител к ТГЦ [15].

Перед проведением анализа образцы сывороток подвергали депротеинизации. Сыворотки (100 мкл) смешивали с равным объемом 5% ТХУ и осаждали в течение 5 мин при 10 тыс. об/мин в центрифуге СМ-50М (ELMI Ltd., Latvia). Чтобы определить аналит в терапевтическом диапазоне концентраций, образцы разбавляли в 150-300 раз ФСБ-Т и затем анализировали методом ИФА. Конкурентный анализ выполняли в полистироловых 96-луночных планшетах («Биомедикал», Россия). Ячейки планшетов заполняли 0,1 мл раствора ЖЕЛ-ТГЦ (3 мкг/мл) в КББ и инкубировали 16 часов при 4 °С. Затем планшеты отмывали 3-5 раз ФСБ-т. Стандартные растворы ТГЦ (0,01-1000 нг/мл и 0 нг/мл в качестве контроля) в ФСБ-Т или разведенные образцы сыворотки (100 мкл) объединяли с 100 мкл рабочего разведения анти-ТГЦ антител в 1% БСА-ФСБ-Т и инкубировали в течение 1 ч при 25 °С в термощейкере (ELMI Ltd., Latvia). После отмывки лунки планшетов заполняли 0,1 мл раствора конъюгата антител к IgG кролика с пероксидазой хрена. После 1 часа инкубации и отмывки в ячейки вносили по 0,1 мл ТМБ-содержащей субстратной смеси. Ферментативную реакцию завершали через 30 мин с помощью 0,5М  $H_2SO_4$  (100 мкл), а оптическую плотность продукта реакции измеряли при 450 нм с помощью фотометра LisaScan (Erba, Mannheim, Czech). Уровень связывания антител в лунках с нулевой концентрацией АМП считали контрольным и принимали за 100% ( $B_0$ ). По отношению к нему вычисляли процент связывания антител для каждой концентрации аналита (В) и строили кривые зависимости этих показателей. Чувствительность анализа выражали концентрацией ТГЦ, вызывающей 50% подавление связывания ( $IC_{50}$ , inhibitory concentration). Рабочим диапазоном анализа считали диапазон концентраций  $IC_{20}$ - $IC_{80}$ . Предел обнаружения (ПО) анализа рассчитывали по формуле:

$$ПО = B_0 - 3 \times SD,$$

где:  $B_0$  – средняя величина ( $n=4$ ) связывания антител в отсутствие ТГЦ, а  $3 \times SD$  – трехкратное значение стандартного отклонения. Влияние других факторов, на правильность измерения оценивали в тесте на извлечение, который служил критерием адекватности пробоподготовки. Степень извлечения (СИ) определяли по отношению концентрации, полученной в результате измерения ( $C_{изм}$ ), к внесенной концентрации ( $C_{внес}$ ).

$$СИ = 100\% \times \frac{C_{изм}}{C_{внес}}$$

Для хроматографического анализа использовался жидкостный хроматограф Agilent Infinity 1290 (US), оснащенный бинарным насосом и автосэмплером. Пробоподготовка включала добавление к аликвоте сыворотки (100 мкл) аликвоту (10 мкл) рабочего раствора аналита и аликвоту (10 мкл) рабочего раствора внутреннего стандарта (триметазидин-d8, 3000 нг/мл). После встряхивания образца добавляли 400 мкл охлажденного (4 °С) ацетонитрила (ACN) с 0,1% муравьиной кислотой, для осаждения, образец хорошо перемешивали и центрифугировали (2750×g, 15 мин, 4 °С). Аликвоту супернатанта (25 мкл) переносили в тестовый планшет, содержащий 250 мкл раствора ACN/



H<sub>2</sub>O (15/85)+1% муравьиной кислоты для дальнейшего анализа. Разделение проводилось с использованием колонки Acquity Waters BEH C18 (50×2,1 мм) с размером гранул адсорбента 1,8 мкм в режиме градиентного элюирования. Температура термостата колонки и авто-сэмплера во время работы поддерживалась на уровне 40 и 5 °С соответственно. Аналиты разделялись с использованием подвижной фазы, содержащей 1,5% муравьиной кислоты и 10 мМ формиата аммония в воде (элюент А) и 0,1% муравьиной кислоты в ACN (элюент В). Дальнейшая методика определения ТГЦ принципиально не отличалась от разработанной ранее процедуры определения родственного тетрациклина третьего поколения, эраваклина [16].

Графическая и статистическая обработка результатов осуществлена средствами программы GraphPad Prism 8.0. Нормальность распределения полученных данных проверяли по тесту Шапиро-Уилка, количественные показатели оценивали вычислением  $M \pm SD$ ,

где М - среднее, SD - стандартное отклонение. По результатам измерения концентрации ТГЦ в сыворотке пациентов строили кривые зависимости концентрации от времени взятия образцов и проводили фармакокинетический анализ с помощью программы PKanalix версии 2020R1 (Lixoft SAS, 2020, France).

**Результаты.** Определение концентрации ТГЦ в сыворотке крови пациентов проведено с помощью ранее разработанного непрямого конкурентного ИФА, характеризующегося селективным распознаванием ТГЦ и отсутствием перекрестных взаимодействий со стороны других тетрациклинов и других АМП. Стандартная кривая для определения ТГЦ представлена на рис. 1. Чувствительность ( $IC_{50}$ ) и предел определения анализа составили 0,38 нг/мл и 0,03 нг/мл соответственно. Рабочий диапазон анализа ( $IC_{20}$ - $IC_{80}$ ) в пределах 0,076-2,72 нг/мл.

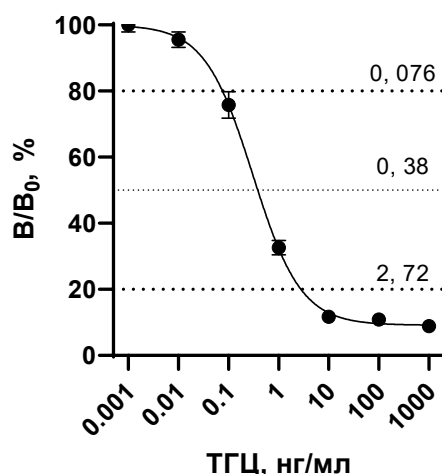


Рис. 1. Калибровочная кривая ИФА количественного определения ТГЦ.

Сравнение вариантов пробоподготовки (простое разведение ФСБ-т и депротеинизация при помощи ТХУ) представлено в табл. 1. Оба варианта пробоподготовки оказались приемлемыми - процент выявления аналита в пределах от 102 до 121%. Для унификации образцов и устранения потенциальных помех со сто-

роны матрикса сывороток пациентов в критическом состоянии выбрана процедура с предварительным осаждением белков ТХУ и последующим разведением образцов ФСБ-т в 150 раз, что обеспечивало лучшую степень извлечения (103-110%) с коэффициентом вариации не выше 10%.

Таблица 1

Степень извлечения ТГЦ из сывороток здоровых добровольцев после его внесения в образцы в терапевтическом диапазоне концентраций

Пробоподготовка (фактор разведения)	Внесено, нг/мл	Измерено, нг/мл	СИ, %	КВ, %
Разведение ФСБ-Т (300)	1500	1760	117	1,96
	500	605	121	0,88
	100	107	107	12,95
Депротеинизация ТХУ (300)	1500	1551	103	9,31
	500	548	110	3,54
	100	105	105	4,35

Примечание. СИ – степень извлечения, КВ – коэффициент вариации.

Для установления соответствия между методами образцы сывороток ( $n=24$ ) от 3 пациентов анализировали параллельно в разработанном ИФА и ВЭЖХ-МС/МС. Сравнение значений концентраций, полученных обоими методами, выявили высокую степень корреляции

( $R^2=0,97$ ) (рис. 2, А). Методом Бланда-Альтмана (рис. 2, Б) показано, что измерения двумя методами находились в пределах 95% интервала согласия с незначительным средним смещением 4,515 нг/мл, что указывает на приемлемое соответствие между результатами двух методов.

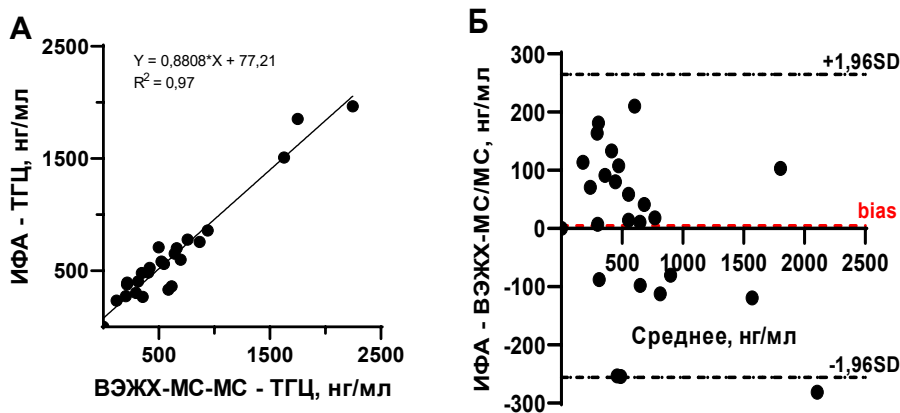


Рис. 2. Корреляция двух методов (А) и график Бланда-Альтмана (Б) концентраций ТГЦ в образцах сывороток ( $n=24$ ) от 3 пациентов с сепсисом, измеренных с помощью ИФА и ВЭЖХ-МС/МС. 95% предел интервала согласия указан пунктирными линиями: верхний предел (+1,96×SD), нижний предел (-1,96×SD) и смещение (bias).

Референсный метод подтвердил корректность измерения в ИФА, дальнейшие эксперименты по ФК ТГЦ у пациентов ОРИТ проведены с использованием разработанного иммуноанализа.

Демографические данные пациентов получавших терапию ТГЦ представлены в табл. 2. Средний возраст пациентов составил  $67,5 \pm 17,8$  лет; вес  $94,2 \pm 8,0$  кг; SOFA

$6,8 \pm 2,8$ ; средний уровень общего белка и альбумина  $61,4 \pm 10,3$  г/л и  $30,0 \pm 7,2$  г/л, соответственно. Причина сепсиса у пациентов - инфекция кровотока ( $n=3$ ), легких ( $n=2$ ), абдоминальная инфекция, вызванные *K. pneumoniae* ( $n=2$ ), *A. baumannii* ( $n=3$ ), *P. aeruginosa* ( $n=1$ ). У четырех пациентов терапия ТГЦ сочеталась с назначением полимиксина В (ПМВ), у двоих – с меропенемом (МП).

Таблица 2

Демографические данные критических пациентов

Характеристика	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4	Пациент 5	Пациент 6
Пол	М	М	М	Ж	М	М
Возраст, годы	54	70	42	89	84	66
Вес, кг	100	100	100	90	95	80
SOFA	11	4	9	6	7	4
Общий белок, г/л	60,3	64	56,2	65	77	46
Альбумин, г/л	24,4	25,4	33,3	29	43	25
СКФ, мл/мин	42	131	269	17	28	94
Локус	Кровоток	Кровоток	Легкие	Легкие	Кровоток	Абдомин.
Возбудитель	<i>K. pneum.</i>	<i>A. baum.</i>	<i>K. pneum.</i>	<i>P. aerug.</i>	<i>A. baum.</i>	<i>A. baum.</i>
Сопутствующие АМП	МП	МП	ПМВ	ПМВ	ПМВ	ПМВ

Среди факторов, оказывающих влияние на ФК профиль препарата, стоит отметить, что пациенты № 1, № 4, № 5 получали заместительную почечную терапию (СКФ - 42, 17, 28 мл/мин), у пациента № 2 был септический шок, а пациент № 3 находился на экстракорпоральной мембранной оксигенации.

Кривые концентрации ТГЦ в сыворотке крови исследованных пациентов после введения нагрузочной дозы представлены на рис. 3. Максимальная концентрация ТГЦ наблюдалась сразу после введения АМП (1,1 часа) и варьировала в диапа-

зоне от 0,72 до 1,76 мг/л. Уровень ТГЦ к моменту следующего введения составлял 0,12-0,53 мг/л.

На примере шести пациентов, получавших нагрузочные дозы 100 и 200 мг ТГЦ, с помощью программы PKanalix проведен некомпартментный ФК анализ. Площадь под ФК кривой за 12 часов - ( $AUC_{12}$ ) была 6,64-5,33-2,53 мг•ч/л у пациентов получавших 200 мг ТГЦ и 3,77-3,55-2,38 мг•ч/л у пациентов получавших 100 мг препарата. Клиренс ТГЦ у пациентов варьировал от 13 до 50 л/ч, объем кажущегося распределения - от 188 до 397 л. У 3 из 6 пациентов  $C_{max}$  была ниже 1 мг/л при диапазоне 0,72-1,76 мг/л,  $C_{min}$  варьировала от 0,12 до 0,36 мг/л (табл. 3).

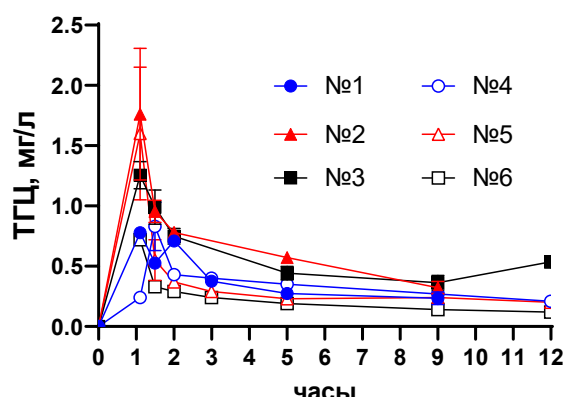


Рис. 3. Фармакокинетический профиль ТГЦ у септических пациентов после введения нагрузочной дозы препарата. Концентрации представлены в виде среднего значения  $\pm$  стандартная ошибка ( $n = 6$ ).

Таблица 3

Фармакокинетический анализ ТГЦ у критических пациентов после введения нагрузочной дозы

Показатель	Пациент 1	Пациент 2	Пациент 3	Пациент 4	Пациент 5	Пациент 6
Доза, мг	200	200	200	100	100	100
$AUC_{0-12}$ , мг•ч/л	2,53	6,64	5,33	3,55	3,77	2,38
$C_{max}$ , мг/л	0,81	1,76	1,25	0,83	1,60	0,72
$C_{min}$ , мг/л	0,23	0,32	0,36	0,21	0,20	0,12
CL, л/ч	50	20	13	15	20	25
V, л	397	188	267	205	329	331

Примечание.  $AUC_{0-12}$  – площадь под кривой зависимости концентрации от времени от 0 до 12 часов,  $C_{max}$  – максимальная концентрация,  $C_{min}$  – минимальная концентрация, CL – клиренс, V – объем распределения.

В клинической практике для улучшения терапевтических результатов у пациентов в критическом состоянии рекомендовано использовать методы лекарственного мониторинга, включая иммуноанализ. Подобные зарубежные коммерческие системы анализа ограничиваются главным образом тестами на аминогликозиды и гликопептиды [3]. Несмотря на возможные серьезные побочные эффекты, ТГЦ назначается, когда другие АМП неэффективны [12]. Доступный метод ТЛМ ТГЦ весьма полезен как для дальнейшего исследования ФК этого АМП у разных групп пациентов, так и для обеспечения контроля эффективности и безопасности лечения.

Разработанный ИФА обладал чувствительностью, благодаря которой измерение ТГЦ в терапевтическом диапазоне концентраций можно проводить в минимальном объеме образца сыворотки за 2,5 часа. Пригодность разработанного ИФА для определения ТГЦ в биологических жидкостях подтверждена в модельных экспериментах с внесением АМП в сыворотку крови человека в широком диапазоне концентраций. Сравнение вариантов пробоподготовки выявило преимущество процедуры депротеинизации образцов при помощи ТХУ. Помимо лучшей точности и прецизионности измерения эта обработка позволяет минимизировать потенциальные помехи и взаимодействие с белками плазмы, концентрация и состав которых могут значительно варьировать у пациентов в критическом состоянии, тем самым обеспечивая однородность образцов. Воздействие ТХУ способствует устойчивости ТГЦ к эпитеризации, действует как стабилизатор тетрациклинов от других возможных путей деградации [17].

Корректность измерения АМП в сыворотке крови пациентов с помощью иммуноанализа подтверждена референсным методом, ВЭЖХ-МС/МС. Установлена сильная корреляция ( $R^2=0,97$ ) и хорошее согласование, оцененное по методу Бланда-Альтмана, между результатами измерения ТГЦ в образцах сывороток ( $n=24$ ) от трех пациентов в критическом состоянии с помощью двух методов (см. рис. 2).

С помощью разработанного метода проведено ФК исследование пациентов, проходящих лечение в условиях ОРИТ. ФК нагрузочной дозы описана у шести пациентов в критическом состоянии с COVID-19 и вторичной бактериальной инфекцией, отличающейся первичным локусом и возбудителями. Первичное исследование ФК нагрузочной дозы ТГЦ у небольшой группы пациентов ( $n=6$ ), неоднородной по своим демографическим и клиническим показателям, 4 из которых подвергались методам экстракорпоральной терапии, позволило отметить, что нагрузочная доза 200 мг (пациенты 1-3) по сравнению с 100 мг-дозой обеспечивает большую экспозицию ТГЦ, а повышенный  $C_{min}$  (0,23-0,36 vs 0,12-0,21), вероятно, способствует раннему достижению устойчивой концентрации ТГЦ и терапевтическому эффекту. Тем не менее, эффект от нагрузочной дозы и ожидаемые ФК показатели могут существенно видоизменяться, например при заместительной почечной терапии (Пациент 1), нивелирующей эффект высокой нагрузочной дозы. При этом, подобный эффект заместительной почечной терапии не отмечен у Пациентов 4 и 5, но приводил к сходным показателям  $C_{min}$  (0,20-0,23 мг/л). У половины обследованных пациентов

пиковые концентрации препарата были ниже 1 мг/л, что считается удовлетворительным лишь при МИК возбудителя  $\leq 0,5$  мг/л [7]. Значительная межиндивидуальная вариабельность ФК пациентов в критическом состоянии, выявленная в работе (см. табл. 3), отмечена и в других сообщениях [7, 9, 18]. В настоящем исследовании она обусловлена неоднородностью группы пациентов, что затруднило интерпретацию эффекта увеличения нагрузочной дозы.

**Заключение.** Непрямой конкурентный ИФА ТГЦ использован в исследовании для оценочной ФК препарата у пациентов с сепсисом после назначения нагрузочной дозы АМП. Показано, что *большая* нагрузка обеспечивает как правило *большую* экспозицию ТГЦ и способствует раннему достижению устойчивой концентрации, однако демографические и клинические ковариаты, требующие дальнейшей идентификации и направленного изучения, могут существенно видоизменять профиль ФК. Разработанный и используемый в работе в качестве инструмента для лекарственного мониторинга ИФА позволял проводить измерение терапевтических концентраций ТГЦ в сыворотке тяжелобольных пациентов в течение 2,5 часов. Точность и прецизионность измерения подтверждена методом «введено/найден» в образцах с известной концентрацией АМП и референсным методом, ВЭЖХ-МС/МС, в реальных образцах от пациентов. Представленный ИФА пригоден для индивидуального терапевтического мониторинга ТГЦ, создания популяционных фармакокинетических моделей, обеспечивающих возможность прогнозировать профиль ФК препарата у различных групп пациентов, с целью оптимизации персонализированной антибиотикотерапии.

## ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1-10, 12-18 см. REFERENCES)

11. Быков А.О., Суворова М.П., Проценко Д.Н., Яковлев С.В., Игнатенко О.В., Бурмистрова Е. Н. и др. Анализ структуры бактериемий и чувствительности к антибиотикам микроорганизмов, выделенных в отделениях реанимации и интенсивной терапии в скоромощном стационаре в период с 2003 по 2021 г.: ретроспективное наблюдательное исследование. *Вестник интенсивной терапии имени А.И. Салтанова*. 2023; (2): 55-65. DOI: 10.21320/1818-474X-2023-2-55-65.

## REFERENCES

1. Surovoy Y.A., Burkin M.A., Galvidis I.A., Bochkov P.O., Oganessian A.V., Tsarenko S.V. Comparative polymyxin B pharmacokinetics in patients receiving extracorporeal membrane oxygenation. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2022;77(5):1379-84. DOI: 10.1093/jac/dkac021.
2. Surovoy Y.A., Burkin M.A., Galvidis I.A., Sobolev M.A., Rende O.C., Tsarenko S.V. Comparative polymyxin B pharmacokinetics in critically ill patients with renal insufficiency and in continuous venovenous hemodialysis. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2023;79(1):79-87. DOI: 10.1007/s00228-022-03415-x.
3. Abdul-Aziz M.H., Alffenaar J.C., Bassetti M., Bracht H., Dimopoulos G., Marriott D. et al. Antimicrobial therapeutic drug monitoring in critically ill adult patients: a Position Paper. *Intensive Care Med*. 2020;46(6):1127-53. DOI: 10.1007/s00134-020-06050-1.
4. Rusu A., Buta E.L. The development of third-generation tetracycline antibiotics and new perspectives. *Pharmaceutics*. 2021;13(12):2085. DOI: 10.3390/pharmaceutics13122085.
5. Bai X-r., Wang Z-z., Li W-c., Wang Y-g., Lou R., Qu X. et al. Clinical efficacy and safety of tigecycline based on therapeutic drug monitoring for carbapenem-resistant Gram-negative bacterium pneumonia in intensive care units. *BMC Infectious Diseases*. 2023;23(1):830. DOI: 10.1186/s12879-023-08815-7.
6. Zhou C.-C., Huang F., Zhang J.-M., Zhuang Y.-G. Population pharmacokinetics of tigecycline: a systematic review. *Drug Design, Development and Therapy*. 2023;16:1885-96. DOI: 10.2147/DDDT.S365512.
7. De Pascale G., Lisi L., Ciotti G.M.P., Vallecoccia M.S., Cutuli S.L., Cascarano L. et al. Pharmacokinetics of high-dose tigecycline in critically ill patients with severe infections. *Annals of Intensive Care*. 2020;10:1-9. DOI: 10.1186/s13613-020-00715-2.
8. Singh R.S.P., Mukker J.K., Drescher S.K., Deitchman A.N., Derendorf H. A need to revisit clinical breakpoints of tigecycline: effect of atypical non-linear plasma protein binding. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2017;49(4):449-55. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.12.008.
9. Barbour A., Schmidt S., Ma B., Schiefelbein L., Rand K.H., Burkhardt O. et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tigecycline. *Clinical pharmacokinetics*. 2009;48:575-84. DOI: 10.2165/11317100-000000000-00000.
10. Leng B., Yan G., Wang C., Shen C., Zhang W., Wang W. Dose optimisation based on pharmacokinetic/pharmacodynamic target of tigecycline. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 2021;25:315-22. DOI: 10.1016/j.jgar.2021.04.006.
11. Bykov A.O., Suworova M.P., Protzenko D.N., Yakovlev S.V., Ignatenko O.V., Burmistrova E.N. et al. Analysis of the structure of bacteremia and sensitivity to antibiotics of microorganisms isolated in intensive care units in an emergency hospital in the period from 2003 to 2021: a retrospective observational study. *Vestnik intensivnoy terapii im. A.I. Saltanova*. 2023; (2):55-65. DOI: 10.21320/1818-474X-2023-2-55-65. (in Russian)
12. Falagas M.E., Karageorgopoulos D.E., Dimopoulos G. Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of tigecycline. *Current drug metabolism*. 2009;10(1):13-21. DOI: 10.2174/138920009787048356.
13. Li M., He J., Dong G., Hu L., Shao H. Serum concentration threshold and risk factors of tigecycline-induced hypofibrinogenemia in critically ill patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2025;80(1):200-8. DOI: 10.1093/jac/dkac396.
14. Muralidharan G., Micalizzi M., Speth J., Raible D., Troy S. Pharmacokinetics of tigecycline after single and multiple doses in healthy subjects. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2005;49(1):220-9. DOI: 10.1128/aac.49.1.220-229.2005.
15. Galvidis I.A., Surovoy Y.A., Tsarenko S.V., Burkin M.A. Tigecycline immunodetection using developed group-specific and selective antibodies for drug monitoring purposes. *Biosensors*. 2023;13(3):343. DOI: 10.1016/j.jpba.2024.116033.
16. Galvidis I.A., Moshcheva A.G., Surovoy Y.A., Sobolev P.D., Sharipov V.R., Sidorov N.G. et al. Production of antibody and development of enzyme-linked immunosorbent assay for therapeutic drug monitoring of eravacycline. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2024;242:116033. DOI: 10.1016/j.jpba.2024.116033.
17. Bayliss M.A., Rigdova K., Kyriakides M., Grier S., Lovering A.M., Ellery K. et al. Challenges in the bioanalysis of tetracyclines: Epimerisation and chelation with metals. *Journal of Chromatography B*. 2019;1134:121807. DOI: 10.1016/j.jchromb.2019.121807.
18. Borsuk-De Moor A., Rypulak E., Potręć B., Piwowarczyk P., Borys M., Sysiak J. et al. Population pharmacokinetics of high-dose tigecycline in patients with sepsis or septic shock. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2018;62(4):10.1128/aac. 02273-17. DOI: 10.1128/aac.02273-17.



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Жукова Е.М.<sup>1</sup>, Бондаренко Е.И.<sup>2</sup>, Шварц Я.Ш.<sup>1</sup>, Аглетдинов Э.Ф.<sup>2</sup>,  
Дёмина О.К.<sup>2</sup>, Ставицкая Н.В.<sup>1</sup>



<https://elibrary.ru/swesns>

## КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ С ВЫЯВЛЕННЫМИ ГЕНЕТИЧЕСКИМИ МАРКЕРАМИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЛИХОРАДКИ КУ

<sup>1</sup>ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава РФ, 630040, г. Новосибирск, Россия;

<sup>2</sup>АО «Вектор-Бест», 630559, г. Новосибирск, Россия

**Введение.** В настоящее время отсутствуют данные о реальном числе и клинических особенностях больных коинфекцией туберкулез-лихорадка Ку.

**Цель** – анализ результатов этиологической диагностики лихорадки Ку и выявление клинических особенностей у больных туберкулезом легких с выявленными генетическими маркерами лихорадки Ку.

**Материал и методы.** Для выявления генетических и серологических маркеров возбудителя Ку-лихорадки с применением методов ПЦР и ИФА обследованы 308 больных, госпитализированных для лечения туберкулеза. Для подтверждения результатов ПЦР-анализа на наличие ДНК-мишени возбудителя лихорадки Ку проведена амплификация положительных образцов, содержащих ДНК *C. burnetii*, по фрагменту гена IS1111 с последующим их секвенированием. Наличие иммуноглобулинов класса М и G к *C. burnetii* в образцах сыворотки крови больных выявляли с использованием ИФА. Проведено анкетирование пациентов по разработанному опроснику, позволяющему установить источник и механизмы передачи лихорадки Ку.

**Результаты.** Оценка эпидемиологических данных, анализ данных опросника свидетельствуют о многочисленности пациентов, которых следует отнести к группам риска по лихорадке Ку. У 11% больных туберкулезом выявлен ДНК-маркер *C. burnetii*. Туберкулезная инфекция у пациентов с генетическими маркерами *C. burnetii* характеризуется большей выраженностью клинической симптоматики, большей частотой деструктивных изменений в легочной ткани (в 70,6%), меньшей давностью заболевания (в 52,9%); высокой коморбидностью (в 91,2%). Среди пациентов с сочетанием туберкулез - лихорадка Ку высока доля социально-значимых инфекций - вирусных гепатитов В, С, ВИЧ-инфекции.

**Заключение.** Отсутствие патогномоничных признаков лихорадки Ку, отрицательное влияние на течение специфического процесса диктуют необходимость своевременной диагностики этой инфекции у пациентов туберкулезом. Лабораторное подтверждение лихорадки Ку основывается на результатах генно-молекулярных и серологических исследований биологических образцов пациентов. Применение этого комплекса исследований позволило выявить у 11% больных туберкулезом ДНК-маркеры *C. burnetii*.

**Ключевые слова:** туберкулез; лихорадка Ку; ПЦР-анализ; клинические особенности

**Для цитирования:** Жукова Е.М., Бондаренко Е.И., Шварц Я.Ш., Аглетдинов Э.Ф., Дёмина О.К., Ставицкая Н.В. Клинические особенности у больных туберкулезом органов дыхания с выявленными генетическими маркерами возбудителя лихорадки Ку. Клиническая лабораторная диагностика. 2025; 70 (8): 558-565.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-558-565>

EDN: SWESNS

**Для корреспонденции:** Жукова Елена Михайловна, д-р мед. наук, вед. науч. сотр.; e-mail: zhukovaem.niit@yandex.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 09.04.2025

Принята к печати 23.06.2025

Опубликовано 25.07.2025

Zhukova E.M.<sup>1</sup>, Bondarenko E.I.<sup>2</sup>, Schwartz Ya.S.<sup>1</sup>, Agletdinov E.F.<sup>2</sup>, Demina O.K.<sup>2</sup>, Stavitskaya N.V.<sup>1</sup>

## CLINICAL FEATURES IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS OF THE RESPIRATORY SYSTEM WITH IDENTIFIED GENETIC MARKERS OF THE CAUSATIVE AGENT OF Q FEVER

<sup>1</sup> Novosibirsk Tuberculosis Research Institute, Russian Ministry of Health, 630040, Novosibirsk, Russia;

<sup>2</sup> AO «Vector-Best», 630559, Novosibirsk, Russia

**Introduction.** Currently, there is no data on the actual number and clinical characteristics of patients with tuberculosis-Q fever coinfection.

The aim is to analyze the results of the etiological diagnosis of Q fever and identify the clinical features of patients with pulmonary tuberculosis with identified genetic markers of Q fever.

**Material and methods.** To identify the genetic and serological markers of the causative agent of Q fever, 308 patients hospitalized for tuberculosis treatment were examined using PCR and ELISA methods. To confirm the results of PCR analysis for the presence of the target DNA of the causative agent of Q fever, positive samples containing *C. burnetii* DNA were amplified using a fragment of the IS1111 gene, followed by sequencing. The presence of class M and G immunoglobulins to *C. burnetii* in blood serum samples of patients was detected using ELISA. The patients were surveyed using a developed questionnaire that allows them to identify the source and mechanisms of transmission of Q fever.

**Results.** The assessment of epidemiological data and the analysis of the questionnaire data indicate a large number of patients who should be classified as at risk for Q fever. The DNA marker *C. burnetii* was detected in 11% of tuberculosis patients. Tuberculosis infection in patients with genetic markers of *C. burnetii* is characterized by a greater severity of clinical symptoms, a higher frequency of destructive changes in lung tissue (in 70.6%), a shorter duration of the disease (in 52.9%); high comorbidity (in 91.2%). Among patients with a combination of tuberculosis and Q fever, the proportion of socially significant infections - viral hepatitis B, C, and HIV

infection - is high.

**Conclusion.** The absence of pathognomonic signs of *Q* fever; a negative effect on the course of a specific process dictate the need for timely diagnosis of this infection in tuberculosis patients. Laboratory confirmation of *Q* fever is based on the results of genetic, molecular and serological studies of biological samples of patients. The use of this complex of studies made it possible to identify DNA markers of *C. burnetii* in 11% of tuberculosis patients.

**Key words:** tuberculosis; *Q* fever; PCR analysis; the clinical features

**For citation:** Zhukova E.M., Bondarenko E.I., Schwartz Ya.S., Agletdinov E.F., Demina O.K., Stavitskaya N.V. Clinical features in patients with tuberculosis of the respiratory system with identified genetic markers of the causative agent of *Q* fever. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (8): 558-565 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-558-565>

EDN: SWESNS

**For correspondence:** Zhukova E.M., Dr. sc. med., leading researcher; e-mail: [zhukovaem.niit@yandex.ru](mailto:zhukovaem.niit@yandex.ru)

**Information about authors:**

Zhukova E.M., <https://orcid.org/0000-0002-6156-8412>;

Bondarenko E.I., <https://orcid.org/0000-0002-4699-9548>;

Schwartz Ya.Sh., <https://orcid.org/0000-0002-3036-9795>;

Agletdinov E.F., <https://orcid.org/0000-0002-6256-2020>;

Demina O.K., <https://orcid.org/0009-0000-8453-5827>;

Stavitskaya N.V., <https://orcid.org/0000-0003-2616-6693>.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interests.

**Funding.** The study had no sponsor support.

Received 09.04.2025

Accepted 23.06.2025

Published 25.07.2025

**Введение.** Лихорадка Ку (кокциеллез) – острое или хроническое природно-очаговое антропоозоонозное инфекционное заболевание, возбудителем которого выступает грамотрицательная риккетсиоподобная бактерия *Coxiella burnetii*, которая имеет разнообразные пути передачи, и заражает и человека, и животных. При заражении клиническое течение заболевания бывает острым с развитием лихорадки, интоксикации и полиморфной симптоматики, но также может быть подострым и бессимптомным [1, 2]. Свое название инфекция получила от первых букв (Qu) английского слова «queer» («неясный, неопределенный»), то есть «лихорадка неясного генеза». Заболевание было обнаружено на всех континентах и практически во всех странах мира. Это обусловлено наличием на некоторых территориях природных резервуаров инфекции [3 - 5]. Экологическую нишу кокциелл обеспечивают иксодовые клещи, вторичным резервуаром являются дикие млекопитающие, в основном грызуны, птицы, а в антропоургических очагах – домашние и сельскохозяйственные животные [6, 7]. Широкое распространение лихорадки Ку среди людей обуславливают биологические свойства кокциелл Бернета (*C. burnetii*): стойкость и длительная сохраняемость во внешней среде благодаря внутриклеточному циклу развития с локализацией внутри фаголизосом и способность превращаться в споровые формы, разнообразие путей передачи (воздушно-пылевой, алиментарный, контактный, трансмиссивный), высокая чувствительность к ним лиц с иммунологическими дефицитами [8 - 12].

В России обязательную регистрацию лихорадки Ку начали проводить с 1957 года. В последние годы заболевание чаще всего выявляется в Южном федеральном округе. Заболеваемость в Российской Федерации варьирует от 0,01 до 1,0 на 100 тыс. населения в разные годы, среднее число заболевших в 2007–2015 годах составляло 102 человека в год, максимальное число больных было зарегистрировано в 2009 году –

205 случаев [13 - 17]. Проблемы диагностики случаев лихорадки Ку связаны с отсутствием патогномоничных признаков инфекции, часто протекающей под масками других лихорадочных заболеваний (ОРВИ, COVID-19, атипичные пневмонии, бруцеллез, тифопаратифозные заболевания, инфекции, передаваемые клещами и др.) и верифицируемой только при серологическом обследовании, которое в плановом порядке стало осуществляться только в последние годы [2, 3, 5, 13, 18].

Во фтизиатрии сведения о сочетании лихорадки Ку и туберкулеза ограничены единичными публикациями, в двух из них представлено описание клинических наблюдений за двумя пациентами с милиарным туберкулезом и кокциеллезом [19, 20]. Между тем, в исследовании, в котором приняли участие медицинские центры из трех регионов России (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава РФ, г. Москва; ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт туберкулеза» Минздрава РФ, г. Новосибирск; Белорецкий филиал ГБУЗ «Республиканский клинический противотуберкулезный диспансер», г. Белорецк, Республика Башкортостан), была установлена высокая частота (5,3-10,6%) выявления генетических маркеров возбудителя лихорадки Ку в мокроте пациентов с активным туберкулезом [21].

До настоящего времени в здравоохранении Российской Федерации сохраняется ряд проблем: недостаточная информированность, пониженная настороженность врачей к лихорадке Ку, а также отсутствие диагностических тест-систем для ее подтверждения [2, 4, 13]. В противотуберкулезной службе отсутствуют стандарты оказания медицинской помощи пациентам с сочетанной лихорадкой Ку инфекцией, такие пациенты регистрируются и лечатся в общей лечебной сети. Все это обуславливает сложности получения полного представления о реальном числе больных коинфекцией

туберкулез - лихорадка Ку. Малочисленность представленных в литературе данных, посвященных вопросам диагностики, распространенности, а также взаимовлиянию и клиническим особенностям сочетания туберкулеза и коксиселлеза, диктует необходимость проведения дальнейших более тщательных исследований в данном направлении.

**Цель исследования** – анализ результатов этиологической диагностики лихорадки Ку и выявление клинических особенностей у больных туберкулезом органов дыхания с выявленными генетическими маркерами лихорадки Ку.

**Материал и методы.** Исследование одноцентровое, открытое, контролируемое, проспективное когортное, проводилось с мая по декабрь 2023 года на базе терапевтических отделений ФГБУ «Новосибирского НИИ туберкулеза». В исследование были включены 308 пациентов в соответствии с критериями включения: туберкулез органов дыхания и возраст старше 18 лет. Критериями исключения были: беременность и кормление грудью; индивидуальная лекарственная непереносимость, не позволяющая назначить полную комбинацию противотуберкулезных препаратов по режиму химиотерапии; сопутствующие соматические заболевания в стадии декомпенсации. Исследование проводили на основании решения локального этического Комитета ФГБУ «ННИИТ» Минздрава России по утвержденному протоколу. Все пациенты дали информированное добровольное согласие на исследование.

Средний возраст пациентов составил  $43,2 \pm 0,7$  года, мужчин было 194 (62,9%). Преобладали городские жители - 180 (58,4%) человек. Жителями Новосибирской области являлись 103 (33,4%) человека, проживали в Республике Тыва – 59 (19,2%), в Омской области – 38 (12,3%), в Алтайском крае – 23 (7,5%), Республике Алтай – 19 (6,2%), в Республике Хакасия – 18 (5,8%), в ЧАО – 10 (3,2%) человек. Проживали в Забайкальском, Красноярском и Хабаровском крае – 8 (2,6%), 6 (1,9%) и 4 (1,3%), в Кемеровской, Иркутской, Сахалинской и Магаданской области – 5 (1,6%), 4 (1,3%), 3 (1%) и 2 (0,6%) человек. Остальные 6 человек были жителями Республики Бурятия - 1 (0,3%), Республики Саха - 1 (0,3%), Приморского края - 1 (0,3%), Амурской - 1 (0,3%) и Еврейской области - 1 (0,3%), г. Севастополя - 1 (0,3%).

Оценка эпидемиологических данных проводилась в соответствии с разработанным нами опросником, включающим блок вопросов, позволяющих установить источник и механизмы передачи инфекции. Анализ данных анкетирования по опроснику 244 пациентов, больных туберкулезом, показал, что наиболее часто встречалось указание на употребление некипяченой воды, молока (в 69,3% случаях); реже регистрировали сведения о частом посещении лесопарковой зоны (46,3%), фактах напоя/присасывания клеща (32,8%), а также сведения о контакте с дикими, домашними, сельскохозяйственными животными, птицами, грызунами (41,4%). Указание на факт хранения, переработки мяса, кожи, меха, меха, меха и на профессиональный контакт (временная или постоянная работа на животноводческих фермах, птицефермах, скотобойнях) отметили, соответственно, 19,7% и 13,1% анкетированных больных.

Оценка эпидемиологических данных свидетельствует о многочисленности пациентов, которых следу-

ет отнести к группам риска: постоянные и временные работники животноводческих, звероводческих хозяйств (ферм); лица, занятые обслуживанием, стрижкой, забоем животных, первичной обработкой и транспортированием сырья и продуктов животноводства из этих хозяйств; постоянные и временные работники предприятий по переработке сырья и продуктов животноводства. Полученные данные могут служить подтверждением высокой вероятности всех известных путей передачи инфекции и существования природных очагов лихорадки Ку в субъектах Сибирского и Дальневосточного федеральных округов – местах проживания обследуемых пациентов.

Для диагностики туберкулеза органов дыхания проводилось комплексное клиничко-рентгенологическое обследование согласно актуальным клиническим рекомендациям [22]. Оно включало сбор жалоб и анамнеза, физикальное исследование, общеклинические анализы, биохимический анализ крови, определение антител к ВИЧ, гепатитам В и С, ЭКГ, рентгенографию и компьютерную томографию органов грудной клетки, иммунодиагностику, консультации специалистов по показаниям. Алгоритм микробиологического исследования включал микроскопическое исследование мокроты, посева на плотные питательные среды (ППС) и жидкую среду в системе Bactec MGIT 960, а также исследование молекулярно-генетическим методом ПЦР-РВ для выявления ДНК МБТ и (при обнаружении достаточного количества ДНК) определения мутаций, ассоциированных с лекарственной устойчивостью к рифампицину, изониазиду и фторхинолонам. Далее, после получения культуры МБТ, проводился тест лекарственной чувствительности (ТЛЧ) к противотуберкулезным препаратам (ПТП) 1-го ряда на жидких средах в системе Bactec MGIT 960 и одновременно ТЛЧ на ППС Левенштейна-Йенсена методом абсолютных концентраций ко всему спектру ПТП. Кроме того, эта же культура тестировалась методом ПЦР-РВ на наличие мутаций, ассоциированных с ЛУ к ПТП, в том случае, если данный вид исследования не был проведен непосредственно из мокроты.

Наиболее частой формой туберкулеза была инфильтративная – у 98 (31,8%) пациентов, фиброзно-кавернозный туберкулез имел место у 82 (26,6%), туберкулома – у 71 (23,1%), диссеминированный – у 49 (15,1%), цирротический туберкулез – у 3 (1%) и казеозная пневмония – у 5 (1,6%). В большинстве случаев (65,3%) процесс в легких был распространенным (более 3-х сегментов), сопровождался распадом (52,9%). У 234 (75,9%) пациентов был туберкулез с МЛУ либо пре-ШЛУ возбудителя, лекарственно- чувствительный туберкулез зарегистрирован лишь в 58 (18,8%) случаях.

Сопутствующие заболевания, от одной до семи разных нозологий, выявлены у 248 человек (80,5%). Индекс коморбидности варьировал от 1 до 6. Наиболее часто встречались вирусные гепатиты В, С (88 пациентов, 28,6%); хронические анемии (71 пациент, 23,1%); ВИЧ-инфекция (67 пациент, 21,8%). У всех пациентов ВИЧ-инфекция (ВИЧ-и) была установлена на догоспитальном этапе, IV Б стадия была у 92,5%, IV В стадия – у 7,5%.

**Обработка мокроты и выделение образцов суммарной ДНК.** Сбор мокроты от больных туберкулезом проводился сразу после утреннего пробуждения, до на-



чала утреннего мочеиспускания и завтрака. Мокроту собирали в отдельные пробирки с закручивающимися крышками типа Falcon («Sarstedt», Германия) объемом 50 мл. Инактивация и разжижение собранного материала осуществлялись с помощью реагента «Амплитуб-Преп» (ООО «Синтол») согласно инструкции производителя [23]. Обработку мокроты проводили по следующей схеме: к одному объему исследованного образца добавляли 1 объем инактивирующего реагента с последующей экспозицией 1 час. Разжиженные пробы переносили в пробирки объемом 2 мл и центрифугировали 15 минут при 3000g, что соответствует 7000 об/мин при использовании центрифуги MiniSpin (Eppendorf GmbH, Германия). Супернатант удаляли, образовавшийся осадок использовали для выделения суммарной фракции нуклеиновых кислот (НК) с помощью набора реагентов «Реал-Бест экстракция100» (АО «Вектор-Бест», Новосибирск). Сорбированные при выделении на магнитных частицах НК элюировали в объеме 200 мкл согласно инструкции производителя.

**Проведение ПЦР-анализа на наличие ДНК-мишени возбудителя лихорадки Ку.** Анализ выделенных образцов НК на наличие в них генетического маркера *C. burnetii*, возбудителя коксиеллеза, с помощью ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) проводили с использованием разработанной в АО «Вектор-Бест» (Новосибирск) экспериментальной лабораторной версии теста «Coxbur-1». Состав ПЦР-теста, структуру и синтез олигонуклеотидов, использованных для амплификации и детекции ДНК возбудителя Ку-лихорадки, а также протокол амплификации описаны ранее [24]. Для проведения анализа использовали 30 мкл элюата НК. Детекцию ДНК-маркера осуществляли на амплификаторе CFX96 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США).

Положительные образцы, содержащие ДНК *C. burnetii*, секвенировали по Сенгеру на базе АО «Вектор-Бест» с использованием прибора GeneticAnalyzer 3500 (Applied Biosystems, США). Предварительно были получены продукты амплификации участка гена *IS1111* длиной 390 п.н., которые включали в себя фрагмент данного гена *C. burnetii* длиной 70 п.н., выявляемый с помощью ПЦР-РВ. Нарботку и очистку амплификатов, используемых для проведения секвенирования, проводили, как описано в работе Е.И. Бондаренко и соавторов [24].

Полученные в этом исследовании фрагменты ДНК, выделенные из образцов мокроты больных туберкулезом, были полностью идентичны последовательностям *C. burnetii*, представленным в базе данных GeneBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) из разных регионов мира. Полученные в результате секвенирования нуклеотидные последовательности показали 100% схожесть трем последовательностям *IS1111*, образцы ДНК которой были выделены нами ранее из крови лихорадящих больных в г. Новосибирске, у которых в дополнение были выявлены антитела к возбудителю лихорадки Ку: MK064571 (Novosibirsk-2018/161), MK064572 (Novosibirsk-2018/180), MK064573 (Novosibirsk-2018/286) [18].

**Проведение серологических исследований на наличие антител к возбудителю коксиеллеза.** Для определения в образцах сыворотки крови больных иммуноглобулинов класса М и G к антигенам *C. burnetii* использовали наборы реагентов: «Coxiella burnetii ELISA

IgM» и «Coxiella burnetii ELISA IgG» («Vircell», Испания), а также «Coxiella burnetii (Q-fever) phase 2 IgM» и «Coxiella burnetii (Q-fever) phase 2 IgG» («Institut Virion/Serion GmbH», Германия).

Среди пациентов, включенных в исследование, были выделены 2 группы: положительные по результатам ПЦР-анализа (МГМ+) – эту группу составили 34 пациента, в мокроте которых обнаружен генетический маркер возбудителя лихорадки Ку; в группу сравнения (МГМ-) включены 198 больных, у которых отсутствовали генетические и серологические маркеры *C. burnetii*.

Противотуберкулезную терапию проводили в соответствии с актуальными клиническими рекомендациями [22] на основании индивидуальных результатов определения лекарственной устойчивости возбудителя: по режимам для лекарственно-чувствительного туберкулеза, для туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ-ТБ), для туберкулеза с пре-широкой лекарственной устойчивостью (пре-ШЛУ-ТБ). Основой режимов химиотерапии для МЛУ/пре-ШЛУ-ТБ, включающих пять-шесть противотуберкулезных препаратов, служило сочетание моксифлоксацин/левофлоксацин, беклавитин, линезолид, циклосерин.

Статистическую обработку данных выполняли с использованием стандартного пакета программ Microsoft Excel, Statistica 10.0. При этом определяли такие статистические показатели, как среднюю арифметическую величину ( $M$ ), стандартное отклонение ( $m$ ), стандартную ошибку средней ( $\sigma$ ). При выполнении условий нормальности распределения (тест Колмогорова-Смирнова) статистическую значимость различий ( $p$ ) определяли с помощью  $t$ -критерия Стьюдента,  $\chi^2$  Пирсона, точного теста Фишера (ТТФ), использовали критерий хи-квадрата с поправкой Йетса. Отношение шансов (ОШ) определяли, как отношение шансов события в одной группе к шансам события в другой группе при разных условиях. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** При обследовании с помощью ПЦР-анализа у 34 из 308 (11%) пациентов выборки (МГМ+ группа) в образцах мокроты выявлен генетический маркер *C. burnetii*. В большинстве случаев у 32 больных отмечалась невысокая нагрузка ДНК возбудителя (при постановке ПЦР-РВ значения  $St$  варьировали от 36 до 39 цикла). Тем не менее, положительные результаты по выявлению ДНК-маркера возбудителя лихорадки Ку в исследуемых пробах было воспроизведено в повторных постановках. При этом наличие ДНК *C. burnetii* в мокроте больных туберкулезом подтверждено с помощью секвенирования по фрагменту гена *IS1111* в 9 из 34 (26,5%) анализируемых образцах, положительных по результатам ПЦР-анализа. Данные молекулярно-генетического анализа показали, что полученные в результате секвенирования нуклеотидные последовательности были полностью идентичны последовательностям, полученным нами ранее от больных, поступивших в лихорадящем состоянии в лечебное учреждение г. Новосибирска, в крови которых дополнительно были выявлены антитела к возбудителю лихорадки Ку. Этот факт еще раз может свидетельствовать о циркуляции возбудителя *C. burnetii*, о существовании очагов этой инфекции (природных или антропоургических), о контакте людей и, вследствие чего, развитие коксиеллеза



среди жителей сибирского региона [1].

В работе А.Н. Вяжевич и соавт. [1] также как и наличие заболевания лихорадкой Ку у части больных туберкулезом было подтверждено в результате проведения серологических исследований. Наличие специфических антител к антигенам возбудителя коксиеллеза было обнаружено у 11 из 34 (32,4%) обследованных больных, содержащих ДНК-маркер *C. burnetii*: у 4 пациентов с помощью ИФА выявлены антитела класса М, у 5 – класса G, у 2 пациентов выявлены одновременно М и G. Наличие серологических маркеров возбудителя коксиеллеза в образцах крови туберкулезных больных было подтверждено с помощью ИФА-тестов двух производителей («Vircell», Испания, и «Institut Virion/Serion GmbH», Германия). Еще у 2-х пациентов этой группы в ИФА отмечался неопределенный результат по наличию IgM. Однако, у 3 (8,8%) пациентов, в мокроте которых детектирована ДНК *C. burnetii*, серодиагностика не была проведена (не произведен забор крови), что отчасти снизило возможность сравнения результатов и сопоставления диагностической значимости двух методов исследования.

В крови 18 из 34 (52,9%) больных этой группы серологические маркеры не выявлены. При этом следует отметить, что у этих пациентов с помощью ИФА были проанализированы только образцы первичной сыворотки, то есть без возможности отслеживания серологических маркеров в динамике. Отрицательный результат, полученный в период взятия крови, не исключает вероятность дальнейшего появления антител к возбудителю коксиеллеза в последующем периоде течения сочетанной инфекции. Кроме того, необходимо делать определенную поправку на тот факт, что мы пытаемся оценить формирование иммунного ответа на возбудитель Ку-лихорадки у больных туберкулезом – заболевание, которое может существенно влиять, как на клеточный, так и на гуморальный ответ при сочетании со второй присоединяющейся инфекцией. Кроме того, необходимо учитывать высокую коморбидность исследуемых, среди которых у каждого пятого пациента туберкулезом отмечалась ВИЧ-инфекция.

Таким образом, положительные результаты, полученные с помощью ПЦР-анализа образцов мокроты, данные, подтверждающие наличие ДНК *C. burnetii* с помощью секвенирования, а также выявление специфических антител к возбудителю лихорадки Ку однозначно свидетельствуют о развитии у ряда больных туберкулезом сочетанной коксиеллезной инфекцией.

Проведенное сопоставление пациентов групп сравнения продемонстрировало отсутствие отличий по некоторым клиническим характеристикам. В группах с МГМ+, МГМ- средний возраст пациентов составил  $43,4 \pm 2,1$  и  $43,3 \pm 0,9$  года, преобладали пациенты в возрасте до 50 лет, жители городов (58,8% и 57,4%), мужчин было 18; 52,9% и 135; 68,2%, ( $p>0,05$ ). Между группами статистически значимые различия по региону проживания не отмечены.

У большинства пациентов МГМ+ и МГМ- было зарегистрировано бактериовыделение (28; 82,4% и 147; 74,2%). МЛУ микобактерий туберкулеза (МБТ), включая пре-ШЛУ, была обнаружена у пациентов МГМ+, МГМ- групп в равном числе случаев (19; 67,9% и 110; 74,8%), ( $p>0,05$ ). Всего было зарегистрировано более

тридцати вариантов различных сочетаний лекарственной устойчивости (ЛУ) МБТ к противотуберкулезным препаратам основного и резервного ряда, различий в распределении пациентов по профилю ЛУ МБТ между группами не установлено.

Группы оказались сопоставимыми и по распространенности туберкулезного процесса, по клиническим формам: у пациентов МГМ+, МГМ- инфильтративный, фиброзно-кавернозный туберкулез и туберкулома встречались с равной частотой (11; 32,4%, 57; 28,9%; 7; 20,6%; 58; 29,3%; 8; 23,5%; 46; 23,2%), реже диагностировали диссеминированный и цирротический туберкулез, казеозную пневмонию (6; 17,6%, 33; 16,7% и 0; 0%, 3; 1,5%; 2; 5,9%, 1; 0,5%), ( $p>0,05$ ).

Между группами установлен ряд отличий. Так, в МГМ+ доля пациентов, у которых срок давности туберкулеза легких не превысил 1 года, была значимо больше, чем в МГМ- (18; 52,9% и 59; 29,8%,  $p=0,011$ ) больных (см. таблицу). Кроме того, в МГМ+ группе по сравнению с МГМ- больше было пациентов с деструктивными процессами (24; 70,6% и 101; 51%,  $p=0,041$ ).

Согласно современным представлениям, для лихорадки Ку характерно широкое разнообразие клинических проявлений заболевания и отсутствие патогномоничных признаков, что затрудняет своевременную диагностику и лечение. Одним из основных общепризнанных проявлений заболевания является лихорадка, которая без лечения может длительно (до 8 недель) сохраняться. Как правило, лихорадочный период сопровождается интоксикационным синдромом [8]. В нашей выборке при поступлении в стационар в МГМ+ по сравнению с МГМ- значимо больше было пациентов с выраженной клинической симптоматикой: с жалобами на лихорадку и другие симптомы интоксикации (слабость, головная боль, миалгия, повышенная потливость в ночные часы), с повышенными значениями СОЭ в общем анализе крови (24; 70,6% и 98; 49,5%,  $p=0,026$ ) (см. таблицу). Следует отметить, что у пациентов в группе МГМ+ преобладала субфебрильная температура, преимущественно в вечернее и ночное время, то есть гипертермия, характерная скорее для туберкулезного процесса, чем для острого коксиеллеза. Этот факт может свидетельствовать о возможном доминировании туберкулеза при сочетанной с Ку-лихорадкой инфекцией.

В МГМ+ группе в сравнении с МГМ- значимо больше было пациентов с сопутствующими заболеваниями (31; 91,2% и 150; 75,8%,  $p=0,046$ ). Среди этих заболеваний гипертоническая болезнь (преимущественно 2 степени) и эндокринные заболевания (преимущественно сахарный диабет) установлены у большей доли пациентов МГМ+ группы в сравнении с МГМ- группой (11; 32,4% и 8; 23,5%; 30; 15,2% и 16; 8,1%,  $p=0,026$  и  $p=0,012$ ).

Среди обследуемых преобладали пациенты с высокой коморбидностью. По спектру коморбидных заболеваний различия между группами были минимальны. Наиболее частыми сопутствующими заболеваниями у пациентов МГМ+ группы стали вирусные гепатиты В, С (38,2%), гипертоническая болезнь (32,4%), ВИЧ-инфекция (29,4%), хронические анемии (29,4%), эндокринные заболевания (23,5%), заболевания моче-

половой системы (20,6%). У пациентов МГМ- лидировали также вирусные гепатиты В, С (24,7%), чуть реже встречались хронические анемии (22,2%), с одинаковой

частотой (21,2%) регистрировались ВИЧ-инфекция, эндокринные заболевания и заболевания ЛОР органов (преимущественно нейросенсорная тугоухость).

**Значимые различия между пациентами с наличием генетических маркеров лихорадки Ку и пациентами с отсутствием биомаркеров (МГМ+, МГМ- группы)**

Показатель	МГМ+ группа (n=34)	МГМ- группа (n=198)	p	ОШ	ДИ 95%
	Абс./ %	Абс./ %			
Давность туберкулезного процесса до 1 года	18/52,9	59/29,8	0,011	2,65	1,27–5,55
Процессы с наличием полостей распада в легких	24/70,6	101/51	0,041	2,3	1,05 – 5,07
Выраженная клиническая симптоматика	24/70,6	98/49,5	0,026	2,45	1,11 – 5,39
Гепатолиенальный синдром	14 /41,2	44/22,2	0,03	2,45	1,14 – 5,24
Сопутствующие заболевания	31 /91,2	150/75,8	0,046	3,31	0,97 – 11,3
Из них: ГБ 2 степени	11/32,4	30/15,2	0,026	2,68	1,18 – 6,06
Из них: эндокринные заболевания	8/ 23,5	16 /8,1	0,012	3,5	1,36 – 8,99

Следует подчеркнуть отчетливую тенденцию к повышению в группе МГМ+ по сравнению с МГМ- доли пациентов с сочетанием ТБ/гепатит и ТБ/ВИЧ-и/гепатит (38,2% и 24,7%; 26,5% и 15,2%,  $p>0,05$ ). Гепатит у всех пациентов протекал в безжелтушной форме, бессимптомно, с нормальными значениями билирубина в сыворотке крови и проявлялся, преимущественно, синдромом цитолиза – повышением активности аминотрансфераз, преимущественно, умеренной степени выраженности (АЛТ в диапазоне от 76 до 221 Ед/л; АСТ - от 61 до 237 Ед/л). Увеличение размеров печени и селезенки, по данным пальпации и УЗИ, зарегистрировано у большинства пациентов с коинфекцией ТБ/ВИЧ-и, ТБ/ВИЧ-и/гепатит, доля пациентов с гепатолиенальным синдромом в МГМ+ по сравнению с МГМ- была большей (14; 41,2%; 44; 22,2%,  $p=0,03$ ).

Сопоставление пациентов МГМ+ и МГМ- групп по другим, характерным для лихорадки Ку клиническим признакам, продемонстрировало отсутствие отличий. Так, гиперемия лица и инъекции сосудов склер, экзантема (в виде необильных пятнисто-папулезных элементов на туловище и животе) практически отсутствовали в МГМ+ и МГМ- группах (0; 0% и 1; 0,05%; 0; 0% и 2; 0,1%, ( $p>0,05$ )). Группы МГМ+ и МГМ- оказались сопоставимы и по числу пациентов с респираторными симптомами: кашлем, отделением мокроты и одышкой (28; 82,4%, 24; 70,5%, и 17; 50%, 140; 70,7%, 134; 67,7%, и 112; 56,6%,  $p>0,05$ ).

При анализе лабораторных показателей у пациентов МГМ+ и МГМ- отличий также не установлено. Так, при поступлении в стационар изменения в общем анализе крови (умеренный лимфоцитоз/моноцитоз/тромбоцитопения) и отклонения в общем анализе мочи (гематурия/протеинурия) были зарегистрированы у равного числа пациентов МГМ+ и МГМ- (14 (41,2%) и 13 (38,2%); 67 (33,8%) и 53 (26,8%),  $p>0,05$ ).

**Обсуждение.** Широкое распространение и невысокая эффективность лечения туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью, с социально-значимыми инфекциями (ВИЧ, вирусные гепатиты), требуют своевременной диагностики других коморбидных заболеваний, в том числе, лихорадки Ку, которая при отсутствии адекватного этиотропного лечения часто переходит в хроническую форму. В настоящее время в России отсутствует полное представление о реаль-

ном числе больных с коинфекцией туберкулез/лихорадка Ку. Проведенное нами исследование является единственной во фтизиатрии клинической работой, посвященной анализу результатов этиологической диагностики лихорадки Ку и выявлению клинических особенностей больных туберкулезом органов дыхания с выявленными генетическими маркерами лихорадки Ку.

Оценка эпидемиологических данных, проведенный нами анализ данных опросника, свидетельствуют о многочисленности пациентов туберкулезом, которых следует отнести к группам риска по лихорадке Ку. Результаты исследования могут служить подтверждением высокой вероятности всех известных путей передачи инфекции и существования природных очагов лихорадки Ку в субъектах Сибирского и Дальневосточного федеральных округов – местах проживания обследуемых пациентов.

Применение комплексного исследования, включающего молекулярно-генетические и серологические методы, позволило выявить у 11% больных туберкулезом ДНК-маркеры *C. burnetii*. Наши результаты согласуются с данными, представленными в литературе ранее, которые свидетельствуют об информативности указанного комплекса методов для диагностики лихорадки Ку у пациентов туберкулезом и высокой встречаемости такого сочетания. Положительные результаты, полученные с помощью ПЦР-анализа образцов мокроты исследуемых пациентов с туберкулезом, данные, подтверждающие наличие ДНК *C. burnetii* с помощью секвенирования, а также выявление специфических антител к возбудителю лихорадки Ку, с большой долей вероятности свидетельствуют о развитии у ряда больных туберкулезом сочетанной коксиеллезной инфекции.

Проведенное исследование показало, что туберкулезная инфекция у пациентов с наличием генетического маркера *C. burnetii* в целом характеризуется большей выраженностью клинической симптоматики и большей частотой деструктивных изменений в легочной ткани (в 70,6%), меньшей длительностью (менее 1 года) заболевания (в 52,9%); высокой коморбидностью (в 91,2%). У пациентов с наличием в мокроте ДНК возбудителя лихорадки Ку в сравнении с пациентами с отсутствием биомаркеров наблюдалась тенденция к увеличению доли вирусных гепатитов В, С и ВИЧ-инфекции. Предполагаем, что установленные между группами различия

были обусловлены влиянием коморбидного заболевания – коксиеллеза, что требует настороженности фтизиатров, проведения ПЦР-диагностики и серологических исследований.

**Заключение.** Учитывая полиморфную симптоматику лихорадки Ку, отсутствие патогномичных признаков заболевания, отрицательное влияние на течение специфического процесса, высока значимость своевременной диагностики этой инфекции у пациентов туберкулезом, которая должна основываться на результатах молекулярно-генетических и серологических исследований биологических сред пациента.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Вяжнев А.Н., Краснова Е.И., Бондаренко Е.И., Криницина Э.В., Хохлова Н.И., Позднякова Л.Л. и др. Клинико-лабораторная характеристика лихорадки Ку в Новосибирской области. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2024; 14(2): 38-44. DOI: 10.18565/epidem.2024.14.2.38-44.
2. Бондаренко Е.И., Вяжнев А.Н., Демина О.К., Офицеров В.И., Позднякова Л.Л., Краснова Е.И. Доля коксиеллеза среди инфекций, выявленных у пациентов с лихорадкой неясного генеза в Новосибирской области. Сборник материалов XI конференции «Молекулярная диагностика - 2023». М.: АО САЙЕНС МЕДИА ПРОДЖЕКТС; 2023: 238-40.
3. McQuiston J.H., Holman R.C., McCall C.L., Childs J.E., Swardlow D.L., Thompson H.A. National surveillance and the epidemiology of human Q fever in the United States, 1978-2004. *Am. J. Trop. Hyg.* 2006; 75: 36-40.
4. Романов А.В., Бондаренко Е.И., Повторейко А.В., Прохоров И.Ю., Оконецникова В.Ю. Случаи выявления заболевания лихорадкой Ку среди больных пневмонией в Псковской области. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (4): 272-8. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-4-272-278 EDN: NVZDOO.
5. Авдеев С.Н., Дехнич А.В., Зайцев А.А., Козлов Р.С., Рачина С.А., Руднов В.А. и др. Внебольничная пневмония: федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению. *Пульмонология*. 2022;32(3): 295-355. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-3-295-355.
6. Anderson A., Bijlmer H., Fournier P.-E., Graves S., Hartzell J., Kersh G.J. et al. Diagnosis and management of Q fever; Recommendations from CDC and the Q Fever Working group. *MMWR Recomm. Rep.* 2013; 62: 1-30.
7. Tokarevich N.K., Panferova Yu.A., Freylikhman O.A. *Coxiella burnetii* in ticks and wild birds. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(2): 377-85.
8. Юшук Н.Д., Венгеров Ю.Я., ред. Инфекционные болезни: национальное руководство. 2-е изд., перераб. и доп. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018.
9. Angelakis E., Raoult D. Q fever. *Vet. Microbiol.* 2010; 140: 297-309.
10. D'amato F., Million M., Edouard S., Delerce J., Robert C., Marrie T., Raoult D. Draft genome sequence of *Coxiella burnetii* Dog Utad, a strain isolated from a dog-related outbreak of Q fever. *New Microbes New Infect.* 2014; 2: 136-7.
11. Guatteo R., Beaudeau F., Berri M., Rodolakis A., Joly A., Seegers H. Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet. Res.* 2006; 37: 827-33.
12. Rodolakis A., Berri M., Hécharde C., Caudron C., Souriau A., Bodier C.C. et al. Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. *J. Dairy Sci.* 2007; 90: 5352-60.
13. Шпынов С.Н., Рудаков Н.В., Зеликман С.Ю. Анализ заболеваемости лихорадкой Ку в Российской Федерации в период с 1957 по 2019 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2021; (3): 141-6. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-141-146.
14. Василенко Н.Ф., Прислегина Д.А., Таран Т.В., Малецкая О.В., Платонов А.Е., Манин Е.А. и др. Особенности проявлений эпидемического процесса клещевых трансмиссивных инфекций на юге России в современный период. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2020; 10(1): 14-20. DOI: 10.18565/epidem.2020.10.1.14-20.
15. Лобан К.М., Лобзин Ю.В., Лукин Е.П. Риккетсиозы человека (руководство для врачей). М.-СПб: ЭЛБИ; 2002.
16. Яковлев Э.А., Борисевич С.В., Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В. Заболеваемость лихорадкой Ку в Российской Федерации и странах Европы: реалии и проблемы. *Эпидемиология: Проблемы особо опасных инфекций*. 2015; 4: 49-54.
17. Федорова Н.И. Эпидемиология и профилактика Ку-риккетсиоза. М.: Медицина; 1968.
18. Бондаренко Е.И., Филимонова Е.С., Краснова Е.И., Криницина Э.В., Ткачев С.Е. Случаи заболевания Ку-лихорадкой, выявленные у жителей Новосибирской области, госпитализированных с подозрением на инфекции, передаваемые клещами. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (4): 229-36.
19. Sumida Y., Kanemasa K., Fukumoto K., Katoh N., Imamura S., Itoh Y., Okanoue T. A case of miliary tuberculosis complicating acute Q fever. *Nihon Shokakibyō Gakkai Zasshi*. 2006; 103(12): 1377-83.
20. Simões S., Santos A., Vaio T., Leitão S., Santo R.M., Costa N. Miliary tuberculosis and Q fever in an immunocompetent patient. *Rev. Port. Pneumol.* 2009; 15(2): 325-9.
21. Бондаренко Е.И., Демина О.К., Кудряшов А.В., Аглетдинов Э.Ф. и др. Биомаркеры ку-лихорадки у больных туберкулезом из трех регионов России. *Новости Вектор-Бест*. 2023; 2 (108): 2-8. (https://vector-best.ru/knowledge/bulletin/).
22. Туберкулез у взрослых: клинические рекомендации /Российское общество фтизиатров, Национальная ассоциация некоммерческих организаций фтизиатров «Ассоциация фтизиатров». – Москва, 2022. – 112 с.
23. Эргешов А.Э., Черноусова Л.Н., Андреевская С.Н. Новые технологии микробиологической диагностики лекарственно-устойчивого туберкулеза. *Вестник РАМН*. 2019; 74(6): 413-22. DOI: 10.15690/vramn1163.
24. Бондаренко Е.И., Кудряшов А.В., Евдокимова Л.С., Ткачев С.Е., Аглетдинов Э.Ф., Шварц Я.Ш., Ставицкая Н.В. Выявление генетических маркеров возбудителя лихорадки Ку в образцах мокроты от больных туберкулезом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (12): 729-38. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-12-729-738.

## REFERENCES

1. Vyazhevich A.N., Krasnova E.I., Bondarenko E.I., Krinitsyna E.V., Khokhlova N.I., Pozdnyakova L.L. Clinical and laboratory characteristics of Q fever in the Novosibirsk Region. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. 2024; 14(2): 38-44. DOI: 10.18565/epidem.2024.14.2.38-44. (in Russian)
2. Bondarenko E.I., Vyazhevich A.N., Demina O.K., Ofitserov V.I., Pozdnyakova L.L., Krasnova E.I. The share of Coxiellosis among infections detected in patients with fever of unknown origin in the Novosibirsk region. Collection of materials of the XI conference «Molecular diagnostics - 2023». Moscow: SAIENCE MEDIA PROJECTS; 2023: 238-40. (in Russian)
3. McQuiston J.H., Holman R.C., McCall C.L., Childs J.E., Swardlow D.L., Thompson H.A. National surveillance and the epidemiology of human Q fever in the United States, 1978-2004. *Am. J. Trop. Hyg.* 2006; 75: 36-40.
4. Romanov A.V., Bondarenko E.I., Povtoreyko A.V., Prokhorov I.Yu., Okonechnikova V.Yu. Cases of detection of Q fever in patients with pneumonia in the Pskov region. *Klinicheskaya laboratornaya Diagnostika*. 2025; 70 (4): 272-8. (in Russian)
5. Avdeev S.N., Dekhnich A.V., Zaytsev A.A., Kozlov R.S., Rachina S.A., Rudnov V.A. et al. Federal guidelines on diagnosis and treatment of community-acquired pneumonia. *Pul'monologiya*. 2022; 32(3): 295-355. DOI: 10.18093/0869-0189-2022-32-3-295-355. (in Russian)
6. Anderson A., Bijlmer H., Fournier P.-E., Graves S., Hartzell J., Kersh G.J. et al. Diagnosis and management of Q fever; Recommendations from CDC and the Q fever working group. *MMWR Recomm. Rep.* 2013; 62: 1-30.
7. Tokarevich N.K., Panferova Yu.A., Freylikhman O.A. *Coxiella burnetii* in ticks and wild birds. *Ticks Tick Borne Dis.* 2019; 10(2): 377-85.
8. Yushchuk N.D., Vengerov Yu.Ya., eds. Communicable diseases: national guidelines. 2<sup>nd</sup> ed. Moscow: GEOTAR-Media; 2018. (in Russian)
9. Angelakis E., Raoult D. Q fever. *Vet. Microbiol.* 2010; 140: 297-309.
10. D'amato F., Million M., Edouard S., Delerce J., Robert C., Marrie T.,



- Raoult D. Draft genome sequence of *Coxiella burnetii* dog utad, a strain isolated from a dog-related outbreak of Q fever. *New Microbes New Infect.* 2014; 2: 136-7.
11. Guatteo R., Beaudeau F., Berri M., Rodolakis A., Joly A., Seegers H. Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. *Vet. Res.* 2006; 37: 827-33.
  12. Rodolakis A., Berri M., Héchard C., Caudron C., Souriau A., Bodier C.C. et al. Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. *J. Dairy Sci.* 2007; 90: 5352-60.
  13. Shpynov S.N., Rudakov N.V., Zelikman S.Yu. Analysis of Q fever incidence in the Russian Federation between 1957 and 2019. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2021; (3): 141–6. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3- 141-146. (in Russian)
  14. Vasilenko N.F., Prislegina D.A., Taran T.V., Maleckaya O.V., Platonov A.E., Manin E.A. et al. Features of manifestations of epidemic process of tick-borne transmissible infections in the south of Russia during the modern period. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. Aktual'nye vo-prosy.* 2020; 10(1): 14–20. DOI: 10.18565/epidem.2020.10.1.14-20. (in Russian)
  15. Loban K.M., Lobzin Yu.V., Lukin E.P. Human rickettsiosis (a guide for doctors). Moscow-St.Petersburg: ALBI; 2002. (in Russian)
  16. Yakovlev E.A., Borisevich S.V., Popova A.Yu., Ezhlova E.B., Demina Yu.V. Incidence of Q fever in the Russian Federation and European countries: realities and problems. *Epidemiologiya: Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2015; 4: 49-54. (in Russian)
  17. Fedorova N.I. Epidemiology and prevention of Ku-rickettsiosis. Moscow: Meditsina; 1968. (in Russian)
  18. Bondarenko E.I., Filimonova E.S., Krasnova E.I., Krinitsina E.V., Tkachev S.E. Cases of Q fever detected in residents of the novosibirsk region hospitalized with suspicion of infections transmitted by ticks. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2021; 66 (4): 229-36. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-4-229-236. (in Russian)
  19. Sumida Y., Kanemasa K., Fukumoto K., Katoh N., Imamura S., Itoh Y., Okanoue T. A case of miliary tuberculosis complicating acute Q fever. *Nihon Shokakibyo Gakkai Zasshi.* 2006; 103(12):1377–83.
  20. Simões S., Santos A., Vaio T., Leitão S., Santo R.M., Costa N. Miliary tuberculosis and Q fever in an immunocompetent patient. *Rev. Port. Pneumol.* 2009; 15(2): 325–9.
  21. Bondarenko E.I., Demina O.K., Kudryashov A.V., Agletdinov E.F. et al. Biomarkers of Q fever in patients with tuberculosis from three regions of Russia. *Novosti Vector-Best.* 2023; 108 (2): 2-8. (<https://vector-best.ru/knowledge/bulletin/>). (in Russian)
  22. Tuberculosis in adults: clinical guidelines / Russian society of phthisiatrists, National association of non-profit organizations of phthisiatricians "Association of phthisiatricians". - Moscow; 2022. – 112 P. (in Russian)
  23. Ergeshov A.E., Chernousova L.N., Andreevskaya S.N. New technologies for diagnosing drug-resistant tuberculosis. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk.* 2019, 74(6): 413–22. DOI: 10.15690/vramn1163. (in Russian)
  24. Bondarenko E.I., Kudryashov A.V., Evdokimova L.S., Tkachev S.E., Agletdinov E.F., Schwartz Y.S., Stavitskaya N.V. Identification of genetic markers of the Q fever agent in sputum samples from tuberculosis patients. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika.* 2022; 67 (12): 729-38. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-12-729-738. (in Russian)



## ОРГАНИЗАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ СЛУЖБЫ



<https://elibrary.ru/rdvifi>

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Половец Н.В., Липницкий А.В., Муругова А.А.

### О ПРОБЛЕМЕ КЛИНИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЭНДЕМИЧЕСКИХ МИКОЗОВ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (обзор литературы)

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, 400066, Волгоград, Россия

Эндемические особо опасные микозы в последнее время регистрируют во многих регионах мира. Диморфные грибы-возбудители этих микозов обитают преимущественно в почвах на территориях Северной и Южной Америки, Африки. Объективная информация по обнаружению этих грибов в России отсутствует. Представлен анализ публикаций последнего десятилетия по клинической лабораторной диагностике в России случаев трех эндемических микозов (кокцидиоидомикоза, гистоплазмоза, бластомикоза). Диагноз основан на выявлении элементов дрожжевой фазы предполагаемых возбудителей в тканях пациентов. Идентификация этих грибов в клинических образцах на основании только результатов микроскопии может быть ошибочной в связи со схожей морфологией других грибов. Точный диагноз эндемических микозов в России должен быть верифицирован выделением штамма возбудителя и подтвержден молекулярно-генетическими, иммунологическими, протеомными методами в референс-центре по мониторингу за особо опасными микозами.

**Ключевые слова:** эндемические микозы; кокцидиоидомикоз; гистоплазмоз; бластомикоз

**Для цитирования:** Половец Н.В., Липницкий А.В., Муругова А.А. О проблеме клинической лабораторной диагностики эндемических микозов в Российской Федерации (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70 (8): 566-573.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-566-573>

EDN: RDVIFI

**Для корреспонденции:** Половец Надежда Васильевна, канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаборатории особо опасных микозов; e-mail: [vyu-nadezhda@yandex.ru](mailto:vyu-nadezhda@yandex.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 23.04.2025

Принята к печати 20.06.2025

Опубликовано 25.07.2025

*Polovets N.V., Lipnitsky A.V., Murugova A.A.*

### ON PROBLEM OF CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS OF ENDEMIC MYCOSES IN THE RUSSIAN FEDERATION (review of literature)

Federal Government Health Institution Volgograd Plague Control Research Institute of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, 400066, Volgograd, Russia

Endemic systemic mycoses are recently emerging in many regions of the world. Dimorphic fungi, the causative agents of these mycoses inhabit the external environment mainly in the territories of North and South America, Africa. There is no objective information on the existence of these fungi in Russia. The article presents an analysis of publications of the last decade on clinical diagnostics of cases of three dimorphic mycoses (coccidioidomycosis, histoplasmosis, blastomycosis) in Russia. The diagnosis was based on the detection of yeast phase elements of the suspected pathogens in the tissues of patients. However, the identification of these fungi in clinical samples based only on microscopy results may be erroneous due to the similar morphology of other fungi. An accurate diagnosis of endemic mycoses in Russia and Northern Eurasia should be verified by isolating the pathogen strain and confirmed by molecular genetic, immunological and proteomic methods in a reference center for monitoring of particularly dangerous mycoses.

**Key words:** endemic mycoses; coccidioidomycosis; histoplasmosis; blastomycosis

**For citation:** Polovets N.V., Lipnitsky A.V., Murugova A.A. On problem of clinical laboratory diagnostics of endemic mycoses in the Russian Federation (review of literature). *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70 (8): 566-573 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-566-573>

EDN: RDVIFI

**For correspondence:** Polovets Nadezhda Vasilievna, Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, laboratory of particularly dangerous mycoses; e-mail: [vyu-nadezhda@yandex.ru](mailto:vyu-nadezhda@yandex.ru)

#### Information about authors:

Polovets N.V., <https://orcid.org/0000-0001-7823-2301>;

Lipnitsky A.V., <https://orcid.org/0000-0001-7249-1820>;

Murugova A.A., <https://orcid.org/0000-0001-7744-4441>.

**Conflict of interests.** The authors declare absence of conflict of interest.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

Received 23.04.2025

Accepted 20.06.2025

Published 25.07.2025

**Введение.** Эндемические (особо опасные) микозы (кокцидиомикоз, гистоплазмоз, бластомикоз) представляют актуальную проблему здравоохранения ряда стран мира [1-6]. В регионах, где автохтонные случаи микозов не доказаны, заболеваемость, в подавляющем большинстве, связана с путешественниками, ранее побывавшими в эндемичных по особо опасным микозам (ОМ) областях. К группе риска относят туристов, совершающих экскурсии в пещеры, где обитают летучие мыши; строителей, шахтеров, археологов, фермеров и лиц, чья трудовая деятельность связана с почвой [7-11]. Аэрогенный путь инфицирования, как правило, является ведущим.

Все возбудители ОМ характеризуются диморфизмом, т. е. в организме инфицированных людей и животных их мицелиальная фаза в условиях повышения температуры до 37 °С трансформируется в дрожжеподобную (паразитическую) фазу. В этой фазе развития грибок не обладает устойчивостью к факторам внешней среды, возможность передачи заболевания от больного человека к здоровому практически отсутствует. Основой клинической лабораторной диагностики ОМ является выделение чистой культуры и установление диморфизма возбудителей путем культивирования *in vitro* на питательных средах при 25 °С и 37 °С. В качестве вспомогательных используют иммунологические, молекулярно-генетические методы исследования, микроскопию и масс-спектрометрию<sup>1</sup>. Оптимальный метод диагностики зависит от сроков заболевания, клинических проявлений, иммунного статуса пациента и материала, поступившего на исследование. Немаловажную роль играет материально-техническое оснащение лаборатории: при манипуляциях с мицелиальной фазой грибов возникает высокий риск внутрилабораторного заражения [12], поэтому культуральные исследования могут выполняться только с соблюдением дополнительных требований биологической безопасности<sup>2</sup>.

ОМ являются экзотическими заболеваниями для Российской Федерации. В целях оптимизации системы мониторинга, лабораторной диагностики и индикации патогенных биологических агентов на базе Волгоградского научно-исследовательского противочумного института создан Референс-центр по мониторингу за ОМ (далее – Референс-центр). Специалисты Референс-центра проводят анализ, оценку и прогнозирование развития эпидемиологической ситуации в отношении ОМ, оказывают консультативно-методическую и

практическую помощь, осуществляют лабораторную диагностику соответствующих нозологий<sup>3, 4, 5, 6</sup>.

**Цель работы** – повышение осведомленности сотрудников лечебных и научных учреждений, персонала микробиологических и других клинических лабораторий о современных возможностях лабораторной диагностики особо опасных микозов в России.

**Материал и методы.** Поиск информации осуществлён на российском информационно-аналитическом портале eLIBRARY.ru [13] и других русскоязычных сайтах с использованием сочетания следующих ключевых слов: кокцидиомикоз, гистоплазмоз, бластомикоз, паракокцидиомикоз, случай, в России. Проведен анализ 11 публикаций, описывающих клинические случаи кокцидиомикоза, гистоплазмоза и бластомикоза на территории Российской Федерации.

**Результаты.** Публикации в Российской Федерации о клинической лабораторной диагностике кокцидиомикоза (КМ) представлены четырьмя статьями, опубликованными в 2018, 2019, 2024 годах.

В статье Ю.В. Борзовой и соавторов [14] подробно описана клиническая картина заболевания, которое, по-видимому, развилось через 5 дней после возвращения заболевшего в Российскую Федерацию из штата Калифорния, США, но не было своевременно диагностировано. Диагноз КМ поставлен в микологической клинике НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина при исследовании тканей легких после обнаружения паразитической (тканевой) формы *Coccidioides* spp. (сферулы с эндоспорами) при окрашивании биопсийного материала PAS-методом и по Гомори-Грокотт. Микологический характер заболевания подтвержден эффективностью курса лечения антимикотиком итраконазолом. Тот же случай кратко описан в тезисах В.В. Поповой [15]. К сожалению, биологический материал от больной не изучен другими методами.

В статье М.В. Чащиной и соавторов [16] представлен случай легочного КМ у пациента, более 20 лет проживавшего в гиперэндемичном по КМ штате Аризона, США. Отмечено, что возможный первичный диагноз КМ не был верифицирован в США в 2022 году, и дальнейшее обследование происходило в Российской Федерации. При исследовании криобиоптата легочной ткани заподозрен туберкулезный генез заболевания. На основе гистологической картины удаленной части легкого подтвержден диагноз очагового туберкулеза

<sup>1</sup> МУК 4.2.3854-23 «Лабораторная диагностика особо опасных микозов». Организация и проведение в лабораториях различного уровня: Методические указания. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023(далее - МУК 4.2.3854-23).

<sup>2</sup> СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», утвержденные постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4 (зарегистрировано Минюстом России 15.02.2021, регистрационный № 62500), с изменениями, внесенными постановлениями Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 11.02.2022 № 5 (зарегистрировано Минюстом России 01.03.2022, регистрационный № 67587), от 25.05.2022 № 16 (зарегистрировано Минюстом России 21.06.2022, регистрационный № №68934) (далее - СанПиН 3.3686-21).

<sup>3</sup> Федеральный закон от 30.12.2020 г. № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации».

<sup>4</sup> Приказ Роспотребнадзора от 01.12.2017 г. № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации».

<sup>5</sup> Приказ Роспотребнадзора от 15.04.2024 г. № 285 «О внесении изменений в приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 01.12.2017 г. № 1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации».

<sup>6</sup> «Положение об эпидемиологическом мониторинге за инфекционными и паразитарными болезнями» утвержденное Руководителем Роспотребнадзора 28.11.2023 г.

легких и рекомендована противотуберкулезная терапия. В связи с отсутствием положительной динамики после 1,5 месяцев лечения и с учетом возможного инфицирования КМ в США проведено повторное исследование. При окрашивании по Грокотт и PAS-реакции обнаружены сферулы *Coccidioides*, содержащие многочисленные эндоспоры. Диагноз туберкулеза исключен и поставлен диагноз КМ. Терапия антимикотиком флюконазолом оказалась неэффективной в связи с предполагаемой авторами высокой резистентностью к нему возбудителя. При последующем лечении другим антимикотиком (вориконазолом) отмечена положительная динамика.

О диагнозе КМ в результате случайной находки при проведении судебно-гистологической экспертизы аутопсийного материала, когда «были обнаружены одиночные и сгруппированные круглые сферулы с многочисленными эндоспорами» сообщают Э.С. Галикберов и соавторы [17]. Учитывая, что с 2020 года у больной зарегистрирована 4Б стадия СПИДа, дифференциальную диагностику КМ следовало провести с самыми различными заболеваниями, в том числе с такими микозами как кандидоз, криптококкоз и пневмоцистоз, дрожжевые клетки возбудителей которых в организме могут быть приняты за сферулы. Неясно, имеются ли у авторов основания для подтверждения инфицирования больной в эндемическом очаге КМ.

Материалы о диагностике КМ при диссеминированном процессе в легких у пациентки, страдающей красной волчанкой, приводятся в работе Е.А. Бараниченко Е.А. и соавторов [18]. Авторы отмечают, что заболевание развилось в 2015 году после отдыха в г. Сочи, и предполагают, что «заражающие частицы привезены туристами из эндемического очага с предметами обихода, а хорошие климатические условия сохранили их жизнеспособность на время, достаточное для заражения пациентки» или «другим возможным источником заражения мог быть контакт с вещами родных больной, которые проживают в Калифорнии и регулярно приезжают в Россию». В статье приводятся сведения о том, что гистологические препараты биопсийного материала больного исследованы в 2017 году в Калифорнии и сделано заключение, что они «высокоподозрительны на кокцидиоидомикоз». Диагноз КМ подтвержден в НИИ медицинской микологии им. П.Н. Кашкина. После курса антимикотической терапии состояние больной улучшилось.

По нашему мнению, предположения об инфицировании КМ через какие-либо объекты внешней среды или предметы обихода, контаминированные возбудителем КМ в эндемическом очаге на территории Америки и затем привезенные в Россию, требуют подтверждения.

Единственный аналитический обзор, посвященный предполагаемой передаче возбудителя КМ через объекты внешней среды, опубликован еще в 1969 году Р.Е. Rothman и соавторами [19]. Авторы охарактеризовали 40 случаев КМ, из которых 23 произошли в известных эндемических регионах США, а 17 - вне их, но в основном на территории этой страны. В одном случае за пределами эндемической зоны заболевание не подтверждено выделением возбудителя КМ. Описанная В.Н. Echman и соавт. [20] одновременная вспышка КМ у 6 человек обслуживающего медицинского персонала в госпитале

Сан-Фернандо, Калифорния, произошла при контакте с больным диссеминированным КМ, вследствие роста мицелиальной формы под гипсовой повязкой и передачи инфекции при дренировании остеомиелита.

Последняя из известных публикаций о предполагаемом инфицировании возбудителем кокцидиоидомикоза при контакте с домашними вещами датируется 2007 годом. D. Stagliano и соавторы [21] предположили, что заражение трехлетнего иммунокомпрометированного ребенка произошло при контакте с чемоданом и обувью его родственника, недавно вернувшегося из гиперэндемического по КМ штата Аризона, США. Диагноз «кокцидиоидомикоз» подтвержден выделением культуры *C. immitis* из образца крови. Микологическое исследование вещей не проводили. Основанием для определения источника инфекции послужил тот факт, что ребенок «никогда не посещал регионы, эндемичные для *C. immitis*». Действительно, в 2007 году штат Вашингтон не принадлежал к числу эндемичных регионов США. В 2015 году культуры возбудителя КМ выделены из образцов почвы в местах, эпидемиологически связанных с возможным заражением зарегистрированных в штате случаев КМ [22].

Диагноз КМ в анализируемых сообщениях основан на прямом обнаружения сферул в тканях. Установлено, что при этом возможны ошибки, связанные с микроморфологией других микромицетов. По данным, приведенным в «Атласе клинических грибов» [23], близкими по морфологии к зрелым сферулам *Coccidioides* являются сферические клетки *Rhinosporidium* величиной 50-350 мкм и стенками в 3-5 мкм, содержащие многочисленные эндоспоры в 5-12 мкм. Большие сферические клетки (70-500 мкм) с толстыми стенками в 8-17 мкм, названные адиаспорами, характерны для *Emmonsia crescens* (возбудитель адиаспиромикоза). Округлые клетки величиной 4-7 мкм характерны для цист возбудителей пневмоцистоза (*Pneumocystis carinii*, *P. jirovecii*) - частого заболевания при СПИДе.

Анализу подвергнуты два сообщения по гистоплазмозу. В статье Г.П. Титовой и соавт. [24] описан клинический случай диссеминированного гистоплазмоза у реципиента трансплантированной почки. Посмертным донором был мужчина, умерший от нарушения мозгового кровообращения. Авторы не приводят данных эпидемиологического анамнеза донора, которые могли бы свидетельствовать о его пребывании в эндемическом регионе гистоплазмоза, хотя известно, что манифестация этого заболевания иногда происходит спустя много лет после инфицирования даже при отсутствии предшествующих клинических проявлений. На 74-е сутки после трансплантации у пациента отмечено ухудшение состояния. По результатам рентгенографии органов грудной клетки выявлены множественные очаги в легких, а при ультразвуковом исследовании органов брюшной полости - диффузные изменения печени, приведшие к смерти пациента. Патологоанатомическое вскрытие, по мнению авторов, «позволило выявить грибковую инфекцию *Histoplasma capsulatum* с клетками грибка в виде одиночных дрожжевых форм, крупных колоний и инвазии в просвете кровеносных сосудов, приведших к генерализации инфекции». При описании выявленных клеток («скопление» спор грибка», «микроспора») использованы неточные термины



поскольку в организме человека этот гриб может быть обнаружен в дрожжевой фазе, а споры (правильнее, макро- или микроконидии) являются элементами мицелиальной фазы гриба во внешней среде или в условиях культивирования на питательных средах при комнатной температуре. Необходимо обратить внимание на то, что, авторы отмечают отсутствие эндемичности гистоплазмоза в России и считают его «крайне редким заболеванием», его автохтонность в нашей стране вообще не доказана. Нельзя и признать его возбудителя «условно-патогенным» грибом, поскольку гистоплазмоз относится к группе первичных, а не оппортунистических микозов.

В.И. Шевцовым и соавторами [25] описан «редкий случай гистоплазмоза в ортопедии». Патоморфологическое исследование позволило авторам установить диагноз на основе обнаруженного в макрофагах «большого количества гистоплазм». Сведений о месте инфицирования возбудителем гистоплазмоза не приводится. Известно, что патогистологическое исследование при гистоплазмозе рассматривается лишь как дополнительный метод клинко-лабораторной диагностики, поскольку в организме больных могут быть обнаружены близкие по морфологии с возбудителем гистоплазмоза дрожжевые и дрожжеподобные грибы (*Blastomyces* spp., *Cryptococcus* spp., *Candida* spp. и др.). Это особенно важно учитывать при диссеминированной форме гистоплазмоза, обычно развивающейся в условиях иммуносупрессии. При идентификации возбудителя гистоплазмоза в настоящее время следует иметь в виду, что помимо распространенного во всем мире *H. capsulatum*, только на африканском континенте встречается вид *H. duboisii*, вызывающий клинически своеобразное заболевание «африканский гистоплазмоз» [26].

В последние два десятилетия обнаружены новые виды диморфных грибов, образовавшие род *Emergomyces* (*E. canadensis*, *E. europaeus*, *E. africanus*, *E. orientalis*, *E. pasterianus*). Их дифференциальный диагноз включает известные эндемические микозы, особенно гистоплазмоз [27]. Распространение эмергомикозов в мире пока недостаточно изучено, но установлено, что они вызывают диссеминированные формы заболевания, преимущественно у иммунокомпрометированных лиц.

Проанализированы три публикации, связанные с клинической лабораторной диагностикой бластомикоза в Российской Федерации. При рассмотрении случая глубокого бластомикоза кожи М.Н. Гаджимурадовым и соавт. [28] отмечено, что в доступной литературе «описание бластомикоза датируется вплоть до 50-х годов». При этом устанавливается диагноз изученного случая «североамериканского бластомикоза», хотя это наименование устарело и, в настоящее время, используется только термин «бластомикоз». По тексту ошибочно указывается, что «двухфазный характер манифестации» возбудителя (*Blastomyces dermatitidis*) позволяет дифференцировать его с другими патогенными грибами (*Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*), которые в культуре растут только в одной форме». Если в отношении *C. neoformans* (возбудитель криптококкоза) это положение справедливо, поскольку гриб развивается только в дрожжевой форме, то *Coccidioides*, безусловно принадлежит, как и *B. dermatitidis*, к группе диморфных (двухфазных) грибов и для дифференциаль-

ной диагностики патогенов между собой самого факта конверсии недостаточно. В то же время отмечается, что «в посеве на агар Сабуро (инкубация при 37 °С с выделением чистой культуры возбудителя) идентифицирован именно мицелий гриба, а не его дрожжеподобная форма. Авторы полагают, что это «казуистически редкое явление» является особенностью выделенной ими культуры возбудителя бластомикоза. Однако точно известно, что конверсия *in vitro* мицелиальной фазы *B. dermatitidis* в дрожжевую на питательных средах достигается простым повышением температуры с 25 °С до 37 °С с образованием дрожжевых морщинистых, складчатых колоний, при микроскопии которых обнаруживаются дрожжевые клетки гриба, аналогичные таковым наблюдаются в тканях организма больных бластомикозом. При этом ключом морфологической характеристики при микроскопии дрожжевой фазы *B. dermatitidis* является почкование с образованием только одной дочерней клетки на широком основании, в отличие от этих признаков у возбудителя гистоплазмоза [29]. В цитируемой работе приведены 2 рисунка из отделяемого в очаге поражения с нитями мицелия и предполагаемыми конидиями, в тексте статьи отмечается, что в «препарате из очага поражения кожи видны нити мицелия, а дрожжевые клетки отсутствуют».

Кратко приведены данные патогистологического исследования одного случая, в котором диагностика бластомикоза основана на выявлении в очаге поражения дрожжевой микрофлоры [30]. В более поздней работе тех же авторов, «посвященной диагностике хронического остеомиелита» [31], они воздерживаются от точного установления такого диагноза, указывая на возможность «осложнения микозной инфекции». При исследовании «микробного пейзажа» отделяемого только в трех случаях из 28 выявлены «дрожжеподобные грибы», которые отнесены ими к роду *Candida*.

Е.В. Балацок и соавторы [32] приводят случай «гематогенно-диссеминированного бластомикоза у ВИЧ-инфицированного больного» при исследовании клинко-морфологического материала умершего мужчины 35 лет с клиническим диагнозом «ВИЧ-инфекция, 4В стадия» и посмертного «ВИЧ-инфекция с проявлениями микобактериальной инфекции». Основой для диагноза бластомикоза явились выявленные в срезах многих органов и мягкой мозговой оболочки «сферические тела различной величины, светлые с тонким базофильным ободком цитоплазмы - сходные с таковыми при бластомикозе». Авторы отмечают, что обнаруженные морфологические изменения характерны для туберкулеза, который, однако «не был подтвержден ни бактериологически, ни гистологически». Поскольку клинический диагноз бластомикоза может быть только предположительным, его лабораторное подтверждение требует не только обнаружения в материале от больного дрожжевых клеток, но и положительных результатов культивирования *in vitro* при 25 °С и 37 °С.

Бластомикоз наименее изучен среди эндемических микозов. Помимо недостаточных сведений о его географическом распространении, сложной является и его клинко-лабораторная диагностика [33]. В настоящее время, кроме известного ранее единственного возбудителя заболевания - *B. dermatitidis*, клинически значимыми являются и другие виды - *B. gilchristii*, *B.*



*percursus*, *B. helicus*, *B. parvuz*, *B. silverae*. Незначительно отличаясь по морфологии, эти виды, по-видимому, распространены в различных регионах мира и могут вызывать отличающиеся между собой клинические формы бластомикоза [34].

**Обсуждение.** Необходимо отметить, что согласно международным рекомендациям, клиническая лабораторная диагностика ООМ включает в себя исследования, направленные на выделение чистой культуры возбудителей микозов и микроскопию. В качестве вспомогательных используют иммунологические, молекулярно-генетические методы и масс-спектрометрию [35-42]. Утверждение о возможности постановки точного диагноза в эндемичной стране, основываясь лишь на результатах микроскопии и гистологического исследования, является спорным. Чувствительность и специфичность этих этапов диагностики варьируют в зависимости от клинической формы и тяжести течения заболевания, от специализации и квалификации лиц, проводивших анализ. Отсутствие в Российской Федерации утвержденных клинических рекомендаций по гистоплазмозу, кокцидиоидомикозу, бластомикозу приводит к свободному трактованию критериев установления диагноза/состояния.

Проведенный анализ свидетельствует о том, что общим недостатком рассматриваемых случаев является установление диагноза того или иного эндемического микоза в Российской Федерации лишь на основании микроморфологической характеристики дрожжевой фазы предполагаемого возбудителя заболевания в клиническом материале пациентов. В большинстве работ не приводятся сведения о возможных регионах инфицирования больных возбудителями эндемических микозов вне Российской Федерации, хотя наличие в России автохтонных случаев кокцидиоидомикоза, гистоплазмоза, бластомикоза не доказано. При этом необходимо подчеркнуть, что случаи заболеваний эндемическими микозами в Российской Федерации, а ранее и в республиках СССР, подтвержденные данными об их изоляции и идентификации, на территории нашей страны отсутствуют. Публикации советских микологов в 50-60-х годах прошлого столетия относительно заболеваемости «кокцидиоидомикозом *sui genesis*» не подтверждены при сравнении выделенных культур с возбудителем «классического» кокцидиоидомикоза *Coccidioides immitis* [43].

Ни в одной из работ не представлены материалы по исследованию материала иммунологическими методами.

Информация о рассматриваемых случаях заболевания ООМ в Референс-центр не поступала, не была организована передача материала для верификации проведенных исследований.

В 2023 году специалистами Референс-центра разработаны методические указания (МУК), в которых определен порядок выполнения лабораторных исследований биологического материала от больных и умерших людей, животных с подозрением на инфицированность возбудителями ООМ, смывов с объектов окружающей среды, подозрительных на контаминацию этими микромицетами. Согласно единому алгоритму диагностических исследований, направленных на выявление возбудителей ООМ, лабораторную диагностику микозов

осуществляют с помощью комплекса методов<sup>7</sup>.

По мнению Референс-центра, ввиду отсутствия достоверных сведений о наличии источников возбудителей ООМ, местных случаев заболеваний на территории Российской Федерации и специфических симптомов заболевания, необходимым условием для постановки диагноза «гистоплазмоз», «кокцидиоидомикоз», «паракокцидиоидомикоз» или «бластомикоз» является выделение чистой культуры соответствующего микромицета. Гистологическое исследование позволяет лишь предположить диагноз и ориентировать на проведение дополнительных исследований на микозы, но является недостаточным в связи со схожестью морфологии клеток грибов с другими видами микромицетов (*Pneumocystis*, *Candida*, *Cryptococcus* и др.), и клинической картины вызываемых ими заболеваний. Способы идентификации возбудителей эндемических микозов и вызываемых ими заболеваний в настоящее время существенно дополнены иммунологическими и молекулярно-генетическими методами, протеомным анализом на основе MALDI-ToF масс-спектрометрии. Изоляция культур, как правило, остается единственно достоверным методом их клинико-лабораторной диагностики.

При этом необходимо учитывать, что согласно действующему нормативному правовому акту<sup>8</sup> возбудителей ООМ относят ко II группе патогенности (опасности). Несмотря на то, что кокцидиоидомикоз, гистоплазмоз, бластомикоз, паракокцидиоидомикоз от человека к человеку не передаются, все манипуляции с биологическими образцами, содержащими возбудителей этой группы микозов, в том числе патологоанатомическую работу, необходимо проводить с соблюдением соответствующих требований биологической безопасности. При несоблюдении условий возникает риск внутрилабораторного заражения медицинских работников, проводивших исследования.

Учитывая вышеизложенное, в случаях выявления в медицинских учреждениях Российской Федерации больных с подозрением на эндемические микозы, вызванные микромицетами II группы патогенности необходимо:

Уведомить территориальный орган, уполномоченный осуществлять федеральный государственный санитарно-эпидемиологический надзор по месту выявления больного.

Организовать проведение эпидемиологического расследования, направленного на выявление источника возбудителя.

Организовать проведение консультаций со специалистами Микологического референс-центра Минздрава России и обеспечить сбор и передачу клинического материала от таких пациентов в Референс-центр по мониторингу за ООМ для проведения комплексного лабораторного анализа и (или) подтверждения результатов выполненных ранее исследований.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Cunningham C.A., Brown A.T., Ravi S.N., Bearss J.J., O'Shea M.P., Elshaer A.K. et al. Improving Coccidioidomycosis Testing for

<sup>7</sup> МУК 4.2.3854-23.

<sup>8</sup> СанПин 33686-21.

- Emergency Department Patients With Suspect Community-Acquired Pneumonia: Analysis of Provider Attitudes and the Effect of a Targeted Intervention. *Open Forum Infect. Dis.* 2024; 11(8): ofae461. DOI: 10.1093/ofid/ofae461.
2. Benedict K., Williams S.L., Smith D.J., Lindsley M.D., Lockhart S.R., Toda M. Testing for Blastomycosis, Coccidioidomycosis, and Histoplasmosis at a Major Commercial Laboratory, United States, 2019-2024. *Open Forum Infect. Dis.* 2024; 11(8): ofae448. DOI: 10.1093/ofid/ofae448.
3. Bongomin F., Ekeng B.E., Kwizera R., Salmanton-García J., Kibone W., van Rhijn N. et al. Fungal diseases in Africa: Closing the gaps in diagnosis and treatment through implementation research and advocacy. *J. Mycol. Med.* 2023; 33(4): 101438. DOI: 10.1016/j.mymed.2023.101438
4. Driemeyer C., Falci D.R., Oladele R.O., Bongomin F., Ocansey B.K., Govender N.P. et al. The current state of clinical mycology in Africa: a European Confederation of Medical Mycology and International Society for Human and Animal Mycology survey. *Lancet Microbe.* 2022; 3(6): e464-e470. doi: 10.1016/S2666-5247(21)00190-7
5. Mayfield H., Davila V., Penedo E. Coccidioidomycosis-Related Hospital Visits, Texas, USA, 2016-2021. *Emerg Infect Dis.* 2024; 30(5): 882-89. doi:10.3201/eid3005.231624.
6. Coleman C.I., Donovan F., Miriyapalli L., Shan R., Lovelace B. Burden of Hospitalization for Coccidioidal Meningitis: An Analysis of the National Inpatient Sample, 2019-2021. *Open Forum Infect. Dis.* 2024; 11(12): ofae706. DOI: 10.1093/ofid/ofae706.
7. Korsten K., Altenburg J., Gittelbauer M., van Hengel P., Jansen R., van Dijk K. Coccidioidomycosis presenting years after returning from travel. *Med. Mycol. Case Rep.* 2023; 43: 100623. DOI: 10.1016/j.mmcr.2023.100623
8. Neumayr A., Rickerts V., Ackermann S., Castelblanco F., Kuenzli E., Durovic A. et al. Suspected Acute Pulmonary Coccidioidomycosis in Traveler Returning to Switzerland from Peru. *Emerg Infect Dis.* 2024; 30(11): 2432-5. DOI: 10.3201/eid3011.241034
9. Yao Q.H., Xia X.J., Zhi H.L., Liu Z.H. Extensive erythematous plaques of fungal origin in an overseas student: Cutaneous manifestation of coccidioidomycosis. *Med. Mycol. Case Rep.* 2024; 46: 100674. DOI: 10.1016/j.mmcr.2024.100674
10. de Perio M.A., Benedict K., Williams S.L., Niemeier-Walsh C., Green B.J., Coffey C. et al. Occupational Histoplasmosis: Epidemiology and Prevention Measures. *J. Fungi. (Basel).* 2021; 7(7): 510. DOI: 10.3390/jof7070510.
11. Kundu R., Bansal Y., Singla N. The Zoonotic Potential of Fungal Pathogens: Another Dimension of the One Health Approach. *Diagnostics (Basel, Switzerland).* 2024; 14(18): 2050. DOI: 10.3390/diagnostics14182050.
12. Porte L., Valdivieso F., Wilmes D., Gaete P., Díaz M.C., Thompson L. et al. Laboratory exposure to Coccidioides: lessons learnt in a non-endemic country. *J Hosp Infect.* 2019; 102(4): 461-4. DOI: 10.1016/j.jhin.2019.03.006.
13. <https://www.elibrary.ru>.
14. Борзова Ю.В. Десятик Е.А., Попова В.В., Тимирбаева О.Ю., Богомолова Т.С., Степанова А.А. и др. Первый случай успешного лечения кокцидиоидоза в России. Описание случая и обзор литературы. *Проблемы медицинской микологии.* 2018; 20(4): 10-4.
15. Попова В.В. Кокцидиоидомикоз легких: описание клинического случая. Мечниковские чтения-2018: Материалы Всероссийской научно-практической студенческой конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 25-26 апреля 2018 года. ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И.И. Мечникова». Часть II. СПб: Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова; 2018: 288-9.
16. Чашина М.В., Садовникова С.С., Чесалина Я.О., Бригиневиц В.Е., Багиров М.А. Дифференциальная диагностика кокцидиоидомикоза, манифестированного периферическим образованием легкого. *Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова.* 2024; (8):77-85.
17. Галикберов Э.С., Игумнова Е.В., Ханнанова Р.Л. Кокцидиоидомикоз. Случай из практики. Актуальные вопросы судебной медицины и права: Сборник научно-практических статей. Казань: ГАОУ «Республиканское бюро судебно-медицинской экспертизы Минздрава Республики Татарстан». 2024: 65-9.
18. Бараниченко Е.А., Елькин А.В., Кондакова М.Н., Ковалева Р.Г., Евсеев П.Ю. Сложный случай дифференциальной диагностики диссеминированного процесса в легких у пациентки, страдающей системной красной волчанкой. *Туберкулез и социально значимые заболевания.* 2019; (1): 58-64.
19. Rothman P.E., Graw R.G. Jr., Harris J.C. Jr., Onslow J.M. Coccidioidomycosis-possible fomite transmission. A review and report of a case. *Am. J. Dis. Child.* 1969; 118(5): 792-801.
20. Eckmann B.H., Schaefer G.L., Huppert M. Bedside interhuman transmission of coccidioidomycosis via growth on fomites. An epidemic involving six persons. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1964; 89: 175-85. DOI: 10.1164/arrd.1964.89.2.175.
21. Stagliano D., Epstein J., Hickey P. Fomite-transmitted coccidioidomycosis in an immunocompromised child. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2007; 26(5): 454-6. DOI: 10.1097/01.inf.0000259231.95285.bc.
22. Litvintseva A.P., Marsden-Haug N., Hurst S., Hill H., Gade L., Driebe E.M. et al. Valley fever: finding new places for an old disease: *Coccidioides immitis* found in Washington State soil associated with recent human infection. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60(1): e1-3. DOI: 10.1093/cid/ciu681.
23. de Hoog G.S., Guarro J., Gené J. Atlas of Clinical Fungi: The ultimate benchtool for diagnostics. Part α: Introductions, lower fungi, basidiomycetes, yeasts, filamentous ascomycetes A-B. 4<sup>th</sup> ed. Foundation Atlas of Clinical Fungi. 2020. ISBN: 978-94-93226-12-8.
24. Титова Г.П., Шмарина Н.В., Лазарева К.Е., Нефедова Г.А., Дмитриев И.В., Балкаров А.Г. Клинический случай диссеминированного гистоплазмоза у реципиента почки. *Трансплантология.* 2024; 16(2): 197-208. DOI: 10.23873/2074-0506-2024-16-2-197-208.
25. Шевцов В.И., Мигалкин Н.С., Ключин Н.М., Дегтярев А.И., Лапынин В.Е. Редкий случай гистоплазмоза в ортопедии. *Гений ортопедии.* 2003; 1: 130-1.
26. Azar M.M., Hage C.A. Laboratory diagnostics for Histoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 55(6): 1612-20. DOI: 10.1128/JCM.02430-16.
27. Schwartz I.S., Govender N.P., Sigler L., Jiang Y., Maphanga T.G., Toplis B. et al. Emergomycetes: the global rise of new dimorphic fungal pathogens. *PLoS Pathog.* 2019; 15(9): e1007977. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007977.
28. Гаджимурадов М.Н., Джумалиева М.Д., Гашимова Х.А., Маромедгаджиев Б.Г. Случай глубокого бластомикоза кожи. *Клиническая дерматология и венерология.* 2018; 17(2): 42-5. DOI: 10.17116/klinderma201817242-45.
29. Guarner J., Brandt M.E. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21<sup>st</sup> century. *Clin. Microbiol. Rev.* 2011; 24(2): 247-80. DOI: 10.1128/CMR.00053-10.
30. Ключин Н.М., Судницын А.С., Мигалкин Н.С. Бластомикозный остеомиелит пяточной кости (случай из практики). *Гений ортопедии.* 2016; 3: 84-6. DOI: 10.18019/1028-4427-2016-3-84-86.
31. Судницын А.С., Ключин Н.М., Мигалкин Н.С., Ступина Т.А., Варсегова Т.Н., Науменко З.С., Гаюк В.Д. Диагностика хронического остеомиелита, осложненного микозной инфекцией. *Гений ортопедии.* 2019; 25(4): 528-4. DOI: 10.18019/1028-4427-2019-25-4-528-534.
32. Балацук Е.В., Поддубный В.Б., Анисимова С.В. Случай гематогенно-диссеминированного бластомикоза у ВИЧ-инфицированного больного. Национальные проекты: вызовы и решения: Материалы 55-й межрегиональной научно-практической медицинской конференции, Ульяновск, 14-15 мая 2020 года. Министерство здравоохранения Ульяновской области; ГБУ СПб НИИ скорой помощи им. И.И. Джанелидзе. Ульяновск: Издательство «ИП Петрова Л. В.». 2020; 321-3.
33. Tekin A., Pinevich Y., Herasevich V., Pickering B.W., Vergidis P. et al. Diagnostic delay in pulmonary blastomycosis: a case series reflecting a referral center experience. *Infection.* 2023; 51(1): 193-201. DOI:10.1007/s15010-022-01875-y.
34. Maphanga T.G., Birkhead M., Muñoz J.F., Allam M., Zulu T.G., Cuomo C.A. et al. Human Blastomycosis in South Africa caused by *Blastomyces persicus* and *Blastomyces emzantsi* sp. nov., 1967 to 2014. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(3): e01661-19. DOI: 10.1128/jcm.01661-19.
35. Guidelines for Diagnosing and Managing Disseminated Histoplasmosis among people living with HIV [Internet]. Washington (DC): Pan American Health Organization; 2020 Apr. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587194/>.
36. Thompson G.R. 3<sup>rd</sup>, Le T., Chindamporn A., Kauffman C.A., Alastruey-Izquierdo A., Ampel N.M., Andes D.R. et al. Global guideline for the diagnosis and management of the endemic mycoses:

- an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the International Society for Human and Animal Mycology. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 21(12): e364-e374. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00191-2.
37. García-Martin J.M., Muro A., Fernández-Soto P. Diagnosis of Human Endemic Mycoses Caused by Thermally Dimorphic Fungi: From Classical to Molecular Methods. *J. Fungi (Basel)*. 2024; 6; 10(9): 637. DOI: 10.3390/jof10090637.
  38. Sebro A., Edwards J., Sued O., Lavia L.O., Elder T., Edwards R.J. et al. Implementation of antigen-based diagnostic assays for detection of Histoplasmosis and Cryptococcosis among patients with advanced HIV in Trinidad and Tobago: a cross-sectional study. *J. Fungi (Basel)*. 2024; 10(10): 695. DOI: 10.3390/jof10100695
  39. Fernandez N.B., Cáceres D.H., Serrano J.A., Bonifaz A., Canteros C.E., Suarez-Alvarez R. et al. Proceedings of the second international meeting on endemic mycoses of the Americas (IMEMA) and first international symposium on implantation mycoses (ISIM). *Med. Mycol.* 2024; 62(7): myae054. DOI: 10.1093/mmy/myae054.
  40. Dhar S., Pradhan S., Saha A., Mazumder G., Ghosh S.K., Biswas M. et al. Deep fungal infections of skin and role of histopathology in diagnosis. *Indian J. Dermatol.* 2024; 69(6): 442-52. DOI: 10.4103/ijd.ijd\_419\_23.
  41. Trecourt A., Rabodonirina M., Donzel M., Chapey-Picq E., Bentaher A., Dupont D. et al. *Cryptococcus neoformans/gattii* and *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* infections on tissue sections: Diagnostic pitfalls and relevance of an integrated histomolecular diagnosis. *Med. Mycol.* 2024; 63(1): myae126. DOI: 10.1093/mmy/myae126.
  42. Buitrago M.J., Martín-Gómez M.T. Timely Diagnosis of Histoplasmosis in Non-endemic Countries: A Laboratory Challenge. *Front Microbiol.* 2020; 11: 467. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00467.
  43. Emmons C.W. Fungi which resemble *Coccidioides immitis*. Coccidioidomycosis. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Symposium on Coccidioidomycosis. University of Arizona Press, Tucson; 1967: 333-7.
  9. Yao Q.H., Xia X.J., Zhi H.L., Liu Z.H. Extensive erythematous plaques of fungal origin in an overseas student: Cutaneous manifestation of coccidioidomycosis. *Med. Mycol. Case Rep.* 2024; 46: 100674. DOI: 10.1016/j.mmcr.2024.100674.
  10. de Perio M.A., Benedict K., Williams S.L., Niemeier-Walsh C., Green B.J., Coffey C. et al. Occupational Histoplasmosis: epidemiology and prevention measures. *J. Fungi (Basel)*. 2021; 7(7): 510. DOI: 10.3390/jof7070510.
  11. Kundu R., Bansal Y., Singla N. The zoonotic potential of fungal pathogens: another dimension of the one health approach. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*. 2024; 14(18): 2050. DOI: 10.3390/diagnostics14182050.
  12. Porte L., Valdivieso F., Wilmes D., Gaete P., Díaz M.C., Thompson L. et al. Laboratory exposure to Coccidioides: lessons learnt in a non-endemic country. *J. Hosp. Infect.* 2019; 102(4): 461-4. DOI: 10.1016/j.jhin.2019.03.006.
  13. <https://www.elibrary.ru>
  14. Borzova Yu.V., Desyatik E.A., Popova V.V., Timirbaeva O.Yu., Bogomolova T.S., Stepanova A.A. et al. The first case of successful treatment of coccidioidomycosis in Russia. Case description and literature review. *Problemy meditsinskoy mikologii*. 2018; 20(4): 10-4. (in Russian)
  15. Popova V.V. Pulmonary coccidioidomycosis: description of a clinical case. Mechnikov Readings-2018: Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Student Conference with International Participation, St. Petersburg, April 25-26, 2018. Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education «North-West State Medical University named after I.I. Mechnikov». Volume Part II. St. Petersburg: Severo-Zapadnyi gosudarstvennyi meditsinskiy universitet imeni I.I. Mechnikova. 2018: 288-9. (in Russian)
  16. Chashchina M.V., Sadovnikova S.S., Chesalina Ya.O., Brigrinevich V.E., Bagirov M.A. Differential diagnostics of coccidioidomycosis manifested by peripheral lung formation. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2024; (8): 77-85. DOI: 10.17116/hirurgia202408177. (in Russian)
  17. Galikberov E.S., Igumnova E.V., Khannanova R.L. Coccidioidomycosis. Case from practice. Current issues of forensic medicine and law: Collection of scientific and practical articles. Kazan': State Autonomous Institution of Healthcare «Republican Bureau of Forensic Medical Examination of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan». 2024: 65-9. (in Russian)
  18. Baranichenko E.A., Elkin A.V., Kondakova M.N., Kovaleva R.G., Evseev P.Yu. A complex case of differential diagnostics of disseminated process in the lungs in a patient suffering from systemic lupus erythematosus. *Tuberkulez i sotsial'no zdravnyye zabolevaniya*. 2019; (1): 58-64. (in Russian)
  19. Rothman P.E., Graw R.G.Jr, Harris J.C.Jr, Onslow J.M. Coccidioidomycosis-possible fomite transmission. A review and report of a case. *Am. J. Dis. Child.* 1969; 118(5): 792-801.
  20. Eckmann B.H., Schaefer G.L., Huppert M. Bedside interhuman transmission of coccidioidomycosis via growth on fomites. An epidemic involving six persons. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1964; 89: 175-85. DOI: 10.1164/arrd.1964.89.2.175.
  21. Stagliano D., Epstein J., Hickey P. Fomite-transmitted coccidioidomycosis in an immunocompromised child. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 2007; 26(5): 454-6. DOI: 10.1097/01.inf.0000259231.95285.bc.
  22. Litvinseva A.P., Marsden-Haug N., Hurst S., Hill H., Gade L., Driebe E.M. et al. Valley fever: finding new places for an old disease: *Coccidioides immitis* found in Washington State soil associated with recent human infection. *Clin. Infect. Dis.* 2015; 60(1): e1-3. DOI: 10.1093/cid/ciu681.
  23. de Hoog G.S., Guarro J., Gené J. Atlas of Clinical Fungi: the ultimate benchtool for diagnostics. Part α: Introductions, lower fungi, basidiomycetes, yeasts, filamentous ascomycetes A-B. 4<sup>th</sup> ed. Foundation Atlas of Clinical Fungi. 2020. ISBN: 978-94-93226-12-8.
  24. Titova G.P., Shmarina N.V., Lazareva K.E., Nefedova G.A., Dmitriev I.V., Balkarov A.G. Clinical case of disseminated histoplasmosis in a kidney recipient. *Transplantologiya*. 2024; 16(2):197-208. DOI: 10.23873/2074-0506-2024-16-2-197-208. (in Russian)
  25. Shevtsov V.I., Migalkin N.S., Klyushin N.M., Degtyarev A.I., Lapynin V.E. A rare case of histoplasmosis in orthopedics. *Geniy ortopedii*. 2003; 1:130-1. (in Russian)
  26. Azar M.M., Hage C.A. Laboratory diagnostics for histoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 55(6): 1612-20. DOI: 10.1128/JCM.02430-16.

## REFERENCES

1. Cunningham C.A., Brown A.T., Ravi S.N., Bearss J.J., O'Shea M.P., Elshaer A.K. et al. Improving Coccidioidomycosis testing for emergency department patients with suspect community-acquired pneumonia: analysis of provider attitudes and the effect of a targeted intervention. *Open Forum Infect. Dis.* 2024; 11(8): ofae461. DOI: 10.1093/ofid/ofae461.
2. Benedict K., Williams S.L., Smith D.J., Lindsley M.D., Lockhart S.R., Toda M. Testing for Blastomycosis, Coccidioidomycosis, and Histoplasmosis at a Major commercial laboratory, United States, 2019-2024. *Open Forum Infect. Dis.* 2024; 11(8): ofae448. DOI: 10.1093/ofid/ofae448.
3. Bongomin F., Ekeng B.E., Kwizera R., Salmanton-Garcia J., Kibone W., van Rhijn N. et al. Fungal diseases in Africa: closing the gaps in diagnosis and treatment through implementation research and advocacy. *J. Mycol. Med.* 2023; 33(4): 101438. DOI: 10.1016/j.mycmed.2023.101438.
4. Driemeyer C., Falci D.R., Oladele R.O., Bongomin F., Ocansey B.K., Govender N.P. et al. The current state of clinical mycology in Africa: a European Confederation of Medical Mycology and International Society for human and animal mycology survey. *Lancet Microbe*. 2022; 3(6): e464-e470. DOI: 10.1016/S2666-5247(21)00190-7.
5. Mayfield H., Davila V., Penedo E. Coccidioidomycosis-related hospital visits, Texas, USA, 2016-2021. *Emerg. Infect. Dis.* 2024; 30(5): 882-9. DOI: 10.3201/eid3005.231624.
6. Coleman C.I., Donovan F., Miriyapalli L., Shan R., Lovelace B. Burden of hospitalization for Coccidioidal Meningitis: an analysis of the National Inpatient Sample, 2019-2021. *Open Forum Infect. Dis.* 2024; 11(12): ofae706. DOI: 10.1093/ofid/ofae706.
7. Korsten K., Altenburg J., Gittelbauer M., van Hengel P., Jansen R., van Dijk K. Coccidioidomycosis presenting years after returning from travel. *Med. Mycol. Case Rep.* 2023; 43: 100623. DOI: 10.1016/j.mmcr.2023.100623.
8. Neumayr A., Rickerts V., Ackermann S., Castelblanco F., Kuenzli E., Durovic A. et al. Suspected acute pulmonary Coccidioidomycosis in traveler returning to Switzerland from Peru. *Emerg. Infect. Dis.* 2024; 30(11): 2432-5. DOI: 10.3201/eid3011.241034.



27. Schwartz I.S., Govender N.P., Sigler L., Jiang Y., Maphanga T.G., Toplis B. et al. *Emergomycetes*: The global rise of new dimorphic fungal pathogens. *PLoS Pathog.* 2019; 15(9): e1007977. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007977.
28. Gadzhimuradov M.N., Dzhumaliev M.D., Gashimova H.A., Magomedgadzhiev B.G. A case of deep blastomycosis of the skin. *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya.* 2018; 17(2): 42-5. DOI: 10.17116/klinderma201817242-45. (in Russian)
29. Guarner J., Brandt M.E. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21<sup>st</sup> century. *Clin. Microbiol. Rev.* 2011; 24(2): 247-80. DOI:10.1128/CMR.00053-10.
30. Klyushin N.M., Sudnitsyn A.S., Migalkin N.S. Blastomycotic osteomyelitis of the calcaneus (case report). *Geniy ortopedii.* 2016; 3: 84-6. DOI: 10.18019/1028-4427-2016-3-84-86. (in Russian)
31. Sudnitsyn A.S., Klyushin N.M., Migalkin N.S., Stupina T.A., Varsegova T.N., Naumenko Z.S., Gayuk V.D. Diagnostics of chronic osteomyelitis complicated by mycotic infection. *Geniy ortopedii.* 2019; 25(4): 528-34. DOI: 10.18019/1028-4427-2019-25-4-528-534. (in Russian)
32. Balatsyuk E.V., Poddubny V.B., Anisimova S.V. A case of hematogenous disseminated blastomycosis in an HIV-infected patient. National projects: challenges and solutions: materials of the 55-th interregional scientific and practical medical conference, Ulyanovsk, May 14-15, 2020. Ministry of Health of the Ulyanovsk Region; State Budgetary Institution of St. Petersburg Research Institute of Emergency Care named after I.I. Dzhanelidze. Ulyanovsk: Publishing house «IP Petrova L.V.». 2020; 321-3 (in Russian)
33. Tekin A., Pinevich Y., Herasevich V., Pickering B.W., Vergidis P. et al. Diagnostic delay in pulmonary blastomycosis: a case series reflecting a referral center experience. *Infection.* 2023; 51(1): 193-201. DOI: 10.1007/s15010-022-01875-y.
34. Maphanga T.G., Birkhead M., Muñoz J.F., Allam M., Zulu T.G., Cuomo C.A. et al. Human Blastomycosis in South Africa Caused by *Blastomyces persicus* and *Blastomyces emzantsi* sp. nov., 1967 to 2014. *J. Clin. Microbiol.* 2020; 58(3):e01661-19. DOI: 10.1128/jcm.01661-19.
35. Guidelines for diagnosing and managing disseminated histoplasmosis among people living with HIV [Internet]. Washington (DC): Pan American Health Organization; 2020 Apr. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587194/>.
36. Thompson G.R. 3<sup>rd</sup>, Le T., Chindamporn A., Kauffman C.A., Alastruey-Izquierdo A., Ampel N.M., Andes D.R. et al. Global guideline for the diagnosis and management of the endemic mycoses: an initiative of the European Confederation of medical mycology in cooperation with the International Society for human and animal mycology. *Lancet Infect. Dis.* 2021; 21(12): e364-e374. DOI: 10.1016/S1473-3099(21)00191-2.
37. García-Martín J.M., Muro A., Fernández-Soto P. Diagnosis of human endemic mycoses caused by thermally dimorphic fungi: from classical to molecular methods. *J. Fungi (Basel).* 2024; 6; 10(9): 637. DOI: 10.3390/jof10090637.
38. Sebro A., Edwards J., Sued O., Lavia L.O., Elder T., Edwards R.J. et al. Implementation of antigen-based diagnostic assays for detection of histoplasmosis and cryptococcosis among patients with advanced HIV in Trinidad and Tobago: a cross-sectional study. *J. Fungi. (Basel).* 2024; 10(10): 695. DOI: 10.3390/jof10100695.
39. Fernandez N.B., Cáceres D.H., Serrano J.A., Bonifaz A., Canteros C.E., Suarez-Alvarez R. et al. Proceedings of the second international meeting on endemic mycoses of the Americas (IMEMA) and first international symposium on implantation mycoses (ISIM). *Med. Mycol.* 2024; 62(7): myae054. DOI: 10.1093/mmy/myae054.
40. Dhar S., Pradhan S., Saha A., Mazumder G., Ghosh S.K., Biswas M. et al. Deep fungal infections of skin and role of histopathology in diagnosis. *Indian J. Dermatol.* 2024; 69(6): 442-52. DOI: 10.4103/ijd.ijd\_419\_23.
41. Trecourt A., Rabodonirina M., Donzel M., Chapey-Picq E., Bentaher A, Dupont D. et al. *Cryptococcus neoformans/gattii* and *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* infections on tissue sections: Diagnostic pitfalls and relevance of an integrated histomolecular diagnosis. *Med. Mycol.* 2024; 63(1): myae126. DOI: 10.1093/mmy/myae126.
42. Buitrago M.J., Martín-Gómez M.T. Timely Diagnosis of Histoplasmosis in Non-endemic Countries: A Laboratory Challenge. *Front. Microbiol.* 2020; 11: 467. DOI: 10.3389/fmicb.2020.00467.
43. Emmons C.W. Fungi which resemble *Coccidioides immitis*. Coccidioidomycosis. Proceedings of the 2<sup>nd</sup> Symposium on Coccidioidomycosis. University of Arizona Press, Tucson; 1967: 333-7.



© КОЧЕТОВ А.Г., 2025

Кочетов А.Г.



<https://elibrary.ru/havfhg>

## АДМИНИСТРИРОВАНИЕ И ДОКУМЕНТИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ МЕР БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ В МЕДИЦИНСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ. ЧАСТЬ 1. АНАЛИЗ НОРМАТИВНО-ПРАВОВЫХ АКТОВ

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава РФ,  
117997, Москва, Россия

*В статье проведен комплексный анализ нормативно-правовой базы Российской Федерации в области биологической безопасности для медицинских лабораторий. Рассмотрена эволюция правового регулирования от первых инициатив до принятия специального федерального закона о биологической безопасности в 2021 году. Исследована структура современной системы нормативного регулирования, включающая стратегический уровень (Указ Президента РФ № 97), законодательный уровень (ФЗ № 492-ФЗ) и подзаконные акты. Проанализированы взаимосвязи между основными документами и выявлена их терминологическая преемственность. Детально исследованы методические указания МУ 1.3.2569-09 и МУ 3.1.4110-24, определена их роль как фактически обязательных документов для специфических видов лабораторной деятельности. Особое внимание уделено требованиям СП 3.3686-21 к документообороту медицинских лабораторий и интеграции требований различных ГОСТов в единую систему управления качеством. На основе систематического анализа всех нормативных актов извлечен полный перечень необходимых документов для их дальнейшей структуризации в деятельности медицинской лаборатории. Разработан практический алгоритм администрирования принятия решений и контроля, соответствующий действующему законодательству. Установлено отсутствие единых методических рекомендаций по комплексному администрированию системы биологической безопасности в медицинских лабораториях. Результаты исследования могут служить основой для стандартизации подходов к обеспечению биологической безопасности в медицинских организациях.*

**Ключевые слова:** биологическая безопасность; медицинская лаборатория; нормативно-правовое регулирование; администрирование; документооборот; патогенные биологические агенты; система менеджмента качества; производственный контроль; санитарно-эпидемиологические требования; управление рисками; федеральный закон; СанПиН; ГОСТы; методические указания

**Для цитирования:** Кочетов А.Г. Администрирование и документирование системы мер биологической безопасности в медицинской лаборатории. Часть 1. Анализ нормативно-правовых актов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2025; 70(8): 574-588.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-574-588>

EDN: HAVFHG

**Для корреспонденции:** Кочетов Анатолий Глебович, проф., д-р мед. наук, проф. каф. фармакологии Института фармации и медицинской химии РНИМУ им. Н.И. Пирогова; e-mail: [kochetov.lab@yandex.ru](mailto:kochetov.lab@yandex.ru)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 02.05.2025

Принята к печати 13.07.2025

Опубликовано 25.07.2025

Kochetov A.G.

## ADMINISTRATION AND DOCUMENTATION OF BIOLOGICAL SAFETY MEASURES IN MEDICAL LABORATORY SETTINGS. PART 1. REGULATORY AND LEGAL ANALYSIS

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian

*The article presents a comprehensive analysis of the regulatory and legal framework of the Russian Federation in the field of biological safety for medical laboratories. The evolution of legal regulation from the first initiatives to the adoption of a special federal law on biological safety in 2021 is examined. The structure of the modern regulatory system is studied, including the strategic level (Presidential Decree № 97), legislative level (Federal Law № 492-FZ) and subordinate acts. The interrelationships between the main documents are analyzed and their terminological continuity is revealed. Methodological guidelines MU 1.3.2569-09 and MU 3.1.4110-24 are studied in detail, and their role as de facto mandatory documents for specific types of laboratory activities is determined. Special attention is paid to the requirements of SP 3.3686-21 for document management in medical laboratories and the integration of requirements of various GOSTs into a unified quality management system. Based on systematic analysis of all regulatory acts, a complete list of necessary documents for their further structuring in medical laboratory activities has been extracted. A practical algorithm for administration of decision-making and control corresponding to current legislation has been developed. The absence of unified methodological recommendations for comprehensive administration of the biological safety system in medical laboratories has been established. The research results can serve as a basis for standardizing approaches to ensuring biological safety in medical organizations.*

**Key words:** biological safety; medical laboratory; regulatory and legal regulation; administration; document management; pathogenic biological agents; quality management system; production control; sanitary and epidemiological requirements; risk management; federal law; sanitary rules and norms; state standards; methodological guidelines

**For citation:** Kochetov A.G. Administration and documentation of biological safety measures in medical laboratory settings. Part 1. Regulatory and legal analysis. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2025; 70(8): 574-588 (in Russ.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2025-70-8-574-588>

EDN: HAVFHG

**For correspondence:** Kochetov Anatoly Glebovich, Professor, MD, PhD, Professor of the Department of Pharmacology at the Institute of Pharmacy and Medicinal Chemistry, Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov; e-mail: kochetov.lab@yandex.ru

**Information about author:**

Kochetov A.G., <https://orcid.org/0000-0003-3632-291X>.

**Acknowledgment.** The study had no sponsor support.

**Conflict of interests.** The author declare absence of conflict of interests.

Received 02.05.2025

Accepted 13.07.2025

Published 25.07.2025

**Введение.** На высшем государственном уровне вопросы биологической безопасности впервые получили системное нормативно-правовое оформление в Указе Президента Российской Федерации от 11.03.2019 № 97 «Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» (Указ)<sup>1</sup>. Развитием данной политической инициативы стала разработка и принятие Федерального закона от 30.12.2020 № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации» (ФЗ о ББ), прошедший все установленные законодательные процедуры и вступивший в силу в 2021 году<sup>2</sup>. Документ одобрен Государственной Думой 24 декабря 2020 года, на следующий день, 25 декабря, согласован Советом Федерации. Президент Российской Федерации подписал закон 30 декабря 2020 года, в этот же день состоялось его официальное опубликование. Закон вступил в силу через 180 дней после официального опубликования - 30 июня 2021 года.

Несмотря на столь быстрое принятие ФЗ о ББ после издания Указа Президента, он прошел длительный путь от осознания необходимости его создания до законодательного воплощения, отражая постепенное созревание понимания биологических угроз как самостоятельного направления национальной безопасности, требующего специального правового регулирования. В 1999 году принят Федеральный закон № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»<sup>3</sup>. В статье 30 закона говорится о санитарной охране территории Российской Федерации, направленной на предупреждение заноса и распространения инфекционных болезней, на предотвращение завоза и реализации опасных товаров, химических, биологических веществ, радиоактивных материалов, отходов и других грузов. В 2003 году Президентом Российской Федерации утверждён программно-политический документ № Пр-2194 «Основы государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2010 года и

дальнейшую перспективу», затем в 2006 году появился Перечень поручений Президента РФ в области обеспечения химической и биологической безопасности РФ № Пр-502, через 2 года в 2008 году Правительством РФ принято Постановление № 791 «О федеральной целевой программе «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009-2014 годы)»» [1 - 3], и в 2013 в качестве продолжения предыдущего программно-политического документа от 2003 года - «Основы государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» [1 - 3].

Задержка связана с комплексным характером регулируемой сферы, требовавшей учета множества различных аспектов. Существенную роль играла необходимость согласования интересов различных ведомств и отсутствие единого подхода к определению биологических угроз. Возникали сложности с разработкой эффективных механизмов реализации контроля в данной области [4]. Но один из ведомственных документов контроля, принятых в ту пору, действует, как это не парадоксально, и в настоящее время. Терминология в нём отличается от современной, поскольку документ принят до вступления в силу ФЗ о ББ, но свою значимость он не утратил и является методической основой для разработки в организации документа биологической безопасности. Это ведомственный нормативный акт Роспотребнадзора Р 3.1.3013-12 «Руководство по составлению документа, подтверждающего безопасность биологически опасного объекта» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 11.04.2012) [5].

Решающим толчком к принятию закона стала пандемия COVID-19, наглядно продемонстрировавшая уязвимость современного общества перед биологическими угрозами [6]. На ускорение принятия закона повлиял общий рост биологических угроз в мире, стремительное развитие биотехнологий и необходимость выполнения международных обязательств России в сфере биологической безопасности [7-11].

Важную роль сыграли и внутренние факторы: назрела острая необходимость систематизации разрозненных нормативных актов в единую систему правового регулирования. Требовалось создание целостной национальной системы биобезопасности для защиты национальных интересов страны [4,6].

Принятие закона обусловлено появлением новых актуальных вызовов, таких как возникновение новых патогенов, возрастающие риски биотерроризма, стремительное развитие генной инженерии и сохраняющиеся проблемы, связанные с биологическим оружием

<sup>1</sup> Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу: указ Президента Российской Федерации от 11.03.2019 № 97. Официальное опубликование правовых актов. URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001201903110045> (дата обращения: 28.05.2025).

<sup>2</sup> О биологической безопасности в Российской Федерации: Федеральный закон от 30.12.2020 № 492-ФЗ // Официальный интернет-портал правовой информации. - URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202012300021> (дата обращения: 23.05.2025).

<sup>3</sup> Федеральный закон от 30.03.1999 № 52-ФЗ (ред. от 02.07.2021) «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» [Электронный ресурс] // Официальный интернет-портал правовой информации. - Режим доступа: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody=&nd=102058898&intelsearch=%EE%F2+30.03.1999+%B9+52-%D4%C7> (дата обращения: 29.05.2025).

[12,13]. События 2020 года, связанные с распространением новой коронавирусной инфекции, особенно ярко подчеркнули необходимость комплексного подхода к обеспечению биологической безопасности на государственном уровне [6].

Закон наконец сформировал долгожданную правовую основу для защиты населения и окружающей среды от биологических рисков различного происхождения, заполнив существовавший ранее пробел в законодательном регулировании этой критически важной сферы национальной безопасности.

Закон устанавливает ключевые принципы обеспечения биобезопасности, направленные на защиту населения, предупреждение биологических угроз, четкое разграничение полномочий и международное сотрудничество. Особое внимание уделяется основным биологическим угрозам, их источникам, категориям опасности и методам оценки рисков.

Медицинским лабораториям особенно важны положения, касающиеся основных понятий и определений биологической безопасности, биологических рисков, патогенных биологических агентов (ПБА) и системы государственного контроля [14]. В контексте этого критически важными являются требования ФЗ о ББ к организациям. Требования включают необходимость лицензирования деятельности, строгий учет и контроль ПБА, обеспечение режима безопасности и обязательную подготовку персонала. Закон регламентирует систему учета и мониторинга, предписывая ведение специальной документации, своевременное информирование органов власти и постоянное взаимодействие с надзорными органами. Особое внимание уделяется правилам обращения с отходами, транспортировки биологических материалов и условиям хранения образцов.

Положения об ответственности за нарушение требований биологической безопасности, за причинение вреда и несоблюдение установленного режима закреплены в статье 19 ФЗ о ББ. Ответственность в законе носит отсылочный характер, и указано, что нарушение требований влечет за собой дисциплинарную, гражданско-правовую, административную и уголовную ответственность в соответствии с законодательством РФ. То есть, конкретные меры ответственности определяются в различных кодексах. В Кодексе об административных правонарушениях (КоАП РФ<sup>4</sup>) в статьях 6.3, 8.2 и 8.5 предусмотрена ответственность за нарушение законодательства в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия населения, сокрытие или искажение экологической информации, нарушение правил обращения с отходами. В Уголовном кодексе РФ<sup>5</sup> в статьях 236, 247, 248 установлена ответственность за нарушение санитарно-эпидемиологических правил, нарушение правил обращения экологически опасных веществ и отходов, нарушение правил безопасности при обращении с микробиологическими либо другими биологическими агентами или токсинами.

Трудовой кодекс РФ<sup>6</sup> в статье 192 предусматривает дисциплинарную ответственность за нарушение требований охраны труда и безопасности. Что касается гражданско-правовой ответственности, она наступает в случае причинения вреда здоровью или имуществу и регулируется положениями Гражданского кодекса РФ<sup>7</sup> - статьи 1064, 1068, 1079, 1084, 1085. Ответственность за нарушение мер биологической безопасности носит комплексный характер и регулируется различными отраслями права.

Для правильной организации работы требуется детальное изучение всех положений закона и их корректная имплементация в практическую деятельность лаборатории, результативность и продуктивность которой детерминирована рациональностью построения управленческих алгоритмов [15].

Администрирование и документирование представляют собой неразрывно связанные элементы единого управленческого процесса. Администрирование, включающее в себя планирование, организацию, контроль, принятие решений и координацию действий, реализуется через документирование, служащее основным инструментом управления, способом фиксации управленческих решений, доказательством выполнения требований и базой для анализа и улучшения процессов. Их взаимосвязь проявляется в том, что каждое управленческое решение должно быть документально оформлено, при этом документы являются как основанием для выполнения действий, так и средством контроля их исполнения [16]. Документация служит доказательной базой при проверках, её анализ позволяет совершенствовать управление. Администрирование и документирование - взаимодополняющие процессы, где документирование обеспечивает прозрачность, контролируемость и эффективность администрирования, а качество администрирования отражается в системности и полноте документации. Эффективное администрирование системы биологической безопасности невозможно без надлежащего документирования, обеспечивающего прослеживаемость всех процессов и демонстрирующее соответствие требованиям законодательства.

В России существуют различные документы по теме биологической безопасности, представленные в разделе «Материал и методы» предлагаемой вниманию статьи, но они в основном регламентируют отдельные аспекты биобезопасности в лабораториях, а не систему мер в комплексе. Единый методический документ, комплексно описывающий администрирование и документирование системы мер биологической безопасности именно в медицинской лаборатории, на данный момент отсутствует. Существующие рекомендации в основном фрагментарны и касаются отдельных аспектов безопасности или конкретных видов лабораторий. Такая ситуация свидетельствует о том, что после принятия ФЗ о ББ в 2020 году работа по созданию подзаконных актов и методических рекомендаций началась, но этот процесс еще не завершен.

<sup>4</sup> Кодекс Российской Федерации об административных правонарушениях: Федеральный закон от 30.12.2001 № 195-ФЗ (ред. от 29.07.2018). Официальный интернет-портал правовой информации. URL: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody&nd=102074277> (дата обращения: 23.05.2025).

<sup>5</sup> Уголовный кодекс Российской Федерации: Федеральный закон от 13.06.1996 № 63-ФЗ. Официальный интернет-портал правовой информации. URL: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody&nd=102041891> (дата обращения: 23.05.2025).

<sup>6</sup> Трудовой кодекс Российской Федерации: Федеральный закон от 30.12.2001 № 197-ФЗ. Официальный интернет-портал правовой информации. URL: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody=&nd=102074279> (дата обращения: 23.05.2025).

<sup>7</sup> Гражданский кодекс Российской Федерации: Федеральный закон от 30.11.1994 № 51-ФЗ. Официальный интернет-портал правовой информации. URL: <http://pravo.gov.ru/proxy/ips/?docbody=&nd=102033239> (дата обращения: 23.05.2025).



В связи с отсутствием единых методических рекомендаций по администрированию и документированию системы мер биологической безопасности в медицинских лабораториях, при необходимости исполнения требований ФЗ о ББ, возникает потребность в разработке алгоритма внедрения данной системы. В соответствии с указанной потребностью сформулирована цель работы: провести комплексный анализ федеральных нормативно-правовых актов, регламентирующих биологическую безопасность в медицинских лабораториях, и определить обязательные элементы системы документооборота для обеспечения соответствия требованиям законодательства.

**Материал и методы.** В качестве материалов исследования использованы находящиеся в свободном доступе действующие нормативно-правовые документы, регламентирующие обеспечение биологической безопасности в Российской Федерации в соответствии с их иерархией юридической силы и добровольности<sup>8</sup>: Указ Президента Российской Федерации «Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу», Федеральный закон № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации», Постановление Правительства РФ о федеральном государственном санитарно-эпидемиологическом контроле (надзоре)<sup>9</sup> и подзаконные акты - санитарные правила и нормы, ГОСТы, руководства, методические указания по обеспечению биологической безопасности в медицинских лабораториях [17-18].

Основные подзаконные акты:

- Руководство Роспотребнадзора от 11.04.2012 по составлению документа, подтверждающего безопасность биологически опасного объекта Р 3.1.3013-12 [5];
- Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4 «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» [19];
- Методические указания Роспотребнадзора МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 22.12.2009) [20];
- Методические указания Роспотребнадзора МУ 3.1.4110-24. 3.1. «Профилактика инфекционных болезней. Безопасная техника выполнения микробиологических работ с патогенными биологическими агентами» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 25.12.2024) [21].

Рекомендательные (добровольные) документы:

- ГОСТ Р 52905-2023 «Лаборатории медицинские. Требования безопасности», утвержден и введен в действие Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 14 сентября 2023 г. № 947-ст, дата введения - 1 февраля 2024 г., полностью заменяет предыдущий ГОСТ Р 52905-2007 [22].
- ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа», утвержден приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 18 декабря 2008 года № 554-ст [23].
- ГОСТ Р ИСО 22367-2022 «Применение менеджмента риска в медицинских лабораториях», утвержден и введен в действие приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 8 ноября 2022 года № 1254-ст [24]. Дата введения в действие - 1 сентября 2023 года. Практически идентичен по смыслу и содержанию соответствующему разделу в ГОСТ Р ИСО 15189-2024.
- ГОСТ Р ИСО 15189-2024 «Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетентности», утвержден 22 ноября 2023 года, вступил в силу с 10 января 2024 года, является адаптацией ISO 15189:2022, заменяет ГОСТ Р ИСО 15189-2015 и ГОСТ Р ИСО 22870-2021 [25].

Исследование проведено с использованием следующих методов: системный анализ нормативно-правовой базы в области биологической безопасности, сравнительно-правовой метод, метод правового моделирования, структурно-функциональный анализ, логический метод. Применение данных методов позволило систематизировать требования законодательства, разработать алгоритм администрирования и выявить обязательные элементы документооборота системы мер биологической безопасности в медицинской лаборатории.

#### **Результаты и обсуждение**

**Анализ стратегических документов.** Указ Президента Российской Федерации об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности имеет, естественно, первостепенное значение для администрирования и документирования системы мер биологической безопасности в медицинской лаборатории, служит её стратегической основой и, соответственно, должен учитываться при разработке всех ключевых документов системы менеджмента. Из логики практического применения документа следует, что разработка политики биобезопасности лаборатории должна осуществляться в рамках организации, чьим структурным подразделением она является, и основываться на принципах, изложенных в разделе «Цели, задачи и принципы государственной политики» Указа. Видится целесообразным, чтобы медицинская организация разработала документ «Политика в области биологической безопасности», отражающий приверженность руководства принципам обеспечения приоритета жизни и здоровья персонала и пациентов. Документ должен отражать системный подход к управлению рисками, приверженность международным стандартам и прин-

<sup>8</sup> Федеральный закон от 31.07.2020 № 247-ФЗ «Об обязательных требованиях в Российской Федерации». Официальный интернет-портал правовой информации. URL: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202007310002> (дата обращения: 23.05.2025).

<sup>9</sup> Постановление Правительства РФ от 30.06.2021 № 1100 (ред. от 17.01.2025) «О федеральном государственном санитарно-эпидемиологическом контроле (надзоре)» (вместе с «Положением о федеральном государственном санитарно-эпидемиологическом контроле (надзоре)») (с изм. и доп., вступ. в силу с 01.03.2025) [Электронный ресурс]. URL: [https://www.consultant.ru/document/cons\\_doc\\_LAW\\_389344/](https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_389344/) (дата обращения: 02.06.2025).



цип открытости информации о мерах безопасности, учитывать особенности системы мер биобезопасности для каждого подразделения, лаборатории в частности. Политика утверждается на высшем уровне руководства организации и становится частью системы обучения всех сотрудников через инструктажи и программы повышения квалификации.

Указ в разделе «Современное состояние химической и биологической безопасности» обозначает основные источники биологических угроз на государственном уровне. Развивая эти положения, подзаконные акты устанавливают конкретные требования к организациям. Согласно СанПиН 3.3686-21 и ГОСТ Р ИСО 22367-2022, медицинские лаборатории должны создавать «Реестр биологических рисков», систематизирующий все потенциальные источники опасности. Каждый идентифицированный риск требует оценки по вероятности возникновения и тяжести потенциальных последствий, описания существующих мер контроля и планируемых улучшений. Эффективность управления рисками обеспечивается регулярной актуализацией реестра согласно требованиям новых нормативных документов.

Планирование деятельности лаборатории должно соответствовать основным направлениям государственной политики, обозначенным в Указе. Соответственно, стратегические и оперативные планы развития лаборатории целесообразно дополнить мероприятиями по ключевым направлениям: совершенствование внутренней нормативной базы с учетом изменений в законодательстве; расширение диагностических возможностей через внедрение современных методов; разработка и регулярная актуализация планов реагирования на чрезвычайные ситуации; реализация программ повышения квалификации персонала; участие в профессиональных сообществах и международных проектах по биобезопасности. Для каждого направления деятельности рекомендуется определить конкретные цели, временные рамки, ответственных исполнителей и измеримые показатели результативности, что позволит оценивать прогресс и эффективность.

Единая терминология во всех внутренних документах лаборатории обеспечивается разделом «Общие положения» Указа, содержащего основные понятия в области биологической безопасности. Документированные процедуры, рабочие инструкции, положения и другие документы лаборатории должны использовать согласованные определения ключевых терминов. Целесообразно разработать «Словарь терминов биологической безопасности» в качестве приложения к основным документам системы менеджмента и обеспечить его применение при создании новых и пересмотре существующих процедур. Такой подход позволит исключить возможность различных интерпретаций требований и создает единую понятийную основу для всех сотрудников лаборатории независимо от их должности и опыта работы.

**Анализ федерального законодательства.** Нормативно-правовая база биологической безопасности построена по принципу: от стратегии к исполнению. Указ Президента Российской Федерации № 97 формулирует общие направления политики, которые необходимо учитывать в деятельности лаборатории, а ФЗ о ББ и подзаконные акты переводят их в конкретные требова-

ния, обязательные к исполнению.

Ключевыми статьями в ФЗ о ББ для документирования системы мер биологической безопасности в медицинской лаборатории являются:

- Статья 1. Основные понятия, формирует терминологический фундамент для всей системы биобезопасности. Медицинская лаборатория должна использовать эти определения в своих внутренних документах, создав единый глоссарий терминов. Особую важность представляют понятия «биологическая безопасность», «биологическая угроза», «биологический риск», «допустимый биологический риск».
- Статья 2. Правовое регулирование в области обеспечения биологической безопасности, определяет иерархию нормативных документов в области биобезопасности. На основании этой статьи лаборатория должна сформировать реестр применимых нормативных актов с указанием их приоритетности для правильного выстраивания системы документооборота.
- Статья 4. Основные принципы обеспечения биологической безопасности, закладывает идеологическую основу системы биобезопасности. Принципы приоритета защиты здоровья человека, презумпции биологической опасности, доступности информации и разграничения полномочий должны найти отражение в политике биологической безопасности лаборатории – основополагающем документе системы.
- Статья 6. Полномочия федеральных органов исполнительной власти, устанавливает компетенции регулирующих органов, что важно для понимания структуры государственного регулирования и взаимодействия с контролирующими органами.
- Статья 8. Права и обязанности граждан и организаций, конкретизирует ответственность медицинской лаборатории. Обязанности по соблюдению требований, информированию и осуществлению производственного контроля требуют разработки положения о производственном контроле биологической безопасности с четким распределением ответственности.
- Статья 10. Мониторинг биологических рисков, устанавливает необходимость создания системы наблюдения и оценки. Лаборатория должна разработать программу мониторинга биологических рисков и внедрить журналы контроля различных параметров биобезопасности.
- Статья 11. Государственный контроль (надзор), определяет контролирующие органы и их полномочия. Для подготовки к проверкам лаборатории необходимо разработать чек-листы самопроверки, основанные на критериях, используемых при государственном контроле.
- Статья 13. Требования к обеспечению биологической безопасности при использовании генно-инженерно-модифицированных организмов, содержит положения о порядке осуществления генно-инженерной деятельности. Для лабораторий, работающих с ГМО, эта статья требует разработки специальных протоколов и мер контроля.
- Статья 14. Коллекции патогенных микроорганизмов и вирусов, регулирует вопросы создания, функцио-

нирования и использования коллекций патогенных биологических агентов. Лаборатории, имеющие такие коллекции, должны разработать детальные процедуры учета, хранения и использования коллекционных штаммов в соответствии с требованиями данной статьи.

Между Указом (п. 4) и ФЗ о ББ (ст. 1) прослеживается терминологическая преемственность. Определения биологической безопасности практически идентичны, а понятие биологической угрозы концептуально совпадает в обоих документах. Это создает единство понятийного аппарата для всей системы документов биобезопасности.

Принципиальная согласованность наблюдается между Указом (п. 13) и ФЗ о ББ (ст. 4). Оба документа устанавливают приоритет защиты здоровья человека, необходимость комплексного подхода к обеспечению безопасности и применение единых критериев оценки биологических рисков.

Системный подход к мониторингу присутствует как в Указе (п. 14в), так и в ФЗ о ББ (ст. 10). Документы единогласно подчеркивают необходимость создания системы мониторинга и своевременного выявления биологических угроз, что должно найти отражение в программах мониторинга лаборатории.

Научно-техническое обеспечение рассматривается в Указе (п. 14г) и ФЗ о ББ (ст. 16). Оба документа акцентируют важность развития научных исследований и внедрения современных технологий в области биобезопасности.

Конкретизация же требований представляет основное различие между документами. Если Указ формулирует общие стратегические направления, то ФЗ о ББ устанавливает требования к организациям, работающим с ПБА (ст. 6, 9, 10, 12-16). Это требует от лаборатории более детального подхода к документированию.

Не встретит возражений утверждение о том, что в деятельности медицинской лаборатории важным является понимание полномочий федеральных органов, указанных в ФЗ о ББ в статье 6. Министерство здравоохранения РФ осуществляет лицензирование медицинской деятельности, утверждение порядков оказания медицинской помощи, установление требований к организации и проведению лабораторных исследований. Роспотребнадзор (Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека) отвечает за санитарно-эпидемиологический надзор, контроль соблюдения санитарных правил при работе с патогенными биологическими агентами, выдачу санитарно-эпидемиологических заключений о соответствии деятельности санитарным правилам, учет и контроль возбудителей инфекционных заболеваний человека, надзор за биологической безопасностью лабораторной деятельности. Росздравнадзор (Федеральная служба по надзору в сфере здравоохранения) осуществляет контроль качества и безопасности медицинской деятельности, надзор за обращением медицинских изделий и лабораторного оборудования. МЧС России координирует действия при биологических угрозах и чрезвычайных ситуациях. Следует учитывать положения статьи 9, регламентирующей деятельность Государственной комиссии по биологической и химической безопасности.

Правовые механизмы обеспечения биологической безопасности появляются только в ФЗ о ББ, который вводит государственный контроль и ответственность (ст.11, ст.19), в то время как Указ таких механизмов не содержит. Это обязывает лабораторию разработать систему внутреннего контроля соответствия требованиям.

Детализация обязанностей более проработана в ФЗ о ББ. Указ определяет полномочия государственных органов, а ФЗ о ББ устанавливает конкретные обязанности организаций (ст. 6), что требует четкого распределения ответственности внутри организации.

ФЗ о ББ регламентирует необходимость разработки организацией комплекта внутренних документов, назначение ответственных лиц, организацию систематического обучения персонала, внедрение эффективной системы контроля и учета, обеспечение всех необходимых мер безопасности. Для реализации этих положений ФЗ о ББ в статье 4 закрепляет принцип разграничения полномочий между различными уровнями органов власти в области обеспечения биологической безопасности, а в статье 6 устанавливает конкретные полномочия федеральных органов исполнительной власти (Минздрава, Роспотребнадзора, Росздравнадзора, МЧС России). Закон определяет обязанности организаций, включая соблюдение требований законодательства, информирование уполномоченных органов о возникновении биологических угроз и осуществление производственного контроля, что создает четкую правовую основу для распределения ответственности и реализации практических мер по обеспечению биологической безопасности.

Такой же глобальный, но детализирующий уже ФЗ о ББ характер носит Постановление Правительства Российской Федерации о федеральном государственном санитарно-эпидемиологическом контроле (надзоре) в редакции 2025 года, особенно в области критериев тяжести и вероятности негативных последствий и категорий риска. Для медицинских лабораторий конкретизирующими являются представленные ниже подзаконные акты.

#### ***Анализ подзаконных актов.***

***Руководство Р 3.1.3013-12.*** Руководство Р 3.1.3013-12, несмотря на то, что утверждено намного раньше принятия ФЗ о ББ, органически дополняет правовую основу биологической безопасности, заложенную законом, конкретизируя механизмы его практической реализации на уровне отдельных объектов. В то время как Указ Президента, ФЗ о ББ и Постановление Правительства устанавливают общие принципы государственной политики и требования к обеспечению биологической безопасности, данное руководство предоставляет детальную методологию оценки и документирования рисков, а санитарные правила и методические указания по профилактике инфекционных болезней определяют конкретные технические требования к безопасному выполнению работ. Трехуровневая система нормативного регулирования обеспечивает комплексный подход к управлению биологическими рисками - от стратегического планирования на государственном уровне до операционного контроля в медицинских лабораториях.

Представленное руководство имеет исключительную практическую ценность для администрирования системы биологической безопасности в медицинской

организации, поскольку предоставляет комплексный инструментарий для создания эффективной системы управления биологическими рисками. Документ содержит детально проработанную методологию количественной оценки рисков, основанную на построении логико-вероятностных моделей развития аварийных ситуаций, что позволяет лаборатории не только выявлять потенциальные угрозы, но и прогнозировать их последствия с высокой степенью точности.

Особую ценность представляет структурированный подход к документированию всех аспектов биологической безопасности, включая характеристику источников биологической опасности, анализ аварийности и травматизма, оценку готовности к ликвидации чрезвычайных ситуаций. Руководство устанавливает четкие критерии приемлемого риска и предоставляет методические инструменты для их достижения, что позволяет лаборатории объективно оценивать эффективность принимаемых мер безопасности.

Документ обеспечивает основу для создания системы внутреннего контроля и мониторинга, определяя как организационные требования к структуре управления биологической безопасностью, так и технические аспекты обеспечения безопасности работ с ПБА. Практическая значимость руководства усиливается наличием готовых к использованию типовых форм документов, включающих титульный лист документа безопасности биологически опасного объекта, форму общей характеристики объекта с детализацией сведений об источниках биологической опасности, табличные формы для анализа показателей степени риска чрезвычайных ситуаций, характеристики аварийности и травматизма, комплексную форму для описания мероприятий по обеспечению безопасности и готовности к ликвидации чрезвычайных ситуаций. Эти типовые формы существенно упрощают процесс внедрения системы управления рисками в повседневную деятельность лаборатории и обеспечивают единообразие документооборота в сфере биологической безопасности.

**СанПиН 3.3686-21: технические требования.** Технические требования к системе мер биологической безопасности в деятельности медицинских лабораторий регламентируются СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». СанПиН переводит общие принципы закона и задокументированные риски в плоскость конкретных санитарно-эпидемиологических требований и процедур, обязательных для соблюдения при работе с потенциально опасными биологическими агентами. Иными словами, если федеральный закон определяет, что должно обеспечиваться в области биологической безопасности, руководство даёт методологию определения рисков, то данный СанПиН устанавливает, как это должно реализовываться на практике, включая конкретные процедуры работы с биологическими материалами, требования к документообороту и системе контроля.

Анализ СанПиН 3.3686-21 позволил выявить следующие ключевые требования для администрирования и документирования системы мер биологической безопасности в медицинской лаборатории. Основные документы и программы: пункт 11 устанавливает обязательность разработки и утверждения программы

производственного контроля за соблюдением санитарно-эпидемиологических требований с обеспечением лабораторных исследований, пункт 26 требует ведения журнала учета инфекционных заболеваний с регистрацией каждого случая по месту выявления, при этом допускается использование электронного формата.

Система уведомлений: пункты 24 и 27 детально регламентируют процедуру экстренного извещения территориальных органов Роспотребнадзора о случаях инфекционных заболеваний - в течение 2 часов по телефону и 12 часов письменно, а при изменении диагноза - новое извещение в течение 12 часов; пункт 82 дополнительно требует информирования надзорных органов в течение 12 часов об аварийных ситуациях и нарушениях технологических процессов.

Лабораторная диагностика и работа с биоматериалом: пункты 32-34 устанавливают требования к обязательному лабораторному обследованию больных с подозрением на инфекционное заболевание любым доступным методом диагностики, взятие биоматериала должно проводиться в первый день обращения с соблюдением требований по срокам забора, хранения, транспортирования и биобезопасности.

Управление персоналом: пункты 58, 59, 62 регламентируют обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры работников с внесением данных в медицинскую документацию и личные медицинские книжки, пункт 78 требует проведения гигиенического воспитания и обучения не реже одного раза в год, а пункт 82 - подготовки персонала по дезинфекционным мероприятиям.

Дезинфекционная деятельность: пункт 125 содержит 24 подпункта с детальными требованиями к дезинфекционной деятельности в медицинских организациях, включая обработку медицинских изделий многократного применения, централизованное приготовление растворов, контроль качества предстерилизационной очистки и ведение соответствующей документации.

Производственный контроль и биобезопасность: пункт 82 определяет организацию производственного контроля за соблюдением санитарно-эпидемиологических требований, качеством дезинфекционных мероприятий и требований безопасности; пункты 32 и 55 подчеркивают необходимость выполнения всех исследований и работ с соблюдением требований биологической безопасности.

СП 3.3686-21 содержит детальные рекомендации по документообороту, в частности, по обязательным журналам, программам контроля, процедурам уведомления, чек-листам медицинских осмотров, инструкциям по работе с различными типами биоматериала.

Согласно пункту 26, журнал учета инфекционных заболеваний должен содержать регистрацию каждого случая инфекционного заболевания, подозрения на заболевание и носительства по месту выявления в медицинских организациях. Документ может вестись в электронном формате, при этом пункт 38 требует обязательного внесения результатов лабораторного обследования в медицинские документы постоянного хранения и базы данных.

Журнал дезинфекции, упомянутый в пункте 94, предназначен для учета проведенных дезинфекционных мероприятий с возможностью ведения через про-



граммные продукты. В нем фиксируются виды обработки, применяемые средства, режимы и результаты контроля эффективности проведенных мероприятий.

Пункт 125.23 устанавливает необходимость ведения журнала контроля качества предстерилизационной очистки, где отражаются результаты азопирамовой и амидопириновой проб на остаточную кровь, фенолфталеиновой пробы на щелочные компоненты с периодичностью согласно инструкциям по применению средств.

Программа производственного контроля, требуемая пунктом 11, должна охватывать соблюдение санитарно-эпидемиологических требований, проведение санитарно-противоэпидемических мероприятий и лабораторные исследования. Пункт 82 дополняет эти требования контролем качества дезинфекционных мероприятий, их эффективности и соблюдения требований безопасности.

Программа обучения персонала основывается на пунктах 78 и 82, предусматривая гигиеническое воспитание и обучение не реже одного раза в год, инструктаж по дезинфекционным мероприятиям, гигиеническую аттестацию специалистов и подготовку по программам профессионального медицинского образования. Пункт 76 требует включения вопросов профилактики инфекционных болезней в квалификационные требования.

Процедура экстренного уведомления, регламентированная пунктами 24 и 27, должна содержать четкий алгоритм уведомления территориальных органов Роспотребнадзора в течение 2 часов по телефону и письменного извещения в течение 12 часов. Отдельно прописывается порядок уведомления при изменении диагноза с указанием форматов экстренных извещений и контактных данных надзорных органов.

Процедуры забора и транспортирования биоматериала, основанные на пунктах 33 и 34, определяют сроки забора в первый день обращения, условия и сроки хранения различных типов биоматериала, требования к транспортированию с соблюдением биобезопасности. Документ должен регламентировать повторные исследования в установленные сроки, правила маркировки и оформления сопроводительной документации.

Пункт 82 требует разработки процедуры информирования об аварийных ситуациях с уведомлением в течение 12 часов о нарушениях технологических процессов, информированием о мерах безопасности при использовании помещений и координацией с органами государственной власти.

Чек-лист контроля медицинских осмотров, базирующийся на пунктах 58-63, должен обеспечивать проверку своевременности прохождения предварительных и периодических медосмотров, соответствия требованиям приказа Минздрава, правильности внесения данных в личные медицинские книжки. Документ контролирует недопущение к работе лиц, не прошедших медосмотр, и учет обязательных прививок.

Чек-лист контроля качества дезинфекции, основанный на пункте 125, проверяет соблюдение концентраций дезинфицирующих средств, время экспозиции при различных способах обработки, полноту погружения медицинских изделий в раствор, качество промывки изделий после дезинфекции и контроль температурных режимов.

Инструкции по работе с различными типами биоматериала, разрабатываемые на основе пунктов 32-34, должны содержать специфические требования для каждого

типа инфекций, методы амплификации нуклеиновых кислот и использования портативного оборудования во внелaborаторных условиях. Документы регламентируют применение зарегистрированных наборов реагентов и соблюдение требований биологической безопасности.

Инструкции по дезинфекционным мероприятиям, основанные на подпунктах 125.1-24, определяют выбор дезинфицирующих средств по спектру действия, режимы обработки медицинских изделий различного назначения и особенности дезинфекции в присутствии пациентов и персонала. Отдельно прописываются требования к централизованному приготовлению и хранению растворов, использованию механизированных способов обработки через моюще-дезинфицирующие машины и ультразвуковые установки.

Инструкции по предстерилизационной очистке и стерилизации, детализируемые в пунктах 125.21-24, устанавливают последовательность этапов обработки медицинских изделий, методы контроля качества очистки различными пробами, условия хранения обработанных изделий и особенности обработки изделий однократного применения.

В СП 3.3686-21 (пункт 145) установлена четкая иерархия ответственности, где руководитель организации отвечает за обеспечение биологической безопасности в организации в целом, а руководитель подразделения - за соблюдение требований биологической безопасности непосредственно в подразделении.

Согласно пункту 145, по решению руководителя организации создается комиссия по контролю соблюдения требований биологической безопасности (КББ), играющая ключевую роль в системе обеспечения биобезопасности. Пункты 288-290 и 294 определяют участие КББ в оценке аварийных ситуаций, определении объема мероприятий по ликвидации последствий, председатель КББ обязан подать докладную записку руководителю организации в течение 2 часов с подробным описанием аварии и участвовать в оценке объема и качества проведенных мероприятий по ликвидации аварии.

Система допуска персонала к работе с ПБА детально регламентирована в пунктах 151-154, где указано, что допуск осуществляется на основании приказа руководителя организации, издаваемого один раз в два года. Отдельно регулируется допуск инженерно-технического персонала, прикомандированных лиц и слушателей курсов.

СанПиН требует проведения системных инструктажей по биобезопасности. Согласно пунктам 155-157, проводятся вводный, периодические и внеплановые инструктажи с обязательной отметкой в журнале инструктажей или личной карточке сотрудника. Частота инструктажей возрастает с повышением уровня биобезопасности лаборатории (УББ): от ежегодного в лабораториях УББ 1, до ежеквартального или ежемесячного в лабораториях УББ 3, и ежедневного в лабораториях УББ 4.

Документационное обеспечение биобезопасности включает разработку специальных документов. Пункт 146 требует для каждого подразделения разработать документ, определяющий режим безопасной работы с учетом характера работ, особенностей технологии и свойств микроорганизмов. Согласно пункту 147, необходимо разработать план ликвидации аварий при работе с ПБА,



и не реже одного раза в год проводить плановые тренинговые занятия с фиксацией в журнале регистрации. Пункт 148 предписывает разработку инструкций и планов мероприятий по действиям в чрезвычайных ситуациях природного и техногенного характера.

Помимо уже упомянутых журналов, СанПиН требует ведения дополнительных учетных документов: журнала регистрации проведения тренинговых занятий по ликвидации аварий (п. 147), журнала учета и контроля приготовления рабочих растворов дезинфицирующих средств (п. 223), журнала учета проведения генеральных уборок (п. 230), журнала учета аварий и происшествий (п. 290), журнала регистрации аварий (п. 292), журнала термометрии сотрудников (п. 160, 351), журнала посещения блока для работы с инфицированными животными (п. 255).

Требования к оформлению и хранению протоколов включают: протокол проверки защитной эффективности боксов микробиологической безопасности (п. 191), протоколы производственного контроля инженерно-технических систем биобезопасности и удаления отходов (п. 211), протоколы исследований сточных вод (п. 219).

При работе с ПБА необходимы специальные разрешительные документы: разрешение на допуск к работе с ПБА (п. 151-154), схема, утвержденная руководителем подразделения, отражающая потоки движения персонала, материалов и отходов (п. 164, 302, 322), observationalные удостоверения при выезде сотрудников (п. 144), акт испытаний инженерно-технических систем обеспечения биологической безопасности (п. 365).

В случае аварий требуется особое документирование: письменные объяснения руководителя подразделения и пострадавших (п. 289), докладная записка председателя КББ руководителю организации в течение 2 часов (п. 290), заключение в журнале регистрации аварий после ликвидации аварии (п. 292). Пункты 295-296 требуют информирования в течение 2 часов медицинской организации, Роспотребнадзора и ФКУЗ «Противочумный центр» о случаях аварий и заболеваний.

Важным элементом планирования является годовой график планово-предупредительного ремонта лабораторного оборудования и инженерных систем обеспечения биологической безопасности, утверждаемый руководителем организации (п. 186).

Требования к администрированию и документированию возрастают с увеличением уровня биобезопасности лаборатории: от базовых требований для лабораторий УББ 1 (п. 298-317) до крайне строгих правил для лабораторий УББ 4 (п. 346-365), включающих ежедневный медосмотр и особые требования к документированию всех аспектов работы.

В СанПиН 3.3686-21 четко определены полномочия руководителя организации и руководителя подразделения. Последовательность же, алгоритм действий определяется логикой системного подхода к управлению рисками, которая предполагает движение от выявления опасностей через оценку рисков к планированию и внедрению мер защиты с последующим контролем их эффективности. Порядок действий определяется больше логикой процесса управления рисками и международными стандартами управления рисками (ISO 31000), чем требованиями вышеуказанных национальных нор-

мативных актов, поскольку конкретная последовательность действий в российских национальных нормативных актах детально не прописана [26].

Санитарно-эпидемиологические требования, установленные СП 3.3686-21, формируют базовую практическую основу для обеспечения биологической безопасности медицинских лабораторий и создают правовую рамку для профилактики инфекционных заболеваний. Реализация этих требований в деятельности лаборатории требует применения стандартизованных подходов и детализированных методологических решений.

**Методические указания.** Методические указания (МУ) в российской системе нормативного регулирования согласно ФЗ от 31.07.2020 № 247-ФЗ «Об обязательных требованиях в Российской Федерации» не являются обязательными к исполнению в отличие от законов, постановлений правительства и санитарных правил. Как и ГОСТы они имеют рекомендательный характер, но в отличие от ГОСТов представляют собой документы, разъясняющие порядок применения обязательных нормативных актов, содержат практические рекомендации по выполнению требований законодательства, помогают унифицировать подходы к решению типовых задач и предоставляют методологию для практической реализации обязательных требований.

На практике методические указания Роспотребнадзора часто воспринимаются как фактически обязательные, поскольку они разрабатываются федеральными органами исполнительной власти в рамках их компетенции, при проверках контролирующие органы могут использовать их как критерии оценки соответствия, отступление от методических указаний может потребовать обоснования альтернативного подхода, и они часто содержат единственные доступные методики выполнения требований обязательных документов.

МУ 1.3.2569-09 детализирует требования СанПиН для лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот (ПЦР-диагностика), которые имеют особые риски контаминации и требуют специальных мер предосторожности при работе с материалом, содержащим ПБА различных групп опасности. МУ 3.1.4110-24 является более свежим документом, развивающим и уточняющим общие принципы безопасной техники выполнения микробиологических работ, установленные в СанПиН 3.3686-21, применительно к работе с ПБА, учитывая современные подходы и накопленный опыт. Оба документа служат практическим руководством для реализации требований СанПиН в конкретных условиях лабораторной деятельности, предоставляя детальные алгоритмы, процедуры и технические решения, которые в общем виде сформулированы в санитарных правилах.

МУ 1.3.2569-09, будучи специализированным документом для лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот, содержит ряд документов, которые отсутствуют в более общих МУ 3.1.4110-24 и СанПиН 3.3686-21. В части приказов данный документ предусматривает специфические приказы о разделении лабораторного пространства на функциональные зоны для ПЦР-диагностики, о порядке перемещения персонала между зонами различной степени контаминации, об организации однона-

правленного потока материалов и реагентов, о специальных режимах обеззараживания помещений после ПЦР-исследований. Относительно журналов учета МУ 1.3.2569-09 вводит журнал контроля контаминации между зонами ПЦР-лаборатории, журнал учета использования одноразовых расходных материалов для ПЦР, журнал контроля температурных режимов при транспортировке и хранении ПЦР-реагентов, журнал учета циклов обеззараживания ПЦР-боксов, журнал регистрации результатов контроля на наличие ингибиторов ПЦР. В части инструкций документ требует разработки инструкции по предотвращению перекрестной контаминации при ПЦР-анализе, инструкции по работе с термоциклерами и другим специализированным ПЦР-оборудованием, инструкции по валидации ПЦР-систем для работы с ПБА, инструкции по контролю качества ПЦР-исследований при работе с инфекционным материалом, инструкции по утилизации отходов ПЦР-лабораторий. Эти документы отражают специфические риски и особенности ПЦР-диагностики, связанные с высокой чувствительностью метода к контаминации и необходимостью строгого разделения этапов исследования для предотвращения ложноположительных результатов при работе с патогенным материалом.

Методические указания МУ 3.1.4110-24 конкретизируют и расширяют требования СанПиН 3.3686-21, добавляя ряд новых документов. В части приказов методические указания вводят дополнительные требования к оформлению приказа о порядке проведения инструктажей по биологической безопасности, который дополняет общие требования СанПиН, приказа о порядке хранения и передачи ключей от помещений «заразной» зоны, приказа об организации работы с коллекционными штаммами ПБА, приказа о порядке обеззараживания материала, содержащего или подозрительного на содержание ПБА. Относительно журналов учета документ предписывает ведение журнала регистрации инструктажа по биологической безопасности на рабочем месте, журнала учета и выдачи ключей от помещений «заразной» зоны, журнала контроля эффективности работы автоклава, журнала контроля работы бактерицидных облучателей, журнала учета движения ПБА, журнала регистрации аварий при работе с ПБА. В части инструкций методические указания требуют разработки инструкции по биологической безопасности для конкретных видов работ с ПБА, инструкции по порядку действий в случае аварии при ра-

боте с ПБА, инструкции по правилам обеззараживания различных объектов при работе с ПБА, инструкции по правилам хранения и учета коллекционных штаммов, инструкции по правилам работы в боксах биологической безопасности и инструкции по порядку транспортирования инфекционного материала. Методические указания детализируют требования к содержанию этих документов и предлагают типовые формы для их оформления, что значительно упрощает практическое внедрение требований СанПиН в работу лабораторий.

Выше представленные МУ образуют методическую основу для практического применения обязательных санитарно-эпидемиологических требований.

**Анализ стандартов (ГОСТов).** Национальные стандарты, развивая положения СП 3.3686-21, до абсолюта детализируют технологические аспекты лабораторной деятельности, переводя даже конкретные санитарно-эпидемиологические требования в подробнейшие технические решения и пошаговые алгоритмы действий применительно к специфике лабораторных процессов, определяя точные параметры технологических режимов, критерии оценки эффективности мероприятий и методы контроля соблюдения установленных требований. Методологические основы лабораторной диагностики инфекционных болезней устанавливает ГОСТ Р 52905-2023, определяя стандартизированные подходы к проведению исследований. В развитие требований санитарных правил, ГОСТ Р 53079.4-2008 регламентирует технологические процессы клинических лабораторных исследований на преаналитическом этапе. Системная реализация всех требований биологической безопасности обеспечивается через применение ГОСТ Р ИСО 22367-2022 и ГОСТ Р ИСО 15189, устанавливающих комплексную систему менеджмента качества медицинских лабораторий.

Все рассматриваемые документы объединяет общий подход к обеспечению качества и безопасности лабораторных исследований. Они содержат взаимодополняющие требования к квалификации персонала, организации рабочих процессов и обеспечению биологической безопасности, включая стандарты оснащения помещений, процедуры дезинфекции и правила обращения с биологическими отходами. Указанные документы имеют специфические различия и особенности документирования, связанные с их фокусировкой на определенных направлениях деятельности медицинской лаборатории (см. таблицу).

Специфические различия и особенности документирования санитарных правил и ГОСТов в деятельности медицинской лаборатории

Документ	Основной фокус	Особенности документирования
СП 3.3686-21	Эпидемиологическая безопасность	Журналы учета инфекционных заболеваний
		Протоколы противоэпидемических мероприятий
		Планы профилактических мероприятий
ГОСТ Р 52905-2023	Лабораторная диагностика инфекционных болезней	Стандартизированные методики исследований
		Протоколы валидации методов
		Документы по метрологическому обеспечению
ГОСТ Р 53079.4-2008	Технологии лабораторные клинические	Процедуры преаналитического этапа
		Алгоритмы обработки результатов
		Формы отчетности
ГОСТ Р ИСО 15189	Система менеджмента качества	Руководство по качеству
		Процедуры системы менеджмента
		Записи по мониторингу процессов

ГОСТ Р 52905-2023 требует наличия документированных процедур для обработки и деcontаминации разливов, использования средств индивидуальной защиты, обращения с острыми предметами, обеззараживания и утилизации отходов, действий при аварийных ситуациях. ГОСТ Р 53079.4-2008 предписывает наличие документированных процедур для взятия биоматериала, маркировки образцов, транспортировки и хранения, подготовки проб. Все требования ГОСТ Р 52905-2023 и ГОСТ Р 53079.4-2008 пересекаются с ГОСТ Р ИСО 15189-2024, поскольку он охватывает как процедуры биобезопасности, так и преаналитический этап. Уникальными требованиями к биобезопасности в ГОСТ Р ИСО 15189-2024, которые отсутствуют в других стандартах, являются:

1. Управление рисками (п. 5.6). Требование установить, внедрить и поддерживать процессы выявления рисков причинения вреда пациентам, требование оценивать результативность этих процессов, ссылка на ИСО 22367 по управлению рисками и ИСО 35001 по управлению биологическими рисками.
2. Контроль за помещениями (п. 6.3.2). Требования к контролируемому доступу с учетом безопасности, предотвращение контаминации и интерференции, проверка функционирования средств и устройств безопасности.
3. Ответственность руководства за биобезопасность (п. 5.2.2). Ответственность за внедрение системы менеджмента, управление рисками во всех аспектах деятельности лаборатории, планомерное выявление и устранение рисков.

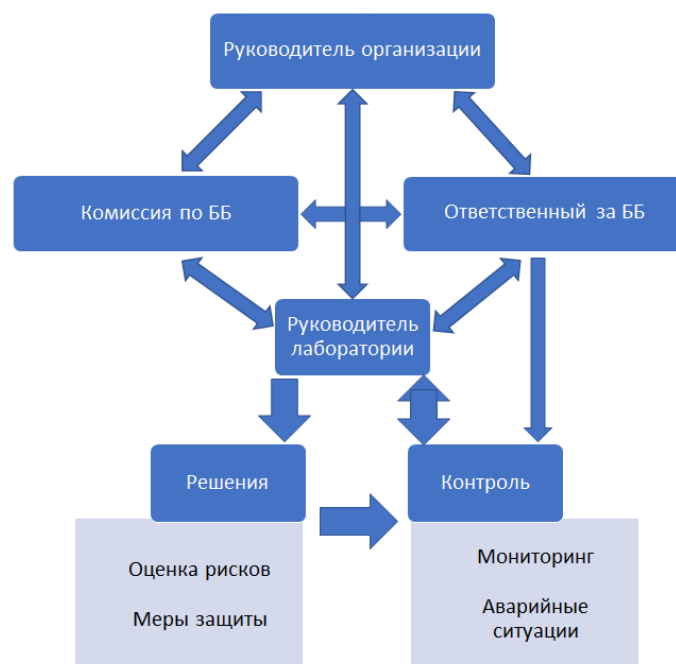
ГОСТ Р ИСО 15189-2024 содержит более системный подход к обеспечению биобезопасности через управление рисками на всех уровнях.

**Интегрированная система документооборота и администрирования.** На основе проведенного анали-

за нормативно-правовых актов можно заключить, что администрирование системы мер биологической безопасности в медицинской лаборатории включает организацию работы по идентификации биологических рисков, планирование и внедрение мер по их предотвращению, управление персоналом, контроль выполнения требований безопасности, координацию действий при внештатных ситуациях и оценку эффективности принятых мер в соответствии с законодательством.

Документирование данной системы представляет собой создание и ведение комплекта документов, включающего оценку биологических рисков, инструкции по безопасной работе с ПБА, порядок действий при авариях, программы обучения персонала, журналы инструктажей и проверок, протоколы лабораторных исследований, результаты аудитов и иные документы, требуемые СП 3.3686-23 и другими ранее перечисленными нормативными актами.

Анализ нормативно-правовых актов позволил определить, что эффективная интеграция всех нормативных требований в медицинской лаборатории достигается через создание трёхуровневой системы документооборота. Стратегический уровень формируется на основе Указа Президента № 97, ФЗ о ББ, СП 3.3686-21 и включает стратегические и политические документы, нормативно-распорядительные документы организации. Tактический уровень развивает эти требования через процедурные и методические документы, разработанные в соответствии с МУ, техническими стандартами, планы и программы мероприятий. Операционный уровень объединяет учетно-контрольные документы, протоколы и отчеты, справочно-информационные документы в рамках единой системы менеджмента качества согласно ГОСТ Р ИСО 15189, обеспечивая постоянное улучшение процессов и поддержание соответствия всем нормативным требованиям.





Трёхуровневая система документооборота находится в тесной взаимосвязи с системой администрирования внутри организации, обеспечивая взаимную интеграцию, поддержку и функциональное единство управленческих процессов. Представленная ниже последовательность отражает не иерархическую структуру документов, а хронологию процесса управления биологической безопасностью и взаимосвязанный характер документооборота, где документы различных уровней создаются и взаимодействуют в соответствии с логикой принятия и реализации управленческих решений. Стратегические решения требуют немедленной операционной фиксации, а тактические меры вытекают из результатов операционного контроля, что демонстрирует итеративный характер системы управления биологической безопасностью (см. рисунок):

1. Руководитель организации утверждает политику биологической безопасности и назначает ответственных лиц - оформляется соответствующими приказами (стратегический уровень);
2. Руководитель лаборатории организует проведение оценки рисков - результаты фиксируются в документе биологической безопасности (операционный уровень);
3. Руководитель организации совместно с комиссией по ББ принимает решения о необходимых мерах защиты и утверждает их - оформляется приказами (стратегический уровень) и инструкциями (тактический уровень);
4. Ответственное лицо за биологическую безопасность контролирует выполнение установленных требований - ведутся журналы контроля (операционный уровень);
5. Руководитель организации совместно с руководителем лаборатории обеспечивают готовность к аварийным ситуациям - разрабатываются и утверждаются планы реагирования (тактический уровень) и алгоритмы действий (тактический уровень).

Функционирование такой интегрированной законодательно обоснованной системы обеспечивает медицинской лаборатории возможность комплексного соблюдения санитарно-эпидемиологических требований, применения стандартизированных технологий и поддержания высокого уровня качества исследований на основе единого управленческого подхода.

На основании выполненного анализа нормативно-правовой базы в области биологической безопасности для медицинских лабораторий можно сформулировать следующие выводы:

1. **О формировании правовой основы биологической безопасности.** Система нормативного регулирования биологической безопасности в России прошла длительный путь развития и окончательно сформировалась с принятием ФЗ № 492-ФЗ «О биологической безопасности в Российской Федерации» в 2021 году. Закон заполнил существовавший пробел в специальном правовом регулировании биологических угроз и создал единую правовую основу для защиты населения и окружающей среды от биологических рисков.
2. **О структуре нормативного регулирования.** Представлена четкая трехуровневая система нормативного регулирования: стратегический уровень (Указ

Президента № 97), законодательный уровень (ФЗ о ББ) и подзаконный уровень (санитарные правила, ГОСТы, методические указания). Такая структура обеспечивает комплексный подход к управлению биологическими рисками от стратегического планирования до операционного контроля в медицинских организациях.

3. **О взаимосвязи нормативных документов.** Выявлена терминологическая преемственность и принципиальная согласованность между основными нормативными документами. Указ Президента формирует стратегические направления, ФЗ о ББ устанавливает конкретные требования к организациям, подзаконные акты детализируют механизмы практической реализации. МУ 1.3.2569-09 и МУ 3.1.4110-24, имея формально рекомендательный характер, фактически являются обязательными для применения в специфических видах лабораторной деятельности.
4. **О системе администрирования и документирования.** Администрирование и документирование представляют собой неразрывно связанные элементы единого управленческого процесса. Эффективное администрирование системы биологической безопасности невозможно без надлежащего документирования, обеспечивающего прослеживаемость процессов и демонстрирующего соответствие законодательным требованиям.
5. **О ключевых требованиях к медицинским лабораториям.** СП 3.3686-21 и методические указания Роспотребнадзора устанавливают детальные требования к документообороту медицинских лабораторий, включающие обязательные журналы, программы контроля, процедуры уведомления и систему ответственности. Требования возрастают с увеличением уровня биобезопасности лаборатории. ГОСТы дополняют санитарные правила техническими требованиями к системе менеджмента качества, создавая интегрированную систему управления.
6. **О пробелах в методическом обеспечении.** Выявлено отсутствие единого методического документа, комплексно описывающего администрирование и документирование системы мер биологической безопасности в медицинской лаборатории. Существующие рекомендации носят фрагментарный характер, что создает необходимость самостоятельной интеграции требований различных нормативных актов.
7. **О системе документооборота.** Предложена трехуровневая система документооборота биологической безопасности медицинской лаборатории: стратегический уровень (политические и нормативно-распорядительные документы), тактический уровень (процедуры и планы мероприятий), операционный уровень (учетно-контрольные и справочные документы). Система характеризуется взаимосвязанным взаимодействием документов различных уровней в соответствии с логикой управления биологической безопасностью.
8. **О практической пользе и перспективах исследования.** На основе выполненного анализа нормативно-правовых актов определены необходимые внутренние документы по биологической безопасности медицинской лаборатории для их дальней-



шей структуризации с помощью разработанного алгоритма администрирования принятия решений и контроля в организации, соответствующего установленному законодательству. Результаты могут служить основой для стандартизации подходов к обеспечению биологической безопасности в медицинских организациях.

**Заключение.** Проведенный анализ нормативно-правовых актов в области биологической безопасности с учётом особенностей деятельности медицинских лабораторий свидетельствует о формировании в России целостной системы правового регулирования данной сферы. Принятие Федерального закона «О биологической безопасности в Российской Федерации» стало завершающим этапом длительного процесса создания специального законодательства в области биобезопасности, прошедшего путь от фрагментарных инициатив до комплексного законодательного оформления. Установленная трехуровневая система нормативного регулирования, включающая стратегический уровень (Указ Президента РФ № 97), законодательный уровень (ФЗ о ББ), подзаконные акты (СП 3.3686-21, методические указания, ГОСТы), обеспечивает комплексный подход к управлению биологическими рисками от государственной политики до рабочих процедур. Выявленная терминологическая преемственность и принципиальная согласованность между документами создает единую понятийную основу для всей системы биобезопасности.

Предложенная трехуровневая система документооборота (стратегический, тактический, операционный уровни) характеризуется взаимосвязанным взаимодействием документов различных уровней в соответствии с логикой управления биологической безопасностью. Выявленная неразрывная взаимосвязь между администрированием и документированием подтверждает необходимость системного подхода к внедрению требований биологической безопасности.

Система требует дальнейшего развития методического обеспечения. Особую актуальность приобретает создание единых методических рекомендаций по администрированию и документированию системы мер биологической безопасности в медицинских лабораториях, поскольку существующие документы носят фрагментарный характер и требуют самостоятельной интеграции. Определенные в ходе анализа нормативных актов необходимые документы по биологической безопасности и предложенный алгоритм администрирования принятия решений и контроля могут служить основой для разработки практических рекомендаций и стандартизации подходов к обеспечению биологической безопасности в медицинских организациях.

Последующие исследования должны быть направлены на разработку детального каталога документов системы биологической безопасности и создание практических инструментов для их внедрения в деятельность медицинских лабораторий различных уровней биобезопасности, что будет способствовать повышению эффективности обеспечения биологической безопасности в медицинских организациях Российской Федерации.

#### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 7-11, 15, 26 см. REFERENCES)

1. Основы государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2010 года и дальнейшую перспективу: утв. Президентом РФ 01.11.2004 № Пр-2194 [Электронный ресурс]. ЦНТД - Центр нормативно-технической документации. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/902287625> (дата обращения: 02.06.2025).
2. О федеральной целевой программе «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009-2014 годы)»: постановление Правительства Российской Федерации от 27.10.2008 № 791 [Электронный ресурс]. Правительство России: официальный сайт. Режим доступа: <http://government.ru/docs/all/65869/> (дата обращения: 02.06.2025).
3. Основы государственной политики в области обеспечения химической и биологической безопасности Российской Федерации на период до 2025 года и дальнейшую перспективу: утв. Президентом РФ 01.11.2013 № Пр-2573 [Электронный ресурс]. Совет Безопасности Российской Федерации: официальный сайт. Режим доступа: <http://www.scrf.gov.ru/security/military/document127/> (дата обращения: 02.06.2025).
4. Заключение по Федеральному закону «О биологической безопасности в Российской Федерации»: заключение Комитета Совета Федерации по социальной политике от 24 декабря 2020 г. [Электронный ресурс]. Совет Федерации Федерального Собрания Российской Федерации: официальный сайт. Режим доступа: [http://social.council.gov.ru/activity/legislation/resolutions\\_law/123618/](http://social.council.gov.ru/activity/legislation/resolutions_law/123618/) (дата обращения: 02.06.2025).
5. Руководство по составлению документа, подтверждающего безопасность биологически опасного объекта: руководство: Р 3.1.3013-12: утверждено Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 11 апреля 2012 г.: введено в действие с момента утверждения [Электронный ресурс]. Режим доступа: [https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT\\_ID=5106](https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=5106) (дата обращения: 02.06.2025).
6. Акимкин В.Г., Семенов Т.А., Хафизов К.Ф., Углева С.В., Дубоделов Д.В., Свердлов Е.Д и др. Биобезопасность и геномный эпидемиологический надзор. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2024; 5: 4-12. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-5-4-12.
12. Концевенко А.С. Развитие биотехнологий и биотерроризм. *Московский журнал международного права*. 2009; 3: 250-63. DOI: 10.24833/0869-0049-2009-3-250-263.
13. Каримов В.Х., Казанцев Д.А. Потенциальные угрозы использования генетических технологий и правовые пути их разрешения. *Вопросы безопасности*. 2022; 1: 48-63. DOI: 10.25136/2409-7543.2022.1.36744.
15. Наугольнова И.А. Процессный подход к управлению: эволюция, современные вызовы, инновации. *Креативная экономика*. 2023; 17(6): 2143-64. DOI: 10.18334/ce.17.6.117951.
16. Сенченко П.В., Ехлаков Ю.П., Кириенко В.Е. Документационное обеспечение управленческих решений. Томск: Томский государственный университет систем управления и радиоэлектроники; 2018.
17. Сильченко Н.В. Проблемы иерархии источников права. *Государство и право*. 2018; 4: 13-20.
18. Система нормативно-правовых актов в российском праве [Электронный ресурс]. Арбитражная практика для юристов. 2022; 25 апреля. Режим доступа: <https://www.arbitr-praktika.ru/article/2332-sistema-normativno-pravovyh-aktov-v-rossiyskom-prave> (дата обращения: 02.06.2025).
19. Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»: постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 № 4: зарегистрировано в Минюсте России 15.02.2021 № 62500 [Электронный ресурс]. Официальное опубликование правовых актов. Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202102180019> (дата обращения: 02.06.2025).
20. Методические указания МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеино-

- вых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I-IV групп патогенности»: утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом РФ 22 декабря 2009 г. [Электронный ресурс]. ГАРАНТ: информационно-правовой портал. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70180116/> (дата обращения: 02.06.2025).
21. Профилактика инфекционных болезней. Безопасная техника выполнения микробиологических работ с патогенными биологическими агентами: методические указания: МУ 3.1.4110-24.3.1 [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://legalacts.ru/doc/mu-314110-24-31-profilaktika-infektsionnykh-boleznei-bezopasnaja-tehnika-vypolnenija/> (дата обращения: 02.06.2025).
  22. ГОСТ Р 52905-2023. Лаборатории медицинские. Требования безопасности: национальный стандарт Российской Федерации: дата введения 2024-02-01 [Электронный ресурс]. Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. Режим доступа: <https://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=253908> (дата обращения: 02.06.2025).
  23. ГОСТ Р 53079.4-2008. Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа: национальный стандарт Российской Федерации: дата введения 2010-01-01 [Электронный ресурс]. Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. Режим доступа: <https://protect.gost.ru/document1.aspx?control=31&id=174528> (дата обращения: 02.06.2025).
  24. ГОСТ Р ИСО 22367-2022. Лаборатории медицинские. Применение менеджмента риска в медицинских лабораториях: национальный стандарт Российской Федерации: дата введения 2023-09-01 [Электронный ресурс]. Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. Режим доступа: <https://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=246418> (дата обращения: 02.06.2025).
  25. ГОСТ Р ИСО 15189-2024. Медицинские лаборатории. Требования к качеству и компетентности: национальный стандарт Российской Федерации: дата введения 2025-01-10 [Электронный ресурс]. Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии. Режим доступа: <https://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=264346> (дата обращения: 02.06.2025).
- 
- ## REFERENCES
1. Fundamentals of State Policy in the Field of Ensuring Chemical and Biological Security of the Russian Federation for the Period up to 2010 and Further Prospects: approved by the President of the Russian Federation on 01.11.2004 No. Pr-2194 [Electronic resource]. CNTD - Center for Regulatory and Technical Documentation. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/902287625> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
  2. On the Federal Target Program «National System of Chemical and Biological Security of the Russian Federation (2009-2014)»: Resolution of the Government of the Russian Federation dated 27.10.2008 No. 791 [Electronic resource]. Government of Russia: official website. Available at: <http://government.ru/docs/all/65869/> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
  3. Fundamentals of State Policy in the Field of Ensuring Chemical and Biological Security of the Russian Federation for the Period up to 2025 and Further Prospects: approved by the President of the Russian Federation on 01.11.2013 № Pr-2573 [Electronic resource]. Security Council of the Russian Federation: official website. Available at: <http://www.scrf.gov.ru/security/military/document127/> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
  4. Conclusion on the Federal Law «On Biological Safety in the Russian Federation»: Conclusion of the Federation Council Committee on Social Policy dated December 24, 2020 [Electronic resource]. Federation Council of the Federal Assembly of the Russian Federation: official website. Available at: [http://social.council.gov.ru/activity/legislation/resolutions\\_law/123618/](http://social.council.gov.ru/activity/legislation/resolutions_law/123618/) (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
  5. Guidelines for the Preparation of a Document Confirming the Safety of a Biologically Hazardous Facility: guidelines: R 3.1.3013-12: approved by the Head of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation G.G. Onishchenko on April 11, 2012: effective from the date of approval [Electronic resource]. Available at: [https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT\\_ID=5106](https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=5106) (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
  6. Akimkin V.G., Semenenko T.A., Khafizov K.F., Ugleva S.V., Dubodelov D.V., Sverdlov E.D. et al. Biosafety and genomic epidemiological surveillance. *Epidemiologiya i vaktsinoprofilaktika*. 2024; 5: 4-12. DOI: 10.31631/2073-3046-2024-23-5-4-12. (in Russian)
  7. de Lima R.C., Sinclair L., Megger R., Maciel MAG, Vasconcelos PFDC, Quaresma JAS et al. Artificial intelligence challenges in the face of biological threats: emerging catastrophic risks for public health. *Front. Artif. Intell.* 2024; 7: 1382356. DOI: 10.3389/frai.2024.1382356.
  8. Convention on the Prohibition of the Development, Production and Stockpiling of Bacteriological (Biological) and Toxin Weapons and on their Destruction [Electronic resource]. Consultant.ru. Available at: [consultant.rugarant.ru](https://consultant.rugarant.ru) (accessed: 02.06.2025). Text: electronic.
  9. International Health Regulations (IHR) [Electronic resource]. VERTIC: [website]. Available at: [vertic.org](https://vertic.org) (accessed: 02.06.2025). Text: electronic.
  10. Codex Alimentarius: International Food Standards, Guidelines and Codes of Practice [Electronic resource]. VERTIC: [website]. Available at: [vertic.org](https://vertic.org) (accessed: 02.06.2025). Text: electronic.
  11. CWA 15793:2008 Laboratory Biorisk Management Standard [Electronic resource]. Russian Collection of Microorganisms: [website]. Available at: [vkpm.genetika.ru](https://vkpm.genetika.ru) (accessed: 02.06.2025). Text: electronic.
  12. Kontsevenko A.S. Development of biotechnology and bioterrorism. *Moskovskiy zhurnal mezhdunarodnogo prava*. 2009; 3: 250-63. DOI: 10.24833/0869-0049-2009-3-250-263. (in Russian)
  13. Karimov V.Kh., Kazantsev D.A. Potential threats of using genetic technologies and legal ways to resolve them. *Voprosy bezopasnosti*. 2022; 1: 48-63. DOI: 10.25136/2409-7543.2022.1.36744. (in Russian)
  14. Abieva A.A., Seiduanova L.B. Biological safety when working with biomaterial in laboratories. *West Kazakhstan Medical Journal*. 2021; 4 (63): 175-83.
  15. Naugol' nova I.A. Process approach to management: evolution, modern challenges, innovations. *Kreativnaya ekonomika*. 2023; 17(6): 2143-64. DOI: 10.18334/ce.17.6.117951. (in Russian)
  16. Senchenko P.V., Ekhlakov Yu.P., Kirienko V.E. Documentation support of management decisions. Tomsk: Tomskiy gosudarstvennyi universitet system upravleniya i radioelektroniki; 2018. (in Russian)
  17. Sil'chenko N.V. Problems of the hierarchy of sources of law. *Gosudarstvo i pravo*. 2018; 4: 13-20. (in Russian)
  18. The System of Normative Legal Acts in Russian Law [Electronic resource]. Arbitration Practice for Lawyers. 2022; April 25. Available at: <https://www.arbitr-praktika.ru/article/2332-sistema-normativno-pravovykh-aktov-v-rossijskom-prave> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
  19. On approval of sanitary rules and norms SanPiN 3.3686-21 «Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases»: Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation dated 28.01.2021 № 4: registered with the Ministry of Justice of Russia on 15.02.2021 № 62500 [Electronic resource]. Official publication of legal acts. Available at: <http://publication.pravo.gov.ru/Document/View/0001202102180019> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
  20. Organization of work of laboratories using nucleic acid amplification methods when working with material containing microorganisms of I-IV pathogenicity groups: methodological guidelines: МУ 1.3.2569-09: approved by the Head of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on December 22, 2009 [Electronic resource]. GARANT: information and legal portal. Available at: <https://base.garant.ru/70180116/> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
  21. Prevention of infectious diseases. Safe techniques for performing microbiological work with pathogenic biological agents: methodological guidelines: МУ 3.1.4110-24.3.1 [Electronic resource].

- Available at: <https://legalacts.ru/doc/mu-314110-24-31-profilaktika-infektsionnykh-boleznei-bezopasnaja-tehnika-vypolnenija/> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
23. GOST R 52905-2023. Medical laboratories. Safety requirements: national standard of the Russian Federation: effective date 01.02.2024 [Electronic resource]. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology. Available at: <https://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=253908> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
24. GOST R 53079.4-2008. Medical laboratory technologies. Quality assurance of clinical laboratory tests. Part 4. Rules for conducting of pre-analytical stage: national standard of the Russian Federation: effective date 01.01.2010 [Electronic resource]. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology. Available at: <https://protect.gost.ru/document1.aspx?control=31&id=174528> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
25. GOST R ISO 22367-2022. Medical laboratories. Application of risk management to medical laboratories: national standard of the Russian Federation: effective date 01.09.2023 [Electronic resource]. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology. Available at: <https://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=246418> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic (in Russian)
26. GOST R ISO 15189-2024. Medical laboratories. Requirements for quality and competence: national standard of the Russian Federation: effective date 10.01.2025 [Electronic resource]. Federal Agency for Technical Regulation and Metrology. Available at: <https://protect.gost.ru/document.aspx?control=7&id=264346> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic. (in Russian)
27. ISO 31000:2018. Risk management - Guidelines [Electronic resource]. ISO: International Organization for Standardization. Available at: <https://www.iso.org/standard/65694.html> (accessed: 02.06.2025). Text: electronic.