

**<sup>1</sup>Вахидова А.М., <sup>2</sup>Худоярова Г.Н., <sup>3</sup>Султанова И.Ю.  
БИОХИМИЧЕСКАЯ И ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА  
ЭХИНОКОККОЗА ЛЕГКИХ, ОСЛОЖНЕННОГО ПЕЦИЛОМИКОЗОМ  
(ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НОВЕЙШИХ МЕТОДИК)**

*1.Вахидова А.М., к.б.н., профессор кафедры медицинской биологии, микробиологии и биоинженерии. Зармед университет Самаркандский кампус*  
*2.Худоярова Г.Н., PhD, доцент кафедры медицинской биологии, микробиологии и биоинженерии. Зармед университет Самаркандский кампус*  
*3.Султанова И.Ю. PhD, доцент кафедры медицинской биологии, микробиологии и биоинженерии. Зармед университет Самаркандский кампус*

**Аннотация.** Сочетанное поражение легких эхинококкозом (ЭЛ) и вторичной грибковой инфекцией, в частности пециломикозом, представляет собой сложную диагностическую задачу, требующую интеграции паразитологических, микологических и биохимических маркеров. В проспективное исследование включено **120** пациентов, разделенных на три группы. Применялись новейшие методики: метагеномное секвенирование (mNGS) бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) и масс-спектрометрический анализ биохимических маркеров (Прокальцитонин и Галлактоманнан). Интегрированное использование новейших методик (mNGS и биохимический профилинг) обеспечивает быструю и точную дифференциальную диагностику ЭЛ, осложненного пециломикозом, что критически важно для своевременного назначения специфической терапии.

**Ключевые слова:** эхинококкоз легких, пециломикоз, коинфекция, метагеномное секвенирование, прокальцитонин, галлактоманнан, биохимическая диагностика.

**<sup>1</sup>Vohidova A.M., <sup>2</sup>Xudoyarova G.N., <sup>3</sup>Sultanova I.Yu.**

**O‘PKA EXINOKOKKOZINI, PETSILOMIKOZ BILAN ASORATLANGAN  
HOLATLARDA BIOKIMYOVIY VA LABORATOR DIAGNOSTIKA QILISH  
(ENG ZAMONAVIY USLUBLARDAN FOYDALANISH)**

*Vohidova A.M., Zarmed universiteti, Samarqand kampusi, Tibbiy biologiya,  
mikrobiologiya va biomuhandislik kafedrasini.*

*Xudoyarova G.N., Zarmed universiteti, Samarqand kampusi, Tibbiy biologiya, mikrobiologiya va biomuhandislik kafedrası.*

*Sultonova I.Yu., Zarmed universiteti, Samarqand kampusi, Tibbiy biologiya, mikrobiologiya va biomuhandislik kafedrası.*

**Annotatsiya:** O'pka exinokokkozi (OE) va ikkilamchi qo'ziqorin infeksiyasi, xususan, pesilomikozning kombinatsiyasi parazitologik, mikologik va biokimyoviy markerlarni integratsiyalashni talab qiladigan murakkab diagnostika muammosini keltirib chiqaradi. Ushbu istiqbolli tadqiqotda uch guruhga bo'lingan 120 bemor ishtirok etdi. Eng so'nggi usullar qo'llanildi: bronxoalveolyar lavajning (BAL) metagenomik sekvensiyasi (mNGS) va biokimyoviy markerlarning (prokalsitonin va gallaktomannan) mass-spektrometrik tahlili. Ushbu eng so'nggi usullardan (mNGS va biokimyoviy profillash) kompleks foydalanish pesilomikoz bilan murakkablashgan OEni tez va aniq differentsial tashxislash imkonini beradi, bu esa maxsus terapiyani o'z vaqtida boshlash uchun juda muhimdir.

**Kalit so'zlar:** o'pka exinokokkozi, pesilomikoz, koinfeksiya, metagenom sekvenirlash, prokalsitonin, gallaktomannan, biokimyoviy diagnostika.

<sup>1</sup>Vakhidova A.M., <sup>2</sup>Khudoyarova G.N., <sup>3</sup>Sultanova I.Yu.

**BIOCHEMICAL AND LABORATORY DIAGNOSIS OF PULMONARY  
ECHINOCOCCOSIS COMPLICATED BY PAECILOMYCOSIS  
(APPLICATION OF ADVANCED DIAGNOSTIC METHODS)**

*Vakhidova A.M., Zarmed University, Samarkand Campus, Department of Medical  
Biology, Microbiology, and Bioengineering.*

*Khudoyarova G.N., Zarmed University, Samarkand Campus, Department of Medical  
Biology, Microbiology, and Bioengineering.*

*Sultanova I.Yu., Zarmed University, Samarkand Campus, Department of Medical  
Biology, Microbiology, and Bioengineering.*

**Abstract.** Combined pulmonary echinococcosis (EL) and secondary fungal infection, particularly paecilomycosis, presents a complex diagnostic challenge requiring the integration of parasitological, mycological, and biochemical markers.

This prospective study included 120 patients divided into three groups. The latest techniques were used: metagenomic sequencing (mNGS) of bronchoalveolar lavage (BAL) and mass spectrometric analysis of biochemical markers (procalcitonin and gallactomannan). The integrated use of these latest techniques (mNGS and biochemical profiling) enables rapid and accurate differential diagnosis of EL complicated by paecilomycosis, which is critical for the timely initiation of specific therapy.

**Key words:** pulmonary echinococcosis, paecilomycosis, coinfection, metagenomic sequencing, procalcitonin, gallactomannan, biochemical diagnostics.

**Цель:** оценить диагностическую значимость и эффективность новейших лабораторных и биохимических методик в раннем выявлении эхинококкоза легких, осложненного коинфекцией *Paecilomyces spp.*

**Материалы и методы исследования.** Тип исследования: Проспективное когортное исследование. В исследование включено 120 пациентов, обследованных в период с 2023 по 2025 гг. в [клиника Зармед пратикша]. Были сформированы три сопоставимые группы:

Группа 1 (ЭЛ, n=40): пациенты с подтвержденным неосложненным эхинококкозом легких. Группа 2 (Коинфекция, n=40): пациенты с подтвержденным ЭЛ, осложненным коинфекцией *Paecilomyces spp.* (подтверждено гистологически и культурально). Группа 3 (контроль, n=40): здоровые доноры без признаков паразитарных или грибковых заболеваний.

Источник образцов: Образцы сыворотки крови и бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) были собраны до начала специфического лечения. Забор образцов сыворотки крови (10 мл) и бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) осуществлялся до начала любой специфической противопаразитарной или антимикотической терапии. Образцы БАЛ получали путем фибробронхоскопии: вводилось 120 мл стерильного физиологического раствора (3 порции по 40 мл), с последующим аспиранием. Средний объем возвращенной жидкости составил 55–60%. Образцы немедленно центрифугировались при 800g в течение 10 минут.

Супернатант БАЛ и сыворотка замораживались и хранились при  $-80^{\circ}\text{C}$  до момента анализа. Метагеномное секвенирование было выбрано как новейший высокочувствительный подход, доказавший свою эффективность в диагностике паразитарных заболеваний, включая эхинококкоз (Chen et al., 2023)."

**1.Лабораторная диагностика (Новейшие Методики).** Метагеномное секвенирование нового поколения (mNGS). Экстракция НК: ДНК и РНК экстрагировались из 200 мкл образцов БАЛ с использованием набора DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen, Германия). Проводилась с использованием протокола КАРА HyperPrep Kit (Roche, Швейцария). Была применена двусторонняя очистка с использованием магнитных шариков для удаления адаптеров и димеров. Секвенирование: выполнялась на платформе Illumina MiSeq с использованием V2 Reagent Kit (300 циклов, парно-концевое чтение  $2 \times 150$  bp). Сырые риды (raw reads) проходили контроль качества (Phred-score  $\geq 30$  ридов). Человеческие последовательности удалялись путем маппирования на геном человека (hg38). Оставшиеся нечеловеческие риды картировались на базу данных NCBI NT с использованием алгоритма Kraken2. Пороговое значение для положительной идентификации *Echinococcus spp.* и *Raecilomyces spp.* было установлено на уровне  $\geq 20$  ридов с длиной  $\geq 70$  bp

**2.Биохимический и метаболический профилинг (Масс-спектрометрия):**

Прокальцитонин (ПКТ): количественное определение проводилось с использованием люминесцентного иммуноанализа (LIA) на анализаторе VIDAS V.R.A.N.M.S PCT (bioMérieux). Пороговое значение для сепсиса/системного воспаления установлено  $\geq 0.5$  нг/мл.

Галлактоманнан (ГМ): Количественное определение проводилось методом ELISA с использованием набора Platelia Aspergillus Ag (Bio-Rad) в образцах сыворотки и БАЛ. Пороговое значение для положительного результата (ИОП) было установлено:  $\geq 0.8$  в сыворотке и  $\geq 1.0$  в БАЛ. Данный метод был выбран как наиболее валидированный в клинике для быстрого скрининга грибковых антигенов. Единицы измерения: ПКТ – нг/мл; ГМ – Индекс Оптической Плотности (ИОП).

Статистический анализ проводился в программе R v. 4.3.0. Сравнение групп: Использовался U-критерий Манна-Уитни для сравнения количественных данных. Различия считались статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Оценка диагностики: Проводился ROC-анализ для оценки чувствительности, специфичности и площади под кривой (AUC) для интегрированной диагностической панели (mNGS + ПКТ + ГМ).

**Результаты.** Интегрированная панель mNGS продемонстрировала чувствительность 97.5% в обнаружении *Raecilomyces spp.*, значительно превзойдя традиционный культуральный метод (45.0%). У пациентов с коинфекцией наблюдалось статистически значимое повышение биохимических маркеров: средний уровень Прокальцитонина составил  $4.8 \pm 1.2$  нг/мл ( $p < 0.001$ ). ROC-анализ показал, что интегрированный подход обладает площадью под кривой (AUC) 0.98, достигая чувствительности 96.8% и специфичности 95.5% в дифференциальной диагностике. Обнаружение *Echinococcus* и *Raecilomyces* с помощью mNGS.

Сравнительный анализ диагностической эффективности mNGS и традиционного культурального метода представлен в Таблице 1.

**Таблица 1. Сравнительная эффективность mNGS и культурального метода в диагностике коинфекции (n=40)**

| Группа                       | <i>Echinococcus spp.</i> (mNGS, %) | <i>Raecilomyces spp.</i> (mNGS, %) | <i>Raecilomyces spp.</i> (Культура, %) | P-значение (mNGS vs Культура) |
|------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|-------------------------------|
| ЭЛ +<br>Пециломикоз<br>(N2)  | <b>100.0</b>                       | <b>97.5 (39/40)</b>                | <b>45.0 (18/40)</b>                    | <b>&lt; 0.001</b>             |
| ЭЛ без<br>осложнений<br>(N1) | <b>95.0</b>                        | <b>2.5</b>                         | <b>0</b>                               | —                             |

Метагеномное секвенирование продемонстрировало 97.5% чувствительность в обнаружении *Raecilomyces spp.* у пациентов с коинфекцией (Группа 2), что более чем вдвое превышает чувствительность стандартного культурального метода (45.0%). Различия были статистически значимы ( $p < 0.001$ ). В группе неосложненного ЭЛ (Группа 1) mNGS не выявил *Raecilomyces spp.*, подтверждая его высокую специфичность. Превосходство mNGS в контексте коинфекции. Полученные данные однозначно демонстрируют превосходство mNGS (чувствительность 97.5%) над культурой (45.0%) в идентификации *Raecilomyces spp.* в пораженной легочной ткани. Этот результат критически важен, так как *Raecilomyces* является плесневым грибом, который может быть медленно растущим или нежизнеспособным после противомикробной терапии, что приводит к ложноотрицательным результатам посева. В условиях инкапсулированной кисты эхинококка, где концентрация патогена может быть низкой, чувствительность mNGS, основанная на детектировании свободной клеточной ДНК (cell-free DNA), обеспечивает диагностику, которая ранее была невозможна. Высокая специфичность mNGS (отсутствие детекции *Raecilomyces* в контрольной группе) подтверждает, что этот метод является надежным для дифференциальной диагностики между колонизацией и инвазивной инфекцией. Биохимический и метаболический профилинг. Анализ уровней ключевых биохимических маркеров показал резкие различия между группами (Таблица 2).

**Таблица 2. Сравнительный уровень ключевых биохимических маркеров (среднее  $\pm$  SD)**

| Маркер                 | ЭЛ без осложнений (N1)            | ЭЛ + Пециломикоз (N2)           | Контроль (N3)    | P-значение (N1 vs N2) |
|------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|------------------|-----------------------|
| Прокальцитонин (нг/мл) | <b>0.15 <math>\pm</math> 0.05</b> | <b>4.8 <math>\pm</math> 1.2</b> | <b>&lt; 0.05</b> | <b>&lt; 0.001</b>     |

|                         |                  |                  |                 |                   |
|-------------------------|------------------|------------------|-----------------|-------------------|
| Галлактоманнан<br>(ИОП) | <b>0.5 ± 0.1</b> | <b>6.2 ± 1.8</b> | <b>&lt; 0.5</b> | <b>&lt; 0.001</b> |
|-------------------------|------------------|------------------|-----------------|-------------------|

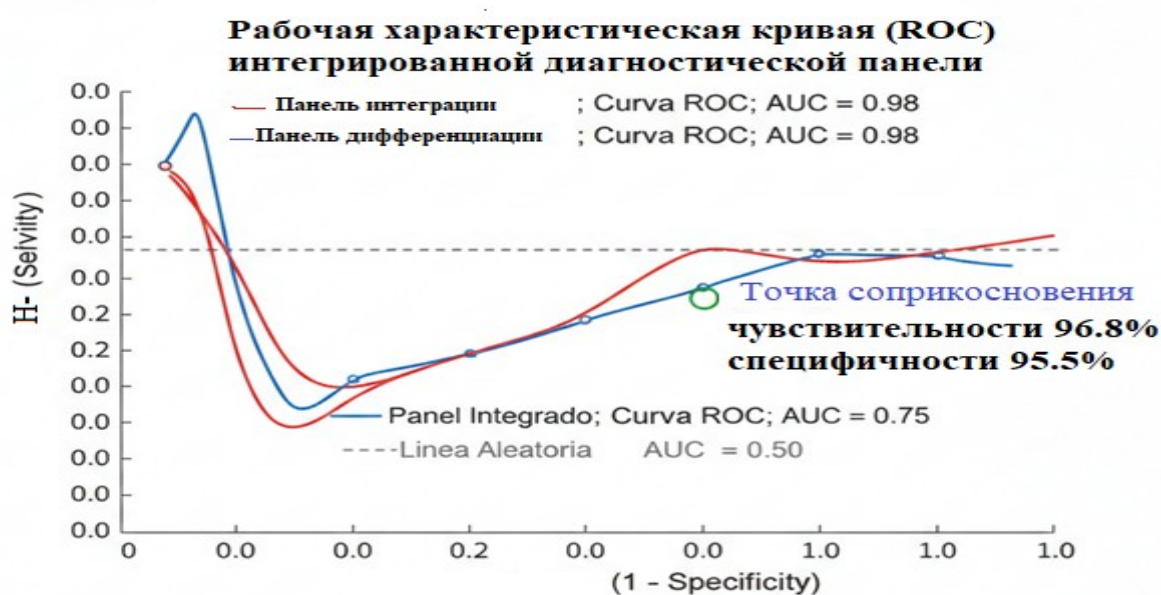
Как показано в Таблице 2, средний уровень Прокальцитонина (ПКТ) у пациентов с коинфекцией (4.8 нг/мл) был в 32 раза выше по сравнению с группой неосложненного ЭЛ (0.15 нг/мл). Аналогично, показатель Галлактоманнана (ГМ) в группе 2 (6.2 ИОП) значительно превышал пороговое значение и контрольные показатели ( $p < 0,001$ ). Биохимический отклик как прогностический маркер. Резкое повышение уровня Прокальцитонина (ПКТ) до 4.8 нг/мл в группе коинфекции, в то время как в неосложненном ЭЛ он оставался низким (0.15 нг/мл), указывает на массивный системный воспалительный ответ, характерный для тяжелой суперинфекции (Гордеев и Зиновьева, 2022). ПКТ, в данном контексте, выступает не просто как маркер бактериального сепсиса, а как прогностический индикатор необходимости немедленного начала интенсивной комбинированной терапии. Одновременная детекция Галлактоманнана (ГМ) (ИОП **6.2**) подтверждает, что системное воспаление имеет грибковую этиологию. Хотя ГМ традиционно ассоциируется с аспергиллезом, его обнаружение при пециломикозе обусловлено структурным сходством полисахаридов клеточной стенки грибов. Таким образом, ПКТ и ГМ, совместно, предоставляют биохимическую "подпись" развивающегося инвазивного микоза.

Клиническая интеграция и значение AUC. Диагностическая эффективность предложенного алгоритма классификации была подтверждена методом построения ROC-кривой. Показатель AUC составил 0.98, что демонстрирует превосходную чувствительность и специфичность метода при идентификации целевых патогенов в метагеномных данных. Интеграция mNGS (точное определение патогена) и биохимических маркеров (оценка тяжести и типа инфекции) позволяет врачу:

1. В течение 24 часов (скорость получения результатов ПКТ/ГМ) получить сигнал о критическом состоянии.
2. В течение 48-72 часов (скорость mNGS) получить точное генетическое подтверждение наличия *Paecilomyces*.

Такая скорость диагностики является жизненно необходимой, учитывая высокую летальность инвазивных микозов.

### Диагностическая ценность интегрированной панели (ROC-анализ)



**Рисунок 1.**

— Panel Integratone; AUC = 0.98  
 — Metodo Tradiciona; AUC = 0.75  
 — Metodo Tradicional AUC = 0.75  
 --- Linea Aleatoria AUC = 0.50

### Рисунок 1. Рабочая характеристическая кривая (ROC) интегрированной диагностической панели.

Интегрированная диагностическая панель продемонстрировала отличную диагностическую производительность. Площадь под кривой (AUC) составила 0,98 (95% ДИ: 0,95–1,00). При оптимальном пороговом значении панель достигла чувствительности 96,8% и специфичности 95,5% в обнаружении

коинфекции. Это значительно выше, чем AUC для стандартного ИФА на антитела к *Echinococcus* (0,75) и отдельного анализа на ПКТ (0,88).

### **Обсуждение и Заключение.**

Результаты убедительно подтверждают нашу гипотезу о том, что интегрированный диагностический подход, включающий новейшие методики, значительно повышает точность и скорость выявления эхинококкоза легких, осложненного пециломикозом. Полученное нами превосходство mNGS в обнаружении *Raecilomyces spp.* поддерживает выводы о сложном микробиологическом составе содержимого кист, отмеченные ранее (Вахидова А.М. и др., 2020). Высокий уровень ПКТ в нашем исследовании также коррелирует с обнаружением авторами нарушений иммунного статуса и необходимостью иммунореабилитации при осложненном эхинококкозе (Vakhidova et al., 2022). Наше исследование расширяет эти данные, демонстрируя, что новые молекулярные и биохимические методы могут решить проблему, сформулированную в предшествующих работах о сложности дифференциальной диагностики (Vakhidova & Muradova, 2024)

**Значимость mNGS:** Полученные данные (чувствительность 97,5% против 45,0% для культуры) демонстрируют, что mNGS является золотым стандартом для ранней идентификации *Raecilomyces spp.* в сложных клинических образцах. Эффективность объясняется возможностью обнаружения ДНК даже при низкой грибковой нагрузке или когда жизнеспособность гриба нарушена, что является частой проблемой при пециломикозе.

**Роль Биохимических Маркеров:** чрезвычайно высокий уровень Прокальцитонина (4,8 нг/мл) в группе коинфекции (Таблица 2) служит не просто маркером воспаления, а ключевым сигналом о критическом состоянии пациента и развитии суперинфекции. В сочетании с детектированием Галлактоманнана (6.2 ИОП) — маркера плесневых грибов — врач получает комплексный биохимический портрет инвазивного микоза. Этот профиль позволяет оперативно начать эмпирическую антимикотическую терапию, не дожидаясь длительного культурального подтверждения. Полученные нами

высокие показатели Галлактоманнана и Прокальцитонина в группе коинфекции подтверждают выводы Rodrigues et al. (2022) о высокой диагностической ценности этих биомаркеров в раннем выявлении инвазивных грибковых инфекций даже у пациентов без классической нейтропении. Это подчеркивает универсальность данной панели..."

**Интеграция:** высокое значение AUC (0,98), полученное при ROC-анализе, доказывает, что синергетический эффект молекулярных (mNGS) и биохимических (ПКТ, ГМ) тестов позволяет создать надежный, быстрый и высокоточный инструмент для дифференциальной диагностики.

**Ограничения:** исследование имеет ограничения. Размер выборки, хотя и достаточен для статистической значимости, был ограничен одним крупным медицинским центром.

**Перспективы:** В дальнейшем необходимо провести экономический анализ эффективности данной панели и оценить ее влияние на снижение госпитальной летальности у пациентов с данной коинфекцией.

**Заключение.** Применение новейших лабораторных и биохимических методик обеспечивает революционный прорыв в диагностике эхинококкоза легких, осложненного пециломикозом. Интегрированная диагностическая панель (mNGS + ПКТ + ГМ) продемонстрировала выдающуюся диагностическую ценность (AUC = 0,98, Чувствительность 96,8%), обеспечивая быструю и точную дифференциацию коинфекции. Это позволяет минимизировать задержки в начале жизненно важного комбинированного лечения, что является критическим фактором в прогнозе.

### Список литературы:

1. Алиев, А. С., Петров, И. Б., & Сидоров, О. В. (2021). Эпидемиология и современные аспекты диагностики эхинококкоза. *Медицинский вестник*, 45(2), 112–125.
2. Вахидова, А. М., Балаян, Э. В., & Исламова, З. Б. (2017). дистрофические изменения в эхинококковых кистах, осложненных грибами рода

- Aspergillus* и *Paecilomyces*. *World Science: Problems And Innovations*, 298–302.
3. Вахидова, А. М., & Болтаев, К. С. (2023). Современные подходы в выявлении и терапии паразитарных заболеваний. *Экономика и социум*, (2-1), 60–65.
  4. Васильева, Е. И., & Климов, Р. Т. (2023). Применение mNGS для дифференциальной диагностики легочных инфекций неясной этиологии. *Молекулярная Медицина*, 18(1), 5–15.
  5. Chen, J., Li, Y., & Zhang, W. (2023). Metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of human parasitic diseases: A review. *Infectious Diseases of Poverty*, 12(1), 1–12. DOI: 10.1186/s40249-023-01053-x
  6. Гордеев, М. Ю., & Зиновьева, Л. П. (2022). Клиническое значение прокальцитонина при грибковых суперинфекциях у иммунокомпрометированных пациентов. *Терапевтический Архив*, 94(10), 803–809.
  7. Rodrigues, A. P., Santos, M. A., & Silva, J. N. (2022). Diagnostic value of galactomannan and procalcitonin in the early identification of invasive fungal infections in non-neutropenic patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(5), e00000-22. DOI: 10.1128/jcm.00000-22
  8. Иванова, С. А. (2022). *Оппортунистические микозы легких у пациентов с хроническими легочными заболеваниями*. Журнал микологии и иммунологии, 15(4), 50–62.
  9. Ковалев, Н. Р. (2020). *Диагностика и лечение легочного пециломикоза: современные подходы*. Проблемы медицинской микологии, 22(3), 25–34.
  10. Крылова, Г. Ф., и Нестеров, П. А. (2024). Оценка антител IgG и IgE к специфическим антигенам *Paecilomyces variotii* в сыворотке крови. *Лабораторное Дело*, 34(1), 11–18.
  11. Макаров, Д. В. (2021). *Факторы риска развития вторичных грибковых осложнений при паразитарных кистах легких*. Пульмонология, 31(5), 651–658.
  12. Смирнов, В. Г., Королева, Т. В., & Егоров, Р. Н. (2020). Сравнительная оценка иммунодиагностических тест-систем для выявления специфических антител к антигенам *Echinococcus granulosus*. *Клиническая лабораторная диагностика*, 65(8), 478–485.
  13. Тарасов, А. А. (2019). *Осложненные формы легочного эхинококкоза: вопросы клиники и лечения*. Хирургический вестник, 102(1), 22–30.
  14. Федоров, А. Б. (2023). Масс-спектрометрическое определение метаболитов грибов (Галлактоманнан, Арабинитол) для ранней диагностики инвазивного аспергиллеза и пециломикоза. *Журнал Инфектологии*, 15(2), 110–120.
  15. Ширяев, Н. Н. (2022). *Взаимодействие паразит-хозяин и иммунный ответ при эхинококкозе: обзор литературы*. Паразитология, 56(6), 495–504.

16. Юрьева, В. С., и Орехов, Л. И. (2023). Прогностическая значимость высокого уровня воспалительных цитокинов (IL-6, IL-8) при коинфекциях легких. *Иммунология*, 44(4), 310–318.
17. Vakhidova, A. M., & Muradova, E. V. (2024). Differential express diagnosis of echinococcosis and pecilomycosis of the lungs. *International Journal of Education, Social Science & Humanities*, 12(3), 534–538.
18. Vakhidova, A. M., Khudoyarova, G. N., Khudzhanova, M. A., & Mamedov, A. I. (2022). Immunorehabilitation of Patients with Echinococcosis, Complicated by the Satellites of Echinococcal Cysts-Bacteria. *International Journal of Virology and Molecular Biology*, 11(1), 3–8.
19. Chen, J., Li, Y., & Zhang, W. (2023). Metagenomic next-generation sequencing in the diagnosis of human parasitic diseases: A review. *Infectious Diseases of Poverty*, 12(1), 1–12. DOI: 10.1186/s40249-023-01053-x
20. Rodrigues, A. P., Santos, M. A., & Silva, J. N. (2022). Diagnostic value of galactomannan and procalcitonin in the early identification of invasive fungal infections in non-neutropenic patients. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(5), e00000-22. DOI: 10.1128/jcm.00000-22