

УДК: 616.928.6

DOI: 10.14427/jipai.2021.4.83

Методы лабораторной диагностики гистоплазмоза – проблемы и перспективы

Д.Л. Терешко, М.Д. Парфенова

ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград

Methods of laboratory diagnosis of histoplasmosis – problems and prospects

D.L. Tereshko, M.D. Parfenova

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

Аннотация

Эндемичные инфекции, такие как гистоплазмоз, возбудитель которого отнесён ко II группе патогенности, могут вызывать ряд трудностей при лабораторных исследованиях. Культуральный метод является золотым стандартом диагностики, но требует большого количества времени и навыков профессионального миколога. Иммунологические методы, используемые для выявления антигенов *H. capsulatum* и/или антител к ним, хоть и получили широкий спектр применения в эндемичных регионах, но показывают вариативную чувствительность и специфичность, на которую влияют: характер течения инфекции, иммунный статус пациента, тип клинического материала и т.д. В результате чего мы наблюдаем постепенное смещение акцента в сторону молекулярно-генетических исследований, которые демонстрируют высокие аналитические характеристики при лабораторной диагностике гистоплазмоза.

Ключевые слова

Микромицеты, гистоплазмоз, *H. capsulatum*, лабораторная диагностика.

Введение

Гистоплазмоз или болезнь Дарлинга, ретикулоэндотелиальный цитомикоз, является особо опасным микозом, вызываемым диморфным микромицетом *Histoplasma capsulatum*. Название микроорганизма было получено из-за способности микромицета проникать в цитоплазму гистоцитоподобных клеток (histo + plasma) и образовывать ореол, имитирующий капсулу (capsulatum), внутри этих клеток. Возбудителя впервые описал Samuel Taylor Darling в 1906

Summary

Endemic infections, such as histoplasmosis, the causative agent of which is assigned to pathogenicity group II, can cause a number of difficulties in laboratory studies. The culture method is the gold standard of diagnosis, but requires a lot of time and skill of the doctor. Immunological methods used to detect *H. capsulatum* antigens and/or antibodies to them, although they have received a wide range of applications in endemic regions show variable sensitivity and specificity, which is influenced by: the nature of the course of infection, the immune status of the patient, the type of clinical material and etc. As a result, we are seeing a gradual shift in emphasis towards molecular genetic studies, which demonstrate high analytical performance in the laboratory diagnosis of histoplasmosis.

Keywords

Micromycetes, histoplasmosis, *H. capsulatum*, laboratory diagnostics.

году и посчитал его представителем простейших (*Protozoa*), однако позже, в 1912 году, da Rocha-Lima определил принадлежность данного патогена к царству грибов [1, 2]. В настоящее время возбудитель включен в семейство *Ajellomycetaceae*, порядок *Onygenales*, класс *Eurotiomycetes*, отдел *Ascomycota*.

Гистоплазмоз считается эндемичным в странах Северной и Южной Америки, Африки, Азии, Австралии, многие из которых являются популярными туристическими направлениями, ввиду

чего возрастает вероятность регистрации завозных случаев гистоплазмоза на неэндемичные территории [3, 4, 5]. Во внешней среде *H. capsulatum* обитает в загрязненной пометом птиц и/или летучих мышей почве в мицелиальной форме. Заражение макроорганизма происходит при ингаляции микроконидий, которые оседают в глубоких отделах легких, где формируется первичный очаг инфекции. После инвазии в ткани возбудитель гистоплазмоза включает механизмы, позволяющие ему эффективно преодолевать защитные барьеры макроорганизма и уклоняться от его иммунологического надзора. Ключевым этапом патогенеза считается конверсия мицелиальных структур в дрожжеподобные клетки, в ходе которой *H. capsulatum* поражает систему мононуклеарных макрофагов, препятствуя завершению фагоцитоза и формируя внутриклеточные ниши для вторичного распространения по другим органам и тканям [6]. Конверсия возбудителя гистоплазмоза является ключевой особенностью патогенеза, важным диагностическим критерием и неоспоримым доказательством причастности микромицета ко II группе патогенности.

Проявление инфекции и степень ее тяжести будет зависеть от дозы заражения, иммунного статуса хозяина и естественной вирулентности микроорганизма. Как следствие, тяжесть течения будет варьировать от бессимптомной или хронической до острой или диссеминированной форм. У иммунокомпетентных лиц микоз часто протекает в виде гриппоподобных эпизодов и остается без должного внимания, что приводит к хронизации процесса с манифестацией в более позднем возрасте [4, 7]. Последующую диагностику осложняет большой промежуток времени от момента инфицирования до проявления заболевания и утрата эпидемиологической связи. В результате высока вероятность неверной постановки диагноза из-за схожести микоза с такими заболеваниями как туберкулез, саркоидоз, онкопроцессы грудной полости и др. [8]. Острая форма гистоплазмоза, как правило, возникает у лиц с иммунодефицитными состояниями на фоне ВИЧ/СПИД, посттрансплантационных осложнений, кортикостероидной терапии и т.д. [9, 10]. Внезапное начало с высокой лихорадкой и рядом других неспецифических симптомов требуют скорейшего проведения лабораторной диагностики гистоплазмоза и назначения этиотропного лечения. При этом важно учитывать, что в зависимости от стадии и формы инфекции значимость диагностических тестов будет варьировать.

Исторически было выделено три таксономических варианта: *H. capsulatum* var. *capsulatum*, *H. capsulatum* var. *duboisii* и *H. capsulatum* var. *farciminosum*, разделение которых базировалось на их географическом распределении, морфологии культур и клинической симптоматике вызываемого ими заболевания [1, 11]. В последующем Sepulveda с соавторами в ходе своих исследований предположили, что варианты микромицетов *H. capsulatum* представляют из себя совокупность видов, и систематика требует доработки. Было предложено изолировать в отдельные виды: *Histoplasma mississippiense* (представители генотипа NAm1), *Histoplasma ohioense* (представители генотипа NAm2) и *Histoplasma suramericanum* (представители генотипа LAmA). Авторы предлагали оставить видовое название *Histoplasma capsulatum* за панамским геновариантом, который впервые описал Darling, а штаммы африканского генотипа *H. capsulatum* var. *duboisii* также выделить в отдельный филогенетический вид [12].

Коррекция таксономии также обоснована фенотипическими отличиями между видами [13]. Так, дрожжеподобные клетки *H. mississippiense* имеют в составе клеточной стенки α -(1,3)-глюкан и обладают хемотрипсин-подобными сериновыми протеазами с внеклеточной протеолитической активностью [14]. У *H. ohioense* отсутствует α -(1,3)-глюкан, однако микромицет обладает белками-адгезинами Yps3p, повышающими вирулентность данного вида [15]. Для *H. suramericanum*, в отличие от ранее описанных видов, свойственно вызывать более тяжелые формы гистоплазмоза [16]. Несомненно, генотипические и фенотипические отличия между штаммами могут вносить свой вклад в особенности диагностики. Ввиду чего возникает ряд нерешенных вопросов. А будут ли штаммы, обладающие Yps3p белками, иметь перекрестные реакции в диагностических тестах с возбудителем бластомикоза *Blastomyces dermatitidis*, который имеет аналогичный адгезин Bad1p, или будет ли влиять α -(1,3)-глюкан, встречаемый у других микромицетов, на чувствительность и специфичность иммунологических тестов? Это лишь некоторые вопросы, точка в которых до сих пор не поставлена.

Таким образом, гистоплазмоз имеет разнообразную и неспецифическую клиническую картину, что несет в себе серьезную проблему в диагностике данной инфекции, особенно вне эндемичных регионов. Не исключено, что из-за фенотипических различий штаммов *Histoplasma spp.* могут варьировать аналитические характери-

стики диагностических тест-систем. К тому же, сказаться на выявлении микоза может недостаток знаний врачей о данной патологии, неполноценный сбор анамнеза, низкие диагностические возможности лаборатории, тяжесть течения инфекции и т.д. Всё это является фактором корректной и своевременной постановки диагноза.

Цель: изучить современные аспекты и проблематику лабораторной диагностики гистоплазмоза.

Культуральные и гистологические исследования

Культуральные и гистологические исследования являются золотым стандартом лабораторной диагностики гистоплазмоза. Однако для их проведения требуется персонал с соответствующей подготовкой и опытом работы, а также оборудованная лаборатория с необходимым классом защиты (BSL-3).

Дрожжеподобные клетки возбудителя гистоплазмоза обладают овальной формой и размером от 2 до 4 мкм. В клиническом материале *H. capsulatum* имеет преимущественно интрацеллюлярную локализацию и хорошо визуализируется с помощью окраски по Грокотту (GMS) или красителем Шиффа (PAS). Также применяют флуоресцентный краситель Calcofluor white, который связывается с хитином клеточной стенки микромицетов и облегчает выявление патогена в микропрепаратах из пораженных тканей макроорганизма. Культуральные и гистологические исследования осложнены тем, что клетки *H. capsulatum* могут быть приняты за *Emmonsia spp.*, *Blastomyces dermatitidis*, *Candida glabrata*, *Cryptococcus spp.*, *Sepedonium spp.*, *Leishmania spp.*, *Toxoplasma spp.* [7, 17, 18].

Для получения мицелиальной культуры возбудителя гистоплазмоза инкубацию проводят на средах Сабуро или Чапека при 25-30°C. Рост колоний обычно наблюдают через 2-3 недели, однако, в некоторых случаях может потребоваться и до 8 недель. Конверсию *H. capsulatum* в дрожжевую фазу осуществляют при 37°C на «богатых» средах, таких как модифицированная среда Френсиса [19]. Доказательство диморфности возбудителя гистоплазмоза является важным диагностическим критерием, однако, требует значительного количества времени.

В недавней работе Antinori с соавторами было отмечено, что при обследовании лиц с иммунодефицитными состояниями культуральный метод использовали в 46,4–57,5% случаев, гистологические исследования – в 58,4–78,6%. При

обследовании иммунокомпетентных лиц на долю диагностических мероприятий, связанных с культуральным или гистологическим методами приходилось 12,3% случаев, а наибольшее внимание уделялось иммунологическим тестам – 44,4% [5].

В работе Guimaraes с соавторами продемонстрировано, что чувствительность культуральных исследований гистоплазмоза колеблется от 15 до 85% и коррелирует с характером течения инфекции [20].

По данным, представленным Dantas с соавторами, культура *H. capsulatum* была выделена у 83,33% пациентов с ВИЧ инфекцией и только у 12,5% лиц без иммунодефицита [21].

Таким образом, несмотря на то что культуральные и гистологические подходы являются золотым стандартом в диагностике гистоплазмоза, они несут в себе большое количество сложностей в виде требований к лабораториям и персоналу, длительности культивирования и схожести клеток *H. capsulatum* с возбудителями других инфекций. При всех трудностях подавляющее большинство врачей придерживается выбора данных методов при диагностике гистоплазмоза, особенно у иммунокомпрометированных пациентов. Несомненно, для постановки точного диагноза и сокращения времени исследования клинического материала требуется проведение альтернативных лабораторных тестов.

Выявление антигенов

В эндемичных по гистоплазмозу странах широкую распространенность приобрели тесты, направленные на выявление антигена *H. capsulatum* в клиническом материале – сыворотке крови, моче, бронхоальвеолярном лаваже и спинномозговой жидкости. Для их проведения не требуется специализированное лабораторное помещение с высокой степенью защиты.

В публикациях многих авторов сообщается о высокой чувствительности иммунологических тестов, особенно при диссеминированном гистоплазмозе ввиду интенсивности процесса. В работе Nage с соавторами продемонстрировано, что чувствительность иммуноферментной тест-системы коммерческого производителя при выявлении антигенурии у больных с диссеминированным, острым и хроническим гистоплазмозом составила 91,8%, 83,3% и 87,5% соответственно, однако снижалась до 30% при подострой форме заболевания. Аналогичная чувствительность тест-системы наблюдалась при определении антигенемии. Авторами статистически было

подтверждено наличие более высокого уровня антигена *H. capsulatum* в моче у больных с иммунодефицитом, что является закономерным [22]. При исследовании клинического материала от больных бластомикозом результаты тестирования оказывались положительными в 90% случаев. До 80% перекрестных реакций может возникать у пациентов с паракокцидиоидомикозом и пенициллиозом, до 60% при кокцидиоидомикозе и около 10% при аспергиллезе [23, 24]. В другой работе Hage с соавторами проводили обнаружение антигенов *H. capsulatum* в бронхоальвеолярном лаваже у лиц с легочным гистоплазмозом. Чувствительность метода составила 93,5%, но в то же время на основании данного теста невозможно провести дифференциацию от бластомикоза или других эндемичных микозов [24].

По результатам работы Bloch с соавторами выявление антигена в спинномозговой жидкости составило 78% при диагностике менингеальных форм гистоплазмоза. При этом специфичность теста была 97% – на долю положительных результатов пришлось случаи менингитов, вызванных *Blastomyces dermatitidis*, *Cryptococcus spp.*, а также легочной и диссеминированной формы гистоплазмоза без признаков поражения ЦНС [25].

Zhang с соавторами и Caseres с соавторами представили итоги исследования свойств иммуноферментной тест-системы, сконструированной на основе моноклональных антител к галактоманнану *H. capsulatum*. По результатам испытаний её чувствительность варьировала от 90,5% до 100% при специфичности 96,3%. Перекрестные реакции зафиксированы с антигенами возбудителей бластомикоза и паракокцидиоидомикоза [26, 27]. Из данных работ следует, что применение моноклональных антител позволило повысить аналитические характеристики по сравнению с тест-системой на основе поликлональных антител (чувствительность – 61,9%, специфичность – 79,3%) [26].

Caseres с соавторами сообщают об оценке теста бокового потока (lateral flow assay) для выявления антигена *H. capsulatum*. По итогам работы чувствительность оказалась аналогична иммуноферментному методу и составила 96%, однако специфичность удалось повысить с 77% до 96%, согласно данным их статьи. Результаты исследования биологического материала от больных паракокцидиоидомикозом и криптококкозом оказались ложноположительными. Соответствие показателей теста бокового потока и иммуноферментного анализа было на уровне 84%, при этом время получения диагностического ответа

сократилось до 40 минут, что делает данный тест наиболее перспективным [6].

Как следует из анализа данных, главной проблемой при определении антигенов *H. capsulatum* в клиническом материале является перекрестная реакция с возбудителями других микотических инфекций: *Blastomyces dermatitidis* до 90% [22], *Coccidioides immitis/posadasii* до 67% [24], *Paracoccidioides brasiliensis* до 90% [28], *Talaromyces marneffeii* до 94% [28] и др. Тем не менее, коллектив авторов во главе с Martinez-Gamboa отдаёт предпочтение иммуноферментному анализу и тесту бокового потока в клинической лабораторной диагностике гистоплазмоза, в частности для выявления антигенов *H. capsulatum*, и отмечают превосходство и простоту этих анализов над молекулярно-генетическими исследованиями [29].

Таким образом, определение антигенов возбудителя гистоплазмоза в клиническом материале позволяет в короткие сроки выявить маркеры инфекции, особенно при диссеминированной форме гистоплазмоза, однако чувствительность тестов резко снижается при латентном течении заболевания. Существенным недостатком данных методов считается перекрестная реакция с антигенами возбудителей других микозов.

Выявление антител

Для выявления гистоплазмозных антител в клиническом материале наибольшее распространение в лабораторной диагностике получили реакции иммунодиффузии, связывания комплекта и иммуноферментный анализ.

Иммунодиффузию проводят в агаровом геле с сывороткой пациента и иммунодоминантными антигенами: М, также известный как каталаза В, и Н – β -глюкозидаза. По многочисленным результатам теста, преципитины М обнаруживают у 80% пациентов с острым гистоплазмозом. Полоса преципитации, соответствующая антигену Н, образуется в 20% случаев преимущественно у лиц с хронической формой гистоплазмоза.

Реакцию связывания комплекта проводят с антигенами дрожжевой и мицелиальной фаз *H. capsulatum*. По одним данным титр реакции $\geq 1/32$ указывает на контакт с возбудителем, но не является диагностически значимым, так как антитела к возбудителю гистоплазмоза сохраняются в течение длительного времени. Четырёхкратное нарастание титра реакции при последующих исследованиях сывороток свидетельствует об активной инфекции [30]. По другим данным титр реакции 1/8 и выше уже указывает на наличие специфических антител

к возбудителю, а титр 1/32 свидетельствует об интенсивности инфекционного процесса [7]. В отношении реакции связывания комплемента до сих пор не сформировано четкого мнения по интерпретации результатов, из чего следует, что данный метод стоит применять лишь для уточнения диагноза. Чувствительность обоих тестов колеблется в диапазоне от 70 до 90% [31, 32].

Актуальным для оценки гуморального иммунного ответа считается иммуноферментный анализ. Guimarães с соавторами представили данные о разработке тест-системы, в которой в качестве сенситина применяли дегликозилированный гистоплазмин. По результатам исследования чувствительность данного набора реагентов составила 91% для всех клинических форм гистоплазмоза. Авторы сообщают о 96% специфичности диагностического препарата при сравнении сывороток здоровых людей, пациентов с гистоплазмозом и другими микотическими инфекциями [33]. В статье не уточняют, какими именно микозами и в какой форме болели люди из группы сравнения, из чего непонятен спектр перекрестной реактивности данной тест-системы.

Таким образом, выявление сывороточных иммуноглобулинов к *H. capsulatum* имеет особое значение при диагностике хронических форм гистоплазмоза, однако тесты теряют информативность при обследовании лиц с нарушенным иммунитетом, которых подавляющее большинство среди больных данным микозом. Еще одним ограничением выявления гистоплазмозных антител является ретроспективный характер. Мы не можем оценить характер течения инфекции ведь формирование антител в периферической крови происходит через 2-8 недель после контакта с *H. capsulatum*. Из чего следует, что данный метод лабораторной диагностики не эффективен в начале заболевания даже у иммунокомпетентных лиц. Не исключена вероятность возникновения перекрестных реакции при обследовании больных с бластомикозом, кокцидиоидомикозом или другими микозами. В целом, сочетание иммунологических методов может повышать чувствительность лабораторной диагностики гистоплазмоза.

Молекулярно-генетические исследования

В настоящее время невозможно себе представить лабораторную диагностику без молекулярно-генетических методов. Все более актуальным становится применение полимеразной цепной реакции (ПЦР) для выявления возбудителя ги-

стоплазмоза в клиническом материале. Однако до сих пор нет стандартизованного подхода к выбору генов-мишеней, праймеров и зондов, особенностей протоколов постановки ПЦР, способе экстракции нуклеиновых кислот из образца и т.д.

Часто в качестве генов-мишеней используют: HC100, кодирующий специфический белок с молекулярной массой 100 кДа [34]; 18S рРНК [35]; последовательности ДНК М и Н антигенов [36, 37]; ITS (Internal transcribed spacer) регион рРНК [38], mtSSU (mitochondrial small subunit) рРНК [39] и др.

В работе Munoz с соавторами с помощью гнездовой ПЦР с геном-мишенью HC100 проанализировали 146 проб клинического материала, после чего был сделан вывод о 100% чувствительности. При постановке гнездовой ПЦР с 60 образцами из контрольной группы оказалось, что специфичность теста составляет 95,2%, однако авторы поясняют, что, вероятнее всего, положительные результаты были из-за скрытых форм гистоплазмоза, так как последующее секвенирование продуктов амплификации показало их схожесть с целевым геном на 98% [40].

В исследованиях Alanio с соавторами мишенью для молекулярно-генетических исследований был выбран ген mtSSU. Чувствительность реакции составила 97,7%, а специфичность 99% – в контрольной группе при выборке из 863 случаев 9 оказались положительными по результатам ПЦР, из них 8 были отрицательными в других тестах, а в одной пробе, в микроскопических исследованиях, вероятно, были обнаружены клетки *H. capsulatum*. В этих случаях авторы подозревают скрытые формы гистоплазмоза, которые удалось выявить с помощью ПЦР [39].

Таким образом, молекулярно-генетические исследования для выявления возбудителя гистоплазмоза являются актуальными. В большинстве публикаций показана высокая эффективность молекулярно-генетических методов при работе с широким спектром клинических образцов: цельная кровь, сыворотка, бронхоальвеолярный лаваж, биоптаты и др. Аналитические характеристики ПЦР превосходили другие методы диагностики. По результатам метаанализа чувствительность методов обнаружения ДНК *H. capsulatum* в клиническом материале составила 95%, а специфичность – 99% [41].

Заключение

Диагностика гистоплазмоза является сложной и кропотливой задачей. Изоляция культуры *H. capsulatum* или обнаружение дрожжепо-

добных клеток в клиническом материале при гистопатологическом исследовании считаются золотым стандартом. Однако чувствительность метода широко варьирует от типа клинического материала, а ограничения на исследования накладывают правила биологической безопасности.

Иммунологические методы нашли широкую популярность в клинической лабораторной практике, в том числе из-за простоты постановок реакций, скорости получения результатов, а также коммерческой доступности. Тесты на обнаружение антигенов и специфических антител демонстрируют хорошую чувствительность при диагностике гистоплазмоза. Внедрение методов на основе моноклональных антител, так же, как и высокоочищенных рекомбинантных белков (антигенов), позволяет повышать аналитические характеристики иммунологических анализов. Исходя из момента проведения исследования, формы течения заболевания или иммунного статуса пациента можно подобрать наиболее оптимальный способ лабораторной диагностики. Совокупность подходов для выявления антигенов *H. capsulatum* и антител к ним повышает достоверность проводимого лабораторного исследования.

Детальное изучение возбудителя гистоплазмоза, вероятно, в будущем позволит подобрать мишени для иммунодиагностики, которые снизят количество перекрестных реакций с близкородственными микроорганизмами или вообще исключат их. В работах ряда авторов описаны протеины *H. capsulatum*, которые потенциально могут иметь диагностическое значение. Holbrook E. D. с соавторами определили 33 секреторных протеина, 10 из которых в большей степени обнаруживали у патогенетически значимых штаммов [42]. Albuquerque с соавторами идентифицировали до 206 белковых факторов, включая компоненты рибосом, метаболические ферменты, клеточные сигнальные молекулы, а также белки цитоскелета [43]. В работе Almeida с соавторами также показано до 127 протеинов возбудителя гистоплазмоза, которые распознаются антителами [44].

Секретируемые молекулы *H. capsulatum* осуществляют разнообразные функции: участвуют в метаболизме, формируют структуру клеточной стенки, выполняют защитную роль, осуществляют клеточную адгезию, препятствуют за-

вершению фагоцитоза и в той или иной мере обеспечивают персистенцию возбудителя в макроорганизме.

Известно, что для дрожжевой фазы возбудителя гистоплазмоза также специфичен белок Yps3p, который принимает участие в первичном контакте с макрофагами макроорганизма через toll-like рецепторы 2 типа, приводя к запуску механизмов распознавания патогена и в последующем – презентации его антигенов [45]. Yps3p в одной из конформаций зафиксирован на клеточной стенке *H. capsulatum*, а в другой – секретируется в окружающую среду [46]. Точная роль данного протеина до сих пор не установлена, однако, согласно отдельным литературным данным, прослеживается корреляция между уровнем его экспрессии и степенью вирулентности *H. capsulatum* [15, 47]. На фоне неустоявшейся таксономии выбор белка Yps3p, специфичного для *H. ohiense*, в качестве мишени может способствовать видоспецифичной диагностике [44].

Молекулярно-генетические исследования, несомненно, позволяют повысить качество лабораторной диагностики гистоплазмоза, особенно при регистрации завозных случаев на неэндемичных территориях, где врачи не всегда обладают должными навыками идентификации *H. capsulatum*. Создаваемые базы данных нуклеотидных последовательностей способствуют поиску специфичных геномишеней, которые позволили бы добиться не только высоких аналитических характеристик метода, но и видовой идентификации возбудителя, что имеет важное эпидемиологическое значение. Уже по имеющимся работам становится понятно, что в качестве образцов для тестирования подойдет любой клинический материал. На чувствительность метода принципиально не оказывают влияния формы заболевания или иммунный статус пациента, а скорость проведения исследования способствует скорейшему назначению этиотропной терапии.

Таким образом, развитие биотехнологий и молекулярно-генетических методов рано или поздно позволит добиться создания тест-систем простых в использовании, с высокими аналитическими характеристиками, которые вывели бы лабораторную диагностику на принципиально новый уровень.

Литература

1. Darling, S.T. A protozoön general infection producing pseudotubercles in the lungs and focal necroses in the liver, spleen and lymphnodes. *Journal of the American Medical Association*. 1906. 46(17):1283-1285.
2. Da Rocha-Lima H. Histoplasmosis und epizootic lymphangitis. *Arch Schiffs Tropen Hyg*. 1912. 16:79–85.
3. Mahajan M. Etymologia: *Histoplasma capsulatum*. *Emerging Infectious Diseases*. 2021. 27(3):969. doi: 10.3201/eid2703.ET2703.
4. Staffolani S., Buonfrate D., Angheben A., et al. Acute histoplasmosis in immunocompetent travelers: a systematic review of literature. *BMC Infect Dis*. 2018. 18(1):673. doi: 10.1186/s12879-018-3476-z.
5. Antinori S., Giacomelli A., Corbellino M. et al. Histoplasmosis Diagnosed in Europe and Israel: A Case Report and Systematic Review of the Literature from 2005 to 2020. *J Fungi (Basel)*. 2021. 7(6):481. doi: 10.3390/jof7060481.
6. Caceres D.H., Gomez B.L., Tobon A.M. et al. Validation and Concordance Analysis of a New Lateral Flow Assay for Detection of *Histoplasma* Antigen in Urine. *J Fungi (Basel)*. 2021. 7(10):799. doi: 10.3390/jof7100799.
7. Wheat L.J., Azar M.M., Bahr N.C. et al. Histoplasmosis. *Inf Dis Clin North Am*. 2016. 30(1):207–227. doi: 10.1016/j.idc.2015.10.009.
8. Oladele R.O., Ayanlowo O.O., Richardson M.D. et al. Histoplasmosis in Africa: An emerging or a neglected disease?. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018. 12(1):e0006046. doi: 10.1371/journal.pntd.0006046.
9. Gajurel K., Dhakal R., Deresinski S. Histoplasmosis in transplant recipients. *Clin. Transplant*. 2017. 31(10):e13087. doi: 10.1111/ctr.13087.
10. Bahr N.C., Antinori S., Wheat L.J. et al. Histoplasmosis Infections Worldwide: Thinking Outside of the Ohio River Valley. *Curr Trop Med Reports*. 2015. 2(2):70–80. doi: 10.1007/s40475-015-0044-0.
11. Weeks R.J., Padhye A.A., Ajello L. *Histoplasma capsulatum* variety *farcinosum*: a new combination for *Histoplasma farciminosum*. *Mycologia*. 1985. 77(6):964-970.
12. Sepulveda V.E., Marquez R., Turissini D.A. et al. Genome Sequences Reveal Cryptic Speciation in the Human Pathogen *Histoplasma capsulatum*. *mBio*. 2017. 8(6):e01339-17. doi: 10.1128/mBio.01339-17.
13. Sepulveda V.E., Williams C.L., Goldman W.E. Comparison of phylogenetically distinct *Histoplasma* strains reveals evolutionarily divergent virulence strategies. *mBio*. 2014. 5(4):e01376-14. doi: 10.1128/mBio.01376-14.
14. Zarnowski R., Connolly P.A., Wheat L.J. et al. Production of extracellular proteolytic activity by *Histoplasma capsulatum* grown in *Histoplasma*-macrophage medium is limited to restriction fragment length polymorphism class 1 isolates. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2007. 59(1):39-47. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2007.03.020.
15. Bohse M.L., Woods J.P. RNA interference-mediated silencing of the YPS3 gene of *Histoplasma capsulatum* reveals virulence defects. *Infect immun*. 2007. 75(6): 2811-7. doi: 10.1128/IAI.00304-07.
16. Durkin M.M., Connolly P.A., Karimi K. et al. Pathogenic differences between North American and Latin American strains of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* in experimentally infected mice. *J Clin Microbiol*. 2004. 42(9):4370-3. doi: 10.1128/JCM.42.9.4370-4373.2004.
17. Guarner J., Brandt M.E. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. *Clin Microbiol Rev*. 2011. 24(2):247-80. doi: 10.1128/CMR.00053-10.
18. Schwartz I.S., Kenyon C., Feng P. et al. 50 Years of Emmonsia Disease in Humans: The Dramatic Emergence of a Cluster of Novel Fungal Pathogens. *PLoS Pathog*. 2015. 11(11):e1005198. doi: 10.1371/journal.ppat.1005198.
19. Novitskaya I.V., Zhoga L.K., Tereshko D.L. Modification of the Francis Medium for the Conversion of *Histoplasma capsulatum* to the Yeast-Like Growth Phase. *Bull Exp Biol Med*. 2019. 167:62–64. doi: 10.1007/s10517-019-04461-9.
20. Guimaraes A.J., Nosanchuk J.D., Zancope-Oliveira R.M. Diagnosis of histoplasmosis. *Braz J Microbiol*. 2006. 37(1):1-13. doi: 10.1590/S1517-83822006000100001.
21. Dantas K.C., Freitas R.S.d., da Silva M.V. et al. Comparison of diagnostic methods to detect *Histoplasma capsulatum* in serum and blood samples from AIDS patients. *PLoS One*. 2018. 13(1):e0190408. doi: 10.1371/journal.pone.0190408.
22. Hage C.A., Ribes J.A., Wengenack N.L., et al. A multicenter evaluation of tests for diagnosis of histoplasmosis. *Clin Infect Dis*. 2011. 53(5):448-54. doi: 10.1093/cid/cir435.
23. Hage C.A., Davis T.E., Fuller D. et al. Diagnosis of histoplasmosis by antigen detection in BAL fluid. *Chest*. 2010. 137(3):623-8. doi: 10.1378/chest.09-1702.
24. Connolly P.A., Durkin M.M., Lemonte A.M. et al. Detection of *histoplasma* antigen by a quantitative enzyme immunoassay. *Clin Vaccine Immunol*. 2007. 14(12):1587-1591. doi: 10.1128/CVI.00071-07.
25. Bloch K.C., Myint T., Raymond-Guillen L. et al. Improvement in Diagnosis of *Histoplasma Meningitis* by Combined Testing for *Histoplasma* Antigen and Immunoglobulin G and Immunoglobulin M Anti-*Histoplasma* Antibody in Cerebrospinal Fluid. *Clin Infect Dis*. 2018. 66(1):89-94. doi: 10.1093/cid/cix706.
26. Zhang X., Gibson B.Jr., Daly T.M. Evaluation of commercially available reagents for diagnosis of histoplasmosis infection in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol*. 2013. 51(12):4095-101. doi: 10.1128/JCM.02298-13.
27. Caceres D.H., Samayoa B.E., Medina N.G. et al. Multicenter Validation of Commercial Antigenuria Reagents To Diagnose Progressive Disseminated Histoplasmosis in People Living with HIV/AIDS in Two Latin American Countries. *J Clin Microbiol*. 2018. 56(6):e01959-17. doi: 10.1128/JCM.01959-17.
28. Wheat J., Wheat H., Connolly P. et al. Cross-reactivity in *Histoplasma capsulatum* variety *capsulatum* antigen assays of urine samples from patients with endemic mycoses. *Clin Infect Dis*. 1997. 24(6):1169–1171. doi: 10.1086/513647.
29. Martinez-Gamboa A., Niembro-Ortega M.D., Torres-Gonzalez P. et al. Diagnostic accuracy of antigen detection in urine and molecular assays testing in different clinical samples for the diagnosis of progressive disseminated histoplasmosis in patients living with HIV/AIDS: A prospective multicenter study in Mexico. *PLoS Negl Trop Dis*. 2021. 15(3):e0009215. doi: 10.1371/journal.pntd.0009215.
30. Kauffman C.A. Histoplasmosis: a clinical and laboratory update. *Clin Microbiol Rev*. 2007. 20(1):115-32. doi: 10.1128/CMR.00027-06.
31. Azar M.M., Hage C.A. Laboratory Diagnostics for Histoplasmosis. *J Clin Microbiol*. 2017. 55(6):1612-1620. doi: 10.1128/JCM.02430-16.
32. Scheel C.M., Gomez B.L. Diagnostic methods for histoplasmosis: focus on endemic countries with variable infrastructure levels. *Curr Trop Med Rep*. 2014. 1(2):129-137. doi: 10.1007/s40475-014-0020-0.
33. Guimaraes A.J., Pizzini C.V., De Abreu Almeida M. et al. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay using purified, deglycosylated *histoplasmin* for different clinical manifestations of histoplasmosis. *Microbiol Res (Pavia)*. 2010. 1(1):e2. doi: 10.4081/mr.2010.e2.
34. Bialek R., Feucht A., Aepinus C. et al. Evaluation of two nested PCR assays for detection of *Histoplasma capsulatum* DNA in human tissue. *J Clin Microbiol*. 2002. 40(5):1644-7 doi: 10.1128/JCM.40.5.1644-1647.2002.

35. Bialek R., Fischer J., Feucht A. et al. Diagnosis and monitoring of murine histoplasmosis by a nested PCR assay. *J Clin Microbiol.* 2001. 39(4):1506-1509. doi: 10.1128/JCM.39.4.1506-1509.2001.
36. Bracca A., Tosello M.E., Girardini J.E. et al. Molecular detection of *Histoplasma capsulatum* var. *capsulatum* in human clinical samples. *J Clin Microbiol.* 2003. 41(4):1753-1755. doi: 10.1128/JCM.41.4.1753-1755.2003.
37. Guedes H.L., Guimaraes A.J., Muniz M. de M. et al. PCR assay for identification of *Histoplasma capsulatum* based on the nucleotide sequence of the M antigen. *J Clin Microbiol.* 2003. 41(2):535-539. doi: 10.1128/JCM.41.2.535-539.2003.
38. Martagon-Villamil J., Shrestha N., Sholtis M. et al. Identification of *Histoplasma capsulatum* from culture extracts by real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 2003. 41(3):1295-1298. doi: 10.1128/JCM.41.3.1295-1298.2003.
39. Alanio A., Gits-Muselli M., Lanternier F. et al. Evaluation of a new *Histoplasma* spp. quantitative RT-PCR assay. *J Mol Diagn.* 2021. 23(6):698-709. doi: 10.1016/j.jmoldx.2021.02.007.
40. Munoz C., Gomez B.L., Tobon A. et al. Validation and clinical application of a molecular method for identification of *Histoplasma capsulatum* in human specimens in Colombia, South America. *Clin Vaccine Immunol.* 2010. 17(1):62-67. doi: 10.1128/CVI.00332-09.
41. Caceres D.H., Knuth M., Derado G. et al. Diagnosis of progressive disseminated histoplasmosis in advanced HIV: a meta-analysis of assay analytical performance. *J Fungi.* 2019. 5(3):76. doi: 10.3390/jof5030076.
42. Holbrook E.D., Edwards J.A., Youseff B.H. et al. Definition of the extracellular proteome of pathogenic-phase *Histoplasma capsulatum*. *J Proteome Res.* 2011. 10(4): 1929-1943. doi: 10.1021/pr1011697.
43. Albuquerque P.C., Nakayasu E.S., Rodrigues M.L. et al. Vesicular transport in *Histoplasma capsulatum*: an effective mechanism for trans-cell wall transfer of proteins and lipids in ascomycetes. *Cell microbiol.* 2008. 10(8):1695-1710. doi: 10.1111/j.1462-5822.2008.01160.x.
44. Almeida M. A. Almeida-Paes, R., Guimaraes, A. J. et al. Immunoproteomics Reveals Pathogen's Antigens Involved in *Homo sapiens*-*Histoplasma capsulatum* Interaction and Specific Linear B-Cell Epitopes in Histoplasmosis. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020. 10:591121. doi: 10.3389/fcimb.2020.591121659.
45. Aravalli R.N., Hu S., Woods J.P. et al. *Histoplasma capsulatum* yeast phase-specific protein Yps3p induces Toll-like receptor 2 signaling. *J Neuroinflammation.* 2008. 5:30. doi: 10.1186/1742-2094-5-30.
46. Bohse M.L., Woods J.P. Surface localization of the Yps3p protein of *Histoplasma capsulatum*. *Eukaryot cell.* 2005. 4(4): 685-93. doi: 10.1128/EC.4.4.685-693.2005.
47. Bohse M.L., Woods J.P. Expression and interstrain variability of the YPS3 gene of *Histoplasma capsulatum*. *Eukaryot cell.* 2007. 6(4): 609-15. doi: 10.1128/EC.00010-07.

Сведения об авторах

Терешко Дмитрий Леонидович - ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград. E-mail: dltereshko@gmail.com.
Парфенова Мария Дмитриевна - ФКУЗ Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора, Волгоград.

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