

УДК: 616-06

DOI: 10.14427/jipai.2021.4.54

Современные аспекты лабораторной диагностики кокцидиоидомикоза

А.А. Муругова, Н.В. Половец, А.В. Липницкий, Р.С. Суркова

Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Волгоград

Modern aspects of coccidioidomycosis laboratory diagnosis

A.A. Murugova, N.V. Polovets, A.V. Lipnitsky, R.S. Surkova

Federal Government Health Institution «Volgograd Plague control Research Institute» of Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare, Volgograd

Аннотация

Кокцидиоидомикоз – заболевание, вызываемое микромицетами *Coccidioides spp.*, клинические проявления которого варьируют от бессимптомных до тяжелых диссеминированных форм. Болезнь эндемична для юго-запада США и многих стран Центральной и Южной Америки. Ввиду отсутствия специфических симптомов и рентгенологической картины постановка диагноза без лабораторного подтверждения не представляется возможной. Наш обзор посвящен современным аспектам лабораторной диагностики кокцидиоидомикоза.

Ключевые слова

Кокцидиоидомикоз, род *Coccidioides*, лабораторная диагностика.

Введение

Кокцидиоидомикоз (КМ) (долинная лихорадка или лихорадка долины Сан-Хоакин) – системный эндемичный микоз, возникающий в результате вдыхания спор – артроконидий – почвенных грибов рода *Coccidioides* [1]. В США большинство случаев заболевания КМ регистрируют в штатах Аризона и Калифорния [2-4]. Вне США грибы рода *Coccidioides* встречаются в странах Центральной и Южной Америки, таких как Мексика, Бразилия, Венесуэла, Гватемала, Аргентина, Парагвай, Гондурас, Боливия, а также Колумбия [5-8].

Coccidioides spp. является наиболее контагиозным среди особо опасных микозов. Это связано с минимальной инфицирующей дозой, необхо-

Summary

Coccidioidomycosis is a disease caused by fungi *Coccidioides spp.* Clinical manifestations range from asymptomatic to severe disseminated forms. The disease is endemic to the southwestern United States and many countries of Central and South America. The lack of specific symptoms and X-ray picture makes impossible to diagnosis without laboratory confirmation. Our review is about the modern features of coccidioidomycosis laboratory diagnostics.

Keywords

Coccidioidomycosis, genus *Coccidioides*, laboratory diagnostics.

димой для заражения макроорганизма, которая составляет от 10 до 50 артроконидий [9, 10]. После инкубационного периода, составляющего от 7 до 21 суток, грибы рода *Coccidioides* вызывают широкий спектр симптомов, начиная от субклинических респираторных проявлений до тяжелых диссеминированных форм [11]. Прогрессирование заболевания чаще всего регистрируют у лиц с ослабленным иммунитетом. Также возможна реактивация скрытой инфекции спустя годы после инфицирования спорами *Coccidioides spp.* Тяжелые случаи течения инфекции трудно поддаются лечению и обычно требуют длительной противогрибковой терапии [12-14].

Постановка диагноза КМ представляет собой комбинацию эпидемиологических, клинических,

общелабораторных, микробиологических, гистопатологических и рентгенологических методов [14].

Ранняя диагностика КМ является сложной задачей ввиду отсутствия патогномичных клинических симптомов [15-16]. Алгоритмы, применяемые для лабораторной диагностики КМ, в зарубежных странах устанавливают CDC (Центр по контролю и профилактике заболеваний, США) и ЕСММ (Европейская конфедерация медицинской микологии, Швейцария). Нормативные документы, регламентирующие этапы проведения лабораторной диагностики особо опасных микозов на территории Российской Федерации, находятся на стадии разработки.

Микроскопия

При просмотре гистологических препаратов наблюдают весьма характерную для возбудителей КМ картину – двухконтурные, толстые образования клеток (сферулы) диаметром в среднем 10-80 мкм, которые могут быть пустыми или содержать эндоспоры (2-4 мкм в диаметре). При световой микроскопии используют раствор 10% гидроксида калия для мацерации тканей макроорганизма. Окрашивание мазков проводят с помощью реакции Шиффа (PAS), а также с использованием методик Гридди и/или Грокотта (GMS). Использование флуоресцентных красителей, таких как Fungi-Fluor (Calcofluor white staining solution), Blancophor или Tinopal UNPA-GX, повышает вероятность обнаружения патогена [17].

Мицелиальная форма *Coccidioides* редко идентифицируется *in vivo*. В ряде случаев при микроскопии клинических образцов, взятых из полостных поражений в легких, возможно обнаружение мицелия. Можно предположить, что развитие мицелиальной фазы связано с повышенной аэрацией и, как следствие, созданием условий повышенного содержания кислорода [18].

«Прямая» (из предполагаемого очага воспаления) микроскопия наименее чувствительна в сравнении с другими методами исследования, и отрицательный результат не исключает наличие инфекции [19].

При микроскопии культуры в мицелиальной фазе *Coccidioides spp.* обнаруживают разветвленный септированный мицелий около 2 мм в диаметре с бочкообразными артросторами, которые чередуются с зонами просветления, образуемыми клетками разобщителями (дизъюнкторами). По мере созревания мицелий распадается, и на концах артростор остаются фрагменты стенки мицелиальных клеток – «усики», которые являются характерным морфологическим признаком *Coccidioides spp.* [19].

Микологический (культуральный) метод

В отличие от других эндемичных грибов, *Coccidioides spp.* в мицелиальной фазе хорошо растет на стандартных микологических средах при температуре 26-28°C. Для подавления сопутствующей микробиоты при посеве клинического материала целесообразно добавление левомецетина (хлорамфеникола) и актидиона (циклогексимида). Первичный рост колоний беловато-серого цвета без пигментации наблюдают на 3-7 сутки. Начиная с 5 суток, по мере созревания мицелия, происходит формирование артроконидий. При более длительном хранении культуры могут приобретать желтоватый или светло-коричневый оттенок [20].

Тканевую фазу микромицета получают путем посева исследуемого образца в жидкую модифицированную среду Конверса, с последующей инкубацией в атмосфере углекислого газа (10-20%) при температуре 34-41°C [21].

Доказательство диморфизма гриба не является обязательным этапом в лабораторной диагностике КМ, тем не менее, может служить вспомогательным инструментом при идентификации *Coccidioides spp.*

Основным ограничением культурального метода является риск внутрилабораторного заражения, поэтому проведение исследования возможно только в лаборатории, имеющей соответствующий уровень микробиологической безопасности.

Иммунологические методы

Иммуноанализ направлен как на выявление специфических антител в сыворотке крови пациентов, так и на обнаружение антигенов микромицетов в клиническом материале.

Методы иммунодиагностики, направленные на поиск специфических иммуноглобулинов, включают в себя иммунодиффузию (РИД), реакцию связывания комплемента (РСК) и иммуноферментный анализ (ИФА). Использование вышеперечисленных методов в большинстве случаев обеспечивает лабораторную основу для диагностики КМ, но в то же время имеет ряд особенностей [22-24].

РИД и РСК отличаются своей простотой в постановке и не требуют наличия специального оборудования. Несмотря на возможные перекрестные реакции, данные тесты рекомендуют и широко используют в диагностике КМ. Противоккокцидиоидные гуморальные антитела (IgM и IgG) у инфицированного больного не обеспечивают защиту от гриба, но указывают на уровень иммунного ответа организма, что может быть использовано для диагностики и прогнозирования

КМ. Определение антител класса IgM становится возможным в острой фазе инфекции, обычно между первой (50%) и третьей (90%) неделями от начала заболевания. Антитела класса IgG вырабатываются на более поздних стадиях инфекционного процесса, начиная со 2-й и до 28-й недели после начала заболевания, и могут сохраняться в течение нескольких месяцев в зависимости от тяжести течения КМ [25, 26].

ИФА по сравнению с методами РИД и РСК более чувствительный метод диагностики КМ, хотя и менее специфичен.

В 2017 году проведены сравнительные испытания препаратов для РИД, РСК и ИФА. Установлено, что ИФА более чувствителен, чем РИД или РСК. Чувствительность составила 88 % по сравнению с 60 % для РИД и 66 % для РСК [26]. При тестировании образцов сывороток пациентов с ослабленным иммунитетом, у которых чувствительность РИД была заметно снижена, ИФА сохраняла аналогично высокие показатели и демонстрировала единичные перекрестные реакции с другими эндемичными микозами [26].

Среди трех выпускаемых ИФА тест-систем также были проведены сравнительные испытания, в которых показано преимущество использования диагностических препаратов производства MiraVista [27].

Обнаружение антител к *Coccidioides* у пациентов в сыворотке крови методом иммунохроматографического анализа бокового потока (ИХА БП), который недавно получил одобрение FDA (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов в США) для клинического тестирования КМ, может быть выполнен в течение 30 минут «у постели больного» и не требует наличия специализированного оборудования и дополнительных реагентов [28]. Анализ данных, полученных в ретроспективных исследованиях, показал высокую чувствительность метода ИХА БП от 93% до 100% по сравнению с ИФА, специфичность от 75% до 99% в сравнении с ИФА и РИД [29]. Возможность применения ИХА БП в диагностике диссеминированного КМ до сих пор не изучена [30, 31].

У иммунокомпрометированных пациентов и (или) пациентов с тяжелыми формами КМ определение иммуноглобулинов может быть затруднено ввиду нарушения выработки антител, и здесь на первый план выходит обнаружение антигенов в тканях и биологических жидкостях. Выбор материала для исследования в таких случаях основывается на проявлении ведущих симптомов и зависит от формы заболевания (гной, мокрота, кровь,

спинномозговая жидкость, смывы из бронхов, экссудаты из плевральной полости, пунктат костного мозга, реже – испражнения).

Коммерческие наборы, направленные на поиск антигенов (полисахаридов) в настоящее время базируются на определении видоспецифичных 1,3-β-D-глюкана (БГ) и галактоманнана (ГЛМ).

Thompson et al. в своем исследовании сообщили о результатах тестирования БГ в сыворотке больных КМ [32]. Показано, что чувствительность БГ теста составила 43,9%, специфичность – 91,1% и положительная прогностическая ценность – 81,8%. Определено, что такой подход может быть полезным при диагностике КМ в период до начала выработки специфических антител и/или у пациентов с тяжелым течением [32]. Схожие данные были получены Zangeneh et al. – образцы с высоким титром антигенов *Coccidioides* были почти всегда (> 90% случаев) положительные на наличие БГ [33].

Специфичный для *Coccidioides* тест на ГЛМ демонстрирует перекрестную реактивность с сыворотками крови пациентов с гистоплазмозом и бластомикозом и его пригодность для диагностики КМ у иммунокомпетентных пациентов с легкой формой заболевания не определена [5], тем не менее, его используют для подтверждения фунгемии, но значительно реже, чем определение БГ.

Кожный тест

Существует мнение, что клеточный иммунный ответ играет решающую роль в контроле КМ, и индукция этого ответа обеспечивает пожизненный иммунитет и снижает риск дальнейшего рецидива. Классическим методом оценки клеточного иммунитета является измерение гиперчувствительности замедленного типа после внутрикожной инъекции антигена. Препарат для кожного теста производят на основе тканевой фазы *Coccidioides* – сферул. Результаты реакции оценивают через 24-48 часов по образованию папулы и диаметру эритемы (уплотнение ≥5 мм считается положительной реакцией), что свидетельствует о наличии контакта с патогеном [34].

Молекулярно-генетические методы

Первоначально в диагностике КМ использовали хемилюминесцентные зонды для гибридизации, комплементарные последовательностям генов 28S рРНК. Чувствительность метода зависела от вида клинического материала и снижалась при исследовании гистологических сре-

зов, фиксированных в формалине. Метод был рекомендован для идентификации диморфных грибов, однако авторами отмечались ложноположительные результаты при тестировании штаммов близкородственных грибов в пределах порядка *Onygenales* [35-37].

Первые ПЦР тест-системы для выявления возбудителя КМ были разработаны Bialek R. et al. [38]. В качестве мишени для отжига праймеров авторами выбрана последовательность специфичного для *Coccidioides spp.* пролинобогащенного антигена (Ag2/PRA). 120 штаммов *Coccidioides spp.* и три клинических образца были исследованы методом ПЦР в двух вариантах – «вложенной» и «в реальном времени». Результаты экспериментов показали, что используемые фрагменты гена Ag2/PRA позволяют идентифицировать возбудителя КМ в чистой культуре.

Binnicker et al. [39] разработали протокол ПЦР в режиме реального времени для обнаружения *Coccidioides spp.* в клинических образцах. В качестве ДНК-мишени выбран ITS2 регион. Параметры специфичности и чувствительности варьировали от 98,1% до 100% и от 73,4% до 100% соответственно. Широкий диапазон показателей авторы объясняли зависимостью результата ПЦР от вида исследуемого материала. При исследовании проб от больных кокцидиоидозным менингитом были получены противоречивые результаты, которые поставили под сомнение диагностическую ценность тест-системы. В дальнейшем Mitchel et al. усовершенствовали протокол ПЦР Binnicker et al. и доказали возможность обнаружения *Coccidioides spp.* в спинномозговой жидкости [40].

В 2016 году Engelthaler et al. запатентовали коммерческую тест-систему для идентификации *Coccidioides spp.* В качестве ДНК-маркера разработчики использовали последовательность фрагмента функционального ретротранспозона суперсемейства *Ty1/copia*, специфичного для рода *Coccidioides*. В результате межлабораторных сличительных испытаний диагностический препарат показал 100% специфичность, чувствительность в диапазоне от 93,8% до 100% и 100% воспроизводимость и был одобрен FDA для диагностики КМ [41].

Масс-спектрометрия

Использование времяпролётной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) получило широкое распространение

в лабораторной диагностике бактериальных инфекций [42, 43]. По сравнению со стандартными методами, MALDI-TOF MS уменьшает время, необходимое для идентификации микроорганизма не только в чистой культуре, но и клинических образцах.

Несмотря на явные преимущества MALDI-TOF MS, Rychert et al. в своём исследовании сообщили об ограниченной возможности использования данного подхода для обнаружения *Coccidioides spp.* Авторы объясняют это отсутствием референсных масс-спектров возбудителей КМ как в коммерческих, так и в общедоступных базах данных. Среди трех доступных платформ MALDI-TOF MS – Andromas (Andromas SAS, Франция), MALDI Biotyper CA System (Bruker Daltonics Inc.) и VITEK MS (BioMerieux Inc.), лишь в последней представлены спектры *Coccidioides immitis / posadasii* [44].

Заключение

Постановка диагноза КМ является актуальной проблемой ввиду отсутствия характерной картины заболевания. Оптимальный метод лабораторной диагностики зависит от сроков заболевания, клинических проявлений, иммунного статуса пациента, материала, поступившего на исследование, и материально-технического оснащения лаборатории.

Несмотря на то, что «золотым стандартом» лабораторной диагностики КМ является выделение чистой культуры, проведение микологических (культуральных) исследований возможно только в лабораториях, имеющих соответствующий уровень микробиологической безопасности. Микологический метод трудоемкий, занимает много времени и требует навыков безопасной работы с микромицетами.

В качестве вспомогательных в лабораторной диагностике КМ используют микроскопию, иммунологические и молекулярно-генетические методы исследования.

Иммунологические тест-системы являются наиболее широко представленными и часто используемыми диагностическими тестами. Тем не менее, необходимо помнить о возможности получения ложноотрицательного результата на ранних стадиях заболевания как в случае поиска антигенов, так и антигенов.

Описанные и используемые молекулярные маркеры *C. immitis* и *C. posadasii*, несмотря на показанную специфичность и чувствительность, должны быть проверены на большем количестве штаммов, в том числе с атипич-

ными свойствами. Рядом авторов выдвинуто предположение, что микромицеты, выделенные из различных географических регионов, могут не детектироваться разработанными ПЦР тест-системами ввиду наличия точечных мутаций в генах.

MALDI-TOF MS обладает высокой чувствительностью и пропускной способностью, но в случае

Coccidioides spp. необходимо увеличение количества эталонных спектров и расширение баз данных.

В настоящее время отмечается тенденция к разработке новых и усовершенствованию уже имеющихся методов лабораторной диагностики для обнаружения *Coccidioides spp.*, а также внедрению эффективных и безопасных алгоритмов идентификации патогена.

Литература

1. Freedman M., Jackson B.R., McCotter O. et al. Coccidioidomycosis outbreaks, United States and worldwide, 1940-2015. *Emerg. Infect. Dis.* 2018; 24(3):417-423. doi: 10.3201/eid2403.170623.
2. McCotter O.Z., Benedict K., Engelthaler D.M. et al. Update on the Epidemiology of coccidioidomycosis in the United States. *Med Mycol.* 2019; 57(Suppl.1):30-40. doi:10.1093/mmy/myy095.
3. Centers for Disease Control and Prevention Valley Fever (Coccidioidomycosis) Statistics. <https://wonder.cdc.gov/nndss/static/2021/51/2021-51-table1h.html>. Accessed: 25.12.2021.
4. Pearson D., Ebisu K., Wu X. et al. A review of coccidioidomycosis in California: exploring the intersection of land use, population movement, and climate change. *Epidemiol. Rev.* 2019; 41:145-157. doi: 10.1093/epirev/mxz004 6.
5. Kollath D.R., Miller K.J., Barker B.M. The mysterious desert dwellers: *Coccidioides immitis* and *Coccidioides posadasii*, causative fungal agents of coccidioidomycosis. *Virulence.* 2019; 10(1):222-233. doi: 10.1080/21505594.2019.1589363.
6. Riera F.O., Caeiro J.P., Denning D.W. Burden of serious fungal infections in Argentina. *J Fungi (Basel).* 2018; 4(2):51. doi: 10.3390/jof4020051.8.
7. Laniado-Laborin R., Arathoon E.G., Canteros C. et al. Coccidioidomycosis in Latin America. *Med Mycol.* 2019; 57(Suppl. 1):S46-55. 9. doi: 10.1093/mmy/myy037.
8. Ashraf N., Kubat R.C., Poplin V. et al. Re-drawing the Maps for Endemic Mycoses. *Mycopathologia.* 2020; 185:843-865. doi:10.1007/s11046-020-00431-2.
9. Clemons K.V., Capilla J., Stevens D.A. Experimental animal models of coccidioidomycosis. *Ann N Y AcadSci.* 2007; 1111:208-240. doi: 10.1196/annals.1406.029.
10. Converse J.L., Lowe E.P., Castleberry M.W., et al. Pathogenesis of *Coccidioides immitis* in monkeys. *J. Bacteriol.* 1962; 88:871-878. doi: 10.1128/jb.83.4.871-878.1962.
11. Hernandez H., Erives V.H., Martinez L.R. Coccidioidomycosis: epidemiology, fungal pathogenesis, and therapeutic development. *Curr. Trop. Med. Reports.* 2019; 6:132-144. doi: 10.1007/s40475-019-00184-z.
12. Galgiani J.N., Ampel N.M., Blair J.E. et al. Infectious Diseases Society of America (IDSA) clinical practice guideline for the treatment of coccidioidomycosis. *Clin Infect Dis.* 2016; 63:e112-146.
13. Anstead G.M., Graybill J.R. Coccidioidomycosis. *Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases.* 2020; 666-670. doi:10.1016/b978-0-323-55512-8.00086-7.
14. Johnson R. H., Sharma R., Kuran R. et al. Coccidioidomycosis: a review. *Journal of Investigative Medicine.* 2021; 69(2):316-323.
15. Donovan F.M., Wightman P., Zong Y. et al. Delays in Coccidioidomycosis Diagnosis and Associated Healthcare Utilization, Tucson, Arizona, USA. *Emerg Infect Dis.* 2019; 25(9):1745-1747. doi:10.3201/eid2509.190023.
16. Pu J., Donovan F. M., Ellingson K. et al. Clinician Practice Patterns that Result in the Diagnosis of Coccidioidomycosis Before or During Hospitalization. *Clinical Infectious Diseases* 2020. doi:10.1093/cid/ciaa739.
17. Górska K., Blaszkowska J., Dzikowiec M. Neuroinfections caused by fungi. *Infection* 2018. doi: 10.1007/s15010-018-1152-2.
18. Gabe L.M., Malo J., Knox K.S. Diagnosis and management of Coccidioidomycosis. *Clinics in Chest Medicine.* 2017; 38(3):417-433. doi: 10.1016/j.ccm.2017.04.005.
19. Adams M., Lainhart W. A Review of diagnostics for Coccidiomycosis. *Clinical Microbiology Newsletter.* 2021; 43(16):135-141. doi: 10.1016/j.clinmicnews.2021.07.003.
20. Mead H.L., Van Dyke M.C.C., Barker B.M. Proper Care and Feeding of *Coccidioides* : A Laboratorian's Guide to Cultivating the Dimorphic Stages of *C. immitis* and *C. posadasii*. *Current Protocols in Microbiology* 2020; 58(1). doi:10.1002/cpmc.113.
21. Reyna-Rodríguez I.L., Ocampo-Candiani J., Chavez-Alvarez S. Primary Cutaneous Coccidioidomycosis: An Update. *Am J Clin Dermatol.* 2020; 21:681-696. doi:10.1007/s40257-020-00525-z.
22. Gastélum-Cano J. M., Dautt-Castro M., García-Galaz A. et al. The clinical laboratory evolution in coccidioidomycosis detection: Future perspectives. *Journal of Medical Mycology* 2021; 31(3):101159. doi:10.1016/j.mycmed.2021.101159.
23. Grys T. E., Brighton A., Chang, Y.-H. et al. Comparison of two FDA-cleared EIA assays for the detection of *Coccidioides* antibodies against a composite clinical standard. *Medical Mycology* 2018. doi:10.1093/mmy/myy094 .
24. Khan S., Saubolle M. A., Oubsuntia T. et al. Interlaboratory agreement of coccidioidomycosis enzyme immunoassay from two different manufacturers. *Medical Mycology* 2019; 57(4):441-446. doi:10.1093/mmy/myy059.
25. IMMY, Inc. IMMY sona *Coccidioides* Ab LFA test kit: for the detection of *Coccidioides* antibodies – REF CTA2003 2019; Rev. 7.
26. Malo J., Holbrook E., Zangeneh T. et al. Enhanced antibody detection and diagnosis of coccidioidomycosis with the Miravista IgG and IgM detection enzyme immunoassay. *J. Clin. Microbiol.* 2017; 55:893-901. doi: 10.1128/JCM.01880-16.
27. Malo J., Holbrook E., Zangeneh T., et al. Comparison of three anti-coccidioides antibody enzyme immunoassay kits for the diagnosis of coccidioidomycosis. *Medical Mycology.* 2020; 58(6):774-778. doi:10.1093/mmy/myz125.
28. Contreras D.A., Qingyu L., Garner O.B. Evaluation of Sona Lateral Flow Assay for the rapid detection of *Coccidioides immitis*. Abstract, American Society for Microbiology Annual Meeting, San Francisco, CA, June 20-24, 2019.
29. Candelaria W.J. Implementation of the Sona *Coccidioides* Lateral Flow Assay in the clinical laboratory proves to reduce cost and decrease turnaround time when compared to send out immunodiffusion and complement fixation testing. *Open Forum Infect. Dis.*

30. Maddox S., Doherty B., Pelfrey J. et al. Rapid *Coccidioides* antibodies using the Sona Lateral Flow Assay. Abstract, 7th International Coccidioidomycosis, Symposium, Stanford CA, Aug. 10-13, 2017.
31. Wilmes D., Schui D., Held J., et al. Disseminated coccidioidomycosis: Monitoring of serologic markers for treatment response. *Medical Mycology Case Reports*. 2020; 29:25-28. doi:10.1016/j.mmcr.2020.05.007.
32. Thompson G.R. 3rd, Bays D.J., Johnson S.M. et al. Serum (1,3)-beta-D-glucan measurement in coccidioidomycosis. *J. Clin. Microbiol.* 2012; 50(9):3060-3062. doi: 10.1128/JCM.00631-12.
33. Zangeneh T.T., Malo J., Luraschi-Monjagatta C. et al. Positive (1,3) B-d-glucan and cross reactivity of fungal assays in coccidioidomycosis. *Med Mycol.* 2015; 53(2):171-173. doi:10.1093/mmy/myu077.
34. Ampel N.M., Robey I. Nguyen C.T. An analysis of skin test responses to spherulin-based Coccidioidin (Spherusol®) among a group of subjects with various forms of active Coccidioidomycosis. *Mycopathologia* 2019; 184:533-538. doi:10.1007/s11046-019-00356-5.
35. Sigler L., Howard D.H. *Ascomycetes: the Onygenaceae and other fungi from the order Onygenales*, Pathogenic Fungi in Humans and Animals, New York Marcel Dekker. 2003:195-236.
36. Untereiner W.A., Scott J.A., Naveau F.A. et al. The *Ajellomycetaceae*, a new family of vertebrate-associated *Onygenales*, *Mycologia* 2004; vol. 96:811-820.
37. McGinnis M.R., Smith M.B., Hinson E. et al. Use of the *Coccidioides posadasii* Δ *chs5* strain for quality control in the AccuProbe culture identification test for *Coccidioides immitis*, *J Clin Microbiol.* 2006; vol. 44:4250-4251.
38. Bialek R., Kern J., Herrmann T. PCR Assays for Identification of *Coccidioides posadasii* Based on the Nucleotide Sequence of the Antigen 2/Proline-Rich Antigen. *Journal of Clinical Microbiology.* 2004; 42(2):778-783. doi:10.1128/jcm.42.2.778-783.2004.
39. Binnicker M.J., Buckwalter S.P., Eisberner J.J. et al. Detection of *Coccidioides* species in clinical specimens by real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2007; 45(1):173-178. doi:10.1128/JCM.01776-06.
40. Mitchell M., Dizon D., Libke R. et al. Development of a real-time PCR Assay for identification of *Coccidioides immitis* by use of the BD Max system. *J Clin Microbiol.* 2015; 53 (3):926-929. doi:10.1128/JCM.02731-14/.
41. Saubolle M.A., Wojack B.R., Wertheimer A.M. et al. Multicenter Clinical Validation of a Cartridge-Based Real-Time PCR System for Detection of *Coccidioides spp.* in Lower Respiratory Specimens. *J Clin Microbiol.* 2018; 56(2):e01277-17. doi:10.1128/JCM.01277-17.
42. Jung K., Kim Y. Rapid and robust MALDI-TOF MS techniques for microbial identification: a brief overview of their diverse application. *J. Microbiol.* 2018; 56(4):209-216. doi:10.1007/s12275-018-7457-0.
43. Wang J., Wang H., Cai K. et al. Evaluation of three sample preparation methods for the identification of clinical strains by using two MALDI-TOF MS systems. *J. of Mass spectrometry.* 2021; 56(2):e4696. doi: 10.1002/jms.4696.
44. Rychert J., Slechta E.S., Barker A.P. et al. Multicenter Evaluation of the Vitek MS v3.0 System for the Identification of Filamentous Fungi. *J. Clin. Microbiol.* 2018; 56:e01353-17.

Сведения об авторах

Муругова А.А. Научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, 400131, г. Волгоград, Россия, ул. Голубинская, д. 7.

Тел.: (8442) 37-37-74. E-mail: anastasiyamurugova@gmail.com

Половец Н.В. Кандидат биологических наук. Старший научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, 400131, г. Волгоград, Россия, ул. Голубинская, д. 7.

Тел.: (8442) 37-37-74. E-mail: vvu-nadezhda@yandex.ru

Липницкий А.В. Доктор медицинских наук, профессор. Главный научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, 400131, г. Волгоград, Россия, ул. Голубинская, д. 7.

Тел.: (8442) 37-37-74. E-mail: microgrib.lab@yandex.ru

Суркова Р.С. Научный сотрудник лаборатории особо опасных микозов ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, 400131, г. Волгоград, Россия, ул. Голубинская, д. 7.

Тел.: (8442) 37-37-74. E-mail: raya09.94@mail.ru

Статья принимает участие в конкурсе научных публикаций по медицинской микологии, объявленном Академией Микологии в 2021 году