

# БИОТЕХНОЛОГИЯ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ

Том 2 • № 2 • 2025

АПРЕЛЬ – ИЮНЬ

Журнал основан в 2024 г.

**Учредители:**

**Акционерное общество «ЭКОлаб»**

142530, Московская область,  
г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1;

**ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им Г. Н. Габричевского»**

125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10;

**ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»**

142279, Московская обл., г. о. Серпухов,  
п. Оболенск, территория «Квартал А», д. 24.

**Ассоциация «Национального научно-практического общества бактериологов»**

142279, Московская область, г. о. Серпухов,  
п. Оболенск, ул. Строителей,  
д. 1, пом. 2

**Издатель:**

**Акционерное общество «ЭКОлаб»**

142530, Московская область,  
г. Электрогорск, ул. Буденного, д. 1

**Зав. редакцией:**

**Сафаров Ч.А.**

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

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

Сдано в набор 25.03.2025

Подписано в печать 02.04.2025

Формат 60 × 88%

Печать офсетная

Печ. л. 8,00

Уч.-изд. л. 8,95

**WWW страница:**

<https://biomedfarm.ru>

**ISSN: 3034-7211 (Print)**

**ISSN: 3033-554X (Online)**

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

Биотехнология в медицине и фармации.  
2025. Том 2. № 2: 44-96

**ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:**

**Затевалов А.М.**, д.б.н. (Москва, Россия)

**ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:**

**Храмов М.В.**, к.б.н. (Москва, Россия)

**ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:**

**Борисова О.Ю.**, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

**Воропаева Е.А.**, д.б.н., проф. (Москва, Россия)

**Долгов В.В.**, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

**Мионов А.Ю.**, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

**Рогожникова Е.П.**, к.фарм.н., доцент (Электрогорск, Россия)

**Ротанов С.В.**, д.м.н., доцент (Москва, Россия)

**РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:**

**Афанасьев С.С.**, д.м.н., проф. (Москва, Россия)

**Безродный С.Л.**, к.б.н. (Москва, Россия)

**Белоусов М.В.**, д.фарм.н., проф. (Томск, Россия)

**Гаджиев И.М.**, к.в.н., доцент (Баку, Азербайджан)

**Дунайцев И.А.**, к.б.н. (Оболенск, Россия)

**Дятлов И.А.**, д.м.н., проф., академик РАН (Москва, Россия)

**Коломбет Л.В.**, д.б.н. (Оболенск, Россия)

**Керимов С.Г.**, д.м.н., проф. (Баку, Азербайджан)

**Лютюв А.Е.**, д.б.н., проф. (Москва, Россия)

**Маматкулов И.Х.**, д.м.н., проф. (Ташкент, Узбекистан)

**Марданлы С.Г.**, д.м.н., проф. (Электрогорск, Россия)

**Моренко М.А.**, д.м.н., проф. (Астана, Казахстан)

**Осман Кхалил Ареф**, к.б.н. (Хомс, Сирия)

**Помазанов В.В.**, д.т.н., проф. (Орехово-Зуево, Россия)

**Рубальский О.В.**, д.м.н., проф. (Астрахань, Россия)

# BIOTECHNOLOGY IN MEDICINE AND PHARMACY

Volume 2 • 2 • 2025

APRIL - JUNE

The Journal is founded in 2024

**Founders:****Joint-Stock Company "ECOLab"**

142530, Moscow Region,  
Elektrogorsk, Budennogo St., 1;

**G. N.Gabrichovsky Moscow Scientific Research Institute for Epidemiology and Microbiology**

125212, Moscow, Admirala Makarova St., 10;

**Federal State Budgetary Scientific Institution "State Scientific Center for Applied Microbiology and Biotechnology"**

142279, Moscow Region, Serpukhov Urban District, Obolensk Settlement, Territory "Quarter A", 24.

**Association of the National Scientific and Practical Society of Bacteriologists**

142279, Moscow region, Serpukhov urban district, Obolensk settlement, Stroiteley street, building 1, office 2

**Publisher:****Joint Stock Company "EKOLab"**

142530, Moscow Region,  
Elektrogorsk, Budennogo St., 1

**Head of Editorial Office:****Safarov Ch.A.**

Editorial office phone:

+7 (908)-763-75-80

E-mail: [biotechmedpharm@mail.ru](mailto:biotechmedpharm@mail.ru)

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

**WWW страница:**

<https://biomedfarm.ru>

**ISSN: 3034-7211 (Print)**

**ISSN: 3033-554X (Online)**

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.

Biotechnology in Medicine and Pharmaceutics. 2025. Vol. 2. No. 2: 44-96

**EDITOR-IN-CHIEF:**

**Zatevalov A.M.**, Dr. Sci. (Biol.) (Moscow, Russia)

**DEPUTIE EDITOR-IN-CHIEF:**

**Khramov M.V.**, Cand. Sci. (Biol.) (Moscow, Russia)

**EDITORIAL BOARD MEMBERS:**

**Borisova O.Yu.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

**Voropaeva E.A.**, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Moscow, Russia)

**Dolgov V.V.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

**Mironov A.Yu.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

**Rogozhnikova E.P.**, Cand. Sci. (Pharm.), docent (Elektrogorsk, Russia)

**Rotanov S.V.**, Dr. Sci. (Med.), docent (Moscow, Russia)

**EDITORIAL COUNCIL MEMBERS:**

**Afanasyev S.S.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Moscow, Russia)

**Bezrodny S.L.**, Cand. Sci. (Biol.) (Moscow, Russia)

**Belousov M.V.**, Dr. Sci. (Pharm.), Prof. (Tomsk, Russia)

**Gadzhiev I.M.**, Cand. Sci. (Vet.) (Baku, Azerbaijan)

**Dunaytsev I.A.**, Cand. Sci. (Biol.) (Obolensk, Russia)

**Dyatlov I.A.**, Dr. Sci. (Med.) Prof. Academician RAS (Moscow, Russia)

**Kalambet L.V.**, Dr. Sci. (Biol.) (Obolensk, Russia)

**Kerimov S.G.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Baku, Azerbaijan)

**Lyutov A.E.**, Dr. Sci. (Biol.), Prof. (Moscow, Russia)

**Mamatkulov I.Kh.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Tashkent, Uzbekistan)

**Mardanly S.G.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Elektrogorsk, Russia)

**Morenko M.A.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Astana, Kazakhstan)

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

**Pomazanov V.V.**, Dr. Sci. (Tech.), Prof. (Orekhovo-Zuevo, Russia)

**Rubalsky O.V.**, Dr. Sci. (Med.), Prof. (Astrakhan, Russia)

## СОДЕРЖАНИЕ

**КОЛОНКА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА** .....48

### **БИОТЕХНОЛОГИЯ**

*Храмов М.В., Полосенко О.В.*

Разработка отечественной питательной среды для выделения иерсиний (СIN агар) ..... 49

*Королева Т.А., Марданлы А.Г., Кузнецова В.А., Николаева Н.П.*

Идентификация красителей в растворе кетопрофен ..... 55

### **КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА**

*Ротанов С.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Марданлы А.Г.*

Иммунохроматографическое определение скрытой крови в образцах кала человека .....60

*Светашев И.А., Гудова Н.В., Мехтиев Э.Р., Пасивкина М.А., Затевалов А.М.*

Применение газовой хроматографии–масс-спектрометрии в анализе летучих органических соединений для диагностики заболеваний верхних дыхательных путей (обзор литературы) .....69

### **ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И НУТРИЦЕВТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ**

*Камышева Е. С., Прокопчук К. Я., Рогожников А. Ю.*

Селен и цинк: ключевые микроэлементы в поддержании иммунитета ..... 88

*Рогожникова Е.П., Высоκος Я.Р., Гарина В.А.*

Молодость и красота с линейкой продуктов, содержащих коллаген, гиалуроновую кислоту, витамин с и ресвератрол от фармацевтической компании АО «ЭКОлаб». . . . . 91

## CONTENTS

EDITOR-IN-CHIEF'S COLUMN .....	48
--------------------------------	----

### BIOTECHNOLOGY

*Khramov M.V., Polosenko O.V.*

Development of a domestic nutrient medium for the isolation of yersinia (CIN agar) .....	49
--	----

*Koroleva T.A., Mardanly A.G., Kuznetsova V.A., Nikolaeva N.P.*

Identification of dyes in ketoprofen solution .....	55
---	----

### CLINICAL LABORATORY DIAGNOSTICS

*Rotanov S.V., Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Mardanly A.G.*

Immunochromatographic determination of occult blood in human feces samples .....	60
--	----

*Svetashev I.A., Gudova N.V., Mehtiev E.R., Pasivkina M.A., Zatevalov A.M.*

Application of gas chromatography-mass spectrometry in the analysis of volatile organic compounds for the diagnosis of upper respiratory tract diseases .....	69
---	----

### PHARMACEUTICAL AND NUTRACEUTICAL TECHNOLOGIES

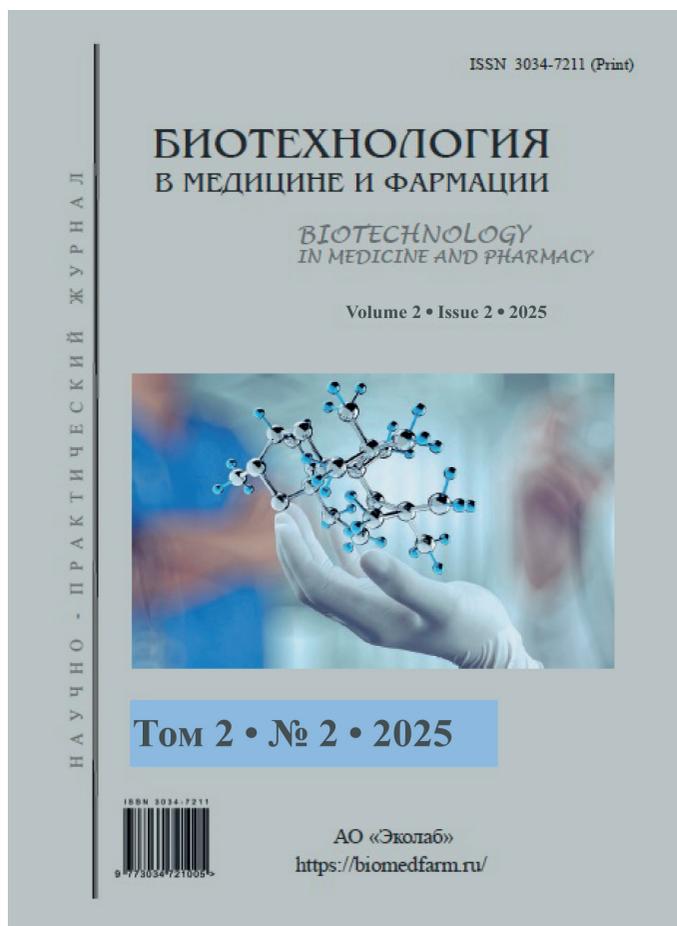
*Kamysheva E. S., Prokopchuk K. Ya., Rogozhnikov A. Yu.*

Selenium and zinc: key microelements in maintaining immunity .....	88
--	----

*Rogozhnikova E.P., Vysokos Ya.R., Garina V.A.*

Youth and beauty with a line of products containing collagen, hyaluronic acid, vitamin C and resveratrol from the pharmaceutical company JSC "ECOLab" .....	91
---	----

## КОЛОНКА ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

ОТ ЭКСПРЕСС-ДИАГНОСТИКИ ДО МУЛЬТИОМНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ:  
БИОТЕХНОЛОГИИ, КОТОРЫЕ МЕНЯЮТ ПРАКТИЧЕСКУЮ МЕДИЦИНУ

Уважаемые коллеги!

Выпуск нашего журнала открывается подборкой работ, демонстрирующих, насколько биотехнологии прочно входят в рутинную медицинскую практику и фармацевтическое производство, повышая качество диагностики и лечения, а также делая медицину более доступной и персонализированной.

Особое внимание заслуживает статья о разработке отечественного иммунохроматографического теста для выявления скрытой крови в кале, обеспечивающего высокую чувствительность и специфичность. Такие решения позволяют приближать диагностику к пациенту, способствуя раннему выявлению колоректального рака и других патологий ЖКТ.

Не менее важной является работа, посвящённая валидации метода идентификации красителей в растворе кетопрофена. Казалось бы, небольшой технологический этап, однако он обеспечивает стабильность и безопасность готовой лекарственной формы, что критично для эффективного применения НПВС в клинической практике.

С интересом представлен материал о роли селена, цинка и витамина С в поддержании иммунитета, подчёркивающий, что биотехнологические разработки в области создания биологически активных добавок становятся неотъемлемой частью профилактики и поддержания здоровья населения, особенно в условиях растущих нагрузок и меняющейся экологии.

Продолжая тему профилактики и поддержания здоровья, обзор линейки продуктов с коллагеном, гиалуроновой кислотой и ресвератролом отражает тенденцию к созданию средств, направленных на поддержание здо-

ровья кожи и опорно-двигательного аппарата, что особенно востребовано в современных условиях, когда качество жизни становится ключевым показателем здоровья.

Отрадно видеть в выпуске результаты разработки отечественной питательной среды CIN-агара для выделения и идентификации иерсиний. Использование таких сред в лабораторной диагностике позволит сократить зависимость от импортных расходных материалов и повысит устойчивость отечественной системы биобезопасности.

Наконец, важной вехой является публикация, посвящённая применению газовой хроматографии–масс-спектрометрии для анализа летучих органических соединений в диагностике заболеваний верхних дыхательных путей. Это направление иллюстрирует, как мультиомные технологии и дыхательная метабомика переходит из исследовательской практики в клинику, открывая возможности для ранней диагностики, мониторинга хронических заболеваний и оценки эффективности терапии.

Все представленные статьи подчёркивают, что отечественные разработки в области биотехнологий и фармацевтики способны решать практические задачи здравоохранения, повышать доступность и качество диагностики и лечения, а также способствовать профилактической медицине.

Благодарю авторов за вклад в развитие прикладной биотехнологии, а читателей приглашаю к дискуссии на страницах журнала.

## БИОТЕХНОЛОГИЯ



https://elibrary.ru/vaqqa

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Храмов М.В., Полосенко О.В.

### РАЗРАБОТКА ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ИЕРСИНИЙ (CIN АГАР)

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Московская область, Россия

*Высокое качество питательных сред, их стандартность – важные факторы, влияющие на достоверность результатов исследований при выделении иерсиний.*

*Порядок лабораторных исследований на иерсиниозы предполагает использование дифференциально-диагностических питательных сред: СБТС (с бромтимоловым синим), Иерсиния-агар (ИПС), агар Эндо. Для выделения патогенных иерсиний из пищевых продуктов и кормов для животных, в соответствии с требованиями современных нормативно-методических документов, используются среды с цефсулодином, иргазаном, новобиоцином (CIN), сальмонелла/шигелла агар с дезоксихолатом натрия и хлоридом кальция (SSDC).*

*Проведена оценка качества (дифференциально-диагностических и ингибирующих свойств) разработанного отечественного CIN агара в сравнении с зарубежными аналогами. В результате исследований было доказано, что отечественная питательная среда по своим ростовым и селективным свойствам не уступает зарубежным аналогам, а также позволяет выделять не только бактерии рода *Yersinia spp.* из исследуемых образцов, но и осуществлять одновременную идентификацию *Y. enterocolitica* от *Y. pseudotuberculosis*.*

**Ключевые слова:** *Yersinia enterocolitica; Yersinia pseudotuberculosis; CIN-агар; дифференциация; селективность*

**Для цитирования:** Храмов М.В., Полосенко О.В. Разработка отечественной питательной среды для выделения иерсиний (CIN агар). *Биотехнология в медицине и фармации.* 2025; 2 (2): 49-54.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-49-54>

EDN: VAQQA

**Для корреспонденции:** Полосенко Ольга Вадимовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологических и физико-химических методов анализа ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора E-mail: [polosenko@obolensk.org](mailto:polosenko@obolensk.org)

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

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Поступила 30.05.2025

Принята к печати 11.07.2025

*Khramov M.V., Polosenko O.V.*

### DEVELOPMENT OF A DOMESTIC NUTRIENT MEDIUM FOR ISOLATING YERSINIA (CIN AGAR)

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

*The high quality of the nutrient media and their standardization are important factors that affect the reliability of the results of studies on the isolation of Yersinia.*

*The procedure for laboratory studies on yersiniosis involves the use of differential-diagnostic nutrient media: SBTS (with bromthymol blue), Yersinia agar (IPS), and Endo agar. To isolate pathogenic Yersiniae from food products and animal feed, according to the requirements of modern regulatory and methodological documents, media with cefsulodin, irgazan, novobiocin (CIN), Salmonella/Shigella agar with sodium deoxycholate and calcium chloride (SSDC) are used.*

*The quality (differential-diagnostic and inhibitory properties) of the developed domestic CIN agar was evaluated in comparison with foreign analogues. As a result of the research, it was proved that the domestic nutrient medium is not inferior to foreign analogues in terms of its growth and selective properties, and it also allows for the isolation of not only Yersinia spp. bacteria from the studied samples, but also for the simultaneous identification of *Y. enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis*.*

**Key words:** *Yersinia enterocolitica; Yersinia pseudotuberculosis; CIN-agar; differentiation; selectivity*

**For citation.** Khramov M.V., Polosenko O.V. Development of a domestic nutrient medium for isolation of yersinia (CIN Agar). *Biotechnologiya v meditsine i farmatsii (Biotechnology in medicine and pharmacy).* 2025; 2(2): 49-54 (in Rus.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-49-54>

EDN: VAQQA

**For correspondence.** Olga V. Polosenko, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Microbiological and Physic-Chemical Methods Of Analysis Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, E-mail: [polosenko@obolensk.org](mailto:polosenko@obolensk.org)

**Information about authors:**

Khramov M.V. <https://orcid.org/0000-0002-4553-3826>

Polosenko O.V., <http://orcid.org/0000-0001-5961-9041>

**Conflict of interest.** The authors declare that there is no conflict of interest.

**Acknowledgement.** The work was supported by the Sectoral Scientific Program of Rospotrebnadzor.

Received 30.05.2025

Accepted 11.07.2025

**Введение.** Проблема заболеваний, обусловленных иерсиниями, остается в центре внимания микробиологов, эпидемиологов, врачей как в нашей стране, так и за рубежом.

Кишечный иерсиниоз, вызванный *Yersinia enterocolitica* довольно широко распространен в мире, а в некоторых странах с высокоразвитой пищевой индустрией занимает третье место после сальмонеллёза и кампилобактериоза [1].

В связи с психрофильностью и солеустойчивостью иерсиний большим фактором риска являются технологии производства сыровяленых и сырокопченых колбас, при которых исключается высокотемпературный нагрев, а созревание фарша при низких положительных температурах благоприятствует активному размножению *Y. enterocolitica*. Человек также может инфицироваться при употреблении овощей и фруктов в сыром или недостаточно термически обработанном виде, длительное время сохраняющихся при низких температурах [2, 3].

Псевдотуберкулез – инфекционное заболевание, вызываемое *Y. pseudotuberculosis*, передающееся алиментарным путем. Накопление возбудителя на овощах и корнеплодах с контаминацией тары, стен, пола происходит в овощехранилищах и складских помещениях организованных коллективов и предприятий общественного питания, при нарушении температурно-влажного режима и заселении инфицированными грызунами. [4]. Кроме того, при бессимптомной персистенции иерсиний в теплокровном организме животных-бактерионосителей может происходить контаминация пищевого сырья, что обуславливает социальную значимость профилактических мероприятий в начале «пищевой цепи» (в птицеводстве и перерабатывающей промышленности).

Патогенные *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* обладают широким набором факторов патогенности, детерминируемых хромосомными и плазмидными генами, чем обуславливается многообразие клинических форм иерсиниозов [5]. Попадая в пищеварительную систему, иерсинии колонизируют лимфатическую ткань кишечника, где ингибируют фагоцитоз и размножаются внеклеточно.

Для большинства штаммов характерны адгезия, колонизация на поверхности кишечного эпителия и энтеротоксигенность с продукцией больших количеств энтеротоксина, который играет ведущую роль в развитии диареи [6-8].

У людей с ослабленным иммунитетом (лица с синдромом приобретенного иммунного дефицита или пациенты, перенесшие трансплантацию) или у пациентов с основным заболеванием, таким как диабет или цирроз печени, смертность от иерсиниозной инфекции может достигать 50 % [9].

Потенциальная способность гетерогенных попу-

ляций патогенных иерсиний к реверсии вирулентных свойств, ассоциированной с изменениями на геномном уровне в определенных условиях внешней среды, может быть причиной полиморфизма клинико-морфологических проявлений иерсиниозов. Многообразие клинических проявлений иерсиниозов часто скрывается под маской других заболеваний, поэтому правильная и своевременная идентификация их возбудителей играют решающую роль в проведении лечебных и профилактических мероприятий [10, 11].

Несмотря на то, что в настоящее время существуют новые иммунологические и молекулярно-генетические технологии, позволившие значительно улучшить диагностику иерсиниозов, культуральный метод является приоритетным, основанным на выделении чистой культуры, и основным по проведению антибиотикотерапии и контролю за эффективностью лечения [12].

Схема бактериологического исследования включает «обогащение» исследуемого материала, использование дифференциально-диагностических сред для выделения и идентификации культур, определение их серотипа, биотипа, вирулентности.

Порядок лабораторных исследований на иерсиниозы предполагает высеивание после обогатительных сред на дифференциально-диагностические: среду с бромтимоловым синим – СБТС, Иерсиния-агар (ИПС), агар Эндо или другие коммерческие дифференциальные среды для диагностики иерсиниозов, разрешенные к применению на территории РФ [13, 5].

Для выделения энтеропатогенных иерсиний из пищевых продуктов, кормов для животных, объектов окружающей среды современные нормативно-методические документы рекомендуют к использованию дифференциально-диагностические среды: агар с цефсулодином, иргазаном, новобиоцином (CIN) и сальмонелла/шигелла агар с дезоксихолатом натрия и хлоридом кальция (SSDC) [14, 15].

Зарубежными производителями выпускаются селективные агары для выделения иерсиний: *Yersinia Selective Agar Base acc. to SCHIEMANN CIN-Agar* (Merck) используется для селективного культивирования иерсиний, в частности, *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* из клинического материала, продуктов питания, воды и т.п. Для выделения *Y. enterocolitica* в среду рекомендовано внесение селективной добавки, состоящей из лиофилизированной смеси трех разных ингибиторов, подавляющих рост сопутствующей флоры, встречающейся наряду с иерсиниями в образцах: цефсулодин, иргасан (иргазан) и новобиоцин. Питательные среды CIN Agar Base (*Yersinia Selective Agar Base*) Difco™ и CIN Agar Base (*Yersinia Selective Agar Base*) BBL™ содержат в своем составе иргазан в количестве 4 мг/л, а регидратированная селективная добавка CN (цефсулодин и новобиоцин) добавляется в асептических условиях в среду после ее стерилизации

и охлаждения до 45-50 °С.

Некоторые литературные источники свидетельствуют о том, что CIN-агар превосходит агары МакКонки, SS-агар и является наиболее эффективной средой для выделения *Y. enterocolitica*. Тем не менее, на CIN агаре с селективной добавкой, состоящей из цефсулодина, иргазана и новобиоцина подавляется рост близкородственных бактерий, вызывающих псевдотуберкулез - *Y. pseudotuberculosis*. Недостатком сред с бромтимоловым синим: СБТС и ИПС считается низкая селективность в отношении большинства бактерий кишечной группы [15].

Необходимость создать отечественную среду (CIN агар) для одновременного выделения и дифференциации *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, и обладающую более высокой селективностью, чем среды с бромтимоловым синим, является приоритетной задачей. Поэтому целью работы была разработка и оценка качества отечественного CIN агара в сравнении с аналогичными средами разных производителей.

**Материалы и методы:** В работе использовались питательные среды: экспериментальная среда (CIN агар) - Основа агара для выделения иерсиний сухая (ФБУН ГНЦ ПМБ), *Yersinia Selective Agar Base CIN агар* (Hi Media), *Cepulodin Irgasan Novobiocin Agar* (China). Селективная добавка - FD 208 (иргазан) (HiMedia), а также селективные добавки - Triclosan (иргазан) CAS-No: 3380-34-5 (China), FD 034 (цефсулодин, иргазан и новобиоцин). Питательная среда № 1 ГРМ для количественного определения микробной загрязненности (ФСР 2011/11415) использовалась для контроля посевной дозы используемых тест-штаммов.

Тест-штаммы получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk»: *Y. pseudotuberculosis* III, *Y. pseudotuberculosis* I, *Y. pseudotuberculosis* (серотип 4b) *Y. pseudotuberculosis* (серотип 1b) *Y. enterocolitica* 287 II, *Y. enterocolitica* (серотип O:3), *Y. enterocolitica* (серотип O:8), *Y. enterocolitica* (серотип O:9 591). В качестве микробов-ассоциантов использовались: *Staphylococcus aureus* 209-P, *S. aureus* Wood-46, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* 79, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922. Исходные суспензии микроорганизмов готовили в 0,9% растворе натрия хлорида по отраслевому стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85 (10 единиц мутности соответствующего года выпуска (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ). Полученные взвеси культур десятикратными разведениями (4,5 мл 0,9 % раствора натрия хлорида с 0,5 мл микробной взвеси) доводили до соответствующих разведений. Использовали рабочие разведения от

10-4 до 10-7. Для определения ростовых свойств производили посев по 0,1 мл микробной взвеси каждого из тест-штаммов иерсиний из разведения 10-7 и микробов- ассоциантов: *S. aureus* 209-P, *S. aureus* Wood-46, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* 79, *P. aeruginosa* ATCC 27853 *E. coli* ATCC 25922 (из разведений 10-4). Посевы инкубировали 24- 48 ч при температуре (30±1) °С.

**Результаты и обсуждение.** При конструировании CIN-агара в результате проведенного анализа использованных литературных источников, систематизации изученного материала, были отобраны необходимые фактические данные для предварительного состава

среды и подборки перечня тест-штаммов с целью определения специфической активности и ингибирующих свойств среды.

Первый этап исследований заключался в выборе белковой основы для конструирования CIN-агара. В качестве источника азотистого питания была изучена возможность применения панкреатического гидролизата казеина (ПГК), панкреатического гидролизата рыбной муки (ПГРМ), пептона мясного и ферментативного. В процессе изучения применяли полный факторный эксперимент (ПФЭ) для выбора оптимальной комбинации белковых основ. Каждая матрица ПФЭ включала от двух до трех факторов. Применением ПФЭ был доказан оптимальный выбор белковой составляющей -панкреатического гидролизата казеина для получения более высокой эффективности.

В среде содержится также пируват натрия, используемого в качестве источника энергии, а также для ослабления токсического эффекта активных форм кислорода, продуцируемых микроорганизмами. Хлорид натрия обеспечивает электролиты, необходимые для транспортного и осмотического баланса. Сульфат магния – поставщик ионов магния, необходимых в различных ферментативных реакциях, в том числе при репликации ДНК. Нейтральный красный – индикатор pH.

Ингибирование грамположительных и грамотрицательных бактерий достигается наличием в CIN агаре кристаллического фиолетового и солей желчных кислот. Для повышения селективности среды следующий этап работы предполагал внесение селективной добавки (СД). Для этого были приготовлены варианты: 1 вариант - экспериментальный CIN агар без внесения добавки служил средой сравнения; 2 вариант - экспериментальный CIN агар с внесением добавки иргазан *ex tempore*; 3 вариант - среда *Yersinia Selective Agar Base CIN агар* (Hi Media) с внесением добавки FD 208 (иргазан) *ex tempore*; 4 вариант - *Cepulodin Irgasan Novobiocin Agar* (China) в состав которого входит триклозан (иргазан).

В 5 и 6 варианты CIN-агаров вносили селективную добавку FD 034, состоящую из цефсулодина - 7,5 мг/500 мл среды, иргазана- 2,0 мг/500 мл среды и новобиоцина- 1,25 мг/500 мл среды. Варианты сред, содержащие селективные добавки представлены в таблице 1.

В результате ферментации иерсиниями маннита за счет образования кислоты, меняющей цвет индикатора (нейтрального красного) на красный, колонии приобретали характерную красную окраску. На рисунках 1(a-d) и 2(a-d) представлен рост *Y. enterocolitica* 287 II и *Y. pseudotuberculosis* III через 44 ч инкубации.

Результаты биологического контроля не показали существенных различий по количеству колоний и морфологическим особенностям тест-штаммов *Y. enterocolitica* 287 и *Y. pseudotuberculosis* на 1 варианте CIN агара (среде сравнения) без внесения селективной добавки и 2 варианте с внесением иргазана. 3 вариант- *Yersinia Selective Agar Base CIN агар* (Hi Media) уступил остальным вариантам CIN агара по количеству и диаметру колоний. Кроме того, экспериментальные варианты 1 и 2, а также 4 вариант - *Cepulodin Irgasan Novobiocin Agar* (China) показали преимущество при посеве штаммов *Y. pseudotuberculosis* из-за более выраженных характерных особенностей: фестончатый край и выпуклый центр (Рис. 2а, 2б, 2д).

Таблица 1.

Варианты CIN-агаров по внесению селективных добавок

Селективная добавка (СД)	Количество (мг на 500 мл среды)	1 вариант-экспериментальный CIN агар	2 вариант-экспериментальный CIN агар	3 вариант Yersinia Selective Agar Base CIN агар (Hi Media)	4 вариант Cefsulodin Irgasan Novobiocin Agar (China)	5 вариант-экспериментальный CIN агар	6 вариант Yersinia Selective Agar Base CIN агар (Hi Media)
Цефсулодин	7,50	-	-	-	-	+	+
Иргазан	2,00	-	+	+	+	+	+
Новобиоцин	1,25	-	-	-	-	+	+

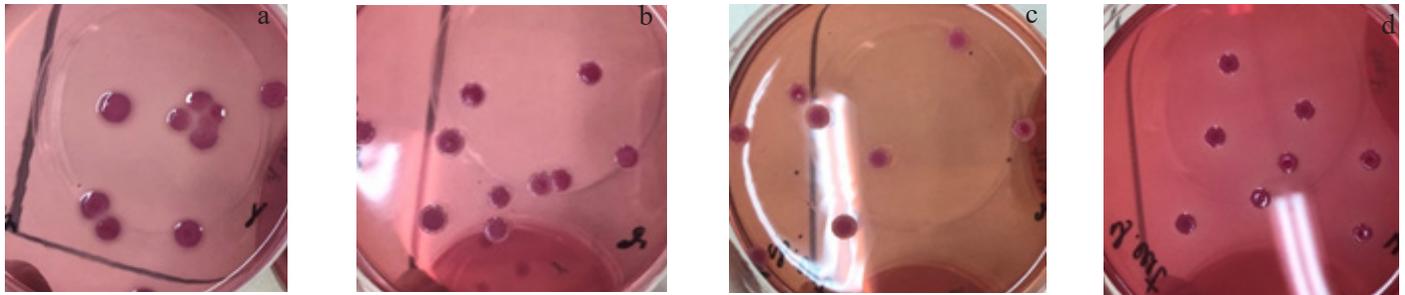


Рис. 1. а - рост *Y. enterocolitica* 287 II на экспериментальном CIN агаре вариант 1; б - рост *Y. enterocolitica* 287 II на экспериментальном CIN агаре с добавкой иргазан вариант 2; с - рост *Y. enterocolitica* 287 II на среде Yersinia Selective Agar Base CIN агар (HiMedia) с добавкой FD 208 вариант 3; д - рост *Y. enterocolitica* 287 II на Cepulodin Irgasan Novobiocin Agar (China) вариант 4

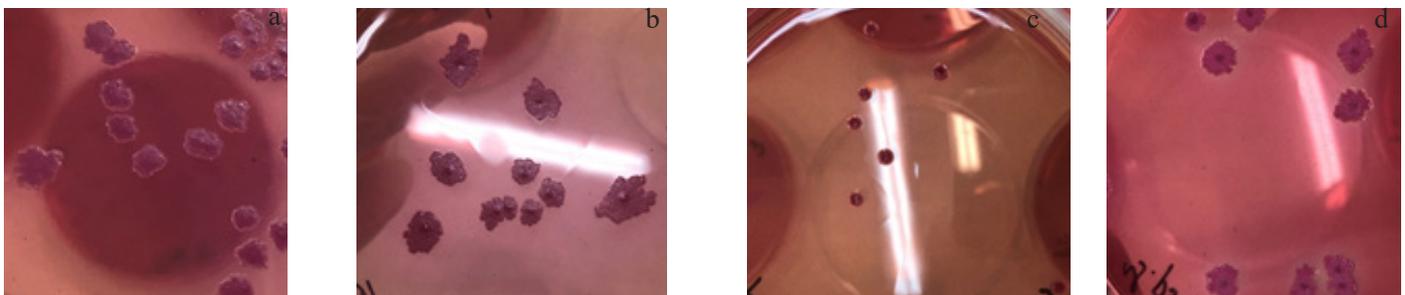


Рис. 2. а - рост *Y. pseudotuberculosis* III на экспериментальном CIN агаре, вариант 1; б - рост *Y. pseudotuberculosis* III на экспериментальном CIN агаре с добавкой иргазан, вариант 2; с - Рост *Y. pseudotuberculosis* III на среде Yersinia Selective Agar Base CIN агар (Hi Media) с добавкой FD 208 вариант 3; д - рост *Y. pseudotuberculosis* III на Cepulodin Irgasan Novobiocin Agar (China) вариант 4

При внесении CIN-агаров селективной добавки FD 034, состоящей из цефсулодина, иргазана и новобиоцина (варианты 5 и 6 соответственно) было обнаружено, что оба варианта обеспечивали рост всех штаммов *Y. enterocolitica* в виде гладких темно-красных колоний, окруженных прозрачной зоной, а рост всех штаммов *Y. pseudotuberculosis* из разведений от  $10^{-5}$  до  $10^{-7}$  ингибировался.

Учитывая полученные результаты, для проведения дальнейшей работы готовили тот вариант CIN-агара, который позволял бы осуществлять одновременную идентификацию *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* вместе с их выделением, поэтому в дальнейших исследованиях обрабатывались варианты с внесением только иргазана.

Были подготовлены два варианта CIN-агара: 1 вариант CIN-агара (без иргазана) из-за отсутствующих селективных свойств служил контролем роста всех используемых тест-штаммов иерсиний. Во 2 вариант вносили иргазан в состав среды перед автоклавированием; в 3 вариант иргазан вносили *ex tempore* после автоклавирования среды.

Результаты биологического контроля всех вариантов не показали различий между количеством и диаметром колоний иерсиний, выращенных на испытываемых средах: все варианты сред обеспечивали при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения  $10^{-7}$  рост штаммов *Y. enterocolitica* в виде гладких темно-красных колоний, окруженных прозрачной зоной в количестве 8-11 колоний (среднее значение), *Y. pseudotuberculosis* в виде матовых темно-красных колоний, с фестончатым краем и выпуклым центром в количестве 9-12 колоний (среднее значение).

На всех вариантах CIN-агара с добавлением иргазана рост *S. aureus* 209-P, *S. aureus* Wood-46, *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* 79, *E. coli* ATCC 25922 из разведения  $10^{-4}$  через 48 ч инкубации был полностью подавлен, за исключением *P. aeruginosa* ATCC 27853, рост которого наблюдался в виде колоний слабо-розового цвета с частичным обесцвечиванием среды.

Таким образом, исследования позволили установить оптимальные соотношения компонентов CIN-агара для получения наилучшего результата ростовых свойств

иерсиний, поэтому при составлении окончательной прописи среды было принято решение внесение одного антибиотика – иргазана в состав среды перед стерилизацией, в связи с чем упростился процесс приготовления.

Для определения дифференцирующих свойств отечественного CIN-агара были приготовлены смеси культур, состоящие из: 1 микс - *Y. enterocolitica* 287 II (разведение  $10^{-7}$ ) и *P. aeruginosa* ATCC 27853 (разведение  $10^{-5}$ ); 2 микс - *Y. pseudotuberculosis* III (разведение  $10^{-7}$ ) и *P. aeruginosa* ATCC 27853 (разведение  $10^{-5}$ ); 3 микс - *Y. enterocolitica* 287 II (разведение  $10^{-7}$ ) и *Y. pseudotuberculosis* III (разведение  $10^{-7}$ ).

10<sup>-7</sup>) и *P. aeruginosa* ATCC 27853 (разведение  $10^{-5}$ ); 3 микс - *Y. enterocolitica* 287 II (разведение  $10^{-7}$ ) и *Y. pseudotuberculosis* III (разведение  $10^{-7}$ ).

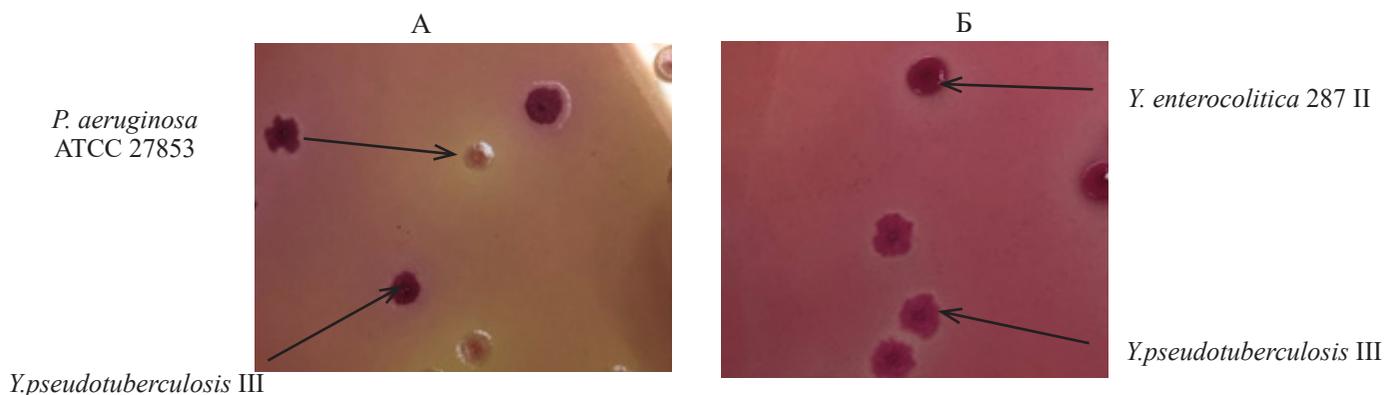


Рис. 3. Дифференцирующие свойства отечественного CIN-агара

**Заключение.** В рамках программы импортозамещения в ФБУН ГНЦПМБ разработана и подготовлена к промышленному производству отечественная среда для выделения иерсиний (CIN-агар). В ходе проведенных сравнительных испытаний со средой Serulodin Irgasan Novobiocin Agar (China) получена хорошая согласованность результатов по ростовым свойствам иерсиний при использовании обеих сред. Отмечено преимущество отечественной среды по сравнению со средой *Yersinia Selective Agar Base CIN agar* (Hi Media) при внесении иргазана: отечественная среда CIN-агар показала наибольшую производительность по количеству колоний и улучшенные дифференцирующие свойства за счет более выраженных морфологических свойств *Y. pseudotuberculosis*.

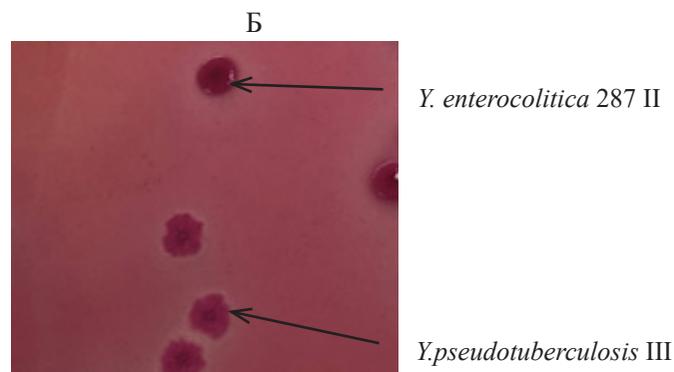
Использование отечественной питательной среды для выделения иерсиний (CIN-агар), рекомендуемой требованиями межгосударственных стандартов позволит выделять бактерии рода *Yersinia* spp. из исследуемых образцов, а также осуществлять одновременную идентификацию *Y. enterocolitica* от *Y. pseudotuberculosis*, что значительно сократит время на исследование.

#### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 6-8, 12, 15-16 см. REFERENCES)

1. Чеснокова М.В., Климов В.Т., Каримова Т.В., Загоскина Т.Ю., Панин А.Л. Лабораторная диагностика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2021; 26 (5): 224-237. DOI: <https://doi.org/10.17816/EID108746>
2. Смирнов И.В. Возбудитель иерсиниоза и близкие к нему микроорганизмы. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2004; 6 (1): 10-21.
3. Нарзуллаев Н. У., Мирзоева М. Р., Остонова Г. С. Новые взгляды на методы диагностики иерсиниоза. *Scientific progress*. 2021; (4): 468-475.

После инкубации посевов было отмечено, что среда обладала явно-выраженными отличительными признаками иерсиний от псевдомонад в результате их ферментативной активности (рис.3 А) и четкой дифференциацией *Y. enterocolitica* от *Y. pseudotuberculosis* (рис.3 Б).

Таким образом, отечественная питательная среда CIN-агар по своим ростовым, дифференцирующим и селективным свойствам не уступала зарубежным аналогам: обеспечивала рост и идентификацию *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*. При росте псевдомонад, среда обеспечивала четкую их дифференциацию от бактерий рода *Yersinia*.



4. Профилактика иерсиниоза [Электронный ресурс].– Режим доступа: <https://89.rospotrebnadzor.ru/documents/ros/30195/> (дата обращения 20.04.25)
5. Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях: методические указания МУК 4.2.3019-12 – М.: Изд-во ФГУЗ ФЦГЭ Роспотребнадзора, 2012.
9. Кадочкина НГ, Саливончик АП, Мицура ВМ, Проневич АВ. Иерсиниоз, протекающий по типу лихорадки неясного генеза. *Проблемы здоровья и экологии*. 2023; 20(4):144-148. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2023-20-4-18>
10. Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Плехова Н.Г. Проблема иерсиниозов в современном мире. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2015; 12 (4): 661-667 URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=7999> (дата обращения: 09.04.2025)
11. Бынина М. П., Андрюков Б. Г., Матосова Е. В., Ляпун И. Н., Дробот Е. И. Сравнительная оценка дифференциально-диагностических свойств среды Серова и основы селективного агара для выделения энтеропатогенных иерсиний. *Клиническая лабораторная диагностика* 2018; 63 (9): 564-567. DOI:<http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-9-564-567>
13. Храмов М.В., Полосенко О.В. Оценка качества отечественной питательной среды для селективного накопления и выделения иерсиний. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2024; 4(20): 5-10. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2024-4-20-5-10>
14. ГОСТ ISO 10273-2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения условно-патогенной бактерии *Yersinia enterocolitica*». – М.: Стандартинформ 2014.

#### REFERENCES

1. Chesnokova MV, Klimov VT, Karimova TV, Zagoskina TYu, Panin AL. Laboratory diagnosis of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2021; 26(5): 224-237. DOI: <https://doi.org/10.17816/EID108746> (in Russian)
2. Smirnov I.V. The causative agent of yersiniosis and related microorganisms. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya*. – 2004; 6 (1): 10-21(in Russian).

3. Narzullaev N. U., Mirzoeva M. R., Ostonova G. S. New views on the methods of diagnosis of yersiniosis. *Scientific Progress*. 2021; (4): 468–475
4. Prevention of yersiniosis [Electronic resource].—Access mode: <https://89.rospotrebnadzor.ru/documents/ros/30195> (accessed 20.04.25) (in Russian)
5. Organization and Conducting Laboratory Tests for Yersiniosis at the Territorial, Regional, and Federal Levels: Methodological Guidelines MUK 4.2.3019-12 – Moscow: FGUZ FCGE Rospotrebnadzor, 2012 (in Russian)
6. Von Pawel-Rammingen U, Telepnev MV, Schmidt G, Aktories K, Wolf-Watz H, Rosqvist R. GAP activity of the Yersinia YopE cytotoxin specifically targets the Rho pathway: a mechanism for disruption of actin microfilament structure. *Mol Microbiol*. 2000 May; 36(3):737–748. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2000.01898.x>
7. Fàbrega A, Vila J. Yersinia enterocolitica: pathogenesis, virulence and antimicrobial resistance. *Enfermedades desinfectiosas y microbiología clínica*. 2012;30(1):24-32. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.07.017>
8. Wren B. The Yersiniae — a model genus to study the rapid evolution of bacterial pathogens. *Nat Rev Microbiol*. 2003;1:55-64. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrmicro730>
9. Kadochkina NG, Salivontchik AP, Mitsura VM, Pronevich AV. Yersiniosis with fever of unclear genesis. *Problemy zdorov'ya i ekologii*. 2023;20(4):144–148. DOI: <https://doi.org/10.51523/2708-6011.2023-20-4-18> (in Russian)
10. Somova L.M., Andryukov B.G., Plekhova N.G. The Problem of Yersiniosis in the Modern World. *Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*. 2015. No. 12 (4): 661-667 URL: <https://applied-research.ru/ru/article/view?id=7999> (accessed: 09.04.2025) (in Russian)
11. Bynina M. P., Andryukov B. G., Matosova E. V., Lyapun I. N., Drobot E. I. A comparative evaluation of differential and diagnostic properties of the Serov's agar medium and the base of selective agar for isolating enteropathogenic yersinia. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2018; 63 (9): 564-567. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-9-564-567> (in Russian)
12. Kalia V.C., Kumar P. Genome Wide Search for Biomarkers to Diagnose Yersinia Infections. *Indian. J. Microbiol*. 2015; 55(4): 366–74. 15. Jaakkola K., Somervuo P., Korkeala H.. Comparative Genomic Hybridization Analysis of Yersinia enterocolitica and Yersinia pseudotuberculosis Identifies Genetic Traits to Elucidate Their Different Ecologies. *Biomed. Res. Int*. 2015; 2015: 760494
13. Khramov M.V., Polosenko O.V. Assessment of the quality of the domestic nutrient medium for selective accumulation and isolation of yersinia. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2024; 4(20): 5-10 DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2024-4-20-5-10> (in Russian)
14. GOST ISO 10273-2013 Microbiology of Food and Animal Feed. Horizontal Method for Detecting the Opportunistic Pathogenic Bacterium Yersinia enterocolitica. – M.: Standartinform, 2014 (in Russian)
15. ISO 10273:2017 Microbiology of the food chain. Horizontal method for the detection of pathogenic Yersinia enterocolitica 2017: 52.
16. Head CB, Whitty DA, Ratnam S. Comparative study of selective media for recovery of Yersinia enterocolitica. *J Clin Microbiol*. 1982; 16(4):615-21. doi: 10.1128/jcm.16.4.615-621.1982.

## БИОТЕХНОЛОГИЯ



https://elibrary.ru/vsbesl

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Королева Т.А.<sup>1</sup>, Марданлы А.Г.<sup>2</sup>, Кузнецова В.А.<sup>1</sup>, Николаева Н.П.<sup>1</sup>

### ИДЕНТИФИКАЦИЯ КРАСИТЕЛЕЙ В РАСТВОРЕ КЕТОПРОФЕН

<sup>1</sup> АО ЭКОлаб, 142530, Электрогорск, Россия;

<sup>2</sup> Нахчыванский государственный университет, AZ7012, Нахчыван, Азербайджан

На АО «ЭКОлаб» проведена валидация разработанного метода «Идентификация» красителей хинолиновый желтый и синий патентованный V в растворе кетопрофена с использованием метода УФ-спектрофотометрии. Кетопрофен - широко применяемый в современной медицинской терапии представитель группы НПВС (нестероидные противовоспалительные средства), обладающий высокой анальгетической, противовоспалительной и жаропонижающей активностью. Валидируемая методика обеспечивает достоверную информацию о присутствии красителей в лекарственной форме раствор для полоскания Кетопрофен.

**Ключевые слова:** красители; кетопрофен; валидация; АО «ЭКОлаб»

**Для цитирования:** Королева Т.А., Марданлы А.Г., Кузнецова В.А., Николаева Н.П. Идентификация красителей в растворе кетопрофен. *Биотехнология в медицине и фармации*. 2025; 2 (2): 55–59.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-55-59>

EDN: VSBESL

**Для корреспонденции:** Королева Татьяна Александровна, НПО ГЛС, АО «ЭКОлаб», 142530, Московская обл., ул. Буденного д. 1а, e-mail: korolevat2018@mail.ru

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

**Финансирование.** Исследование финансировалось АО «ЭКОлаб».

Поступила 23.05.2025

Принята к печати 09.07.2025

Koroleva T.A.<sup>1</sup>, Mardanly A.G.<sup>2</sup>, Kuznetsova V.A.<sup>1</sup>, Nikolaeva N.P.<sup>1</sup>

### IDENTIFICATION OF DYES IN KETOPROFEN SOLUTION

<sup>1</sup> JSC Ecolab, 142530, Elektrogorsk, Russia;

<sup>2</sup> Nakhchivan State University, AZ7012, Nakhchivan, Azerbaijan

At JSC "Ecolab", the developed method "Identification" of dyes quinoline yellow and blue patented V in ketoprofen solution was validated using the UV-spectrophotometry method. Ketoprofen is a widely used representative of the NSAID (non-steroidal anti-inflammatory drug) group in modern medical therapy, which has high analgesic, anti-inflammatory, and antipyretic activity. The validated method provides reliable information about the presence of dyes in the Ketoprofen rinse solution.

**Key words:** dyes; ketoprofen; validation; JSC "ECOLAB"

**For citation:** Koroleva T.A., Mardanly A.G., Kuznetsova V.A., Nikolaeva N.P. Identification of dyes in ketoprofen solution. *Biotechnologiya v meditsine i farmatsii (Biotechnology in medicine and pharmacy)*. 2025; 2(2): 55–59 (in Rus.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-55-59>

EDN: VSBESL

**For correspondence:** Koroleva Tatyana Aleksandrovna, NPO GLS, JSC "EKOLab", 142530, Moscow region, st. Budennogo 1a, e-mail: korolevat2018@mail.ru

**Information about authors:**

Koroleva T.A., <https://orcid.org/0000-0002-8415-5485>.

Mardanly A.G., <https://orcid.org/0009-0001-1591-1849>.

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

**Acknowledgement.** The study was funded by "EKOLab" JSC.

Received: 23.05.2025

Accepted: 09.07.2025

**Введение.** Кетопрофен (2-(3-бензоилфенил)пропионовая кислота) – НПВП ряда производных арилкарбоновой кислоты, обладающий противовоспалительными, обезболивающими и жаропонижающими свойствами. Он ингибирует циклооксигеназу, которая катализирует

образование предшественников простагландинов из арахидоновой кислоты [1]. Лекарственное средство Кетопрофен-ЭКОлаб, раствор для полоскания 16 мг/мл (МНН Кетопрофен) относится к фармакотерапевтической группе «нестероидный противовоспалительный препа-

рат». Применяется для симптоматического лечения воспалительных заболеваний: верхних дыхательных путей - тонзиллита (ангины), ларингита, фарингита; полости рта - стоматита, гингивита, глоссита, афты, пародонтопатии, хронического пародонтоза; в качестве анальгетического средства при стоматологических манипуляциях. В отношении данного препарата необходимо подчеркнуть, что все вспомогательные компоненты препарата хорошо известны – описаны, например, в официальной Европейской Фармакопее, и являются безопасными веществами.

Проведена валидация аналитического метода «Идентификация» красителей хинолиновый желтый и синий патентованный V в растворе кетопрофена с использованием метода УФ-спектрофотометрии. Исследованы такие валидационные характеристики, как специфичность, идентификация. Результаты валидации подтвердили корректность методики идентификации красителей в растворе кетопрофена.

**Цель работы.** Заключается в документальном под-

тверждении того, что аналитическая методика «Идентификация» красителей: хинолиновый желтый и синий патентованный V в препарате «Кетопрофен-ЭКОлаб, раствор для полоскания 16 мг/мл», с использованием метода УФ-спектрофотометрии соответствует предъявляемым к ним требованиям.

**Материалы и оборудование.** Валидацию аналитического метода «Идентификация» красителей хинолиновый желтый и синий патентованный V в препарате «Кетопрофен-ЭКОлаб, раствор для полоскания 16 мг/мл», с использованием метода УФ-спектрофотометрии проводили согласно ГФ РФ, ОФС.1.1.0012 «Валидация аналитических методик»; проекту нормативного документа (НД) [2-6]. В работе использовали прибор: спектрофотометр UV, модификация UV-18002, заводской номер A11645271566.

Проведение валидационных тестов.

Необходимые тесты и критерии приемлемости для проведения валидации представлены в таблице 1.

Таблица 1

Необходимые тесты и критерии приемлемости

Параметр валидации	Методика определения	Критерий приемлемости
Специфичность	Анализируется раствор растворителя и раствор плацебо, приготовленный так же, как и раствор препарата, за исключением действующего вещества для определения идентификации по НД.	Содержимое растворителя и плацебо не должно влиять на определение красителей: хинолиновый желтый и синий патентованный V. На УФ-спектре раствора растворителя и плацебо в области от 350 нм до 700 нм должны отсутствовать максимумы поглощения при длинах волн 414±2 (хинолиновый желтый) нм и 639±2 нм (синий патентованный V).
Идентификация	Анализируется раствор препарата, приготовленный для определения идентификации	Спектр испытуемого раствора в области от 350 нм до 700 нм должен иметь максимумы поглощения при длинах волн 414±2 нм (хинолиновый желтый) и 639±2 нм (синий патентованный V).

Определение проводили методом спектрофотометрии в соответствии с ФЕАЭС 2.1.2.24. «Абсорбционная спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях» и ГФ РФ, ОФС.1.2.1.1.0003 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Реактивы: вода очищенная, испытуемый раствор. 2 мл препарата, помещали в мерную колбу вместимостью 20 мл и доводили объем раствора водой очищенной до метки и перемешивали. В качестве раствора сравнения использовали воду очищенную. Спектр испытуемого раствора в области от 350 нм до 700 нм должен иметь максимумы поглощения при длинах волн 414±2 нм (хинолиновый желтый) и 639±2 нм (синий патентованный V).

**Специфичность.**

Анализировался растворитель рис. №1.

Полученные результаты показали отсутствие мешающего влияния растворителя и гарантируют правильное определение идентификации красителей: хинолиновый желтый и синий патентованный V в препарате «Кетопрофен-ЭКОлаб, раствор для полоскания 16 мг/мл».

Анализировался раствор плацебо, приготовленный так же, как и раствор препарата, за исключением действующего вещества для определения идентификации по НД. 2 мл плацебо, помещали в мерную колбу вме-

стимостью 20 мл и доводили объем раствора водой очищенной до метки и перемешивали.

Приготовление раствора плацебо красителя хинолиновый желтый представлено в таблице 2.

Полученные результаты рис. №2 показали отсутствие мешающего влияния вспомогательных веществ и гарантируют правильное определение идентификации красителя хинолиновый желтый в препарате «Кетопрофен-ЭКОлаб, раствор для полоскания 16 мг/мл».

Приготовление раствора плацебо красителя синий патентованный V представлено в таблице 3.

Полученные результаты рис. №3 показали отсутствие мешающего влияния вспомогательных веществ и гарантируют правильное определение идентификации красителя синий патентованный V в препарате «Кетопрофен-ЭКОлаб, раствор для полоскания 16 мг/мл».

**Идентификация.**

Анализировался испытуемый раствор.

Полученные результаты рис. №4 соответствуют критериям приемлемости (Спектр испытуемого раствора в области от 350 нм до 700 нм должен иметь максимумы поглощения при длинах волн 414±2 нм (хинолиновый желтый) и 639±2 нм (синий патентованный V).

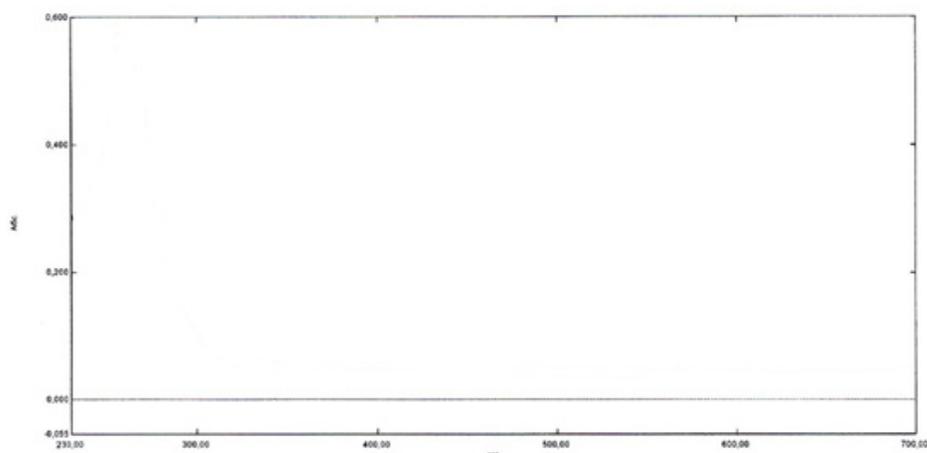


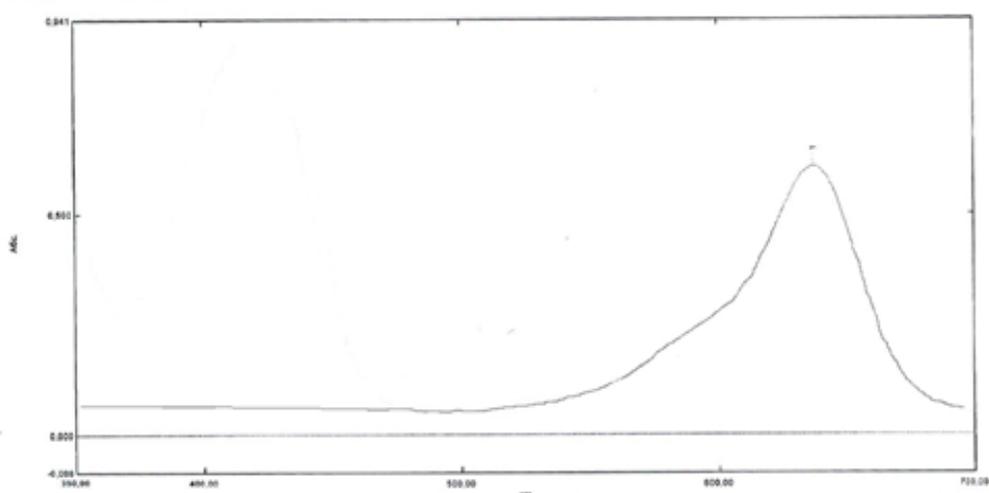
Рис. 1. Спектр – растворителя

Таблица 2

**Раствор плацебо красителя хинолиновый желтый**

Вещество	Количество на 1 мл, мг	Взятое количество, в мг
Кетопрофен лизинат	16,0	1599,8
Глицерол	200	20000
Этанол (спирт этиловый 95%)	0,0503	5,0
Метилпарагидроксибензоат	1,5	149,9
Ароматизатор «Мята перечная МА/1 373»	0,6	59,9
Левоментол	0,7	70,1
Натрия сахаринат	2,0	199,7
Краситель патентованный синий V	0,0258	2,6
Натрия гидрофосфат дигидрат	до pH 6,5-7,0	
Вода очищенная	До 1 мл	До 100 мл

**Диапазон длин волн от 350 до 700 нм**



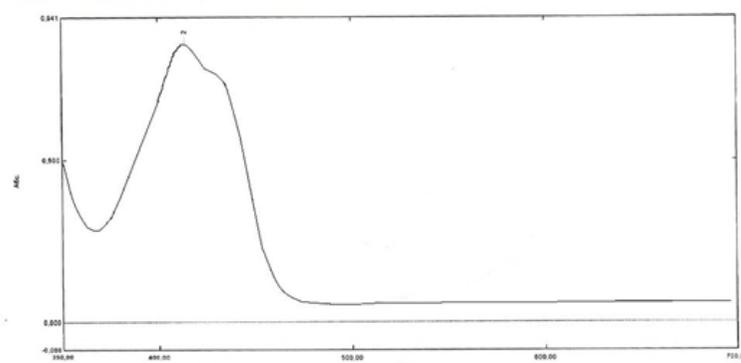
Испытуемый образец плацебо	Мах длина волны, нм	ОП
Хинолиновый желтый	637,40	0,607

Рис. 2. Спектр – плацебо

Раствор плацебо красителя синий патентованный V

Вещество	Количество на 1 мл, мг	Взятое количество, в мг
Кетопрофенлизиат	16,0	1599,8
Глицерол	200	20000
Этанол (спирт этиловый 95%)	0,0503	5,0
Метилпарагидроксибензоат	1,5	149,9
Ароматизатор «Мята перечная МА/1 373»	0,6	59,9
Левоментол	0,7	70,1
Натрия сахаринат	2,0	199,7
Краситель хинолиновый желтый	0,1165	11,6
Натрия гидрофосфат дигидрат	до pH 6,5-7,0	
Вода очищенная	До 1 мл	До 100 мл

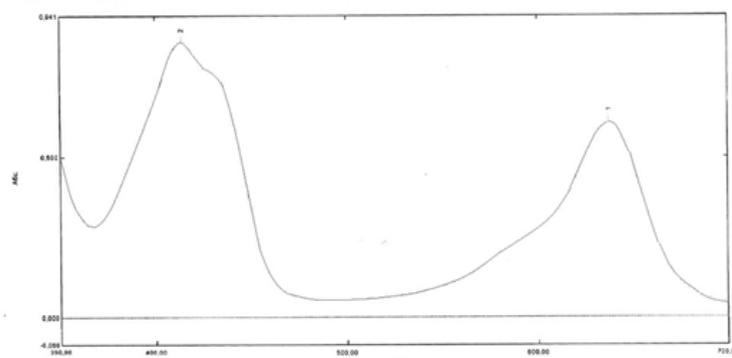
Диапазон длин волн от 350 до 700 нм



Испытуемый образец плацебо	Мах длина волны, нм	ОП
Синий патентованный V	413,60	0,856

Рис. 3. Спектр – плацебо

Диапазон длин волн от 350 до 700 нм



Испытуемый образец	Мах длина волны, нм	ОП
Синий патентованный V	637,60	0,606
Хинолиновый желтый	413,40	0,857

Рис. 4. Спектр - испытуемого раствора

**Заключение.** Результаты всех валидационных тестов соответствуют критериям приемлемости. Метод: «Идентификация» красителей: хинолиновый желтый

и синий патентованный в препарате «Кетопрофен-ЭКОлаб, раствор для полоскания 16 мг/мл» пригоден для анализа.

ЛИТЕРАТУРА (п. 1 см. REFERENCES)

2. Валидация аналитических методик (ОФС.1.1.0012). Государственная Фармакопея Российской Федерации XV издания. Москва, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15>.
3. Проект НД «Кетопрофен-ЭКОлаб, раствор для полоскания 16 мг/мл» (АО ЭКОлаб)
4. Решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018 N 113. «Об утверждении Руководства по валидации аналитических методик проведения испытаний лекарственных средств» URL: <https://gxp-academy.org>.
5. Королева Т.А., Марданлы С.Г., Ханина М.А., Потемкина Н.М., Исмаилов Э.С. Разработка технологии производства лекарственного препарата «Кетопрофен-ЭКОлаб, 16 мг/мл, раствор для полоскания». *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2024; 2: 85-92. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2024-2-18-85-92>
6. Марданлы С.Г., С. В. Ротанов, Ю. А. Акиншина, М. А. Ханина Изучение диагностической информативности выявления *Helicobacter pylori* у человека иммунохроматографическим методом. *Бактериология*. 2024; 9; 4: 56-63. DOI 10.20953/2500-1027-2024-4-56-63. EDN LVNGKR.

REFERENCES

1. Díaz-Reval MI, Ventura-Martínez R, Hernández-Delgadillo GP, Domínguez-Ramírez AM, López-Muñoz FJ. Effect of caffeine on antinociceptive action of ketoprofen in rats. *Arch Med Res*. 2001 Jan-Feb;32(1):13-20. doi: 10.1016/s0188-4409(00)00268-x. PMID: 11282174.
2. Validation of analytical methods (OFS.1.1.0012). State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XV edition. Moscow, 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15>.
3. Draft regulatory document "Ketoprofen-ECOLab, mouthwash 16 mg/ml" (JSC ECOLab)
4. Decision of the Board of the Eurasian Economic Commission dated July 17, 2018 N 113. "On approval of the Guidelines for the validation of analytical methods for testing medicines" URL: <https://gxp-academy.org>.
5. Koroleva T.A., Mardanly S.G., Khanina M.A., Potemkina N.M., Ismailov E.S. Development of a production technology for the drug "Ketoprofen-ECOLab, 16 mg/ml, mouthwash". *Bulletin of GGTU. Medicine, Pharmacy*. 2024; 2: 85-92. DOI: <https://doi.org/10.51620/2687-1521-2024-2-18-85-92>
6. Mardanly S.G., S.V. Rotanov, Yu.A. Akinshina, M.A. Khanina Study of the diagnostic information content of detecting *Helicobacter pylori* in humans by the immunochromatographic method. *Bacteriology*. 2024; 9; 4: 56-63. DOI 10.20953/2500-1027-2024-4-56-63. EDN LVNGKR.

## КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Ротанов С.В.<sup>1</sup>, Акиншина Ю.А.<sup>2</sup>, Марданлы С.Г.<sup>2,3</sup>, Марданлы А.Г.<sup>4</sup>

<https://elibrary.ru/gfzszst>

### ИММУНОХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СКРЫТОЙ КРОВИ В ОБРАЗЦАХ КАЛА ЧЕЛОВЕКА

<sup>1</sup> ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора), 142279, г.о. Серпухов, п. Оболенск, Россия

<sup>2</sup> АО «ЭКОлаб», 142530, г. Электрогорск, Россия

<sup>3</sup> ГОУВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО «ГГТУ»), 142611, г. Орехово-Зуево, Россия

<sup>4</sup> Нахчыванский Государственный университет, AZ7012, Нахчывань, Азербайджан

*Современные иммунохроматографические (ИХ) тесты высоко востребованы при оказании медицинской помощи, приближенной к пациенту (point of care тесты), они соответствуют требованиям диагностической информативности и имеют преимущество в кратком времени воспроизведения.*

*В работе представлены этапы разработки и изучения диагностических характеристик нового ИХ набора для выявления скрытой крови (гемоглобина) в кале пациента «ИХА-Скрытая кровь»; установлен аналитический предел чувствительности в 50 нг/мл, показатель клинической чувствительности охарактеризован в 99,77% при специфичности исследования - 100%. Новый разработанный ИХ FOB-тест может быть использован для первичном экспресс-скрининга с целью раннего выявления поражений кишечника, сопровождающихся скрытым кровотечением (в том числе и колоректального рака) и для самотестирования населением (РУ № РЗН 2019/9244).*

**Ключевые слова:** лабораторная диагностика; иммунохроматографический анализ; скрытая кровь; FOB-тест; набор реагентов

**Для цитирования:** Ротанов С.В., Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Марданлы А.Г. Иммунохроматографическое определение скрытой крови в образцах кала человека. Биотехнология в медицине и фармации. 2025; 2(2): 60-68.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-60-68>

EDN: GFZSZT

**Для корреспонденции:** Ротанов С.В., ведущий научный сотрудник отдела информатизационных технологий ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора; e-mail: svrotanov@mail.ru

**Финансирование.** Исследования выполнены в соответствии с научным производственным планом АО «ЭКОлаб», при полном финансировании предприятия.

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

Поступила 29.05.2025

Принята к печати 10.07.2025

Rotanov S.V.<sup>1</sup>, Akinshina Yu.A.<sup>2</sup>, Mardanly S.G.<sup>2,3</sup>, Mardanly A.G.<sup>4</sup>

### IMMUNOCHROMATOGRAPHIC DETERMINATION OF OCCUPIENT BLOOD IN HUMAN FAECAL SAMPLES

1 FSBI «State Scientific Centre of Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor (FSBI "SSC PMB" of Rospotrebnadzor), 142279, Serpukhov, Obolensk, Russia

2 JSC «EKOLab», 142530, Elektrogorsk, Russia

3 State educational institution of higher education of the Moscow region «State Humanitarian University of Technology» (GGTU), 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia

4 Nakhchivan State University, AZ7012, Nakhchivan, Azerbaijan

*Modern immunochromatographic (IC) tests (LFIA) are in high demand when providing medical care close to the patient (point of care tests), they meet the requirements of diagnostic information content and have the advantage of a short reproduction time.*

*The paper presents the stages of development and study of the diagnostic characteristics of a new LFIA kit for detecting occult blood (hemoglobin) in a patient's feces "ICA-Occult Blood"; the analytical sensitivity limit is set at 50 ng / ml, the clinical sensitivity index is characterized as 99.77% with a study specificity of 100%. The newly developed ICH FOB test can be used for primary express screening for the early detection of intestinal tract lesions accompanied by occult bleeding (including colorectal cancer) and for self-testing by the population.*

**Key words:** laboratory diagnostics; immunochromatographic analysis; occult blood; FOB test; reagent kit

**For citation:** Rotanov S.V., Akinshina Ju.A., Mardanly S.G., Mardanly A.G. Immunochromatographic determination of occult blood in human stool samples. Biotechnologiya v medicine i farmacii [Biotechnology in medicine and pharmacy] (in Rus.). 2025; 2(2): 60-68 (in Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-60-68>

EDN: GFZSZT

**For correspondence:** Rotanov S.V., leading researcher of the department of information technologies of the FSBSI "State Scientific Center of Applied Medical Biology" of Rospotrebnadzor; e-mail: svrotanov@mail.ru

**Information about authors:**

Rotanov S.V., <https://orcid.org/0000-0002-3222-1401>

Akinshina Yu.A., <https://orcid.org/0000-0002-9223-3455>

Mardanly S.G., <https://orcid.org/0000-0003-3650-2363>

Mardanly A.G., <https://orcid.org/0009-0001-1591-1849>

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

**Acknowledgment.** The research was carried out in accordance with the scientific production plan of JSC "ECOLab", with full funding from the enterprise.

Received 29.05.2025

Accepted 10.07.2025

**Актуальность.** По данным официального статистического учета колоректальный рак (КРР) занимает ведущие позиции в структуре онкологической заболеваемости и смертности во всем мире. По состоянию на 2022 год эта локализация среди всех вновь выявленных в мире 19 964 800 новых случаев онкопатологии у человека занимала 3 место (9,6%) после поражения легких и молочных желез (12,4 и 11,6% соответственно); а по частоте летальных исходов (всего было отмечено 9,7 млн) выдвигается на второе место вслед за поражениями легких (18,7 и 9,3% соответственно) [1, 2]. Наблюдаются относительно стабильное ранжирование частоты выявления колоректального рака среди населения мира по полу (у мужчин - с частотой 213 и у женщин - 186 случаев на 100 000 обследованных лиц; при этом стандартизованный по возрасту показатель заболеваемости КРР, ассоциированный с полом, составляет соответственно 23,4 и 19,5 на 100 000 населения).

По разным географическим зонам планеты заболеваемость населения КРР существенно варьирует, отличие показателей достигает 6-8-раз (лидируют по заболеваемости регионы Австралии и Новой Зеландии, Восточной Азии, Северной и Южной Африки, Европы в целом и Южной Америки). При этом основные векторы эпидемиологических уровней за последние годы по сравнению с 2020 годом практически не изменились [1-4].

Результаты исследований, выполненных в Американском институте исследований рака, доказали, что патогенетические механизмы появления рака толстой кишки и рака прямой кишки являются разными. Диетические предпочтения с высоким уровнем потребления красного или обработанного мяса в сочетании с насыщенными жирами животного происхождения, рацион питания с низким содержанием клетчатки, потребление крепких алкогольных напитков и сопутствующее ожирение повышают риски возникновения КРР, в то время как оптимальная или повышенная общая физическая активность, употребление в пищу морепродуктов и рыбы, продуктов богатых кальцием, клетчаткой, витамином D, злаков (пшеницы), фруктов и овощей оказывает защитное действие в отношении развития рака толстой кишки [4-7]. Считается, что клетчатка (в составе фруктов, овощей и в цельных зернах) защищает особенно эффективно, так как способствует более активной моторике кишечника и быстрой эвакуации шлаков со стулом, что в комплексе минимизирует время прямого воздействия потенциальных канцерогенов на слизистую оболочку кишечника [7].

Важную роль в появлении КРР играют также наследственные (генетические) факторы (с частотой до 20% случаев): при диагностике у близких родственников семейного аденоматозного полипоза, наследственного неполипозного рака толстой кишки или других генетически обусловленных заболеваний, при прочих равных условиях, риск развития рака толстой кишки у обследуемого лица в 2-4 раза выше; также возрастает риск заболеваемости и при хронических воспалительных заболеваниях кишечника, сопровождающихся появлением эрозивных и язвенных дефектов слизистой оболочки кишки, таких как болезнь Крона, язвенный колит и другие. Дело в том, что перечисленные патологические состояния сопровождаются усиленной репликацией эпителиальных железистых клеток и возникновением доброкачественных аденоматозных образований (полипов), которые могут постепенно расти и со временем (в течение 10-20 лет) перерождаться в карциному [2-3, 7-8]. Среди отягощающих морбидный онкологический прогноз факторов выделяют также удаление желчного пузыря (из-за раздражающего воздействия постоянно поступающих свободных желчных кислот на слизистую оболочку кишечника), сахарный диабет 2 типа (за счет ожирения и малоподвижного образа жизни), получение длительной андроген-депривационной терапии по поводу рака простаты и курение табака [9, 10]. В то же время установлено, что прием метформина (препарата для снижения уровня сахара в крови), ингибиторов ангиотензин превращающего фермента (используемых при лечении артериальной гипертонии), ряда нестероидных противовоспалительных препаратов, статинов (для снижения уровня холестерина в крови) и бифосфонатов (профилактика остеопорозов) может понижать риски появления или прогрессирования КРР [8, 10].

Риск развития КРР увеличивается с возрастом, особенно после 50 лет. Исследования показывают, что медианный возраст постановки диагноза КРР составляет 60 лет, с увеличением риска в отношении этой патологии у лиц в возрасте 65 лет и старше. Установлен тренд роста выявления новых случаев КРР за счет общего увеличения сроков продолжительности жизни людей и преобладания представителей «серебряного возраста» в структуре населения развивающихся и развитых стран мира. Одновременно наблюдается тревожный рост случаев КРР у людей моложе 50 лет, что специалисты обозначают как «ранний КРР»; эта тенденция прослеживается и в Российской Федерации [11, 12].

В современном мире более высокие уровни заболеваемости раком толстой и прямой кишки регистрируются в развитых в экономическом отношении странах (воздействие пищевых пристрастий к фастфуду в сочетании с малоподвижным образом жизни). В то же время в этих странах мира более развита и совершенна система оказания медицинской помощи онкологическим больным, что в течение последнего десятилетия сказалось на заметном снижении смертности от этой патологии. Эпидемиологические наблюдения последних десятилетий выявили 3 современных глобальных тренда в отношении динамики явлений, характеризующих заболевание ККР: а) рост заболеваемости и смертности (в странах Балтии, России, Испании, Китае и Бразилии); б) рост заболеваемости, но снижение смертности (в Канаде, Швейцарии, Швеции, Великобритании, Норвегии и Сингапуре; и в) снижение как заболеваемости, так и смертности (в США, Австралии, Японии, Франции и Израиле) [13]. Благоприятная ситуация со снижением смертности от КРР в более развитых странах отражает улучшение выживаемости за счет внедрения передовых методов профилактики, диагностики и лечения рака, а также практическая долгосрочная реализация Программ скрининга и раннего выявления онкопатологии, реализованных на практике в 1990-2000 гг. во Франции, США и Японии [14-15].

В Российской Федерации доля активного выявления КРР пока не достигает мировых показателей (16,7-21,1% - в России против 30% в отдельных странах Запада), что может быть связано как с организационными проблемами при маршрутизации пациентов, а так и с невысокой доступностью эндоскопических исследований вне крупных диагностических клинических центров [16].

При этом в странах Запада показано, что для эффективной и ранней диагностики этой локализации опухолей или предшествующих им патологических состояний важное значение имеет реализация программ внедрения в комплекс диагностических мероприятий фекального иммунохимического теста (ФИТ) и колоноскопии [17-20]. По своей сути ФИТ представляет собой лабораторное исследование, направленное на определение в кале обследуемого пациента скрытой крови; дело в том, что рост папиллом на слизистой оболочке кишечника зачастую сопровождается их травматизацией каловыми массами и различной степенью выраженности капиллярными кровотечениями. Лабораторное исследование с целью определения скрытой крови в кале может осуществляться в формате иммуноферментного исследования (ИФА) или, что более удобно и получило широкое распространение во многих странах, в виде экспресс иммунохроматографических (ИХ) тестов. Широкомасштабные программы профилактического обследования больших групп населения (при диспансеризации) и расширение скрининговых программ обуславливают целесообразность использования доступных, неинвазивных экспрессных методов скрининговых исследований, которые позволяют проводить такой анализ как в лаборатории, так и в домашних условиях (с целью самотестирования).

При этом, необходимо иметь в виду, что выявление скрытой крови (гемоглобина) в кале не является специфичным маркером для КРР и может иметь место при воспалительных заболеваниях желудочно-кишечного

тракта, а также при нарушении пациентом рекомендаций при подготовке к обследованию. В то же время ФИТ-тест обладает высоким прогностическим значением при патологиях нижних отделов ЖКТ; так, у 20-40% лиц с положительным результатом анализа на скрытую кровь обнаруживаются аденоматозные полипы, у 0,5-5% - КРР [21].

Основным методом лечения КРР остается хирургическое иссечение выявленного участка пораженного кишечника, а своевременное выявление аденом по результатам скрининга обеспечивает их удаление даже до начала процесса клеточной малигнизации.

**Цель исследования** - разработка нового иммунохроматографического экспресс набора реагентов для качественного определения гемоглобина в образцах кала обследуемого лица.

**Материалы и методы.** В качестве прототипа при разработке рабочего макета новой ИХ тест-полоски (стрипа) для определения гемоглобина была использована технология прямого (неконкурентного) иммунохроматографического анализа (сэндвич-формата) для определения в биологической пробе, полученной от человека, целевого аналита. Выбор технологии обусловлен тем обстоятельством, что гемоглобин представляет собою высокомолекулярное химическое соединение, имеющее несколько активных антигенных детерминант для связывания в процессе диагностического исследования со специфическими детектирующими его антителами [22-25].

В качестве иммуноактивных реагентов для сенсibilизации разрабатываемого ИХ стрипа применяли коммерческие продукты серийного производственного выпуска отечественных и зарубежных фирм, разрешенные к применению в Российской Федерации.

При проведении внутренних технических испытаний применяли опытно-производственные серии (с. 02-07) нового разработанного при выполнении настоящего исследования ИХ диагностического набора реагентов, а также ИХ набор реагентов сравнения «Набор реагентов для иммунохроматографического качественного выявления крови в кале «ИХА-ФОВ-ФАКТОР» (РУ № ФСР 2009/05132 от 27.05. 2014 г., производства ООО «ФАКТОР-МЕД», Москва, Россия) и референс набор реагентов для клинического анализа кала «Клиника-Кал. Определение скрытой крови» (РУ № ФСР 2010/09420 от 08.12.2010 г., производства ЗАО «ЭКОлаб», Электрогорск, Россия).

Технические испытания выполнены с клиническими образцами кала (n=200), представленными из диагностической лаборатории медицинского учреждения Диагностический центр «El'Clinic» АО «ЭКОлаб» (лицензия на осуществление медицинской деятельности № Л041-01162-50/00365571 от 8 апреля 2015 г.) и ГБУЗ МО Электрогорская городская больница (лицензия на осуществление медицинской деятельности № ЛО-50-01-006444 от 19.02.2015 г.) на основании заключенного с этими учреждениями договоров о безвозмездном научном сотрудничестве. Характеристика пациентов по установленному клиническому диагнозу или основанию для медицинского лабораторного обследования представлена в таблице 1.

В качестве стандартизованного контрольного препарата для оценки аналитической чувствительности ИХ исследования с новым разработанным набором и для создания панели стандартных образцов предприятия (СОП) использовали стандартизированный гемогло-

бин человека (фирмы «ClinChek, Recipe», Германия), который для практического использования из исходного состояния разводили в буферном растворе (0,05M

трис-буфер, pH-7,2 с 0,1% бычьего сывороточного альбумина и 0,1% азида натрия) до рабочей концентрации в интервале 700,0-0,01 мкг/мл.

Таблица 1.

Характеристика клинических образцов, использованных в исследовании

№ п/п	Клинический диагноз	Диагноз по МКБ	Количество образцов (n=)
1	Язва двенадцатиперстной кишки хроническая или неуточненная с кровотечением	K26.4	13
2	Воспалительные полипы	K51.4	13
3	Другие язвенные колиты	K51.8	7
4	Неинфекционный гастроэнтерит и колит неуточненный	K52.9	7
5	Другие изменения кала	R19.5	10
6	Общий медицинский осмотр пациента	Z00.0	65
7	Лабораторное обследование пациента	Z01.7	48
8	Скрининговое обследование для выявления других протозойных болезней и гельминтозов	Z11.6	37

**Результаты и их обсуждение.** В соответствии с производственным регламентом на начальном этапе работ была подготовлен СОП-257 «Стандартная панель образцов предприятия не содержащих и содержащих гемоглобин человека»; созданная панель СОП-257 включает в себя 5 образцов: №1 - не содержит гемоглобин человека; №2 - содержит гемоглобин человека в концентрации менее 50 нг/мл (30-40 нг/мл); №3 - содержит гемоглобин человека в концентрации 50 нг/мл, №4 - содержит гемоглобин человека в концентрации, превышающей 50 нг/мл (75-100 нг/мл) и №5 - содержит гемоглобин человека в высокой концентрации 750-1500 нг/мл.

Разработку нового ИХ набора реагентов осуществляли с соблюдением предписаний технологического регламента предприятия и использования практического опыта сотрудников по созданию новых наборов, основанных на технологии неконкурентного ИХА (сэндвич-формат). В сконструированных макетах ИХ тест-полосок (стрипов) несущая основа представлена плотной подложкой из поливинилхлорида с клеевым покрытием сверху, на которую в срединной части фиксировали иммуносорбент (нитроцеллюлозную микропористую мембрану с большой пропускной способ-

ностью, на которой в тестовой зоне в виде средней толщины линий иммобилизовали моноклональные антитела к гемоглобину человека, а в контрольной зоне - козьи антитела к иммуноглобулинам класса G мыши). С одной стороны от иммуносорбента с небольшим нахлестом на него сверху (для обеспечения более успешного контакта между капиллярами смежных мембран) закрепляли мембрану, обработанную специфически конъюгатами двух типов (конъюгатом наночастиц коллоидного золота с высоко специфичными моноклональными антителами к гемоглобину человека и с антивидовыми козьими антителами к иммуноглобулинам класса G мыши); следующей за мембраной конъюгатов наносили впитывающую мембрану для нанесения исследуемого образца. С другой стороны от иммуносорбента, также с небольшим нахлестом, на полилит наклеивали адсорбирующую мембрану для впитывания реакционного раствора и создания таким способом направленного в ее сторону капиллярного смачивания стрипа; потенциальная емкость этой мембраны позволяет удалять из тестовой и контрольной зон иммуносорбента растворимых веществ, которые не вступили в реакцию с иммуноактивными реагентами (рисунок 1).

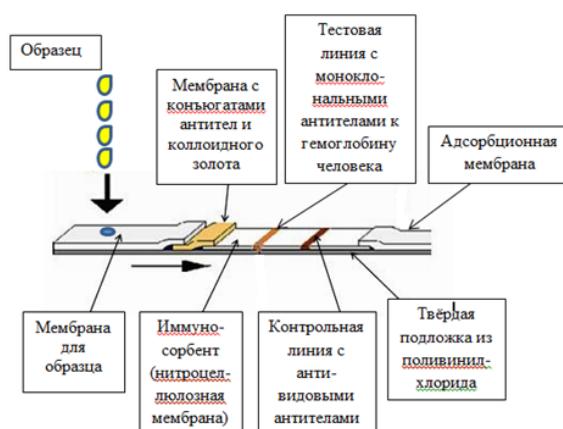


Рис. 1. Структура сконструированного иммунохроматографического стрипа для определения гемоглобина в образцах кала от больного

Подготовленное полотно композитной ИХ мембраны высушивали и нарезали в поперечном направлении на полоски (стрипы) шириной 4 мм. Для удобного использования в лабораторных условиях каждый стрип закрепляли неподвижно в неразборные пластиковые кассеты

(рисунок 2), на лицевой поверхности которых имеются окна (для нанесения испытуемого образца и регистрации результата исследования) и графическая разметка (S - Sample, для внесения образца, T - Test, линия результата исследования и C - Control, линия контроля).

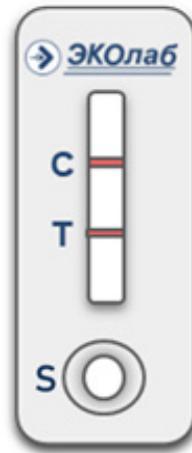


Рис. 2. Схема разметки иммунохроматографической кассеты

Принцип действия разработанной ИХ композитной мембраны не отличается принципиальной оригинальностью в сравнении с классическим принципом иммунохимических реакций: молекулы гемоглобина человека, содержащиеся в исследуемых пробах кала, взаимодействуют на мембране конъюгатов с моноклональными антителами, помеченными наночастицами коллоидного золота (НЧ-КЗ), и образуют мобильные иммунные комплексы «антиген - антитело конъюгата - НЧ-КЗ»; дрейфуя в потоке реакционной среды по мембране иммуносорбента они достигают тестовой зоны и дополнительно взаимодействуют (за счет свободных валентностей) с иммобилизованными моноклональными антителами и прекращают дальнейшее продвижение. Второй тип конъюгатов свободно дрейфует вдоль стрипа и достигает контрольной линии, где структурный компонент антивидовых козьих антител соединяются в иммунные комплексы с иммобилизованными иммуноглобулинами класса G мыши. В обоих случаях образование иммунных комплексов с иммобилизованными иммунными реагентами приводит к появлению окрашенных в розовый цвет полосок (за счет характерной окраски компонента НЧ-КЗ в составе конъюгатов). Появление окрашенной Т-линии - положительный результат определения гемоглобина человека в изучаемой пробе кала, ее отсутствие - отрицательный результат. Одновременно учитывается наличие окрашенной контрольной полоски; при ее формировании исследование считается проведенным правильно, а при отсутствии результата теста не учитывается и не интерпретируется, его необходимо провести заново.

Разработанный вариант ИХ пластиковой кассеты комплектуется пластиковым флаконом-капельницей со встроенным аппликатором для отбора пробы кала, содержащим 2 мл буферного раствора для разведения и подготовки образцов кала к исследованию, и инструкцией по применению изделия; разработанный макет медицинского изделия получил обозначение «ИХА-Скрытая кровь».

Для проведения технических испытаний по изучению показателей диагностической информативности нового набора «ИХА-Скрытая кровь» все полученные из медицинского учреждения клинические образцы кала были предварительно аттестованы по содержанию в них скрытой крови. Для этого они были исследованы с набором реагентов «Клиника-Кал. Определение скрытой крови», основанном на особенностях биохимического взаимодействия гемоглобина крови с химическим реагентом, содержащим бензидин, и 3% раствором перекиси водорода (в присутствии гемоглобина крови бензидин реагирует с перекисью водорода, и в течение первых двух минут образуются соединения, окрашенные в зеленый, сине-зеленый или синий цвет; необходимо учитывать, что интенсивность окраски образующегося соединения пропорциональна количеству крови в кале). По результатам аттестационного исследования 150 из 200 депонированных образцов кала были охарактеризованы как содержащие скрытую кровь (гемоглобин крови) и 50 образцов - как не содержащие этот анализ.

Протокол технических испытаний включал исследование клинических проб с 6 опытно-производственными сериями разработанного набора «ИХА-Скрытая кровь».

Для оценки показателя «время достижения устойчивых результатов» были использованы образцы СОП-257 № 3 и № 4 (содержащие определяемые концентрации гемоглобина человека) при исследованиях их в дублях постановок (таблица 2).

Полученные результаты демонстрировали некоторый разброс значений: с образцом № 3 - от 6 до 8 мин ( $M \pm m = 7,0 \pm 0,7$ ) и с образцом № 4 - от 5 до 8 мин ( $M \pm m = 6,3 \pm 0,98$ ), что полностью соответствовало времени наблюдения за результатом, рекомендованном в разработанной инструкции (от 5 до 15 минут), и статистически достоверно не превышало диапазон значений с набором реагентов сравнения ( $p=0,05$ ).

Исследование времени достижения устойчивых положительных результатов в ИХ исследовании

Исследуемые образцы	Время достижения устойчивого результата (мин) с наборами реагентов:						
	«ИХА-Скрытая кровь» (АО «ЭКОлаб»)						«ИХА-FOB-ФАКТОР»
	сер. 02	сер. 03	сер. 04	сер. 05	сер. 06	сер. 07	сер. 014
№3 из состава СОП-257	8 и 7	6 и 7	7 и 8	6 и 6	7 и 8	7 и 7	7 и 6
№4 из состава СОП-257	7 и 6	5 и 5	6 и 7	5 и 6	7 и 8	7 и 7	6 и 6

Проведено также изучение аналитической чувствительности (порога обнаружения гемоглобина) для нового набора реагентов и возможное проявление хук-эффекта (изменение чувствительности теста при высоких концентрациях исследуемого аналита). С этой целью были приготовлены модельные пробы (n=50), содержавшие стандартизированный гемоглобин человека (фирмы «ClinChek, Recipe», Германия) в концентрации 10-5000 нг\мл; половина проб получена на

основе буферного раствора для разведения образцов, а другая часть - путем искусственного привнесения гемоглобина в образцы кала человека. Тестирование модельных проб с разработанным ИХ набором позволило установить нижние границы порога обнаружения гемоглобина (рисунок 3); так достоверное определение гемоглобина отмечено при концентрации 45-50 нг\мл; проявление хук эффекта установлено не было при максимальном уровне гемоглобина 5000 нг\мл.

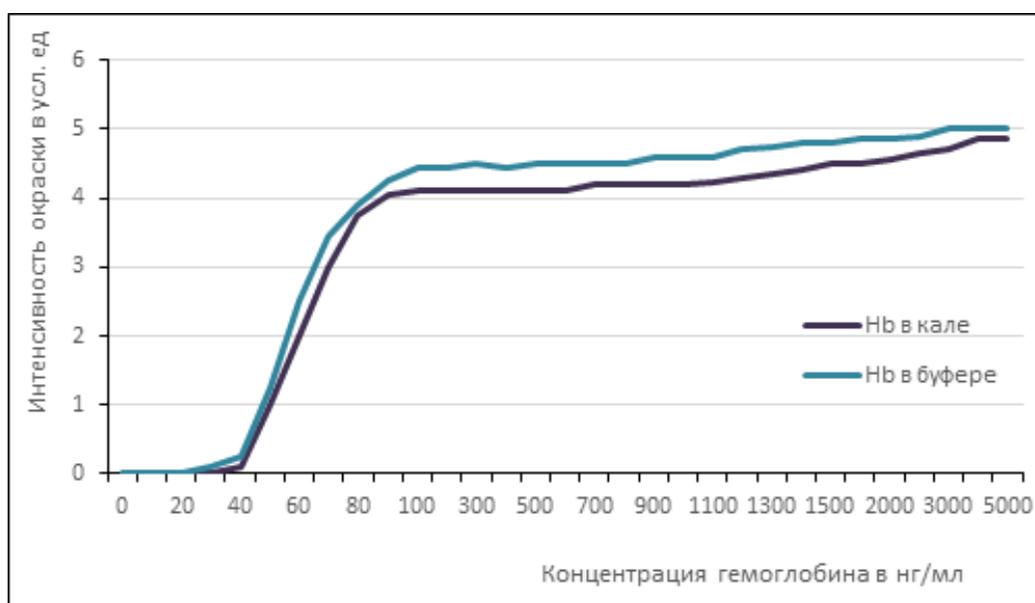


Рис. 3. Результаты определения гемоглобина (Hb) в модельных пробах (на базе буферного раствора или кала) с применением разработанного ИХ набора «ИХА-Скрытая кровь»

Сравнительные технические испытания с использованием всех образцов СОП-257 были выполнены с 6 опытно-экспериментальными сериями нового набора и набора реагентов сравнения (таблица 3).

Наблюдавшиеся результаты продемонстрировали абсолютное совпадение результатов (при использовании критерия дихотомического учета: «-» или «+») с новыми наборами 6 опытных серий и набором реагентов сравнения. Положительные результаты наблюдали начиная с образца № 3 СОП-257, характеризующегося содержанием гемоглобина человека в концентрации 50 нг\мл, что и было закреплено как аналитический уровень чувствительности нового набора; по этому показателю разработанный набор не отличался от свойств набора сравнения.

В рамках технических испытаний были проведены сравнительные испытания предварительно аттестован-

ных клинических образцов кала по содержанию в них скрытой крови (гемоглобина) (таблица 4).

Оценка полученных результатов позволила оценить клиническую чувствительность в 99,77% (898 положительных результатов при исследовании 900 образцов) и специфичности - 100% (300 отрицательных результатов с 300 образцами).

Изучена потенциальное интерферирующее влияние на результаты ИХ определения или получение перекрестных ложно положительных результатов определения скрытой крови в кале за счет возможного содержания в тестируемых образцах эндогенных или экзогенных факторов, таких как: аскорбиновая кислота, билирубин, триглицериды или гемоглобин животных, содержащийся в мясных продуктах питания. Для этих целей искусственным путем были подготовлены мо-

дельные образцы кала с дозированным содержанием изучаемых веществ (таблица 5).

Результаты исследования подтвердили специфиче-

ский характер разработанного теста и отсутствие интерференции и перекрестной реактивности со стороны веществ, содержащихся в кале обследуемых пациентов.

Таблица 3.

Результаты изучения аналитической чувствительности при определении гемоглобина человека набором реагентов «ИХА-Скрытая кровь»

Исследуемые образцы	Результат ИХ определения с наборами реагентов («+» или «-»)						
	«ИХА-Скрытая кровь»						«ИХА-ФОВ-ФАКТОР»
	сер. 02	сер. 03	сер. 04	сер. 05	сер. 06	сер. 07	серия 014
№1 из состава СОП-257	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»
№2 из состава СОП-257	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»	«-» / «-»
№3 из состава СОП-257	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»
№4 из состава СОП-257	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»
№5 из состава СОП-257	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»	«+» / «+»

Таблица 4.

Результаты сравнительного изучения аттестованных клинических образцов при определении гемоглобина человека ИХ методом

Исследуемые образцы	Количество (n=) результатов («+» или «-») в ИХ исследовании с наборами реагентов						
	«ИХА-Скрытая кровь»						«ИХА-ФОВ-ФАКТОР»
	сер. 02	сер. 03	сер. 04	сер. 05	сер. 06	сер. 07	серия 014
Содержавшие скрытую кровь (Hb крови), n=150	«-» = 1 «+» = 149	«-» = 0 «+» = 150	«-» = 0 «+» = 150	«-» = 1 «+» = 149	«-» = 0 «+» = 150	«-» = 0 «+» = 150	«-» = 0 «+» = 150
Не содержавшие скрытую кровь (Hb крови), n=50	«-» = 50 «+» = 0	«-» = 50 «+» = 0	«-» = 50 «+» = 0	«-» = 50 «+» = 0	«-» = 50 «+» = 0	«-» = 50 «+» = 0	«-» = 50 «+» = 0

Таблица 5.

Изучение потенциальной интерференции и ложных перекрестных реакций определения гемоглобина крови в ИХ исследованиях с набором «ИХА-Скрытая кровь»

Исследуемые образцы		Количество (n=) результатов («+» или «-») в ИХ исследовании с наборами реагентов					
Образец СОП-257	Внесенная добавка	сер. 02	сер. 03	сер. 04	сер. 05	сер. 06	сер. 07
		№1	аскорбиновая кислота (n=15)	«-» = 15 «+» = 0			
билирубин (n=15)	«-» = 15 «+» = 0		«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0
триглицериды (n=15)	«-» = 15 «+» = 0		«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0
гемоглобин животных (n=15)	«-» = 15 «+» = 0		«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0
№2	аскорбиновая кислота (n=15)	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0
	билирубин (n=15)	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0
	триглицериды (n=15)	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0	«-» = 15 «+» = 0

	гемоглобин живот- ных (n=15)	«-» = 15 «+» = 0					
№3	аскорбиновая кис- лота (n=15)	«-» = 0 «+» = 15					
	билирубин (n=15)	«-» = 0 «+» = 15					
	триглицериды (n=15)	«-» = 0 «+» = 15					
	гемоглобин живот- ных (n=15)	«-» = 0 «+» = 15					

**Заключение.** При выполнении плановых научно-исследовательских работ на предприятии АО «ЭКОлаб» (Электрогорск, Московской области) было разработано новое отечественное медицинское изделие Набор реагентов «Тест-система иммунохромато-графическая для выявления гемоглобина в образцах кала «ИХА-Скрытая кровь» (по ТУ 21.20.23-257-70423725-2018). Изделие предназначено для применения в учреждениях здравоохранения Российской Федерации при оказании медицинской диагностической помощи населению с целью ранней диагностики поражений желудочно-кишечного тракта и для самотестирования (РУ № РЗН 2019/9244).

Проведенные внутренние технические испытания позволили определить аналитический порог тестирования - 50 нг/гемоглобина человека в 1 мл пробы кала, и оценить диагностическую клиническую эффективность результатов: специфичность - 100% и чувствительность 99,77%.

ЛИТЕРАТУРА (п. 1 - 2, 4 - 10, 13 - 15, 17 - 18, 21 с м. REFERENCES)

- Осомбаев М.Ш., Джекшенов М.Д., Сатыбалдиев О.А., Абдрасулов К.Д., Макимбетов Э.К., Кузиков М.А. Эпидемиология колоректального рака. Научное обозрение. *Медицинские науки*. 2021; 1: 37-42. DOI: <https://doi.org/10.17513/srms.1169>
- Маметьева Ю.А., Завьялов Д.В., Камкина Г.В., Кашин С.В., Нестеров П.В. Колоректальный рак у лиц молодого возраста. Эпидемиологическая ситуация в Ярославской области. *Доказательная гастроэнтерология*. 2019; 8(4-5): 68-75.
- Зуков Р.А., Сербаява М.С., Сафонцев И.П., Забродская Т.Е., Горбунова Е.А., Карапетян А.М. Анализ заболеваемости колоректальным раком в Красноярском крае. *Эффективная фармакотерапия*. 2023; 19(33): 28-31.
- Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. [редакторы] Злокачественные новообразования в России в 2023 году (заболеваемость и смертность). Москва: МНИОИ им. П.А. Герцена - филиал ФГБУ «НМИЦ радиологии» Минздрава России, 2024.
- Клинические рекомендации: Злокачественное новообразование ободочной кишки – 2022-2023-2024 (12.12.2022). Утверждены Минздравом РФ. ID: 396. Пересмотр не позднее: 2024.
- Драпкина О.М., Каприн А.Д., Шельгин Ю.А., Ачкасов С.И., Дроздова Л.Ю., Шепель Р.Н. и др. Руководство по организации популяционного скрининга колоректального рака. *Методические рекомендации*. М.: ФГБУ «НМИЦ ТПМ» Минздрава РФ, 2025, 42 с. ISBN 978-5-6053845-6-4. DOI: 10.15829/ROPNIZ-d104-2025.
- Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н., Бынина М.П., Матосова Е.В. Упрощенные форматы современных биосенсоров: 60 лет использования иммунохроматографических тест-систем в лабораторной диагностике. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020; 65(10): 611-618 [Andryukov B.G., Lyapun I.N., Bynina M.P., Matosova E.V. Simplified formats of modern biosensors: 60 years of using immunochromatographic test systems in laboratory diagnostics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2020; 65(10): 611-618 (in Russ.)]. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2020-65-10-611-618>.
- Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Малышев В.В. и др. Разработка иммунохроматографического набора реагентов для выявления ротавирусов. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68(11): 672-679 [Akinshina Yu.A., Mardany S.G., Rotanov S.V., Malyshev V.V. et al. Development of an immunochromatographic reagent kit for the detection of rotaviruses. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68(11): 672-679 (in Russ.)]. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-11-672-679.
- Акиншина Ю.А., Марданлы С.Г., Ротанов С.В., Ханина М.А. Об иммунохроматографическом выявлении *Helicobacter pylori* у человека. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (2): 14-18 [Akinshina Yu.A., Mardany S.G., Rotanov S.V., Khanina M.A. On immunochromatographic detection of *Helicobacter pylori* in humans. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69(2): 14-18 (in Russ.)]. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-02-14-18.
- Акиншина Ю.А., Ротанов С.В., Попова Т.В. О лабораторном контроле устойчивости энтеробактерий человека к антибиотикам группы карбапенемов иммунохроматографическим методом. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (3): 161-169 [Akinshina Yu.A., Rotanov S.V., Popova T.V. On laboratory control of resistance of human enterobacteria to antibiotics of the carbapenem group by the immunochromatographic method. *Epidemiologiya i infektsionnye bolezni*. 2024; 29(3): 161-169 (in Russ.)]. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-3-161-169>.

- WHO. International Agency for Research on Cancer. Global Cancer Observatory. Cancer today. GLOBOCAN 2022. Cancer TODAY. IARC. Available on the website: <https://gco.iarc.who.int>. Data version: Globocan 2022 (version 1.1) 08.02.2024.
- Global Cancer Facts & Figures 5th Ed. Source: GLOBOCAN 2022. ([gco.iarc.fr/today](https://gco.iarc.fr/today)). Available on the website: <https://www.cancer.org/content/dam/cancer-org/research/cancer-facts-and-statistics/global-cancer-facts-and-figures/global-cancer-facts-and-figures-2024.pdf>
- Osombaev M.Sh., Dzhekshenov M.D., Satybaldiev O.A., Abdrasulov K.D., Makimbetov E.K., Kuzikeev M.A. Epidemiology of colorectal cancer. Scientific review. *Medical sciences*. 2021; 1: 37-42. DOI: <https://doi.org/10.17513/srms.1169>
- Jess T., Rungoe Chr., Peyrin-Biroulet L. Risk of Colorectal Cancer in Patients with Ulcerative Colitis: A Meta-analysis of Population-Based Cohort Studies. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2012; 10: 639-645. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2012.01.010>.
- Kim E., Coelho D., Blachier F. Review of the association between meat consumption and risk of colorectal cancer. *Nutrition Research*. 2013 (Dec); 33 (12): 983-994. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2013.07.018>. PMID: 24267037
- Zhao Zh., Feng Q., Yin Z., Shuang J., Bai B., Yu P. et al. Red and processed meat consumption and colorectal cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 2017; 8; 47): 83306-83314. DOI: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.20667>.
- Qudayr A.H., Kabel A.M., AbdElmaaboud M.A., Alghamdi W.Y., Alghorabi A.I.A. Colorectal Cancer: New Perspectives. *Journal of Cancer Research and Treatment*. 2018; 6(3):80-83. DOI: 10.12691/jcrt-6-3-4.
- Rawla P., Sunkara T., Barsouk A. Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Przegląd Gastroenterologiczny*. 2019; 14 (2): 89-103 DOI: <https://doi.org/10.5114/pg.2018.81072>.
- Zhang Y., Liu H., Li L., Ai M., Gong Z., He Y., et al. Cholecystectomy can increase the risk of colorectal cancer: A meta-analysis of 10

REFERENCES

- cohort studies. *PLoS One*. 2017; 12(8): e0181852. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181852>.
10. Gillessen S., Templeton A., Marra G., Kuo Y.-F., Valtorta E., Shahinian V.B. Risk of colorectal cancer in men on long-term androgen deprivation therapy for prostate cancer. *J. Nat. Cancer. Inst.* 2010; 102: 1760–70. DOI: 10.1093/jnci/djq419.
  11. Mametyeva Yu.A., Zavyalov D.V., Kamkina G.V., Kashin S.V., Nesterov P.V. Colorectal cancer in young people. Epidemiological situation in the Yaroslavl region. *Evidence-based gastroenterology*. 2019; 8(4–5): 68–75.
  12. Zukov R.A., Serbaeva M.S., Safontsev I.P., Zbrodskaya T.E., Gorbunova E.A., Karapetyan A.M. Analysis of colorectal cancer incidence in the Krasnoyarsk region. *Effective pharmacotherapy*. 2023; 19(33): 28–31.
  13. Song M., Garrett W.S., Chan A.T. Nutrients, foods, and colorectal cancer prevention. *Gastroenterology*. 2015; 148: 1244–60e1216. DOI: 10.1053/j.gastro.2014.12.035.
  14. Faivre J., Dancourt V., Lejeune C., Tazi M.A., Lamour J., Gerard D. et al. Reduction in colorectal cancer mortality by fecal occult blood screening in a French controlled study. *Gastroenterology*, 2004. 126: 1674–80.
  15. Lindholm E., Brevinge H., Haglind E. Survival benefit in a randomized clinical trial of fecal occult blood screening for colorectal cancer. *Br. J. Surg.* 2008; 95: 1029–36.
  16. Kaprin A.D., Starinsky V.V., Shakhzadova A.O. [editors] Malignant neoplasms in Russia in 2023 (morbidity and mortality). Moscow: P.A. Herzen Moscow Oncology Research Institute - branch of the National Medical Research Center of Radiology of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2024.
  17. Gini A., Jansen E.E.L., Zielonke N., Meester R.G.S., Senore C., Anttila A. et al. Impact of colorectal cancer screening on cancer-specific mortality in Europe: A systematic review. *Eur J Cancer*. 2020 (Mar); 127: 224–35.
  18. Tanaka K., Sobue T., Zha L., Kitamura T., Sawada N., Iwasaki M. et al. Effectiveness of Screening Using Fecal Occult Blood Testing and Colonoscopy on the Risk of Colorectal Cancer: The Japan Public Health Center-based Prospective Study. *J Epidemiol*. 2023(Feb 5); 33(2): JE20210057.
  19. Clinical guidelines: Malignant neoplasm of the colon – 2022-2023-2024 (12.12.2022). Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation. ID: 396. Revision no later than: 2024.
  20. Drapkina O.M., Kaprin A.D., Shelygin Yu.A., Achkasov S.I., Drozdova L.Yu., Shepel R.N. et al. Guidelines for organizing population-based screening for colorectal cancer. Methodological recommendations. Moscow: Federal State Budgetary Institution "NMITs TPM" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2025, 42 p. ISBN 978-5-6053845-6-4. DOI: 10.15829/ROPNIZ-d104-2025.
  21. Crotta S., Segnan N., Paganin S., Dagnes B., Rosset R., Senore C. High Rate of Advanced Adenoma Detection in 4 Rounds of Colorectal Cancer Screening with the Fecal Immunochemical Test. *Clin. Gastroenterol. and Hepatol.*, 2012; 10: 633-8.
  22. Andryukov B.G., Lyapun I.N., Bynina M.P., Matosova Ye.V. Uproshchonnnye formaty sovremennykh biosensov: 60 let ispol'zovaniya immunokhromatograficheskikh test-sistem v laboratornoy diagnostike. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2020; 65(10): 611-618 [Andryukov B.G., Lyapun I.N., Bynina M.P., Matosova E.V. Simplified formats of modern biosensors: 60 years of using immunochromatographic test systems in laboratory diagnostics. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2020; 65(10): 611-618 (in Russ.)].
  23. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Malyshev V.V. et al. Development of an immunochromatographic reagent kit for the detection of rotaviruses. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2023; 68(11): 672-679 (in Russ.)]. DOI: 10.51620/0869-2084-2023-68-11-672-679.
  24. Akinshina Yu.A., Mardanly S.G., Rotanov S.V., Khanina M.A. On immunochromatographic detection of *Helicobacter pylori* in humans. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2024; 69(4): 123-130 (in Russ.)]. DOI: 10.51620/0869-2084-2024-69-04-123-130.
  25. Akinshina Yu.A., Rotanov S.V., Popova T.V. On laboratory control of resistance of human enterobacteria to antibiotics of the carbapenem group by the immunochromatographic method. *Epidemiology and infectious diseases*. 2024; 29 (3): 161-169 (in Russ.)]. DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-1981-2024-29-3-161-169>.

## КЛИНИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Светашев И.А., Гудова Н.В., Мехтиев Э.Р., Пасивкина М.А., Затевалов А.М.

<https://elibrary.ru/zagsom>

### ПРИМЕНЕНИЕ ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ–МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В АНАЛИЗЕ ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ ВЕРХНИХ ДЫХАТЕЛЬНЫХ ПУТЕЙ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

ФБУН Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского, Роспотребнадзора» ул. Адмирала Макарова, д. 10, г. Москва, Россия

*В статье рассмотрены возможности использования газовой хроматографии–масс-спектрометрии (ГХ–МС) для анализа летучих органических соединений (ЛОС) в выдыхаемом воздухе с целью диагностики и мониторинга заболеваний верхних дыхательных путей (ВДП). Приведены принципы метода ГХ–МС и особенности его применения для дыхательной метаболической, включая пробоподготовку, сбор и концентрирование ЛОС. Рассмотрены перспективы раннего выявления вирусных и бактериальных инфекций (включая COVID-19 и стрептококковую ангину), а также возможности дифференциации этиологии ОРЗ и мониторинга хронических воспалительных процессов и микробиоты ВДП. Обсуждены сравнительные характеристики ГХ–МС с ионной мобильностью и электронными носами, а также ключевые факторы вариативности дыхательного метаболома и подходы к их контролю. Отмечается, что ГХ–МС остаётся референтным методом для выявления и валидации дыхательных биомаркеров, способствуя развитию неинвазивной диагностики и персонализированного подхода в лечении заболеваний ВДП.*

**Ключевые слова:** газовая хроматография–масс-спектрометрия; летучие органические соединения; выдыхаемый воздух; заболевания верхних дыхательных путей; дыхательная метаболическая; диагностика; биомаркеры; COVID-19; стрептококковая инфекция; мониторинг терапии

**Для цитирования:** Светашев И.А., Гудова Н.В., Мехтиев Э.Р., Пасивкина М.А., Затевалов А.М. Применение газовой хроматографии–масс-спектрометрии в анализе летучих органических соединений для диагностики заболеваний верхних дыхательных путей (обзор литературы). Биотехнология в медицине и фармации. 2025; 2(2): 69-87.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-69-87>

EDN: ZAGSOM

**Для корреспонденции:** Затевалов Александр Михайлович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г. Н. Габричевского. E-mail: [zatevalov@gabrich.ru](mailto:zatevalov@gabrich.ru).

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

**Финансирование.** Исследование выполнено в рамках государственного задания Роспотребнадзора.

Поступила 02.06.2025

Принята к печати 16.07.2025

Svetashev I.A., Gudova N.V., Mehtiev E.R., Pasivkina M.A., Zatevalov A.M.

### APPLICATION OF GAS CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY IN THE ANALYSIS OF VOLATILE ORGANIC COMPOUNDS FOR THE DIAGNOSIS OF UPPER RESPIRATORY TRACT DISEASES

G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology, Rospotrebnadzor st. Admiral Makarova, 10, Moscow, Russia

*The article considers the possibilities of using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) to analyze volatile organic compounds (VOCs) in exhaled air for the purpose of diagnostics and monitoring of upper respiratory tract diseases (URTD). The principles of GC-MS method and peculiarities of its application for respiratory metabolomics, including sample preparation, collection and concentration of VOCs are presented. The prospects of early detection of viral and bacterial infections (including COVID-19 and streptococcal sore throat), as well as the possibilities of differentiating the etiology of acute respiratory infections and monitoring chronic inflammatory processes and microbiota of the respiratory tract are considered. Comparative characteristics of GC-MS with ion mobility and electron nosodes are discussed, as well as key factors of respiratory metabolome variability and approaches to their control. It is noted that GC-MS remains a reference method for the detection and validation of respiratory biomarkers, contributing to the development of noninvasive diagnosis and personalized approach in the management of respiratory diseases.*

**Key words:** gas chromatography-mass spectrometry; volatile organic compounds; exhaled air; upper respiratory tract diseases; respiratory metabolomics; diagnosis; biomarkers; COVID-19; streptococcal infection; therapy monitoring

**For citation:** Svetashev I.A., Gudova N.V., Mekhtiev E.R., Pasivkina M.A., Zatevalov A.M. Application of gas chromatography–mass spectrometry in the analysis of volatile organic compounds for the diagnosis of upper respiratory tract diseases (literature review). Biotechnologiya v medicine i farmacii [Biotechnology in medicine and pharmacy] (in Rus.). 2025; 2(2): 69-87 (in Russ.)

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-69-87>

EDN: ZAGSOM

**For correspondence:** Zatevalov Alexander Mikhailovich, Doctor of Biological Sciences. Chief Researcher at G. N. Gabrichevsky research institute for epidemiology and microbiology. E-mail: zatevalov@gabrich.ru

**Information about authors:**

Zatevalov A.M. <https://orcid.org/0000-0002-1460-4361>  
Svetashev I.A. <https://orcid.org/0009-0002-9239-802X>  
Gudova N.V. <https://orcid.org/0000-0002-9579-1102>  
Mekhtiyev E.R. <https://orcid.org/0000-0002-9942-2662>  
Pasivkina M.A. <https://orcid.org/0000-0001-6223-1347>

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

**Acknowledgement.** The study was carried out within the framework of the state assignment of Rosпотребнадзор.

Received 02.06.2025

Accepted 16.07.2025

Диагностика заболеваний верхних дыхательных путей (ВДП) традиционно базируется на клинических симптомах, микробиологических анализах мазков и визуализирующих методах. Однако многие методы инвазивны, требуют времени или ограничены чувствительностью. В этой связи растёт интерес к неинвазивным диагностическим технологиям, таким как анализ выдыхаемого воздуха на летучие органические соединения (ЛОС) – низкомолекулярные метаболиты, выделяемые с дыханием. Выдыхаемый воздух содержит сотни ЛОС, профиль которых способен отражать метаболическое состояние организма и наличие патологии [1]. Преимущества подхода очевидны: сбор выдоха не травматичен, безопасен и может повторяться многократно, предоставляя неограниченный объём проб без дискомфорта для пациента [1]. Так, «дыхательные тесты» уже нашли применение в медицине: известный тест с 13С-мочевинной для диагностики *Helicobacter pylori* и измерение фракционного оксида азота (FeNO) для мониторинга астмы [1]. Эти примеры демонстрируют, что дыхательная диагностика может обеспечить раннее обнаружение заболеваний и мониторинг лечения без инвазивных процедур.

Особенно актуально использование выдыхаемого воздуха для инфекционных болезней верхних дыхательных путей – например, вирусных и бактериальных респираторных инфекций. Быстрая дифференциация возбудителя (вирус или бактерия) по дыханию пациента могла бы помочь избежать неоправданного назначения антибиотиков и своевременно изолировать заразных больных [2],[3]. Пандемия COVID-19 придала импульс исследованиям в этой области. Уже в 2022 г. Управление по контролю за продуктами и лекарствами США (FDA) чрезвычайно одобрило первый дыхательный тест на COVID-19, основанный на газовой хромато-масс-спектрометрии (ГХ–МС), с высокой точностью (чувствительность ~91%, специфичность ~99%) [4]. В Нидерландах была внедрена электронная «спиронос» (SpiroNose) для массового скрининга на коронавирус по выдоху: отрицательный результат такого теста позволял быстро исключить инфекцию. Эти достижения подчёркивают потенциал «дыхательных биомаркеров» для ранней диагностики заболеваний ВДП и мотивируют дальнейшие исследования.

Тем не менее, переход дыхательного анализа из лаборатории в клинику идёт медленно. Несмотря на сотни публикуемых работ по поиску «дыхательных» биомаркеров, до практического внедрения доведены лишь считанные тесты [1]. Проблемы стандартизации, высо-

кая вариабельность ЛОС у разных людей и неясность связи конкретных летучих маркеров с определёнными болезнями пока сдерживают широкое применение [1],[3]. Особенно сложна ситуация с заболеваниями ВДП, где на состав выдоха влияют как системные метаболические процессы хозяина, так и обменные продукты микрофлоры дыхательных путей [3]. Тем не менее, в последние годы продемонстрированы убедительные примеры того, как профиль ЛОС в выдохе позволяет обнаруживать и дифференцировать инфекции дыхательных путей – включая грипп, COVID-19, туберкулёз, стрептококковые инфекции – а также отслеживать хронические воспалительные процессы [2],[5].

Газовая хроматография–масс-спектрометрия (ГХ–МС) на сегодняшний день считается «золотым стандартом» в анализе ЛОС выдыхаемого воздуха [1],[6]. Данный обзор фокусируется на использовании ГХ–МС для метаболомики ЛОС – комплексного анализа летучих метаболитов – с целью диагностики заболеваний ВДП. Мы рассмотрим принципы метода и его пригодность для «дыхательной» диагностики, современные подходы к пробоподготовке дыхательных проб, ключевые области применения (от раннего выявления инфекций до мониторинга терапии), факторы, влияющие на дыхательный метаболом, сравнение ГХ–МС с альтернативными технологиями (ионная мобильность, электронные носы), текущий статус клинического внедрения и перспективы развития. Обзор основан на данных последних исследований и включает ~70 источников из рецензируемой литературы.

### Принципы метода ГХ–МС и применимость для ЛОС-метаболомики

Газовая хроматография–масс-спектрометрия представляет собой комбинацию двух аналитических техник: газовой хроматографии для разделения смеси летучих соединений и масс-спектрометрии для идентификации и количественного определения этих соединений по их масс-спектральным «отпечаткам». Применительно к анализу выдыхаемого воздуха, ГХ–МС даёт возможность одновременно детектировать десятки и сотни ЛОС различной природы – альдегиды, кетоны, спирты, углеводороды, эфиры и др. [1]. Благодаря высокой чувствительности (пределы обнаружения – от ppb до ppt, в зависимости от вещества и условий анализа) и спектральной специфичности, ГХ–МС позволяет обнаруживать даже следовые концентрации маркерных веществ в выдохе и узнавать их структуру по библиотекам масс-спектров [1],[6]. Именно способность идентифицировать неизвестные ранее метаболиты делает ГХ–МС

основным инструментом непредвзятого поиска биомаркеров (untargeted analysis) в дыхательной метаболомике.

В типичной реализации метод включает сбор определённого объёма выдоха пациента, выделение/концентрацию содержащихся в нём ЛОС и введение сконцентрированной пробы в газовый хроматограф. В капиллярной колонке ГХ соединения разделяются во времени по полярности и летучести; затем последовательно поступают в масс-спектрометр, где ионизируются (например, электроударной ионизацией) и фрагментируются. Регистрируется масс-спектр – характерный набор масс ионов – по которому вещество опознаётся либо сравнением со спектральной библиотекой, либо по точной массе (в случае высоко разрешающего MS) [1]. В результате за один анализ (обычно 20–60 минут) можно получить хроматограмму дыхания с пиками десятков ЛОС и спектральными идентификациями для каждого пика [1]. Такой формат данных удобно использовать для метаболомных сравнений – например, выявления, какие вещества отличаются между больными и здоровыми, или до и после лечения.

ГХ–МС успешно применялась в исследованиях при самых разных патологиях дыхательных путей – от астмы и хронической обструктивной болезни лёгких до пневмоний, туберкулёза и рака лёгкого [1],[2]. В частности, для инфекций дыхательных путей анализ выдоха на ГХ–МС позволил обнаружить ряд специфических микробных метаболитов (например, продуцируемых бактериями летучих кислот, аминов, сернистых соединений), а также индикаторов иммунного ответа хозяина (альдегиды и алканы при оксидативном стрессе воспаления) [1],[2]. Такой двойной характер информации – отражающей и патоген, и реакцию организма – делает дыхательную метаболомику ценной для дифференциальной диагностики. Например, с помощью ГХ–МС удалось по профилю выдоха различать вирусные и бактериальные респираторные инфекции [3], а также обнаруживать уникальные метаболиты, характерные для конкретных возбудителей (например, *Streptococcus pyogenes* или *Mycobacterium tuberculosis*) [6].

Конечно, метод ГХ–МС требует выполнения нескольких этапов *пробоподготовки* и участия квалифицированного персонала, что несколько осложняет его применение на месте лечения (point-of-care) [1]. Обычно сбор и концентрирование проб выдоха происходит офлайн с последующим анализом в лаборатории. Несмотря на это, ценность ГХ–МС как исследовательского инструмента для дыхательных биомаркеров чрезвычайно высока [1]. В силу высокой точности и достоверности данных ГХ–МС остаётся референтным методом для валидации результатов, полученных более простыми сенсорными технологиями (такими как электронные носы или ИМС) [1]. В совокупности, ГХ–МС составляет основу современной ЛОС-метаболомики дыхания и является ключевым звеном на пути перевода дыхательных тестов из эксперимента в клинику.

#### **Пробоподготовка дыхательных проб для ГХ–МС**

Анализ ЛОС в выдохе осложнён тем, что их концентрации крайне низки (обычно от нг/л до пг/л, т.е. ppt–pppt) на фоне значительного содержания воды и CO<sub>2</sub> [1]. Поэтому необходим этап *концентрации* целевых соединений перед ГХ–МС. Существуют различные подходы к сбору и обогащению летучих метаболитов из дыхания, и

выбор метода существенно влияет на обнаруживаемый профиль ЛОС [3]. В данном разделе рассмотрены основные варианты пробоподготовки: сорбционные трубки с термодесорбцией, твёрдофазная микроэкстракция, игольчатые ловушки, химическая дериватизация и различные типы дыхательных проб (альвеолярный воздух, общий экспирационный воздух, анализ мазков).

Сбор дыхания на сорбционные трубки и термодесорбция. Наиболее распространённым методом является отбор выдоха в трубку, заполненную сорбентом, с последующей термодесорбцией захваченных ЛОС прямо в газовый хроматограф. В качестве сорбентов применяются пористые полимеры (Tenax TA, Tenax GR и др.), графитизированный углерод (Carbograph, Carborack) или молекулярные сита из углерода (Carboxen) [1]. Выбор сорбента определяется диапазоном летучести искомого соединения: например, Tenax TA эффективно удерживает вещества с диапазоном C<sub>6</sub>–C<sub>30</sub> и практически не адсорбирует воду, благодаря чему широко используется для непрямого анализа выдоха. Для расширения диапазона иногда применяют многослойные адсорбенты (несколько сорбентов в одной трубке), покрывающие широкий спектр ЛОС от лёгких до тяжёлых [1]. Однако multi-bed трубки могут снижать воспроизводимость из-за различных сил связывания веществ на слоях. Часто компромиссным решением является сочетание двух сорбентов – например, Carbograph 1TD + Carborack X или Tenax TA + Carboxen, позволяющих улавливать как лёгкие (C<sub>3</sub>–C<sub>6</sub>), так и тяжёлые (C<sub>7</sub>–C<sub>{30}</sub>) ЛОС. В любом случае, захваченные в пробоотборнике компоненты затем быстро нагреваются (обычно до 200–300 °C) и переносятся потоком газа-носителя в колонку ГХ – этот процесс называется термодесорбцией. Преимущество сорбционных трубок – возможность собрать значительный объём дыхания (литры) и тем самым сконцентрировать даже следовые компоненты для обнаружения ГХ–МС [3]. Метод хорошо стандартизирован и подходит для хранения проб (трубки могут храниться герметично в холоде до анализа) [1]. Ограничения связаны с потенциальной потерей летучих фракций (очень лёгкие газы могут проскочить сорбент) и требованием специального оборудования для термодесорбции.

Для иллюстрации, в исследованиях по диагностике вентилятор-ассоциированной пневмонии выдох интубированных пациентов пропускали через двухслойную трубку Carbograph/Carborack, после чего проводили ГХ–МС анализ методом time-of-flight. Это позволило одновременно зарегистрировать >1000 различных пиков ЛОС и статистически выделить 12 соединений, отличающих пациентов с пневмонией от контрольных [3]. Другое исследование применило трубки с Tenax TA для сбора выдоха у детей, и выявило воспроизводимые различия по 6 ключевым веществам между здоровыми и инфицированными COVID-19 [1]. Эти примеры подтверждают, что сорбционные методы обеспечивают достаточную чувствительность ГХ–МС для дыхательного анализа даже при очень низких концентрациях маркеров.

Твёрдофазная микроэкстракция (SPME). Альтернативный подход – использование небольшого сорбционного волокна для извлечения летучих соединений. Метод твёрдофазной микроэкстракции не требует насосов и ёмкостей: тонкое кремнезёмное волокно с сорбционным

покрытием (например, полидиметилсилоксан – PDMS, или дивинилбензол/Carboxen/PDMS – комбинированное покрытие для широкополярных анализов) помещается в поток выдыхаемого воздуха на заданное время [1]. За счёт равновесной адсорбции молекул на поверхность волокна происходит концентрирование ЛОС. Далее волокно вводится напрямую в нагретый инжектор газового хроматографа, где адсорбированные вещества десорбируются и

переносятся в колонку. SPME впервые была применена для анализа дыхания в 1997 году Гроте и Павлишины, продемонстрировавшими возможность идентифицировать ацетон, бензол и другие ЛОС в выдохе с помощью этого подхода [1]. С тех пор SPME широко используется в дыхательных исследованиях – например, для ловли высоколетучих растворителей или растворенных газов, которые могут теряться на пористых сорбентах.

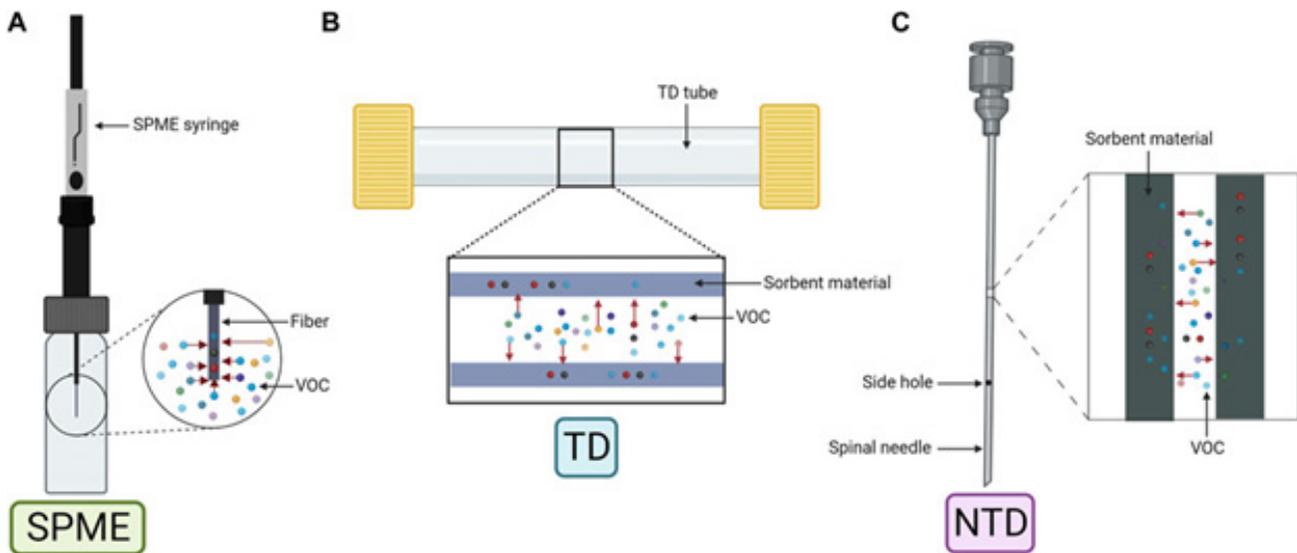


Рис. 1. Основные методы сбора и концентрирования летучих соединений из выдыхаемого воздуха перед ГХ–МС [1]. (А) Твёрдофазная микроэкстракция (SPME): волокно, покрытое адсорбентом, экспонируется в потоке выдоха, затем вводится в инжектор ГХ для термодесорбции. (В) Трубка с сорбентом (TD): через трубку прокачивается определённый объём дыхания, ЛОС улавливаются на сорбенте, затем трубка нагревается в приборе термодесорбции, и высвобожденные вещества поступают в ГХ–МС. (С) Игольчатый ловушечный экстрактор (NTD): сочетает принципы SPME и сорбционной трубки – полая игла, заполненная сорбционным материалом, которой можно отбирать пробу шприцевым способом; нагрев иглы высвобождает аналиты в колонку ГХ.

Преимущества SPME: простота и быстрота отбора проб, отсутствие дополнительного оборудования (волокно вставляется в носоглотку или маску), небольшие требования к объёму пробы [1]. SPME особенно полезна для экспресс-скрининга – время экспозиции волокна может составлять минуты. Однако у метода есть ограничения по ёмкости сорбции: волокно площадью несколько мм<sup>2</sup> не удержит больших масс аналитов, поэтому чувствительность может уступать трубкам при анализе ультраследовых компонентов. Кроме того, разные типы покрытий имеют свой «оптимальный» диапазон молекулярных масс захватываемых ЛОС (например, PDMS эффективна для гидрофобных низкополярных веществ массой 80–300 а.е.м.) [1]. Выбор волокна влияет на выявляемый метаболит: в недавнем исследовании сравнили три вида покрытий и установили, что комбинированное DVB/Carboxen/PDMS извлекает больше всего различных ЛОС из дыхания. SPME часто применяют для анализа локальных проб – напр., летучих соединений, выделяемых мазками или культурами возбудителей.

Игольчатые ловушки (NTD) и другие методы концентрирования. Развитием идей SPME является needle trap device (NTD) – сорбционная ловушка в форме полой иглы шприца, заполненной адсорбентом [1]. Через такую иглу можно с помощью шприца медленно протянуть заданный объём воздуха (например, 100 мл выдоха); молекулы ЛОС оседают на гранулы сорбента внутри

иглы. Затем та же игла вставляется в порт инжектора ГХ–МС и нагревается, осуществляя термодесорбцию непосредственно в колонку (подобно трубке). Преимущества NTD – малая диффузионная потеря (замкнутая система), возможность проталкивать пробу принудительно и сочетание больших объёмов с компактностью волокна. NTD менее распространены, но показывают хорошую эффективность для разнообразных ЛОС. Другие методы концентрирования включают криогенное улавливание (заморозка выдыхаемого воздуха в криоловушке при –70...–196 °С с последующим быстрым нагревом) – крайне эффективный способ, но требующий сложной техники. Также существуют методы *химического связывания* определённых классов соединений: например, пропускание дыхания через картридж с химическим реагентом, который избирательно реагирует с целевыми ЛОС, образуя стабильные производные. Это относится к разделу дериватизации и рассматривается ниже.

Дериватизация летучих метаболитов. Некоторые диагностически важные соединения в дыхании могут присутствовать в химически активной форме или в концентрациях ниже порога обнаружения ГХ–МС. Дериватизация – это целенаправленная химическая модификация аналитов для повышения их стабильности, летучести или отклика в масс-спектрометре. В практике дыхательного анализа чаще всего дериватизируют карбонильные соединения (альдегиды, кетоны),

связанные, например, с окислительным стрессом и воспалением. Типичный подход – пропускание воздуха через сорбент, пропитанный реагентом О-(2,3,4,5,6-пентафторобензил)-гидроксиламин (PFBHA) или 2,4-динитрофенилгидразином (DNPH), которые селективно реагируют с карбонильными группами, образуя стабильные оксимы или гидразоны [7],[8]. Полученные производные гораздо лучше удерживаются на сорбенте и легче обнаруживаются ГХ–МС благодаря увеличенной молекулярной массе и характерным спектрам [9]. Например, Ломонако и соавт. разработали метод он-сорбентной дериватизации альдегидов выдоха с PFBHA и последующей термодесорбции/ГХ–МС–МС, что позволило достичь пределов обнаружения <200 ppt для альдегидов С<sub>2</sub>–С<sub>9</sub> [8]. Авторы успешно применили этот метод для количественного определения ~30 карбонильных метаболитов в дыхании пациентов и показали воспроизводимость ~10% [8]. В другом исследовании дериватизация использована для повышения чувствительности к ацетону: ввод внутреннего стандарта <sup>2</sup>H<sub>6</sub>-ацетона и последующая реакция позволили надёжно измерять даже небольшие изменения ацетона в выдохе после физ. нагрузки [8]. Таким образом, дериватизация расширяет аналитические возможности ГХ–МС в случаях, когда летучие маркеры слишком реакционноспособны или малоцентрированы. Отметим, что дериватизация усложняет пробоподготовку и обычно применяется в специализированных исследованиях (например, для маркеров оксидативного повреждения липидов – альдегидов малонового диальдегида, 4-гидрокси-ноненаля и др.).

Типы дыхательных проб: смешанный воздух vs. альвеолярный воздух vs. мазки. При отборе проб выдыхаемого воздуха важно понимать, какая часть респираторного тракта формирует обнаруживаемые ЛОС. Традиционно выделяют: «мёртвое пространство» (воздух, заполняющий рот, нос и трахею – не участвующий в газообмене), бронхиальный воздух и альвеолярный воздух (глубокий выдох из лёгочных альвеол) [1]. Смешанный выдох содержит все эти фракции. Для ряда применений, особенно метаболических (например, кетоны, продукты обмена из крови), предпочтителен альвеолярный воздух – он отражает состав крови и метаболизм тканей. Его отбирают либо при помощи методов с контролем уровня СО<sub>2</sub> (специальные клапаны, открывающиеся в конце выдоха), либо предложенным Филлипсом «мешком Хальдэйна–Пристли», собирающим только последнюю порцию выдоха. С другой стороны, при исследованиях инфекций верхних дыхательных путей (носоглотки) может быть информативен и ранний выдох, содержащий ЛОС, вырабатываемые микрофлорой носа и горла. Например, летучие метаболиты бактерий, обитающих в околоносовых пазухах, попадают в общий выдох уже при начале выдыхания [10]. Поэтому для диагностики синуситов часто анализируют именно смешанный выдох, либо даже берут пробы не самого дыхания, а воздуха, отмываемого из полости носа. Существуют методики сбора носового воздуха через катетер и анализа его ЛОС-профиля отдельно от ротового выдоха.

Особое направление – анализ летучих продуктов, выделяемых биологическими образцами верхних дыхательных путей: мазками со слизистой, мокротой, куль-

турой микроорганизмов. В этом случае объектом исследования выступает не сам выдох, а летучие метаболиты патогенов или поражённых тканей. Пример – работа Preti и соавт., где исследовали летучие соединения, характерные для синусных бактерий *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, сначала на культурах, а затем в образцах гнойного содержимого пазух у пациентов [10]. Методом HS-SPME–ГХ–МС они обнаружили, что у *S. aureus* специфичны летучие маркеры: диметилсульфид, изовалериановая кислота, 2-метил-2-бутаналь и аммиак; а у *E. coli* – индол, октанол и этанол [10]. Часть этих веществ присутствовала и в реальных образцах инфицированной слизистой, что позволило авторам предложить их в качестве *неинвазивных биомаркеров* инфекции синусов [10]. Подобным образом, мазок из горла при ангине можно поместить в закрытый флакон и проанализировать его газовую фазу (headspace) ГХ–МС либо портативным сенсором – так пытаются диагностировать *Streptococcus pyogenes* без посева. Современные работы показывают, что по профилю ЛОС, выделяемых патогенами *in vitro*, можно уверенно отличить, например, *S. pyogenes* от других стрептококков [11]. В частности, Berna и др. идентифицировали 27 летучих метаболитов, уникальных для *S. pyogenes*, что закладывает основу для разработки быстрых «нюхательных» тестов на стрептококковую ангину [11].

Резюмируя, пробоподготовка играет ключевую роль в успехе дыхательного анализа. Тщательно подобранные методы сбора (альвеолярный vs. общий воздух), концентрирования (сорбенты, SPME, NTD) и, при необходимости, дериватизации, позволяют обеспечить надёжное обнаружение нужных ЛОС. В современных исследованиях применяют комбинации методов: например, для поиска новых маркеров может одновременно использоваться SPME для захвата легколетучих фракций и трубки Tenax для тяжелых компонентов [1]. Стандартизация этих процессов – важная задача, над которой работают эксперты, чтобы данные разных лабораторий стали сопоставимы [1]. Уже появляются рекомендации по оптимальным сорбентам, объёмам дыхания, условиям хранения проб и т.д. [3]. Правильно поставленная пробоподготовка обеспечивает воспроизводимость результатов ГХ–МС и приближает внедрение дыхательных тестов в клинику.

### **Ранняя диагностика инфекций (COVID-19, стрептококк и др.) по выдоху**

Одной из самых показательных областей является обнаружение дыхательных инфекций на ранних стадиях – зачастую ещё до развития развёрнутой клиники. Ещё классики медицины отмечали специфический запах дыхания при дифтерии, скарлатине, гриппе. Современные технологии позволяют расшифровать эти «запахи» в терминах конкретных ЛОС и использовать их как биомаркеры инфекции [2],[3].

COVID-19: Пандемия стимулировала множество исследований «выдоха» при коронавирусной инфекции. Выявлено несколько характерных летучих метаболитов, повышенных у больных COVID-19. Так, в ряде работ сообщалось об увеличенной концентрации *изопропанола*, *ацетона* и *уксусного альдегида* в выдохе инфицированных по сравнению со здоровыми [4],[12]. Предполагается, что эти вещества отражают усиленное окисление жирных кислот и воспалительный стресс

при вирусной инфекции [1],[4]. ГХ–МС анализ выдоха 98 пациентов с подозрением на COVID-19 позволил с точностью ~80% отличить заболевших: наиболее значимыми признаками оказались повышенные уровни бутанона (метилэтилкетона) и пентанала [4]. Другие исследователи отметили, что соотношение 2-бутанона к ацетону снижается у больных COVID-19, что может служить маркером – двухфакторная модель на этих соединениях дала чувствительность ~96% и специфичность ~100% в диагностике COVID-19 [7]. Важная особенность – профиль ЛОС меняется с временем болезни и штаммом вируса. Так, в 2022 г. было показано, что картина ЛОС при заражении вариантом Дельта отличается от таковой при Омикрон-штамме, и алгоритмы, обученные на одном варианте, теряют точность на другом [4]. Это подчёркивает необходимость обновления моделей под новые патогены либо выявления более универсальных «хозяин-зависимых» маркеров инфекции. Несмотря на эти сложности, дыхательные тесты на COVID-19 быстро продвинулись к практике: помимо уже упомянутого устройства InspectIR (ГХ–МС с ИМС детектором) [4], в ряде стран в 2020–21 гг. испытывались и электронные носы. Например, в Нидерландах SpiroNose по выдоху пациентов отличала COVID-19 с высокой отрицательной прогностической ценностью – негативный результат практически исключал болезнь. Хотя положительные эбонз-результаты требовали подтверждения ПЦР, такая скрининговая методика позволила существенно разгрузить лаборатории. Таким образом, ГХ–МС и связанные технологии доказали свою эффективность для раннего неинвазивного выявления COVID-19. В перспективе комбинированные панели ЛОС могут дифференцировать не только наличие вируса, но и тяжесть течения или прогноз выздоровления.

*Streptococcus pyogenes* (стрептококковый тонзиллит): Диагностика бактериального тонзиллита (ангина) обычно требует мазка из горла и экспресс-теста на антиген или посева, что неудобно для пациента, особенно ребёнка. Поэтому большой интерес представляет возможность «понюхать» ангину. Недавно в журнале *mSphere* (2023) опубликовано исследование, где сравнили летучие профили патогенных стрептококков (в т.ч. *S. pyogenes*) с другими видами и обнаружили уникальный набор маркерных ЛОС [11]. Среди 27 идентифицированных ЛОС – различные эфиры, альдегиды и сернистые соединения, характерные именно для *S. pyogenes*. Авторы отметили, что эти вещества могут формировать своеобразный «запах», специфичный для возбудителя скарлатины [11]. Ранее *in vitro* также показывали, что *S. pyogenes* при росте выделяет повышенные количества ацетальдегида и пропаналя, а вирус гриппа – например, из инфицированных клеток – вызывает всплеск *n*-пропилацетата. Таким образом, стрептококковая инфекция ВДП имеет отличимый дыхательный отпечаток. Практические испытания на пациентах пока ограничены. Однако концептуально возможен дыхательный тест на стрептококк: пациент выдыхает в портативный прибор, тот анализирует наличие специфических комбинаций ЛОС и мгновенно выдаёт результат – похожий по идее на алкотестер, но распознающий ангину. Пока подобные устройства в стадии разработки, но результаты фундаментальных исследований с ГХ–МС внушают оптимизм: неинва-

зивная диагностика бактериального фарингита через выдох, вероятно, станет реальностью в ближайшем будущем [2].

Другие инфекции верхних дыхательных путей: К болезням верхних дыхательных путей относят и вирусные ринофарингиты, грипп, аденовирусные инфекции. Для них тоже изучаются дыхательные маркеры. В эксперименте на клеточных культурах человеческого эпителия показано, что моно-инфекция гриппом А вызывает появление в среде *n*-пропилацетата (летучий эфир), тогда как бактериальное заражение *S. pyogenes* – рост альдегидов [2]. При совместной вирусно-бактериальной инфекции наблюдается комбинация ЛОС от обоих патогенов [2]. Это принципиально важно: коинфекции могут давать сложный профиль. Тем не менее, раннее обнаружение гриппа по выдоху человека было продемонстрировано: за 1–2 дня до появления симптомов у инфицированных добровольцев в выдохе повышались изопрен, октан и некоторые другие углеводороды [3]. Для РС-вируса (респираторно-синцитиального) и риновируса также выявлены характерные изменения дыхательного метаболома у детей – например, повышение летучих органических кислот и снижения некоторых терпенов [3].

Отдельно стоит упомянуть туберкулёз (хотя это скорее нижние дыхательные пути, но диагностический подход общих принципов). Туберкулёз – грозная бактериальная инфекция, требующая раннего выявления. Многие группы пытались найти «дыхательные маркеры» туберкулёза. С помощью ГХ–МС обнаружено несколько соединений, присутствующих в выдохе только у больных активным ТБ и отсутствующих у здоровых [5]. В 2025 г. Mpolokang et al. сообщили об открытии нескольких новых ЛОС, характерных для туберкулёза, и даже обнаружили различия в выдохе между чувствительным и мультирезистентным туберкулёзом [5]. Это указывает на будущую возможность неинвазивно определять лекарственную устойчивость возбудителя по «химическому выдоху» пациента. Хотя это относится к нижним дыхательным путям, сама методология релевантна для ВДП-инфекций: в выдохе содержатся как маркеры системного воспаления, так и прямые метаболиты микробов, что вместе даёт комплексную картину инфекции [3].

Таким образом, ГХ–МС находит применение для ранней и быстрой диагностики инфекций верхних дыхательных путей. В случаях COVID-19 и, потенциально, гриппа – это шанс выделить инфицированных до результатов ПЦР. В случаях бактериальной ангины – возможность мгновенно решить вопрос об антибиотиках. Хотя технология ещё в стадии клинических испытаний, достижения последних лет демонстрируют её реализуемость. Главное преимущество – полная неинвазивность: диагноз по выдоху особенно привлекателен в педиатрии и для массового скрининга.

#### Дифференциация бактериальной и вирусной этиологии

Острая респираторная инфекция (ОРЗ) – один из самых распространённых поводов обращения, и один из сложных с точки зрения рациональной терапии. Симптомы вирусной и бактериальной инфекции верхних дыхательных путей (например, вирусного бронхита и бактериальной пневмонии, или гриппа и бактериальной ангины) могут перекрываться, а применение антибиотиков при вирусах неэффективно и ведёт к росту

антибиотикорезистентности. Поэтому клиницисты остро нуждаются в быстром методе отличить вирус от бактерии. Исследования показывают, что дыхательный анализ ЛОС может стать таким методом, фиксируя разницу в метаболических паттернах воспаления [2],[3].

Вирусные инфекции обычно вызывают сильный оксидативный стресс и иммунный ответ, что приводит к выбросу липидных пероксидов и их разложению с образованием альдегидов и алканов (напр., повышения в выдохе гексаналя, октана и др.) [1]. Бактериальные инфекции, помимо воспаления, характеризуются присутствием микробных метаболитов – например, летучих жирных кислот, сероводорода, аминов (запах гниения) и др., выделяемых бактериями [2],[10]. ГХ–МС позволяет одновременно регистрировать и те, и другие типы ЛОС. Сравнительные работы на моделях показали чёткую разницу: например, при *чисто бактериальном заражении* дыхательные культуры демонстрировали рост ацетальдегида и пропаналя (как продуктов брожения), а при *чисто вирусном* – появление н-пропилацетата (возможно, из повреждённых клеток) [2]. При *смешанной инфекции* наблюдались и те, и другие изменения [2], но их временная динамика различна. В экспериментах на животных (свиньи, инфицированные гриппом, с последующей суперинфекцией бактериями) отмечено, что сначала профиль ЛОС соответствует вирусной инфекции, а при добавлении бактерии он «смещается» в сторону бактериальных метаболитов [2].

Клинические данные также свидетельствуют о возможности дифференциации. В небольшом исследовании 2021 г. (Kamal et al., *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*) анализировали выдох пациентов с простудой, вызванной либо риновирусом, либо бактериями, и нашли, что паттерн 10 ЛОС позволяет различить эти случаи с точностью ~80% [3]. В другом мета-анализе (He et al., 2024) обобщены данные 14 работ по VOC при пневмонии: сообщается, что суммарная чувствительность дыхательного анализа для выявления пневмонии ~94%, а специфичность ~83% [3]. Эти высокие показатели подразумевают, что профили ЛОС при пневмонии отличимы от профилей при вирусных бронхитах или других невоспалительных состояниях лёгких. Некоторые конкретные маркеры, обсуждаемые в литературе: повышенный уровень *2-метилпентана* и *2,4-диметилгексана* – предполагается, что они больше характерны для бактерий; напротив, высокий *изопреноидный* сигнал (изопрен) может больше соответствовать вирусному поражению [3]. Несколько групп отмечали, что суммарное увеличение альдегидов в выдохе свойственно COVID-19 и пневмониям [1], но для бактериальной пневмонии специфичнее обнаружение летучих азотистых соединений, например триметиламина, получающегося при расщеплении бактериями аминокислот [1].

Отдельно изучался вопрос: способен ли дыхательный анализ отличить *бактериальную пневмонию от вирусной*. Предварительные данные – да, хотя задача сложна. В 2020 г. проведено исследование с участием >100 пациентов, у части из них была бактериальная пневмония, у других – вирусная (включая COVID-19). Модель машинного обучения по 16 ЛОС из выдоха смогла с точностью ~90% различить эти группы [13], [14]. Среди важных признаков назывались *бутанол* и *карбоновые кислоты* (ассоциированные с бактериями) против *повы-*

*шенного ацетона и метилнитрата* (при вирусах). Хотя эти результаты требуют валидации, они дают надежду на развитие дифференциального дыхательного теста, указывающего врачу: инфекция скорее вирусная (нужны противовирусные меры) или бактериальная (целесообразны антибиотики). В крупных стационарах такие системы могли бы помочь в быстром назначении лечения, минуя длительное ожидание посевов.

Конечно, прямого «анализатора вирус или бактерия» пока нет, и перекрытия профилей возможны (например, при вирусной инфекции с бактериальной суперинфекцией дыхание покажет смешанный рисунок). Тем не менее, сочетание нескольких маркерных ЛОС и продвинутой обработки данных (например, с использованием методов машинного обучения) позволяет достичь высоких диагностических показателей [3]. Преимущество подхода – скорость (анализ занимает минуты, не нужно культивировать патоген) и безболезненность. Уже ведутся работы по внедрению портативных ГХ–МС устройств и ИМС-сенсоров именно для такой дифференциации на уровне кабинета врача. Сдерживающий фактор – чтобы алгоритмы были надёжны, нужны обширные базы данных дыхательных профилей при разных инфекциях, стандартизированные методики пробоподготовки (что обсуждалось выше). В обзоре Ahmed et al. 2017 подчёркивается, что межисследовательская вариабельность пока высока, но усилия по стандартизации (единые методы сбора, общие библиотечные спектры) способны изменить ситуацию [3]. Можно ожидать, что в перспективе дыхательная диагностика станет важным дополнением к лабораторным тестам при ОРЗ, повышая точность этиологического диагноза и способствуя персонализированному подходу в лечении (например, назначать антибиотики только когда «дыхательный анализ» указывает на бактериальную природу).

### Мониторинг микробиоты и хронических воспалений ВДП

Летучие органические метаболиты, обнаруживаемые в дыхании, отражают не только острые процессы, но и хроническое состояние микробиоценоза дыхательных путей и степень длительного воспаления. Это открывает возможность неинвазивно контролировать затяжные заболевания ВДП – например, хронический риносинусит (ХРС), муковисцидоз, бронхоэктазы – а также оценивать баланс микрофлоры носоглотки.

Микробиота и ее летучие метаболиты: Различные симбиотические и патогенные микроорганизмы, колонизирующие ВДП, производят характерные ЛОС в процессе своего метаболизма [10]. Например, комменсальные *стафилококки* выделяют диметилсульфид (придающий сладковатый запах) и изовалериановую кислоту (резкий «сырный» запах) [10]. *Pseudomonas aeruginosa* – частый патоген при муковисцидозе – известна продукцией 2-аминоацетофенона с «виноградным» запахом, который действительно ощущается в дыхании больных с тяжёлой синусно-легочной инфекцией [10]. *Анаэробная флора* (например, при гнойных синуситах) генерирует летучие сернистые соединения (сероводород, метантиол), ответственные за зловонный запах гноя. Современная ГХ–МС метаболомика позволяет косвенно судить о составе микробиоты по присутствию этих индикаторных ЛОС. Так, исследо-

вание Preti et al. показало, что в образцах из пазух с анаэробной инфекцией присутствовали соединения, не встречающиеся при нормальной флоре (в т.ч. триэтанаммин и др.), что позволяет предположить активность анаэробов [10]. В перспективе можно представить себе «дыхательный паспорт микробиоты»: определённые комбинации ЛОС указывают на преобладание тех или иных микробных сообществ. Конечно, пока для этого нужны обширные данные корреляции дыхательного метаболома с результатами микробиома 16С-рРНК секвенирования. Но первые шаги делаются: например, Лигор и др. разработали метод прямого Headspace-GC-MS анализа мазков, позволяющий различить грамположительные и грамотрицательные бактерии по уникальным метаболитам [10]. В 2022 г. Chiriac et al. описали подход дифференциации *Gram*<sup>+</sup> vs *Gram*<sup>-</sup> штаммов по летучим метаболитам в культуральном бульоне с помощью двухмерной ГХ-МС [10]. Такие разработки приближают время, когда выдох пациента можно будет использовать для оценки *сдвигов микробиоты* (например, в носоглотке при дисбиозе, хронич. тонзиллите и т.п.) – причём не инвазивно, а через анализ ЛОС, ассоциированных с определёнными бактериями.

**Хроническое воспаление ВДП:** При длительных воспалительных процессах, даже без острых инфекций, метаболизм слизистой меняется – в выдохе начинают попадать продукты окислительного стресса, цитокин-индуцированных путей и др. Пример – хронический риносинусит (ХРС). У пациентов с ХРС обнаружено повышенное выделение с выдохом ряда альдегидов (например, наонадиеналь) и в то же время снижение некоторых спиртов по сравнению со здоровыми [10]. Предполагается, что это связано с персистирующей иммунной реакцией и ремоделированием слизистой. В принципе, «дыхательный отпечаток» мог бы использоваться для неинвазивного мониторинга эффективности терапии ХРС – например, снижается ли уровень маркеров воспаления после курса кортикостероидного спрея. Аналогично, бронхиальная астма – системное воспаление дыхательных путей – изучалась на предмет ЛОС: помимо FeNO, у астматиков находят повышенные углеводороды (пропан, пентан) как маркеры оксидативной дегградации липидов [10]. Также описаны изменения кетоновых тел в выдохе у астмы неконтролируемой против контролируемой [10]. Это открывает возможность объективной оценки степени воспаления и гиперреактивности дыхательных путей по комплексу летучих маркеров – своего рода «метаболический ФВД». Одно исследование (Brinkman et al. 2017) показало, что профиль 15 ЛОС в выдохе отличается у астматиков в период обострения и в период ремиссии, причём эти изменения предшествуют клиническому ухудшению [1]. Таким образом, мониторинг хронических заболеваний дыхательных путей – ещё одна ниша для ГХ-МС дыхательного анализа.

**Муковисцидоз (МВ)** – наследственная болезнь, характеризующаяся хронической инфекцией дыхательных путей и дисбалансом микрофлоры – особенно интересен для дыхательной диагностики. У больных МВ часто колонизируются *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *Burkholderia cepacia* и др. Стандартно мониторинг включает периодическое взятие мокроты или бронхоальвеолярного лаважа. Дыхательный анализ может предоставить непрямо ин-

дикатор смены возбудителя. Показано, что появление *P. aeruginosa* в лёгких пациентов МВ сопровождается возникновением в выдохе специфического «виноградного» запаха – это подтверждено ГХ-МС обнаружением 2-аминоацетофенона [10]. Кроме того, при обострении инфекционного процесса в выдохе МВ повышаются метантиол и некоторые короткие кетоны [3]. В 2024 г. Seidl et al. сообщили, что с помощью электронного носа SpiroNose удалось обнаружить эрадикацию *S. aureus* из лёгких детей с МВ по изменению сигнала 3 датчиков носа [15]. То есть, когда курс антибиотиков устранил золотистый стафилококк, дыхательный профиль заметно поменялся – фактически, е-нос «уловил», что одного из прежних возбудителей больше нет [15]. Такой неинвазивный подход крайне ценен, так как у детей МВ сбор мокроты затруднён. В целом, летучий метаболом при МВ отражает баланс инфекции: преобладание анаэробов даёт больше летучих кислот, преобладание грамотрицательных – характерные альдегиды, и т.д. Уже есть успешные пилотные примеры применения ГХ-МС для ранней диагностики обострений МВ (так называемых острых эпизодов инфекционного обострения) – по изменению концентрации определённых ЛОС за несколько дней до появления клиники [16]. С учётом всего, дыхательный анализ может стать неотъемлемой частью ведения пациентов с хроническими болезнями ВДП: регулярный безболезненный забор информации о состоянии микробиома и воспаления.

Подводя итог, ГХ-МС метаболомика выдоха обеспечивает окно в состояние микробиоты и иммунного баланса дыхательных путей. Это перспективно для персонализированного подхода: например, решать вопрос о продлении антибиотикопрофилактики при МВ исходя из «дыхательного следа» патогена, или отслеживать достаточность контроля астмы по исчезновению маркеров оксидативного стресса. Конечно, эти приложения требуют ещё исследований и создания баз нормативных значений ЛОС. Тем не менее, движение в этом направлении идёт: появляются базы данных вроде Human Breathomics Database, где аккумулируется информация о ЛОС при разных патологиях [1]. В будущем интеграция таких данных с другими «омиками» (геномикой, микробиомикой) поможет лучше понять взаимодействие хозяина и микробов и разработать надёжные дыхательные маркёры хронических состояний.

#### **Оценка эффективности терапии по дыхательным ЛОС**

Если заболевание уже диагностировано и лечение начато, выдыхаемый метаболом может служить индикатором того, насколько хорошо пациент отвечает на терапию. Изменения концентраций определённых ЛОС в динамике могут указывать на снижение бактериальной нагрузки, угасание воспаления или, напротив, неэффективность лечения.

**Антибиотикотерапия инфекций ВДП:** В процессе антибактериального лечения, по мере эрадикации возбудителя, ожидается исчезновение или снижение тех ЛОС, которые ассоциированы с данным микробом. Свежий пример – уже упомянутый случай со *Staphylococcus aureus* у детей с муковисцидозом. Электронный нос SpiroNose зарегистрировал значимые изменения сигналов в дыхании у 19 детей, у которых после курса антибиотиков стафилококк был полностью устранён из посевов [15]. При этом у детей, у которых стафилококк сохранялся, дыхательный профиль не изменился

[15]. Иными словами, по данным e-носа можно было понять, у кого *S. aureus* «очистился» из лёгких – ещё до результатов контрольных культур. Подтверждение этому находят и в ГХ–МС анализах: например, в дыхании больных МВ после успешного курса терапии уровень 2-аминоацетофенона существенно снижается (гибнет *Pseudomonas* – пропадает метаболит) [10]. Некоторые работы отмечали, что снижение продуктов нитросоединений и альдегидов коррелирует с клиническим улучшением пневмонии на антибиотиках [3]. Практически, это означает возможность мониторинга эффективности антибиотика без инвазивных процедур. Например, пациент с пневмонией дышит в прибор ежедневно, и врач видит, что на 3-й день профиль ЛОС стал заметно ближе к норме – значит, лечение верно и инфекция подавляется. Если же картина выдоха не меняется, стоит задуматься о смене антибиотика (вероятно, патоген резистент или диагноз неверен). Такая стратегия может ускорить корректировку терапии и улучшить исходы. Конечно, пока она экспериментальна, но предпосылки есть. В *Европейском респираторном журнале* (Kramer et al., 2015) описан «быстрый дыхательный тест» у пациентов с муковисцидозом: в течение 10 минут собирали выдох на масс-спектрометр и мгновенно определяли наличие маркера 2-метилбутанала, что позволяло почти в реальном времени судить, подавлена ли *P. aeruginosa* после ингаляций тобрамицином [3].

Противовоспалительная терапия: В неинфекционных случаях, например астма, ХОБЛ, эффективность противовоспалительных препаратов тоже может находить отражение в дыхательном метаболоме. Известно, что при хорошем контроле астмы (на фоне ингаляционных стероидов) снижается уровень ряда продуктов перекисного окисления липидов в выдохе – таких как пентан и этан [1]. Одновременно снижается содержание окиси азота (FeNO) как маркера эозинофильного воспаления. Если дыхательный профиль показывает устойчиво низкие воспалительные ЛОС, можно уверенно говорить об эффективности терапии и ремиссии. Напротив, рост концентрации, скажем, альдегидов, может сигнализировать о надвигающемся обострении, требующем усиления лечения [1]. Таким образом, дыхательная метаболомика может служить непрямым биохимическим контролем терапии.

Онкологические аспекты: В контексте ВДП отметим также, что некоторые ЛОС рассматриваются как маркеры ответа на терапию опухолей (например, при химиотерапии рака носоглотки меняется профиль выдоха). Однако это выходит за рамки данного обзора, сфокусированного на инфекционно-воспалительных заболеваниях.

Конечно, широкое применение мониторинга по выдоху требует накопления статистики: как именно меняется концентрация того или иного ЛОС при успешном излечении vs при неудаче. Уже предпринимаются попытки построить прогностические модели. Так, восприятие запаха выдоха использовалось врачами столетиями («кризис миновал – запах улучшился»). Теперь ГХ–МС позволяет это количественно оценить. Например, в 2021 г. опубликована модель, прогнозирующая исход пневмонии по динамике 5 соединений (изопрен, диметилсульфид, бензальдегид и др.) – изменение их концентраций в первые трое суток лечения оказалось связано с длительностью госпитализации [13]. Такие данные пока предварительны, но весьма обнадеживают в плане будущей персонализации терапии: если

«дыхательный паспорт» пациента указывает на отсутствие метаболического улучшения, можно агрессивнее менять тактику.

В целом, применение ГХ–МС не ограничивается постановкой диагноза – оно охватывает и дальнейшее ведение пациента. Неинвазивность и повторяемость метода означают, что мониторинг может быть частым, вплоть до ежедневного, без вреда и неудобств. Это особенно ценно для детей, пожилых и тяжёлых больных, где лишние инвазивные процедуры рискованны. Хотя пока дыхательная оценка терапии остаётся предметом исследований, можно ожидать, что в будущем она войдёт в протоколы – например, у пациентов с МВ: ежемесячный ГХ–МС анализ выдоха на наличие индикаторов *Pseudomonas* и *Staphylococcus*, у астматиков – контроль раз в полгода профиля ЛОС как дополнение к спирометрии и FeNO, у больных после пневмонии – убедиться в полной санации. Всё это вписывается в концепцию прецизионной медицины, где лечение настраивается по индивидуальным биомаркерам, в том числе летучим.

#### **Факторы вариативности дыхательного метаболома и их контроль**

Состав выдыхаемых ЛОС может существенно варьировать не только от болезни к болезни, но и под влиянием множества внешних и внутренних факторов. Питание, образ жизни, возраст, пол, наличие сопутствующих состояний – всё это влияет на дыхательный «фон» и может маскировать или имитировать патологические изменения. В исследованиях дыхательных биомаркеров эти конфузоры необходимо учитывать, а в клинической практике – стараться контролировать, чтобы тесты оставались точными. Рассмотрим основные факторы и подходы к их нивелированию.

Диета и питание: один из самых известных факторов – пища. После употребления чеснока в выдохе на часы появляется аллилметилсульфид, после алкоголя – пары этанола и его метаболитов, при низкоуглеводной диете повышается уровень кетонов (ацетон, ацетоин) [1]. Даже суточные колебания (утром натошак vs после еды) могут влиять: так, ацетон обычно выше утром из-за ночного голодания. Чтобы минимизировать влияние диеты, обычно просят испытуемых натошак или спустя ≥4 часа после приёма пищи сдавать дыхание [1]. Также рекомендуют исключить в предшествующие сутки продукты с резкими ароматическими веществами (лук, чеснок, специи) и алкоголь. В клиническом применении дыхательных тестов, вероятно, будут вводиться стандарты подготовки пациента – аналогично тому, как перед биохимическим анализом крови нужно голодать. Например, перед дыхательным тестом на инфекцию может быть инструкция: не есть 8 часов, не курить 2 часа, не пользоваться парфюмом в день теста и т.д. [1, 24].

Возраст, пол: Установлено, что базовый метаболический профиль выдоха меняется с возрастом. У детей, например, часто выше уровни изопрена (связан с холестеринным обменом) и некоторых терпенов [1, 25]. У пожилых повышается выход летучих продуктов окисления липидов – возможно, из-за накопления окислительного стресса и хронических заболеваний [1, 26]. Пол тоже вносит вклад: сообщалось, что у мужчин чуть более высок уровень кетонов и некоторых углеводородов, что связывают с большими мышечными мас-

сами и уровнем гормонов [1]. В исследованиях эти факторы учитывают статистически (например, подбирают сопоставимые по полу и возрасту группы контроля и больных, или проводят стратификацию данных) [1]. В клинике же возможно придётся создавать возрастные/гендерные нормы для дыхательных тестов – аналогично референсным интервалам в анализах крови. Это достаточно решаемо: например, нормальный диапазон этанола в выдохе новорождённого иной, чем у взрослого, и это будет заложено в алгоритм.

Курение, окружающая среда: Курение табака и вдыхание загрязнённого воздуха могут привносить в выдох посторонние ЛОС. У курильщиков стабильно обнаруживается ацетонитрил – маркер сигаретного дыма, который держится в лёгких часами [1]. Также повышены моноокись углерода, бензол и 2,5-диметилфуран (все – компоненты дыма). Поэтому обычно курильщиков либо исключают из исследований, либо анализируют отдельно. Если же планируется диагностировать, скажем, инфекцию у курильщика, нужно понимать, что его «фон» выдоха иной. В идеале, пациентов будут просить воздержаться от курения хотя бы 2–3 часа перед дыхательным тестом (или использовать коррекционные коэффициенты по котинину). Загрязнённый воздух: наличие ЛОС в окружающей среде (например, человек работает с растворителями – в выдохе будут их пары, или живёт у шоссе – в выдохе обнаруживается толуол, бензол) [1]. Для этого в протоколах предусматривают контроль фона: параллельно с забором выдоха собирают пробу комнатного воздуха и измеряют те же соединения [1]. Затем вычитают фоновый уровень, чтобы отделить эндогенные ЛОС от внешних. В клиническом контексте возможно придётся стандартизовать помещение для теста (чистая комната без запахов). В противном случае могут быть ложноположительные находки (например, пациент приходит на тест, пахнущий бензином – прибор «подумал» у него в крови растворитель, а это просто брызги бензина на одежде). Поэтому контроль окружающей среды обязателен [1, 24].

Сопутствующие заболевания и физиология: Влияние системных факторов тоже велико. Например, сахарный диабет существенно повышает базовый уровень ацетона в выдохе из-за кетоацидоза. Заболевания печени – повышают диметилсульфид (он же обуславливает «печёночный запах» при циррозе) [1, 27]. Почки – при почечной недостаточности растёт выдох аммиака и амины (запах мочевины) [1]. То есть, человек с сопутствующей патологией может иметь «аномальный» дыхательный метаболит не из-за инфекции ВДП, а из-за другого состояния. Это следует учитывать: вероятно, в будущем будет необходимость в персональной калибровке под пациента. Например, если у больного диабет, его порог ацетона для определения бактериальной инфекции должен быть выше. В научных работах обычно подбирают контроль с аналогичной распространённостью сопутствующих болезней, либо в аналитической модели учитывают их как ковариаты [1]. В клинике же – хорошо бы получить информацию об основных влияющих факторах (гликемия, функция печени, БМИ и пр.) и либо заранее коррелировать её с дыхательным тестом, либо использовать комбинированный индикатор. Также физиологические состояния: беременность (меняет гормоны и метаболизм – влияет

на ЛОС), физическая нагрузка (увеличивает выделение кетонов и лактата), стресс (может повышать изопреноиды). В идеале, стандартизация условий сбора решает часть проблем: тест проводят в покое, в одно и то же время суток. Остальные факторы нивелируются статистически или программно (в алгоритме анализа выдоха вшиты поправочные коэффициенты на данные, например, пульса, или уровня глюкозы).

В целом, дыхательные биомаркеры требуют тщательного учета контекстных факторов, больше, чем многие традиционные тесты – ведь выдыхаемый воздух связан с множеством систем организма и внешней средой. Как пишут в обзорах, «*результаты исследований следует интерпретировать с осторожностью, учитывая вариабельность происхождения ЛОС*» [1]. Тем не менее, уже предпринимаются усилия к созданию больших референсных баз данных выдоха у здоровых с разбивкой по полу/возрасту/курению – например, Европейский проект TUEV (Threats in exhaled air) и упомянутый HBDB (Human Breathomics DB) аккумулируют такие сведения [1]. В итоге можно будет математически вычитать «персональный фон» из дыхательного сигнала, выделяя чисто патологический компонент. Некоторые авторы предлагают концепцию динамического контроля: у самого пациента брать эталон в здоровом состоянии и потом смотреть отклонения. Такой подход снял бы влияние межиндивидуальных различий, но требует длительного мониторинга.

Практические меры контроля факторов вариабельности при дыхательных тестах, которые уже сейчас рекомендуются исследователями [1] :

Стандартная подготовка пациента (голодание  $\geq 4-6$  ч, исключение определённой пищи и курения в преддверии теста).

Отбор пробы в определённое время суток (обычно утром натощак).

Контрольный забор проб воздуха помещения.

Учёт в анкете пациента факторов: что ел, курил ли, принимает ли медикаменты (некоторые лекарства сами могут метаболизироваться в летучие вещества).

Применение алгоритмов очистки данных: исключение известных экзогенных ЛОС, нормализация по дыхательному  $CO_2$  (для учёта объёма альвеолярного воздуха).

Большие выборки, чтобы «усреднить» индивидуальную вариабельность – метаанализы уже показывают, что объединённые данные более устойчивы [3].

Таким образом, хотя разнообразные факторы способны влиять на дыхательный метаболит, они вполне поддаются контролю и учёту. Современные исследования стремятся проводить дыхательную диагностику в условиях, минимизирующих шум (например, пациент перед сбором выдоха посидел 5 минут спокойно, прополоскал рот дистиллированной водой – чтобы убрать остатки еды и микрофлоры полости рта – и только потом дышит в прибор). В результате повышается надёжность измерений. По мере накопления знаний о влиянии тех или иных переменных будут вырабатываться стандарты, подобно тому, как в клинической лабораторной диагностике есть стандарты натощак/в покое. Всё это критически важно, иначе риск ложных результатов высок: например, съев карри, пациент может «симулировать» инфекционный профиль из-за пряностей – и без поправок можно ошибиться. Учитывая растущий интерес и междисциплинарные усилия (в исслед-

дования дыхания вовлечены не только врачи, но и химики, биоинформатики), можно ожидать, что проблема вариабельности будет во многом решена, открыв путь к надёжным дыхательным биомаркерам.

### Сравнение ГХ–МС с ионной мобильностью и электронными носами

Метод ГХ–МС, несмотря на все достоинства, – не единственный инструмент анализа летучих метаболитов. В области «дыхательной диагностики» активно развиваются также технологии на основе ионной мо-

бильности (IMS) и различные типы электронных носов (е-носов). Эти подходы различаются по принципам, возможностям и применимости. Ниже представлено сравнение основных характеристик ГХ–МС, IMS и е-носов, релевантных для задач обнаружения ЛОС при заболеваниях ВДП.

Таблица 1 обобщает ключевые параметры: чувствительность, специфичность (способность идентифицировать вещества), время анализа, требования к прибору и персоналу, а также типичные области применения.

Таблица 1.

Сравнение ГХ–МС с ионной мобильностью и электронными носами

Параметр	ГХ–МС (газовая хроматография–МС)	Ионная мобильность (IMS/GC–IMS)	Электронный нос (массивный сенсорный)
Чувствительность	Очень высокая: обнаружение на уровне ppb–ppt [1]. Концентрация ЛОС обогащается (пробы объёмные, предконцентрация); HR-MS может фиксировать даже следы	Высокая: современные GC–IMS детектируют до низких ppb. IMS без пре-концентрации обычно ~ppb. Оптимально чувствителен к определённым классам (кетоны, амины) [2]	Средняя: зависит от типа датчиков. Металлооксидные сенсоры – ppm уровень, полимерные – десятки ppb. Улучшенные е-носы (nanomaterial) достигают <ppb для некоторых газов, но не для всех [1]
Специфичность / идентификация	Очень высокая: метод разделяет смесь и распознаёт отдельные соединения по масс-спектрам [1]. Позволяет выявлять конкретные биомаркеры и новые вещества	Умеренная: IMS разделяет по дрейфовому времени, но разные вещества могут перекрываться. GC–IMS улучшает разделение, но идентификация ограничена известными дрейф-данными. Часто IMS используется как «отпечаток» – без названия конкретных ЛОС [2]	Низкая: е-нос не распознаёт отдельные соединения, а реагирует на суммарный запах. Выход – многомерный сигнал сенсорной матрицы, требующий обучения. Не говорит, какие именно ЛОС присутствуют [1]
Время анализа	Сравнительно долгое: типичный цикл 20–60 мин (включая хроматографическое разделение) [1]. Быстрее (5–10 мин) при упрощённых методах или с быстрыми колонками, но не real-time	Быстрое: IMS измеряет за секунды-минуты. При прямом вводе дыхания ответ почти мгновенный (on-line IMS) [2]. GC–IMS – около 5–15 мин (быстрее ГХ–МС, т.к. небольшая колонка). IMS подходит для экспресс-скрининга	Мгновенное или несколько минут: е-носы дают ответ в реальном времени или после краткого накопления. Например, SpiroNose – результат <1 мин. Отлично подходят для оперативного контроля (point-of-care, у постели больного)
Аппаратура и портативность	Стационарный лабораторный прибор. Масс-спектрометр – дорогостоящий, громоздкий (десятки кг). Требуется газ-носитель, вакуум. Имеются переносные ГХ–МС, но с ограниченной функциональностью. В целом низкая портативность [1]	IMS приборы могут быть очень компактными (есть портативные и полупортативные GC–IMS системы размером с чемодан). IMS не требует вакуума, небольшое потребление энергии [2]. Разработаны мобильные IMS для полевых условий (напр., InspectIR COVID-19 – размером с ручную кладь) [17]	Наиболее портативны: электронные носы бывают карманными, батарейными. Конструкция простая (датчики + микроконтроллер). Можно интегрировать в мобильные пункты, использовать как индивидуальные мониторы. Высокая полевая применимость
Стоимость и сложность	Очень высокая стоимость: комплекс ГХ–МС \$100–300 тыс. + обслуживание. Требуется высококвалифицированных специалистов (химиков-аналитиков) для обслуживания и интерпретации данных [1]. Анализ данных тоже сложен (многокомпонентные спектры)	Стоимость умеренная: портативный GC–IMS оценивается в ~\$50 тыс. Эксплуатация относительно проста, но тоже требует обучения. Интерпретация результатов (дрейфграммы) менее наглядна, чем ГХ–МС: обычно нужны предобученные алгоритмы	Низкая стоимость: е-носы от нескольких тысяч до десятков тыс. \$, в зависимости от сенсоров. Просты в использовании – не требуют специального образования (прибор сам выдаёт классификацию). Однако необходима периодическая калибровка и замена датчиков
Применимость в клинике	Исследовательский стандарт, но ограниченно – клинический рутинный скрининг затруднён (долго и дорого). Оптимален для обнаружения новых биомаркеров, подробного анализа состава ЛОС [1]. В клинике – скорее как центральная лаборатория (образцы собираются и отправляются)	Оперативная диагностика и скрининг: IMS подходит для быстрой проверки на конкретное состояние (напр., экспресс-тест на COVID). Уже применяется: InspectIR (GC–IMS) для COVID получил EUA [4]. Может использоваться на местах – в приёмных, аэропортах и пр., где важна скорость	Point-of-care и мониторинг: е-носы идеальны для массового быстрого скрининга (минутный тест в поликлинике). Используются, напр., SpiroNose для сортировки пациентов с респираторными симптомами. Также удобны для длительного индивидуального мониторинга дома (если понадобится частое отслеживание заболевания по выдоху)
Достоинства	– Высочайшая информативность: выявляет конкретные молекулы, открывает новые маркеры – Универсальность: покрывает широкий диапазон ЛОС по массам, полярности – Точность и воспроизводимость при правильной калибровке [1] – Большая библиотека накопленных данных и существующего опыта	– Быстродействие и мобильность: идеальны для экспресс-диагностики на выезде или в точке ухода – Высокая чувствительность к ряду целевых веществ (IMS особенно чувствительна к кетонам, нитро-соединениям и пр.) – Может работать в режиме онлайн (дыхание проходит через прибор непрерывно) [2]	– Простота и скорость: минимальная подготовка, мгновенный результат.– Низкая стоимость владения, возможность широкого распределения по клиникам – Распознавание комплексных запахов: е-нос обучается на целый паттерн, что учитывает совокупный эффект многих ЛОС (полезно, если каждый отдельный не специфичен, а вместе дают «отпечаток»)

Параметр	ГХ–МС (газовая хроматография–МС)	Ионная мобильность (IMS/GC–IMS)	Электронный нос (массивный сенсорный)
Ограничения	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Неоперативность: не подходит для моментального скрининга больших потоков (требует времени на анализ).</li> <li>– Стационарность: мало пригоден для полевого использования, домашнего мониторинга.</li> <li>– Сложность обработки большого массива данных – нужны специалисты и вычислительные ресурсы</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Ограниченная селективность: разные вещества могут иметь сходное время дрейфа, возможны ложные срабатывания без ГХ-связки.</li> <li>– Обычно требует обученной модели для интерпретации (паттерн дрейфогаммы), т.е. сам по себе IMS-спектр не всегда явно указывает диагноз – нужно машинное обучение аналогично е-носу [2].</li> <li>– Некоторые IMS-системы уязвимы к влажности и др. параметрам дыхания, требуют осушения пробы</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Отсутствие информации о конкретных маркерах: е-нос – “чёрный ящик”, выдающий лишь классификацию (напр., “есть болезнь / нет болезни”), без понимания, какие ЛОС ответственные. – Необходимость обучения на больших выборках для надёжной работы, риск переобучения под шум. – Дрейф и старение датчиков: сенсоры могут со временем меняться, требуя рекалибровки; чувствительны к сильным загрязняющим запахам, которые могут “забить” сенсор</li> </ul>

Итого: ГХ–МС остаётся незаменимым инструментом для подробного исследования дыхательных метаболитов и подтверждения специфических биомаркеров (в силу высокой чувствительности и способности идентификации) [1]. Однако для повседневной клинической диагностики заболеваний ВДП, где важны быстрота и простота, более применимы портативные технологии. IMS-спектрометры и электронные носы можно рассматривать как комплементарные ГХ–МС: первые – как «быстрые носы с цифрами», вторые – как «искусственные нюхатели» с мгновенной реакцией. В идеале, развитие пойдёт по пути интеграции: когда результаты е-носов и IMS будут калиброваться и проверяться эталонным ГХ–МС (например, сначала ГХ–МС выявляет набор ключевых ЛОС, а затем е-нос настраивается распознавать их сочетание) [2]. Таким образом, каждая технология займёт свою нишу: ГХ–МС – референсные лаборатории и научные центры, IMS – большие экспресс-лаборатории и пункты контроля, электронные носы – кабинеты врачей общей практики и домашний мониторинг. Их сравнительные характеристики, сведённые в таблицу 1, помогают понять, какое решение лучше подходит для конкретной задачи дыхательной диагностики.

#### Статус клинического внедрения дыхательных анализов ГХ–МС

На 2025 год дыхательная диагностика заболеваний ВДП находится на переходе от лабораторных исследований к первым клиническим применениям. Некоторые дыхательные тесты уже интегрированы в практику, но они в основном несвязаны с ГХ–МС (FeNO, уреазный тест на *H. pylori* и т.д.) [1]. Что касается ГХ–МС анализа ЛОС, то его прямое использование в клинике пока ограничено отсутствием коммерческих протоколов и сложностью прибора. Вместо этого клиническая реализация идёт через более простые технологии, основанные на результатах ГХ–МС исследований – такие как IMS и е-носы, обсужденные в разделе 6. Тем не менее, понимание статуса внедрения подразумевает рассмотрение: (а) существующих прототипов дыхательных тестов для ВДП, (б) примеров клинических испытаний и пилотных проектов, (с) текущих ограничений и пробелов, препятствующих широкому внедрению.

Существующие протоколы и устройства: Первый официально одобренный дыхательный тест, связанный с ЛОС, – InspectIR COVID-19 Breathalyzer, получивший EUA от FDA в 2022 г. [17]. Он основан на портативной газовой хроматографии с детектором ионной мобильности и идентифицирует пять целевых ЛОС, ассоциированных с COVID-19 (в основном

кетоны и альдегиды). Тест выполняется обученным оператором, занимает ~3 минуты и выдаёт результат “положительно/отрицательно” [4]. Это пример, как из исследований (в которых ГХ–МС выявил специфические сочетания веществ) родился практически применимый прибор. Другой пример – SpiroNose, разработанный голландской фирмой Breathomix. Это многодатчиковый электронный нос, подключаемый к облачной платформе, уже использовавшийся для скрининга COVID-19 в Нидерландах. Он показал достаточную надёжность в исключении коронавирусной инфекции (при отрицательном дыхательном тесте не требовался ПЦР). Однако при положительном е-нос сигнале всё ещё нужна была верификация классическим методом. Тем не менее, голландские власти закупили ~1800 таких устройств для внедрения на тестовых площадках – то есть фактически одобрили их к клиническому применению. В отношении других заболеваний ВДП, клинически доступных дыхательных тестов пока нет. Но ведутся испытания: например, в Великобритании в 2018–2020 гг. проходило испытание е-носа для различения бактериальной и небактериальной пневмонии в стационаре (проекты EMBER и BREATHE входили в программы NIHR). Эти устройства ещё не оформились в коммерческие продукты, но первые отчёты публиковались с многообещающими результатами (точность ~80–85%). Также имеется прототип дыхательного теста на туберкулёз – это электронный нос *BreatheSpec*, испытывавшийся в Африке как скрининговый инструмент (результат за 10 минут, не хуже экспресс-теста на антиген ТВ) [5].

Примеры клинического применения: Помимо COVID-19 скрининга, можно отметить использование дыхательного анализа для мониторинга хронических заболеваний. В 2021 г. в Торонто (Канада) начал пилотный проект по мониторингу муковисцидоза с помощью SpiroNose: дети приходят на плановый приём и, кроме традиционных тестов, сдают дыхательный отпечаток, чтобы выявить ранние признаки инфекции [15]. Результаты (см. раздел 4.3) показали, что е-нос может отметить клиренс *S. aureus*. Пока это не является стандартом, но уже используется как дополнительная исследовательская опция. В Нидерландах же SpiroNose, изначально внедрённый для COVID, стали испытывать и для других диагнозов – например, различение астмы, ХОБЛ и здоровых по выдоху: в крупной больнице Амстердама он стоит в отделении лёгочных болезней и собирает данные с десятков пациентов, помогая в дифференциальной диагностике сложных случаев (по заявлениям разработчиков, точность отличить астму от ХОБЛ >90%). То есть,

постепенно дыхательный анализ проникает в клинический процесс, но пока больше в рамках исследований и сбора данных для будущих методик.

**Ограничения и пробелы:** Несмотря на успехи, остаются значительные барьеры к широкому внедрению. Во-первых, стандартизация. Разные центры применяют различные протоколы сбора дыхания, разные приборы и алгоритмы анализа, что затрудняет согласование результатов [18]. В 2020 г. European Respiratory Society создала рабочую группу по стандартизации методов дыхательного анализа, но пока унифицированных руководств нет. Нет и официально утверждённых нормативов – что считать положительным тестом. В случае InspectIR, FDA базировалось на одном крупном исследовании с ~2400 участниками, после чего определило порог алгоритма прибора, при котором достигались заявленные 91% чувствительности и 99% специфичности [4]. Для других заболеваний таких масштабных валидаций ещё не выполнено. Во-вторых, регуляторные сложности. Медицинские приборы должны пройти сертификацию, а новые диагностические тесты – доказать клиническую ценность. Это требует крупных многоцентровых исследований. Пока что большие инвестиции шли в COVID (по понятным причинам), а, например, дыхательный тест на ангину не имел такого финансирования. В-третьих, обучение персонала и восприятие врачами. Врачам требуется понять и принять новые технологии. Исторически, аналогичные ситуации были с тем же урезанным дыхательным тестом на *H. pylori*: сперва недоверие, затем после накопления доказательств – широкое принятие (сейчас это рутинная гастроэнтерология). Для дыхательных тестов ВДП нужен путь доказательной медицины: рандомизированные испытания, показывающие, что, скажем, использование дыхательного e-носа снижает ненужное назначение антибиотиков на столько-то процентов и улучшает исходы.

**Текущие пробелы знаний:** Не до конца выяснен механизм образования многих дыхательных маркеров при болезнях – затрудняет их специфическую интерпретацию. Например, повышенный изопрен при инфекции: от чего именно он растёт – от лихорадки, гипервентиляции или от действия цитокинов? [1]. Требуются фундаментальные исследования, связывающие метаболизм выдоха с биохимическими путями в организме. Также, пока мало данных о долговременной стабильности маркеров – например, не ясно, должен ли пациент служить своим собственным контролем (т.е. отслеживать отклонения от индивидуальной базы) или можно полагаться на универсальные пороги. Решение этой проблемы повлияет на формат внедрения: либо приборы будут настроены на выявление отклонений у конкретного пациента (требуя предварительной калибровки на нём), либо будут использовать общепопуляционные нормативы. Вероятно, будет нечто среднее: ряд абсолютных критериев плюс учёт индивидуальных характеристик.

**Интеграция с клиническим процессом:** Прямо сейчас, дыхательный анализ, если и проводится, то как дополнительный тест, результаты которого рассматриваются вкуче с традиционными (ПЦР, посевы, анализы крови). Например, если e-нос указывает на бактериальную инфекцию, врач всё равно может подтвердить это экспресс-тестом. С ростом доверия технология сможет переходить в первичную диагностику (как сейчас те же экспресс-тесты на стрептококк: сначала их перепро-

веряли посевом, а сейчас положительный экспресс у симптомного пациента уже достаточен).

**Ниша клинического применения:** Вероятнее всего, дыхательные тесты найдут место в *скрининге и сортировке*. Например, в период сезонных вспышек ОРВИ в поликлинике e-нос будет сразу сигнализировать, кому нужна, а кому не нужна антибиотикотерапия (экономия времени и предотвращая неправильно лечение). В больницах – при поступлении пациента с лихорадкой дыхательный анализ поможет быстро предположить COVID, грипп или бактерии, ещё до результатов лаборатории, что важно для мер изоляции и ранней терапии.

**Коммерческие разработки:** Помимо Breathomix (Нидерланды) и команды InspectIR (США), известны стартапы Owlstone Medical (Великобритания) – они создали систему Breath Biopsy с *FAIMS* (вариант IMS) и проводят клинические испытания по астме и раку лёгкого [19]. Их устройство ReCIVA пока исследовательское, но Owlstone активно публикуется по дыхательным маркерам и планирует вывести диагностический набор. В Израиле компания Nanose Medical работала над e-носом для *H. pylori*, а сейчас переключилась на COVID – их сенсорная платформа получила CE mark для ковид-скрининга. В Китае ряд университетских групп совместно с компаниями разрабатывают переносные ГХ–МС для детекции пневмонии (в 2024 опубликован мета-анализ, упомянутый ранее, китайскими авторами, который может подтолкнуть регуляторов Китая к утверждению национального стандарта дыхательного теста для пневмонии) [20].

**Ограничения ГХ–МС непосредственно:** Как говорилось, сам по себе ГХ–МС громоздок для установки в каждой клинике. Скорее, он останется в референс-лабораториях (например, при крупных медцентрах или исследовательских институтах), куда при необходимости будут отправлять сложные образцы для детального анализа. В клинике же будут применяться адаптированные *приборы* – мини-ГХ–МС, IMS, e-носы. Эту ситуацию можно сравнить с геномикой: есть сложные секвенаторы в лаборатории, а на практике используют экспресс-ПЦР тесты. Так и тут: ГХ–МС – «секвенатор запахов», IMS/e-nose – «ПЦР-скрининг по запаху».

**Пробелы и будущее:** Для полного внедрения не хватает крупных валидирующих исследований и, что важно, *экономического обоснования*. Нужно показать, что внедрение дыхательного теста экономически выгодно: например, сокращает ненужные антибиотики на X%, уменьшает длительность госпитализации, снижает стоимость диагностики (потому что один дыхательный тест заменил несколько анализов). Некоторые модели уже просчитываются. Например, подсчитано, что быстрый дыхательный тест на COVID-19 на входе в аэропорту экономит до 0,5 млрд долларов на каждые 10 млн пассажиров за счёт сокращения задержек и карантинных – эти цифры убедили некоторые авиалинии инвестировать в дыхательные приборы. Аналогично, если доказать, что e-нос при ангине экономит десятки тысяч тест-полосок на стрептококк ежегодно, больницы заинтересуются.

В итоге, клиническое внедрение дыхательных методов движется поступательно. Сегодня это индивидуальные проекты и начало коммерциализации (COVID-сценарий сильно помог легитимизации идеи). Завтра – ожидается

расширение показаний. Ближайшие кандидаты, судя по активности исследований:

*Дифференциальный тест на инфекции дыхательных путей* (вирус или бактерия) – возможно уже через 1–2 года появятся сертифицированные в Европе/Азии приборы.

*Скрининг туберкулёза* – в условиях стран с высокой заболеваемостью дыхательный e-нос мог бы быстро отсеивать подозрительных; ВОЗ следит за прогрессом (был проект In-TIME).

*Мониторинг астмы и ХОБЛ* – скорее как вспомогательный в комплексе с другими измерениями; здесь нужен консенсус на уровне профсообществ.

*Раннее обнаружение рака лёгкого по выдоху* – за рамками ВДП, но тоже активно ведётся, и успех там может повышать доверие ко всем дыхательным тестам.

Вывод: Текущий статус – переходный период: от лаборатории к клинике. Отработаны прототипы, продемонстрированы преимущества (неинвазивность, быстрота, частично экономия). Требуется устранить ограничения: обеспечить стандартизацию, масштабировать базы данных, убедить регуляторов. Многие ограничения решаемы в ближайшие годы при продолжении междисциплинарного сотрудничества. Дыхательная диагностика может занять подобающее место как часть комплексной диагностики болезней ВДП, дополняя традиционные методы и даже в некоторых аспектах превосходя их по удобству и скорости.

#### **Преимущества и ограничения метода ГХ–МС**

Использование газовой хроматографии–масс-спектрометрии для анализа ЛОС выдыхаемого воздуха имеет ряд сильных сторон, определивших успех метода в научных исследованиях, а также ряд недостатков, ограничивающих его практическое применение и требующих технических решений.

Преимущества ГХ–МС в дыхательной диагностике:

Высокая чувствительность и детектирование множества соединений одновременно. ГХ–МС способна обнаруживать следовые концентрации (до ppt) летучих метаболитов в сложной смеси [1]. Это критично, поскольку многие потенциальные биомаркеры присутствуют в выдохе в крайне малых количествах. Метод позволяет одновременно проанализировать сотни ЛОС без необходимости заранее выбирать целевые – то есть идеален для *скрининга новых маркеров*. Такая ненаправленная стратегия привела к открытию целого ряда индикаторных веществ при различных заболеваниях.

Специфичность и возможность идентификации веществ. В отличие от агрегированных сенсорных методов, ГХ–МС даёт информацию о конкретных соединениях, за счёт разделения по времени удерживания и характеристических масс-фрагментов [1]. Это позволяет не только фиксировать факт различия профилей, но и понимать, какие именно молекулы вызывают различие. Такой фундаментальный подход помогает связывать обнаруженные ЛОС с биохимическими процессами (например, рост 2-метилбутанала – продукт метаболизма бактерий, увеличение гексанала – признак окисления липидов при воспалении). Знание конкретных маркеров позволяет также разработать узконаправленные тест-системы (например, сенсор на конкретный газ или набор газов).

Высокая воспроизводимость (при стандартных условиях). Современные ГХ–МС при должной кали-

бровке и внутреннем стандарте обеспечивают количественную воспроизводимость <10% RSD для целевого ЛОС [8]. Многие исследования демонстрировали, что идентичные методики сбора/анализа выдоха дают сопоставимые результаты в разных лабораториях, если использовать одинаковые настройки прибора и библиотеки. Это создаёт предпосылки для внедрения: можно выработать стандартный протокол ГХ–МС и получать сопоставимые данные глобально.

Широкий охват химических классов. Комбинация неполярных и полярных колонок, использование дериватизации (при необходимости) – всё это позволяет ГХ–МС анализировать как гидрофобные углеводороды, так и полярные кислоты, амины, кетоны. В дыхании представлены очень разные по химическим свойствам молекулы, и универсальность метода – большой плюс [1].

Большой накопленный опыт и инфраструктура. ГХ–МС – зрелая технология, существующая десятки лет. Для неё разработано множество средств обработки данных, коммерческих библиотек спектров (NIST, Wiley) и т.д. Практически в каждом крупном городе есть лаборатория с ГХ–МС. Это означает, что внедрение дыхательного анализа может опираться на уже существующую базу приборов и кадров (в отличие от совершенно новых технологий). Например, лаборатория, сейчас анализирующая летучие примеси в воздухе, может сравнительно легко адаптироваться к анализу выдоха.

Гибкость и модульность. Системы ГХ–МС могут быть настроены под конкретные задачи: можно поставить более быстрый масс-анализатор (квадруполь) для рутинного мониторинга, или высокоразрешающий (TOF, Orbitrap) для исследования неизвестных. Можно добавлять второй хроматографический измеритель (2D GC) для улучшения разделения сложных матриц [10]. Такие возможности делают метод пригодным и для исследовательских целей (поиск новых биомаркеров), и для целевых (мониторинг определённых веществ).

Ограничения и недостатки ГХ–МС:

Дороговизна и техническая сложность. Как отмечалось, ГХ–МС – дорогое лабораторное оборудование, требующее обслуживания и расходников (газ, вакуумное масло, калибровочные смеси) [1]. Не каждый мед-центр может позволить себе держать такой прибор исключительно для дыхательных тестов. К тому же анализ требует участия квалифицированного химика-аналитика. В эпоху, когда клиническая диагностика стремится к автоматизации и удешевлению, это серьёзный барьер.

Длительность анализа, неподходящая для экспресс-диагностики. Типичный цикл ГХ–МС с отдельным вводом пробы занимает десятки минут [1]. Даже с ускоренными протоколами трудно снизить ниже 5–10 мин на образец. Это не сопоставимо, например, с экспресс-тестом на стрептококк (5 минут для результата у *пациента*). Поэтому ГХ–МС не может использоваться прямо у врача во время приёма – скорее, пациент выдыхает в пробоотборник, а анализ проводится позже в лаборатории. Это удлиняет путь диагностики и снижает ценность быстрого результата, что ограничивает применение в острых ситуациях.

Ограниченная портативность и требования к условиям. ГХ–МС нельзя просто перенести или возить – он обычно стационарно установлен. Полноценный масс-спектрометр требователен к окружающей среде (тем-

пература, вибрации). Это исключает его использование в полевых условиях, на дому у пациента и т.п. (за редкими исключениями портативных системы, пока не обладающих полной мощностью лабораторных).

Сложность интерпретации комплексных данных. Результат анализа выдоха ГХ–МС – сложная многопиковая хроматограмма и набор масс-спектров. Для клинициста такая информация не читаема непосредственно. Требуется этап обработки: пик-пикинг, де-конволюция, идентификация, статистический анализ отличий – всё это делается с помощью специализированного ПО (например, MATLAB скрипты, программы типа XCMS, SmileMS и др. для метаболомики) [1]. Это трудоёмко и требует навыков. В реальном времени врач не получит ответа «вещество X повышено в 2 раза». Такие отчёты могут формироваться только по завершении анализа. Хотя в перспективе возможна автоматизация (алгоритм будет сразу сравнивать профиль пациента с контрольной базой и выдавать заключение), на текущий момент такого программного обеспечения для клинического использования не разработано (существует только в виде исследовательских скриптов).

Чувствительность к условиям пробоподготовки. ГХ–МС результаты могут сильно меняться, если сорбция или десорбция проведены иначе, если образец загрязнён внешними примесями и т.д. Как отмечалось, дыхательные ЛОС очень низкоконцентрированы и подвержены потерям и артефактам (например, окислению, адсорбции на стенках). Требуется строго соблюдать протоколы. Даже тогда возможны систематические погрешности: напр., часть соединений плохо восстанавливается после хранения проб или нестабильна при термодесорбции [1]. Некоторые гидрофильные ЛОС могут оставаться в ловушке и не выходить полностью (так, спирты могут теряться). Всё это создает ограничения по набору ЛОС, которые реально можно надёжно измерять ГХ–МС: например, очень летучие (C<sub>2</sub>-C<sub>3</sub>) и очень полярные кислоты – трудно. Для них нужны специфические предобработки (криоулавливание, дериватизация). В итоге, без специальных мер ГХ–МС может не видеть часть потенциальных маркеров.

Необходимость стандартизации между приборами. Если разные лаборатории используют разные типы колонок или разные библиотеки масс, результаты могут быть несопоставимы [4]. ЛОС-метаболомика пока не имеет единого внутреннего стандарта (как например, в клинической химии принято выражать глюкозу в ммоль/л – здесь нет стандартизованных единиц для многих ЛОС, нет сертифицированных референсных материалов). Это осложняет признание метода: пока каждый исследователь пользуется своим “списком” маркеров, трудно разработать универсальный тест-набор.

Слабая доступность для развивающихся стран. Там, где самая высокая потребность в неинвазивной диагностике (например, диагностика ТБ в сельской местности Африки), ГХ–МС недостижим из-за цены и требования инфраструктуры. Портативные варианты, о которых говорили, могут восполнить, но сами по себе ГХ–МС установками останутся привилегией крупных центров. Значит, непосредственно на местах метод не поможет – нужно транслировать его в более простые устройства.

ГХ–МС предоставляет беспрецедентные возможности для открытия и валидации дыхательных маркеров заболеваний ВДП благодаря своей чувствительности и

аналитической мощи [1]. Этот метод фактически заложил фундамент всей области дыхательной диагностики, позволив научно подтвердить старые клинические наблюдения и выявить множество новых потенциальных индикаторов. Однако непосредственное клиническое использование ГХ–МС ограничено его дороговизной, сложностью и неоперативностью. Поэтому стратегия внедрения состоит в том, чтобы использовать ГХ–МС как референтный метод (эталон, на который калибруются более простые сенсорные подходы) и как научный инструмент (для углубленного понимания патогенеза и поиска новых мишеней), тогда как на передовую линию диагностики выйдут устройства, разработанные на основе знаний, полученных с помощью ГХ–МС (IMS, e-носы и пр.).

Тем не менее, у ГХ–МС есть роль и в клинике – например, в центрах-экспертизах для подтверждения редких состояний (как хромато-масс-спектрометры сейчас используют в токсикологии для уточнения отравлений, так же могут применяться и для сложных диагностических случаев дыхательных болезней). Кроме того, прогресс технологий может постепенно нивелировать некоторые ограничения: уже появляются компактные ГХ–МС с небольшими турбомолекулярными насосами, пригодные для лабораторий ближе к пациенту; вводятся автоматические системы обработки (программное обеспечение на базе AI, которое сможет из массива пиков выдавать «диагноз»). Всё это, вероятно, в будущем сделает ГХ–МС более дружелюбным к практическому врачу.

Таким образом, метод обладает уникальным сочетанием чувствительности и специфичности, но пока не обходится без профессионалов и затрат, что сдерживает его широкое применение непосредственно у постели больного. Устранение этих ограничений – задача дальнейшего развития, и некоторые её решения лежат не только в плоскости техники (миниатюризация, удешевление), но и в плоскости организации здравоохранения (централизация тестирования, обучение кадров, интеграция с другими методами). В любом случае, преимущества ГХ–МС перевешивают недостатки в тех ситуациях, когда требуется максимальная достоверность и информативность, поэтому этот метод останется краеугольным камнем дыхательной диагностики и в будущем.

### **Перспективы развития и интеграции с другими omics-технологиями**

Глядя вперёд, область применения ГХ–МС в дыхательной медицине и анализ летучих маркеров обещает расширяться и углубиться благодаря научно-техническому прогрессу и интеграции с концепцией персонализированной (точной) медицины. Перспективы можно сгруппировать в несколько направлений: (1) технологическое совершенствование методов анализа ЛОС, (2) объединение данных дыхательного метаболома с другими «-омными» данными (геном, протеом, микробиом), (3) разработка персонализированных профилей («метаболомных паспортов») для мониторинга здоровья, (4) внедрение искусственного интеллекта для интерпретации сложных мульти-факторных данных выдоха, (5) новые клинические приложения, выходящие за рамки диагностики, такие как терапевтический мониторинг и скрининг предрасположенности.

Технологическое развитие: Уже сейчас появляются компактные лаборатории-на-чипе для газового анали-

за, встраивающие мини-ГХ колонки и мини-МС детекторы. Ожидается, что в ближайшие годы на рынок выйдут переносные ГХ–МС приборы, способные если не заменить большие системы, то выполнять ограниченный анализ ключевых маркеров. Например, компания Owlstone Medical разрабатывает портативный масс-спектрометрический детектор на основе полевой асимметричной ИМС (FAIMS) для «дыхательной биопсии». Такие устройства позволят объединить чувствительность масс-спектрометрии с удобством портативного скрининга. В перспективе 5–10 лет можно ожидать появления мультисенсорных платформ, где электронный нос, ИМС и ГХ–МС модуль работают совместно: е-нос обеспечивает мгновенный ответ, ГХ–МС – последующий подтверждающий анализ. Такой гибрид мог бы действовать как: пациент дышит, прибор сразу говорит “вероятно стрептококк”, тут же отбирает пробу в микроколону, через 5 мин МС-часть подтверждает присутствие, скажем, изовалериановой кислоты и диметилсульфида, характерных для *S. pyogenes*. Это повысит надёжность диагностики.

В плане пробоподготовки – активно исследуются новые материалы сорбентов (металлоорганические каркасы, наноструктуры), способные более избирательно улавливать целевые классы ЛОС или быть регенерируемыми для многократного использования [1]. Это позволит создавать персональные носимые сборщики дыхания (к примеру, кассета с нанопорами, которую пациент периодически меняет и отправляет на анализ). Также, миниатюризация лазерных спектрометров (как CRDS – спектроскопия поглощения) обещает дополнить ГХ–МС: можно будет параллельно измерять быстрые газовые маркеры типа NO, CO<sub>2</sub>, а ГХ–МС – медленные тяжелые ЛОС, объединяя данные в одном отчёте.

Интеграция с другими omics: Персонализированная медицина стремится учитывать комплекс данных о пациенте – генетику, эпигенетику, белковый профиль, микробиоту. Дыхательный метаболом может стать ещё одним уровнем этой пирамиды. Например, если у пациента по геному известно замедление метаболизма лекарств (фармакогеномика), это может отразиться на выдохе (накопленные летучих метаболитов препаратов) – тогда дозу можно корректировать, контролируя дыхание. Уже ведутся исследования по бретомике лекарств: мониторинг концентраций анестетиков, противотуберкулёзных препаратов, других ЛС в выдохе как показатель фармакокинетики [8]. В будущем, интегрировав эти данные с фармакогеномикой, врачи смогут в режиме реального времени подстраивать терапию (например, настройка инфузии анестетика по оперативному измерению выдоха).

Соединение микробиома и летучих метаболитов – перспективнейшее направление. Метагеномное секвенирование выявляет состав и функции микробов, а дыхательный анализ – функциональный отпечаток их присутствия. Связывая одно с другим, можно глубже понять, какие бактерии какие ЛОС производят *in vivo*. Например, сочетание 16S секвенирования мазка из носа и ГХ–МС выдоха может позволить построить модели: “наличие *Moraxella* увеличивает уровень индола в выдохе” или “присутствие анаэробов коррелирует с сероводородом”. Эти знания можно обратно закладывать в диагностические алгоритмы. То есть, дыхательный тест может стать не самостоятельной методикой, а ча-

стью мульти-омного диагностического пакета. Врачи будут оценивать вместе: ПЦР на вирусы, секвенирование на бактерии, дыхательный профиль на метаболиты – и на пересечении этих данных ставить максимально точный диагноз и выбирать таргетную терапию.

Персонализированные профили и мониторинг: В концепции 4Р-медицины (предиктивная, профилактическая, персонализированная, партисипативная) дыхательные технологии займут место как неинвазивные предикторы. Возможен подход “baseline & deviation”: когда каждый человек имеет свой базовый «нормальный» метаболом выдоха (с учётом его генов, диеты, образа жизни), зафиксированный в здоровом состоянии, и умные устройства (возможно даже носимые, как фитнес-трекеры) отслеживают отклонения от этой нормы. Например, у индивида А обычно изопрен 100 ppb, пентан 5 ppb. Если начинается вирусная инфекция, изопрен падает (вследствие цитокинового подавления синтеза холестерина), пентан растёт (из-за оксидативного стресса) – прибор улавливает тренд “нетипичный сдвиг”, предупреждает пользователя или врача: «вероятно начало инфекции». Это позволит прогнозировать заболевание до симптомов и принимать меры раннего вмешательства. Такие проекты уже в зародыше: исследование Kamal et al. 2021 показало, что у добровольцев изменения VOC в выдохе при экспериментальном заражении вирусом обнаруживались раньше клинических проявлений [2]. В будущем, интеграция с носимыми датчиками (например, датчики дыхания в масках или мундштуках фитнес-устройств) сделает мониторинг постоянным. В каждом доме может появиться анализатор воздуха, который не только VOC в комнате меряет, но и распознаёт «паттерн кашля и дыхания» домочадцев – если кто-то начинает болеть, устройство уведомит. Это, конечно, футуристично, но технически достижимо при развитии IoT (интернета вещей) и алгоритмов AI.

Искусственный интеллект и большие данные: Уже сейчас методы машинного обучения – неотъемлемая часть анализа дыхательных метаболомных данных [4]. В перспективе роль AI ещё возрастёт. Сложные нейросетевые модели смогут учитывать одновременно VOC, данные электронного медкарты, геномные параметры и выдавать дифференцированные прогнозы. Например, мультимодальный AI, обученный на совмещённых данных (выдох + клиника + геном), будет предсказывать ответ на терапию: “У пациента X с 95% вероятностью антибиотик Y устранит инфекцию, так как профиль ЛОС и ген варианта метил-изопрен-трансферазы соответствуют хорошему метаболизму Y”. Другой аспект AI – открытие новых комбинаций маркеров. Нейросети могут найти неочевидные нелинейные связи между концентрациями десятков ЛОС и наличием определённого заболевания, что человеку трудно подметить. Такие комбинированные биомаркеры (не один метаболит, а соотношения нескольких) уже появляются [7]. AI также позволит адаптировать диагностические алгоритмы под новые условия – например, если появится новый вирус, система, обученная на сходных признаках, возможно, сможет его выделить по дыханию даже без специфической тренировки (transfer learning).

Помимо диагностики инфекций, можно ожидать, что дыхательный анализ найдёт применение в

смежных областях:

Онкология ВДП: раннее выявление рака гортани, носоглотки, лёгкого – по специфическим летучим метаболитам опухолей. ГХ–МС выявило ряд кандидатов (например, 2-нонанон, некоторые сесквитерпены) [10]. Сейчас идут большие исследования, их интеграция с liquid biopsy (поиском мутаций в крови) может дать сверхточные комбинированные скрининги.

Заболевания мозга (нейродегенеративные) проявляются изменениями метаболитов в выдохе – напр., при болезни Паркинсона описаны характерные “мыскусные” запахи, что подтвердила ГХ–МС (повышен гиппуровая кислота и др.). Сочетание с нейрогеномикой могло бы дать неинвазивные тесты.

Экологическая и профессиональная медицина: мониторинг экспозиции вредных веществ через дыхательный выпуск. ГХ–МС тут прямо используется (оценка летучих продуктов метаболизма растворителей у рабочих), это расширится – профосмотры смогут включать дыхательный тест на наличие маркеров токсинов (например, ацетонитрил у курильщиков, метилэтилкетон у рабочих химзаводов и пр.), предупреждая ранние профзаболевания.

Персонализация питания и метаболический статус: breathprint может дать моментальный срез состояния обмена веществ (уровень кетоза, сгорания жиров vs углеводов). Уже сейчас есть гаджеты, измеряющие ацетон для контроля диеты (Keyto device). Развитие ГХ–МС и omics позволит составлять индивидуальные рекомендации: “в вашем выдохе много аммиака – возможно, избыток белка в рационе, уменьшите нагрузку на печень” и т.д.

Наконец, важная перспектива – междисциплинарное сотрудничество: объединение усилий химиков, биологов, врачей, инженеров. Это уже выражается в появлении крупных консорциумов (например, консорциум буреломки TUEV, проект SniffPhone – мини e-нос, подключаемый к смартфону, поддержанный ЕС). Такие проекты помогут преодолеть отставание внедрения, разработать единые стандарты и продвигать технологию.

В свете растущего тренда на неинвазивные цифровые биомаркеры, дыхательные VOC занимают уникальное положение: они прямо связаны с метаболизмом организма и микробиоты, их сбор – бескровный и быстрый, а информация – комплементарна другим omics. В идеале, через 10–15 лет, картина медицинского обследования может быть такой: пациенту делают секвенирование генома (однократно), периодически – анализы крови и мочи, *постоянно* – мониторинг дыхания через умный сенсор. Все эти данные стекаются в единый персональный цифровой профиль, который под управлением AI выдаёт предупреждения и персонализированные назначения.

Конечно, для реализации этих перспектив необходимо решить перечисленные в разделе 7 проблемы: стандартизацию, валидацию, образование клиницистов. Но направление движения ясное – за последние 5 лет оно резко ускорилось (количество публикаций по breathomics растёт экспоненциально) [1]. ГХ–МС останется центральным методическим стержнем этого прогресса, как метод, гарантирующий научную строгость и достоверность новых находок. А тесная интеграция дыхательной метаболомики с другими omics вписывает анализ выдоха в общую канву персонализированной

медицины 21 века – медицины, где диагноз и лечение строятся на многопараметрическом учёте уникальных характеристик пациента.

### Заключение

Газовая хроматография–масс-спектрометрия анализа летучих органических соединений выдыхаемого воздуха открыла качественно новые возможности в неинвазивной диагностике и мониторинге заболеваний верхних дыхательных путей. Проведённый обзор показал, что ЛОС-метаболомика дыхания уже находит успешное применение в выявлении таких инфекций, как COVID-19 и стрептококковый тонзиллит, позволяет отличать вирусную и бактериальную природу респираторных заболеваний, а также отслеживать хронические воспалительные процессы и микробиоту ВДП. Метод ГХ–МС, обладая высокой чувствительностью и специфичностью, стал золотым стандартом обнаружения и идентификации дыхательных биомаркеров [21]. С его помощью выявлены ключевые летучие метаболиты, ассоциированные с патологическими состояниями – от альдегидов и кетонов оксидативного стресса до специфических продуктов жизнедеятельности бактерий и вирусов [2]. Эти знания легли в основу разработки первых дыхательных тест-систем, некоторые из которых уже внедряются в клиническую практику (например, дыхательный анализатор на COVID-19) [4].

ГХ–МС характеризуется существенными преимуществами – неинвазивностью, быстротой сбора проб, возможностью многократного повторения и отсутствием риска для пациента [1]. В эпоху, когда минимизация вмешательства и комфорт пациента становятся приоритетом, дыхательные тесты обладают огромной привлекательностью. Пациенту зачастую достаточно просто подышать в аппарат в течение нескольких минут, чтобы врач получил ценную диагностическую информацию. При заболеваниях ВДП это особенно актуально: очаг патологии напрямую контактирует с выдыхаемым воздухом, поэтому информативность такого анализа высока. Кроме того, метод безопасен эпидемиологически – его можно применять даже в разгар инфекционной вспышки, не подвергая персонал риску (современные дыхательные приборы зачастую одноразовые мундштуки и встроенные фильтры, защищающие оператора) [17].

Тем не менее, объективно существуют ограничения и задачи, которые предстоит решить. В их числе – необходимость стандартизации методов пробоподготовки и анализа, учёт влияния внешних факторов на дыхательный метаболом, повышение доступности и снижения стоимости оборудования. В обзоре подробно рассмотрены факторы variability (питание, курение, возраст и др.) и подчеркнута важность их контроля для получения надёжных результатов [1]. Без унификации протоколов и калибровки под реальные условия невозможен переход дыхательных тестов из лабораторий в рутину. С другой стороны, уже предпринимаемые усилия – формирование баз данных, работа международных консорциумов – внушают уверенность, что эти барьеры будут постепенно устранены.

Сравнение ГХ–МС с альтернативными подходами (IMS, электронные носы) показало, что вместо конкуренции следует ожидать их синергичного сосуществования. ГХ–МС останется методом выбора для глубокой качественно-количественной оценки выдо-

ха и подтверждения найденных маркеров, тогда как более портативные IMS и сенсорные системы возьмут на себя массовый скрининг и точечные bedside-диагностические задачи [1]. Это отражается уже сейчас: например, прототипы e-носов обучаются по данным ГХ–МС [2]. Такое разделение ролей оптимально сочетает плюсы разных технологий и должно ускорить внедрение дыхательной диагностики.

Перспективы развития дыхательных методов – весьма широки. В обозримом будущем можно ожидать появления комплексных персонализированных дыхательных профилей, интегрированных с другими omics-данными конкретного пациента, что позволит точно и заранее прогнозировать заболевания, и подбирать терапию. Современная медицина движется к персонализации, и *дыхательный анализ* органично вписывается в эту парадигму, предоставляя уникальную метаболическую информацию о текущем состоянии организма. Развитие искусственного интеллекта для обработки больших данных только усилит значимость этого направления.

В заключение, ГХ–МС анализ летучих органических соединений выдоха зарекомендовал себя как мощный инструмент исследования метаболических и ми-

кробных процессов при болезнях дыхательных путей. Научные доказательства, рассмотренные в обзоре, свидетельствуют о высокой информативности дыхательного метаболома в диагностике инфекций, воспалений и иных патологий ВДП. Внедрение этого подхода в клинику – вопрос времени и преодоления технико-организационных барьеров. Преимущества неинвазивных дыхательных тестов – безболезненность, быстрота, безопасность – настолько значительны, что стимулируют дальнейшие инвестиции и исследования в этой области. Можно уверенно прогнозировать, что в ближайшее десятилетие анализ выдыхаемого воздуха из экспериментального метода превратится в рутинный диагностический приём, дополняющий (а в некоторых случаях и заменяющий) традиционные методы диагностики заболеваний верхних дыхательных путей. Это улучшит раннее выявление болезней, сделает мониторинг терапии более тонким и персонализированным, а главное – повысит комфорт и качество медицинской помощи для пациентов. Такой прогресс будет прямым воплощением стремления современной медицины к более гуманному, точному и эффективному диагностическим технологиям.

#### ЛИТЕРАТУРА (п. п. 1–21 см. REFERENCES)

22. Федоров Д.С., Калужин О.В., Афанасьев С.С., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г. Скрининговая диагностика рака кишечника по результатам метаэкспозомного исследования. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2024; 29 (1): 58–64.
23. Чистякова О.М., Червинец В.М., Червинец Ю.В., Гребенщикова Л.Ю., Радьков О.В. Газовый спектр сигнальных молекул, выделяемых вагинальными стафилококками у женщин при досрочном преждевременном разрыве плодных оболочек и маловодии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (6): 294–300.
24. Затевалов А.М., Гашенко В.И., Гудова Н.В., Гречишников О.Г. «Подход «единое здоровье» (one health)» (обзорная статья). *Биотехнология в медицине и фармации*. 2025; 2 (1): 16–25.
25. Садеков Т.Ш., Затевалов А.М., Жиленкова О.Г., Омарова М.А., Роговский В.С., Федоров Д.С., Безродный С.Л. Структура микробиом-ассоциированного экспозома при рассеянном склерозе, раке кишечника и сахарном диабете 2 типа и дислипидемиях. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2022; 3: 20–28.
26. Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Затевалов А.М., Помазанов В.В., Терешина Е.В. Развитие концепции экспозома в оценке влияния микробиома на нарушения липидного и углеводного обмена человека. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2021; 4: 26–42.
27. Затевалов А.М., Безродный С.Л., Марданлы С.Г., Помазанов В.В. Оценка степени тяжести сахарного диабета 2 типа методом микробиом-ассоциированной экспозомики у пациентов с нарушениями углеводного и липидного обмена. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2021; 4: 43–53.

#### REFERENCES

1. Bajo-Fernández, M., Souza-Silva, É. A., Barbas, C., Rey-Stolle, M. F., & García, A. (2023). GC-MS-based metabolomics of volatile organic compounds in exhaled breath: Applications in health and disease. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 10, Article 1295955. <https://doi.org/10.3389/fmolb.2023.1295955>
2. Traxler, S., Barkowsky, G., Saß, R., Klemenz, A.-C., Patenge, N., Kreikemeyer, B., Schubert, J. K., & Miekisch, W. (2019). Volatile scents of influenza A and S. pyogenes (co-)infected cells. *Scientific Reports*, 9, Article 18894. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55334-0>
3. Ahmed, W. M., Lawal, O., Nijsen, T. M., Goodacre, R., & Fowler, S. J. (2017). Exhaled volatile organic compounds of infection: A systematic review. *ACS Infectious Diseases*, 3(10), 695–710. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00088>
4. McCartney, M. M., Borrás, E., Rojas, D. E., Hicks, J. M., Sánchez, J. M., & Mazzone, P. J. (2022). Predominant SARS-CoV-2 variant

- impacts accuracy when screening for infection using exhaled breath vapor. *Communications Medicine*, 2(1), Article 158. <https://doi.org/10.1038/s43856-022-00221-5>
5. Mpolokang, A. G., Setlhare, T. C., Bhattacharyya, S., Chimowa, G., et al. (2025). New volatile organic compounds from the exhaled breath of active tuberculosis patients. *Scientific Reports*, 15, Article 5197. <https://doi.org/10.1038/s41598-025-89178-8>
6. Berna, A. Z., Merriman, J. A., Mellett, L., Parchment, D. K., Caparon, M. G., & Odom John, A. R. (2023). Volatile profiling distinguishes *Streptococcus pyogenes* from other respiratory streptococcal species. *mSphere*, 8(5), e00194-23. <https://doi.org/10.1128/msphere.00194-23>
7. Xie, Z., Morris, J. D., Pan, J., Cooke, E. A., Sutaria, S. R., Balcom, D., Marimuthu, S., Parrish, L. W., Aliesky, H., Huang, J. J., Rai, S. N., Arnold, F. W., Huang, J., Nantz, M. H., & Fu, X.-A. (2024). Detection of COVID-19 by quantitative analysis of carbonyl compounds in exhaled breath. *Scientific Reports*, 14(1), Article 14568. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-61735-7>
8. Lomonaco, T., Romani, A., Ghimenti, S., Biagini, D., Bellagambi, F. G., Onor, M., ... Di Francesco, F. (2018). Determination of carbonyl compounds in exhaled breath by on-sorbent derivatization coupled with thermal desorption and gas chromatography–tandem mass spectrometry. *Journal of Breath Research*, 12(4), 046004. <https://doi.org/10.1088/1752-7163/aad202>
9. Xie, Z., Morris, J. D., Mattingly, S. J., Sutaria, S. R., Huang, J., Nantz, M. H., & Fu, X.-A. (2023). Analysis of a broad range of carbonyl metabolites in exhaled breath by UHPLC-MS. *Analytical Chemistry*, 95(9), 4344–4352. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c04604>
10. Preti, G., Thaler, E., Hanson, C. W., Troy, M., Eades, J., & Gelperin, A. (2009). Volatile compounds characteristic of sinus-related bacteria and infected sinus mucus: Analysis by solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, 877(22), 2011–2018. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2009.05.028>
11. Berna, A. Z., Merriman, J. A., Mellett, L., Parchment, D. K., Caparon, M. G., & Odom John, A. R. (2023). Volatile profiling distinguishes *Streptococcus pyogenes* from other respiratory streptococcal species [Preprint]. *ResearchGate*. <https://doi.org/10.1128/msphere.00194-23>
12. Remy, R., Kemnitz, N., Trefz, P., Fuchs, P., Bartels, J., Klemenz, A.-C., Rührmund, L., Sukul, P., Miekisch, W., & Schubert, J. K. (2022). Profiling of exhaled volatile organics in the screening scenario of a COVID-19 test center. *iScience*, 25(10), Article 105195. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2022.105195>
13. Żuchowska, K., & Filipiak, W. (2024). Modern approaches for detection of volatile organic compounds in metabolic studies focusing on pathogenic bacteria: Current state of the art. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 14(4), 100898. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2023.11.005>
14. Belizário, J. E., Faintuch, J., & Malpartida, M. G. (2022). Breath biopsy and discovery of exclusive volatile organic compounds for diagnosis of

- infectious diseases. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12, 934018. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.934018>
15. Seidl, E., Licht, J.-C., de Vries, R., Ratjen, F., & Grasmann, H. (2024). Exhaled breath analysis detects the clearance of *Staphylococcus aureus* from the airways of children with cystic fibrosis. *Biomedicines*, 12(2), 431. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12020431>
  16. Crone, E., Chou, H., Craster, A., Karaman, I., Boyle, B., Pocock, L., Allsworth, M., Gale, L., & Floto, A. (2024). VOC breath biomarkers for early detection and monitoring of acute pulmonary exacerbations in people with cystic fibrosis. *European Respiratory Journal*, 64(Suppl. 68), OA2909. <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2024.OA2909>
  17. Center for Devices and Radiological Health. (2024, May 31). In vitro diagnostics EUAs – Other tests for SARS-CoV-2. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/medical-devices/coronavirus-covid-19-and-medical-devices/vitro-diagnostics-euas-other-tests-sars-cov-2>
  18. Ahmed, W. M., Lawal, O., Nijssen, T. M., Goodacre, R., & Fowler, S. J. (2017). Exhaled volatile organic compounds of infection: A systematic review. *ACS Infectious Diseases*, 3(10), 695–710. <https://doi.org/10.1021/acsinfecdis.7b00088>
  19. Liangou, A., Tasoglou, A., Huber, H. J., Wistrom, C., Brody, K., Menon, P. G., Bebekoski, T., Menschel, K., Davidson-Fiedler, M., DeMarco, K., Salphale, H., Wistrom, J., Wistrom, S., & Lee, R. J. (2021). A method for the identification of COVID-19 biomarkers in human breath using proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry. *eClinicalMedicine*, 42, 101207. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101207>
  20. He, J., Zhong, R., Xue, L., Wang, Y., Chen, Y., Xiong, Z., Yang, Z., Chen, S., Liang, W., & He, J. (2024). Exhaled volatile organic compounds detection in pneumonia screening: A comprehensive meta-analysis. *Lung*, 202(5), 501–511. <https://doi.org/10.1007/s00408-024-00737-8>
  21. Schulz, E., Woollam, M., Grocki, P., Davis, M. D., & Agarwal, M. (2023). Methods to detect volatile organic compounds for breath biopsy using solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Molecules*, 28(11), 4533. <https://doi.org/10.3390/molecules28114533>

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И НУТРИЦЕВТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Камышева Е. С., Прокопчук К. Я., Рогожников А. Ю.

<https://elibrary.ru/vubofa>

### СЕЛЕН И ЦИНК: КЛЮЧЕВЫЕ МИКРОЭЛЕМЕНТЫ В ПОДДЕРЖАНИИ ИММУНИТЕТА

АО «ЭКОлаб», 142530, Электрогорск, Россия

*Селен + Цинк + Витамин С ЭКОлаб – биологически активная добавка разработанная предприятием АО «ЭКОлаб» в качестве дополнительного источника важнейших микроэлементов селена, цинка и витамина С. Входящие в состав добавки компоненты способствуют повышению защитных сил организма при повышенных физических и умственных нагрузках, в т.ч. в «сезон простуд», способствуют поддержанию здоровья кожи, волос, ногтей, стабилизации работы нервной системы, поддержанию репродуктивной функции мужчин и женщин, повышению антиоксидантной защиты клеток организма, защите организма от токсического действия тяжёлых металлов, нормализации функции щитовидной железы и надпочечников, нормализации кислотно-щелочного баланса, стабилизации обменных процессов в организме.*

**Ключевые слова:** селен+цинк+витамин С «ЭКОлаб»; селен; цинк; витамин С; иммунитет

**Для цитирования:** Камышева Е. С., Прокопчук К. Я., Рогожников А. Ю. Селен и цинк: ключевые микроэлементы в поддержании иммунитета. *Биотехнология в медицине и фармации*. 2025; 2 (2): 88–90.

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-88-90>

EDN: VUBOFA

**Для корреспонденции:** Рогожников А.Ю., руководитель НПО БАД, АО «ЭКОлаб», 142530, Московская обл., ул. Буденного д. 1а, e-mail: [ekolab-npo\\_bad@mail.ru](mailto:ekolab-npo_bad@mail.ru)

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

**Финансирование.** Исследование финансировалось АО «ЭКОлаб».

Поступила 04.06.2025

Принята к печати 10.07.2025

*Kamyshova E. S.; Prokopchuk K. Ya., Rogozhnikov A. Yu.*

### SELENIUM AND ZINC: KEY MICRONUTRIENTS IN MAINTAINING IMMUNITY

JSC «EKOLab», Russia, Elektrogorsk

*Selenium + Zinc + Vitamin C EKOLab is a dietary supplement developed by JSC EKOLab as an additional source of essential trace elements such as selenium, zinc, and vitamin C. The components in the supplement help to boost the body's defenses during periods of increased physical and mental stress, including during the "cold season," and contribute to maintaining healthy skin, hair, and nails, stabilizing the nervous system, supporting reproductive function in both men and women, enhancing the antioxidant protection of cells, protecting the body from the toxic effects of heavy metals, normalizing the function of the thyroid gland and adrenal glands, maintaining the body's acid-base balance, and stabilizing metabolic processes.*

**Key words:** selenium+Zinc+Vitamin C "EKOLAB"; selenium; zinc; vitamin C; immunity

**For citation:** Kamyshova E. S., Prokopchuk K. Ya., Rogozhnikov A. Yu. Selenium and zinc: key microelements in maintaining immunity *Biotekhnologiya v meditsine i farmatsii (Biotechnology in medicine and pharmacy)*. 2025; 2(2): 88-90 (in Rus.).

DOI: <https://doi.org/10.51620/3034-7211-2025-2-2-88-90>

EDN: VUBOFA

**For correspondence:** Rogozhnikov A. Yu., head of NPO BAD, "EKOLab" JSC, 142530, Moscow region, st. Budennogo 1a, e-mail: [ekolab-npo\\_bad@mail.ru](mailto:ekolab-npo_bad@mail.ru)

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

**Acknowledgement.** The study was funded by "EKOLab" JSC.

Received: 04.06.2025

Accepted: 10.07.2025

**Введение.** Роль микроэлементов в поддержании здоровья в целом и иммунитета в частности известна давно. Однако особое внимание врачей и исследователей они получили лишь в период пандемии. Цинк и селен являются одними из важнейших микроэlemen-

тов, обеспечивающих защиту организма от вирусов и бактерий. Цинк, селен и витамин С относят к микроэлементам так как содержание их в организме крайне мало. Так суточная норма потребления цинка для взрослого мужчины равна 12 миллиграммам, селена –

70 микрограммов, а витамина С – 90 миллиграммов в сутки. Однако несмотря на малое количество данные микроэлементы оказывают колоссальное влияние на организм человека.

#### **Материалы и методы.**

- научная электронная библиотека eLIBRARY.RU (<https://www.elibrary.ru/defaultx.asp>);

- научная электронная библиотека открытого доступа «КиберЛенинка» (<https://cyberleninka.ru/>);

- бесплатный исследовательский инструмент на базе искусственного интеллекта для научной литературы: Semantic Scholar (<https://www.semanticscholar.org/>);

- PubMed Central архив полнотекстовых биомедицинских публикаций со свободным доступом (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/>);

- Национальная медицинская библиотека (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov>).

**Результаты и обсуждение.** Наши тела могут исцеляться и сохранять телесные функции при инфицировании или травме. Эта сложная система известна как иммунная система, и ее благополучие можно определить как иммунное здоровье. Эта система полагается на баланс физических барьеров, таких как кожа, воспалительные и клеточные реакции, а также клеточная адаптация, поддерживая оптимальное иммунное здоровье. Когда этот баланс нарушается, иммунная система подвергается риску, и неблагоприятные последствия для здоровья, такие как болезни, становятся более вероятными.

Как и в случае с другими функциями организма, питание играет свою роль в иммунном здоровье, при этом определенные витамины и минералы играют важную роль в поддержке функции иммунной системы. Такие микроэлементы могут снизить вероятность заболевания или способствовать выздоровлению. «Селен+ цинк + витамин С ЭКОлаб» сочетает в себе важнейшие микроэлементы необходимые для корректной работы иммунной системы и обладающие научно доказанной способностью поддерживать ежедневное иммунное здоровье.

Действие цинка и селена в организме не ограничивается какой-то одной системой, микроэлементы входят в состав различных ферментов и белков, регулируют множество физиологических процессов. Оба обладают выраженными антиоксидантными свойствами - обеспечивают защиту от окислительного стресса, нейтрализуют свободные радикалы и продлевают срок активной жизнедеятельности клеток. Цинк и селен влияют на многие звенья иммунной системы, включая выработку защитных белков интерферонов и образование антител. В некоторых исследованиях показано, что микроэлементы способствуют снижению скорости размножения вируса. При достаточном их содержании в организме уменьшается выраженность острых и хронических воспалительных процессов.

Селен — это микроэлемент, участвующий в нормальной работе иммунной системы. Дефицит селена связан с неэффективной работой иммунных клеток. Селен входит в состав иммунорегулирующих белков, называемых селенопротеинами. Он также действует как антиоксидант, защищая клетки от окислительного стресса, вызванного свободными радикалами. Свободные радикалы — это нестабильные молекулы, которые повреждают клетки и способствуют воспалению. Селен участвует в метаболизме гормонов щитовидной

железы, является составной частью фермента глутатионпероксидазы, который обеспечивает защиту органа от окислительного повреждения. Поэтому его дефицит неминуемо приводит к нарушению функционирования иммунной, нервной, зрительной, репродуктивной и других функций. Селен крайне необходим для нормальной работы иммунитета, сердечно-сосудистой, нервной и репродуктивной систем. Микроэлемент способствует поддержке и стимуляции иммунитета — он повышает способность организма сопротивляться инфекциям, уменьшает воспаления, ускоряет выздоровление. Неспроста его высоко ценят онкологи — он защищает организм от некоторых видов опухолей, а также снижает смертность от рака

Цинк — важный минерал, участвующий в более чем 300 ферментативных реакциях в организме, включая те, которые задействованы в иммунной системе. Исследования показали, что высокие дозы цинка полезны для сокращения продолжительности и симптомов простуды и инфекций верхних дыхательных путей.

Поддерживать нормальную концентрацию этих минералов можно с помощью сбалансированного питания. Больше всего цинка содержится в красном мясе и курице, печени, морепродуктах, включая моллюсков, яйцах, кунжуте, тыквенных семечках и нуте. А основные источники селена — рыба, мясо, чеснок, грибы и субпродукты. Однако в условиях современного мира, когда качество продуктов питания значительно ухудшается, все чаще можно наблюдать нехватку важнейших микронутриентов. Наиболее эффективный способ восполнения нехватки микроэлементов — прием биологически активных добавок.

«Селен + Цинк + Витамин С ЭКОлаб» — это биологически активная добавка к пище содержащая в своем составе: фруктозу, экстракт плодов черники, селен, витамин С, цинк и натуральный ароматизатор. Состав добавки разработан таким образом, чтобы, закрывать до 100% суточной потребности селена и цинка в организме. При разработке биологически активного комплекса группа молодых ученых и технологов предприятия АО «ЭКОлаб» брали во внимание основные факторы влияющие на метаболизм селена и цинка, опирались на требования приложения 2 технического регламента таможенного союза ТР ТС 022/2011, а также учитывали рекомендации ФАО/ВОЗ относительно уровня потребления селена и цинка разными группами потребителей.

Наиболее распространенными являются БАДы на основе неорганических солей селена (селенатов и селенидов), синтетических органических производных, а также селенообогащенных дрожжей. Показано, что селенит натрия, несмотря на токсичность, является наиболее эффективным при необходимости быстрого восстановления активности селеносодержащих ферментов и одним из наиболее мощных антиканцерогенов в ряду производных селена.

При оценке качества сырья был использован электронный микроскоп «OLYMPUS CKX 53» для установления размера и элементарного состава микрочастиц. Процесс протекания реакций и индивидуальность полученных соединений на первоначальном этапе контролировался методом тонкослойной хроматографии (ТСХ). Качественный и количественный анализ используемого сырья осуществлялся по средствам мето-

да ГХ/МС и ВЭЖХ. В технологическом процессе приготовления витаминно-минерального комплекса используется сырье с высокой степенью биодоступности: «Селеновит С»- 100% ферментолитат хлебопекарных селенсодержащих дрожжей; бисглицинат Цинка. Продукт изготавливается путем смешивания в высокоскоростных биновых смесителях с последующей грану-

ляцией смеси при температуре в диапазоне 40 – 50оС

Фасовка продукции производится в помещениях с классом чистоты «Д» в соответствии с ТР ТС 021/2011; ГОСТ Р ИСО 14644-1-2017 и ГОСТ Р 52249-2009

В таблице 1 приведены данные о содержании биологически активных веществ в 1 порции биологически активной добавки «селен+ цинк + витамин С ЭКОлаб».

Таблица 1.

Содержание биологически активных веществ

Наименование БАВ	Содержание в 1 саше, 10 г (мг)	Уровень суточного потребления %*
Витамин С (аскорбиновая кислота)	100	166*
Цинк		100*
Селен		93*

Неоспоримым преимуществом препарата в сравнении с конкурентами является наличие в составе витамина С.

Витамин С помогает усвоению селена в организме. Аскорбиновая кислота способна разлагать селенит до атомарного селена, который в отсутствие других нутриентов является биологически инертным. Помимо этого витамин С благоприятно влияет на усвоение цинка.

Витамин С – это сильнейший иммуностимулятор и природный антиоксидант.

К функциям витамина С в организме относятся: укрепление иммунитета, предотвращение развития хронических заболеваний.

**Заключение.** Селен и цинк являются крайне важными микроэлементами и играют важную роль в поддержании здоровья. Регулярное получение этих элементов из пищи или при помощи биологически активных добавок необходимо для нормального функционирования многих систем организма.

#### ЛИТЕРАТУРА (п. 1-3 см. REFERENCES)

4. Затевалов А.М., Гашенко В.И., Гудова Н.В., Гречишников О.Г. Биотехнология в медицине и фармации, 2025; 1: 16-25
5. Белоусов Е. А. Маркетинговый анализ ассортимента продукции компании ЗАО "ЭКОЛАБ" / Е. А. Белоусов, М. Ю. Пальников, М. М. Карасев [и др.]. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация.* 2022; 3: 29-38.
6. Борисов В. В. Микроэлементы селен и цинк в организме женщины и мужчины: проблемы и решения. *Consilium Medicum.* 2018; 7.

7. Косюра С. Д., Витаминно-минеральные комплексы, содержащие Селен и Цинк. Косюра С. Д., Ливанцова Е. Н., Вараева Ю. Р., Копелев А. А., Червякова Ю. Б., Стародубова А. В. *Лечебное дело.* 2019; 1.
8. Рогожников А. Ю. Линейка продуктов компании АО «Эколаб» А. Ю. Рогожников, Е. П. Рогожникова, В. А. Киселева. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация.* 2023; 3: 24-29.

#### REFERENCES

1. Daragó A. The Effect of Zinc, Selenium, and Their Combined Supplementation on Androgen Receptor Protein Expression in the Prostate Lobes and Serum Steroid Hormone Concentrations of Wistar Rats. Daragó A, Klimczak M, Stragierowicz J, Stasikowska-Kanicka O, Kilanowicz A. *Nutrients.* 2020; 12 (1):153.
2. Huang Z. The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities / Huang Z, Rose AH, Hoffmann PR. *Antioxid Redox Signal.* 2012; 16(7):705-43.
3. Shrimpton D.H. Micronutrients and their interactions. *RMJ.* 2008; 7:453.
4. Zatevalov AM, Gashchenko VI, Gudova NV, Grechishnikova OG *Biotechnology in Medicine and Pharmacy,* 2025; 1: 16-25
5. Belousov EA Marketing analysis of the product range of ЗАО EKOLAB / EA Belousov, MY Palchikov, MM Karasev [et al.]. *Izvestiya GGTU. Medicine, Pharmacy.* 2022; 3: 29-38.
6. Borisov VV Microelements Selenium and Zinc in the Body of Women and Men: Problems and Solutions. *Consilium Medicum.* 2018; 7.
7. Kosyura SD, Vitamin and Mineral Complexes Containing Selenium and Zinc. Kosyura S. D., Livancova E. N., Varaeva Yu. R., Kopelev A. A., Chervyakova Yu. B., Starodubova A. V. *General Medicine.* 2019; 1.
8. Rogozhnikov A. Yu. Product Line of JSC Ecolab A. Yu. Rogozhnikov, E. P. Rogozhnikova, V. A. Kiseleva. *News of GGTU. Medicine, Pharmacy.* 2023; 3: 24-29.

## ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ И НУТРИЦЕВТИЧЕСКИЕ ТЕХНОЛОГИИ



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Рогожникова Е.П.<sup>1</sup>, Высокос Я.Р.<sup>1,2</sup>, Гарина В.А.<sup>1,2</sup>

<https://elibrary.ru/grqrcq>

### МОЛОДОСТЬ И КРАСОТА С ЛИНЕЙКОЙ ПРОДУКТОВ СОДЕРЖАЩИХ КОЛЛАГЕН, ГИАЛУРОНОВУЮ КИСЛОТУ, ВИТАМИН С И РЕСВЕРАТРОЛ ОТ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ КОМПАНИИ АО «ЭКОЛАБ»

<sup>1</sup> АО «ЭКОлаб», 142530, Электрогорск, Россия;

<sup>2</sup> ГОУВО МО «Государственный гуманитарно-технологический университет» (ГОУ ВО МО «ГТТУ»), 142611, г. Орехово-Зуево, Россия

*В современном мире актуально получение продуктов из сырья, созданного природой, которые обладают мягким биологическим действием, не являются токсичными и не имеют побочных действий. Современные научные исследования подтверждают необходимость для поддержания здоровья, красоты и молодости поступления в организм человека веществ, которые стимулируют, способствуют нормализации и активируют функции всех органов и систем. Современный темп жизни человека не позволяет соблюдать баланс в пище, что приводит к дефициту жизненно важных комплексов биологически активных веществ и как следствие снижение иммунитета и рост риска возникновения большинства известных заболеваний. Прием БАД каждый день помогает скорректировать химический состав пищи и обеспечить нас необходимым количеством макро- и микроэлементов, благодаря чему организм может сам настроиться и устранить нарушения, приводящие к развитию того или иного заболевания. Положительные биологические эффекты накапливаются при длительном применении добавок. Одними из таких добавок для поддержания красоты и молодости, присутствующих на российском рынке является линейка продуктов содержащих коллаген и гиалуроновую кислоту «Коллаген + гиалуроновая кислота + витамин С ЭКОлаб», «Коллаген Anti AGE ЭКОлаб», «Коллаген Anti AGE + ресвератрол ЭКОлаб», «Коллаген Артро ЭКОлаб».*

**Ключевые слова:** коллаген; гиалуроновая кислота; витамин С; ресвератрол; иммунитет

**Для цитирования:** Рогожникова Е.П., Высокос Я.Р., Гарина В.А. Молодость и красота с линейкой продуктов содержащих коллаген, гиалуроновую кислоту, витамин с и ресвератрол от фармацевтической компании АО «ЭКОлаб». Биотехнология в медицине и фармации. 2025; 2(2): 91-96.

DOI: <https://doi.org/10.51620/10.51620/3034-7211-2025-2-2-91-96>

EDN: GRQRCQ

**Для корреспонденции:** Рогожникова Е.П., директор производства ГЛС АО "ЭКОлаб"; e-mail: [ekolab-rogozhnikova@mail.ru](mailto:ekolab-rogozhnikova@mail.ru)

**Финансирование.** Исследование финансировалось АО «ЭКОлаб».

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

Поступила 02.06.2025

Принята к печати 11.07.2025

Rogozhnikova E.P.<sup>1</sup>, Vysokos Ya.R.<sup>1,2</sup>, Garina V.A.<sup>1,2</sup>

### YOUTH AND BEAUTY WITH A LINE OF PRODUCTS CONTAINING COLLAGEN, HYALURONIC ACID, VITAMIN C AND RESVERATROL FROM THE PHARMACEUTICAL COMPANY JSC EKOLAB

<sup>1</sup> JSC "EKOlab", 142530, Elektrogorsk, Russia;

<sup>2</sup> State educational institution of higher education of the Moscow region «State Humanitarian University of Technology» (GGTU), 142611, Orekhovo-Zuyevo, Russia

*In the modern world, it is important to obtain products from raw materials created by nature, which have a mild biological effect, are non-toxic and have no side effects. Modern scientific research confirms the need for the human body to receive substances that stimulate, promote normalization and activate the functions of all organs and systems in order to maintain health, beauty and youth. The modern pace of human life does not allow us to maintain a balance in food, which leads to a deficiency of vital complexes of biologically active substances and, as a result, a decrease in immunity and an increased risk of most known diseases. Taking dietary supplements every day helps to adjust the chemical composition of food and provide us with the necessary amount of macro- and microelements, so that the body can adjust itself and eliminate the disorders that lead to the development of a particular disease. Positive biological effects accumulate with prolonged use of supplements. One of such supplements for maintaining beauty and youth present on the Russian market is the product line containing collagen and hyaluronic acid "Collagen + hyaluronic acid + vitamin C EKOLab", "Collagen Anti AGE EKOLab", "Collagen Anti AGE + resveratrol EKOLab", "Collagen Arthro EKOLab".*

**Key words:** collagen; hyaluronic acid; vitamin C; resveratrol; immunity

**For citation:** Rogozhnikova E.P., Vysokos Ya.R., Garina V.A. Youth and beauty with a line of products containing collagen, hyaluronic acid, vitamin C and resveratrol from the pharmaceutical company JSC "EKOlab". Biotechnology in medicine and pharmacy. 2025; 2(2): 91-96.

DOI: <https://doi.org/10.51620/10.51620/3034-7211-2025-2-2-91-96>

EDN: GRQRCQ

**For correspondence:** Rogozhnikova E.P., director of drug production at "EKOlab" JSC; e-mail: [ekolab-rogozhnikova@mail.ru](mailto:ekolab-rogozhnikova@mail.ru)

**Information about authors:**

Rogozhnikova E.P., <https://orcid.org/0000-0002-8725-4673>

Vysokos Ya.R., <https://orcid.org/0009-0003-3620-2405>

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

**Acknowledgment.** *The study was funded by "EKOLab" JSC.*

Received 02.06.2025

Accepted 11.07.2025

В последнее время все чаще встает вопрос о сохранении здоровья, продления красоты и молодости как можно дольше. Много разработок в этом направлении ведется учеными всех стран, внедряются современные технологии с учетом достижений науки и техники. Для предупреждения преждевременного старения и поддержания работы всех систем и органов в организме человека необходимо наличие таких активных веществ, как витамин С, гиалуроновая кислота, коллаген и ресвератрол. Коллаген и гиалуроновая кислота относятся к группе биологически активных веществ, не оказывающих вредного воздействия на здоровье человека.

Стабильно развивающееся на протяжении более 35 лет фармацевтическое предприятие АО «ЭКОлаб» за последнее время освоило выпуск линейки продуктов содержащих коллаген и гиалуроновую кислоту: «Коллаген + гиалуроновая кислота + витамин С ЭКОлаб», «Коллаген Anti AGE ЭКОлаб», «Коллаген Anti AGE + ресвератрол ЭКОлаб», «Коллаген Артро ЭКОлаб». Разработка сбалансированного состава, технологии изготовления и промышленный выпуск основан на современных научных знаниях о функциональных продуктах питания в области фармации и нутрицевтики [1-3].

Старение – биологический процесс, характеризующийся обменными, структурными и функциональными дегенеративными изменениями клеточных структур тканей и последующим сужением физиологических функций [4]. Эти изменения сначала едва заметны, но с течением времени происходят важные структурные и функциональные изменения. Процесс старения сопровождается формированием сцепленных с ним болезней [5].

Эти изменения у людей одного и того же возраста имеют существенные различия, связанные с индивидуальностью и своеобразием каждого организма. Активность нервной, сердечнососудистой, дыхательной, иммунной и других систем, а также образ жизни, физическая активность, характер питания, вредные привычки, стресс, условия окружающей среды так же существенно влияют на старение организма в целом и на отдельные системы и органы.

Больше всего проявления старения заметны на коже, которая является системой защиты организма от воздействия любых факторов окружающей среды. Возрастные изменения кожи у человека наблюдаются как истончение и сухость кожи, уменьшение объема дермы, снижение эластичности, появляются мелкие морщины, складчатость [6, 7]. «Старение клеток» является определенным итогом реализации их генетической программы. Наблюдается снижение биосинтетической активности клеток соединительной ткани (фибробластов) в организме уже во второй декаде жизни и с различной динамикой продолжается вплоть до старости. Постепенно в результате естественных процессов в ор-

ганизме уменьшается численности активных в отношении биосинтетических процессов клеток. Количество фибробластов в верхнем слое кожи человека к 31-40 годам снижается вдвое по сравнению с первой декадой жизни. Как результат понижается продукция структурных компонентов внеклеточного матрикса - коллагена, эластина, протеогликанов [8, 9].

Коллаген - фибриллярный белок животных, составляющий основу соединительной ткани организма (сухожилие, кость, хрящ, дерма и т. п.) и обеспечивающий её прочность и эластичность. Коллаген - самый распространённый белок у млекопитающих и составляет от 25 % до 45 % белков во всём теле. Синтез коллагена очень энергозатратен и происходит только у животных, которые используют кислород.

Сегодня ученым известно более 25 типов коллагена, однако 90% коллагена в организме человека относятся к 5-и основным типам:

- коллаген I типа - составляет почти 90% коллагена, входит в состав сухожилий, органов и костей;
- коллаген II типа - фибриллярный коллаген, это основной белок хрящевой ткани. Способствует торможению деградации ткани хряща, тормозит старение костной ткани за счет уменьшения активности воспаления и окислительного стресса [10];
- коллаген III типа - входит в состав хрящей коленей, плеч и других суставов;
- коллаген IV типа - это основной тип хряща ретикулярных волокон. Он обычно встречается там же, где и коллаген I типа;
- коллаген V типа - формирует волосы и является компонентом кожи. Коллаген V типа представляет собой форму фибриллярного коллагена, он обнаруживается в дермально-эпидермальном соединении, плацентарных тканях, а также в сочетании с тканями, содержащими коллаген I типа.

Самым грозным врагом коллагена является время: где-то после 35 - 40 лет его выработка начинает уменьшаться и процессы восстановления в коже, суставах и костях начинают страдать. Также ускоряют потерю коллагена излучение, курение и различные диетические ограничения, например питание с высоким содержанием углеводов (фаст-фуд) или низким содержанием антиоксидантов [11, 12].

Научные исследования показали, что дополнительный прием коллагена может быть полезен для оптимального здоровья суставов и помогает укреплять кости, поддерживать здоровье кожи, волос, ногтей. Это белок показан для профилактики артрита, остеопороза, возрастных нарушений и заболеваний суставов и мышц, старения кожи, морщин, целлюлита и даже — сердечно-сосудистых заболеваний и преждевременного старения. Необходим коллаген и при высоких

нагрузках на скелет, кости и мышцы — при занятиях спортом и фитнесом, в подростковом периоде, после травм и операций.

Добавки с коллагеном, как правило, состоят из следующих аминокислот, которые ученые разделяют на три категории:

- незаменимые аминокислоты – организм их получает с пищей, поскольку они не вырабатываются самим организмом. К числу таких аминокислот относятся лизин, серин, треонин, лейцин, валин, фенилаланин, метионин, изолейцин, гистидин и гидроксипролин;

- условно-незаменимые аминокислоты - организм обычно может вырабатывать самостоятельно, но в состоянии стресса, воздействии вредных факторов среды он не способен выработать достаточный объем данных кислот. К их числу относятся глицин, пролин, глутамин (глутаминовая кислота), аланин и тирозин;

- заменимые аминокислоты - организм способен самостоятельно вырабатывать их. К этим аминокислотам относятся гидроксипролин, аргинин, а также аспарагиновая кислота.

Сфера применения коллагеновых препаратов крайне широка: она охватывает, как минимум, пищевую, фармацевтическую, химическую, косметическую промышленности и производство кормов.

Все большую популярность набирает применение коллагена в производстве продуктов питания функционального назначения, разнообразных БАДов для спортивного, профилактического и повседневного употребления. Высокая способность коллагена к адсорбции других соединений, включая витамины, биологически активные вещества, открывает широкие перспективы создания продуктов в жидкой форме специализированного и функционального назначения на основе растворимых форм коллагена.

Коллаген V типа присутствует в костном матриксе, строге роговицы, интерстициальном матриксе мышц, печени, лёгких и, особенно, плаценты. Следует отметить, что морской коллаген характеризуется меньшей молекулярной массой по сравнению с коллагеном наземных животных, при использовании в косметологии размер молекулы является одним из важнейших параметров, определяющих возможность проникновения через роговой слой эпидермиса, которая зависит от количества поперечных связей и относительного содержания аминокислот. Кроме того, количество поперечных связей в молекулах коллагена растёт с возрастом животного, у рыб же большинство тканей обновляется ежегодно, в связи с чем в них не отмечается высокое содержание поперечносвязанных белков, что позволяет им проявлять высокий уровень способности удерживать влагу по сравнению с белками высших животных, большей абсорбирующей способностью. [12, 13].

Морской коллаген по сравнению с коллагеном наземных животных отличается, меньшей загрязнённостью токсинами и контаминантами, меньшей раздражающей способностью.

Растворимые формы коллагена получают из сырья рыбного происхождения при тщательном подборе и научном обосновании технологических режимов. В этом случае жидкие коллагеновые дисперсии отличаются более простой пространственной структурой и способны к растворению, обладают нейтральным запахом и

вкусом, прекрасно совмещаются с пищевыми ингредиентами и практически полностью усваиваются в желудочно-кишечном тракте человека.

Гиалуроновая кислота представляет собой неразветвленный линейный полимер, построенный из повторяющихся дисахаридных фрагментов, которые включают D-глюкуроновую кислоту и N-ацетилглюкозамин, соединенные  $\beta$ -1,4- и  $\beta$ -1,3-гликозидными связями. Гидрофильные функциональные группы молекулы гиалуроновой кислоты обуславливают хорошую растворимость в воде. Гиалуроновая кислота во внеклеточном матриксе соединительной ткани находится в свободном состоянии, не образует ковалентных связей с белками, не подвергается химической модификации после биосинтеза, имеет высокую молекулярную массу. Внеклеточный матрикс представляет собой коллоидную систему, которая объединяет все внутриклеточные структуры и является местом осуществления многих процессов метаболизма. Это основа соединительной ткани, в том числе является компонентом жидких соединительных тканей (кровь, лимфа), которая обеспечивает механическую поддержку клеток, межклеточные взаимодействия, транспорт химических веществ, движение клеток и биомеханические функции заполнения, фильтра, смазки [14, 15]. Гиалуроновая кислота непосредственно определяет такие функции как водоудерживающая способность, ионный обмен, избирательная по молекулярной массе скорость транспорта веществ. Небольшие молекулы, в частности молекулы воды, электролитов, питательных веществ, конечных продуктов энергетического обмена клеток свободно проникают через макромолекулу гиалуроновой кислоты, а большие молекулы - например, белки задерживаются. По этой же причине внеклеточный матрикс непроницаем для микроорганизмов и высокомолекулярных токсинов.

Гиалуроновая кислота входит в состав и обнаруживается в значительных количествах в хрящах, костях, мышцах, почках, связках, легких, мозге, коже, сухожилиях, в синовиальной жидкости на поверхности суставов и в клапанах сердца человека. Является пищевым компонентом. По своей химической структуре представляет собой линейный полисахарид. Молекула кислоты обладает высокой поглощательной способностью, за счет этого обеспечивается оптимальный уровень насыщения тканей водой, что способствует повышению устойчивости кожи к внешним механическим нагрузкам. Гиалуроновая кислота участвует в организации белкового каркаса кожи: к ее линейной молекуле с помощью связующих белков присоединяются молекулы коллагена и эластина, образуя трехмерный каркас, что обуславливает поддержание внутреннего объема. С ее участием формируются сети коллагеновых волокон типов I, III, IV, VII. Гиалуроновая кислота это сигнальная молекула, она оказывает воздействие через определенные рецепторы клеточной мембраны на различные функции клеток [10]. Благодаря уникальным вязкоупругим свойствам и способности к деформации эта кислота выполняет важную физиологическую роль в живых организмах - облегчает разделение и миграцию клетки, влияет на регулирование процесса программируемой гибели клеток и на подвижность клеток.

В синовиальной жидкости, концентрация гиалуроната обеспечивает необходимую смазку и служит как

амортизатор удара, уменьшая трение движущихся костей и износ сустава. При старении большая часть кислоты оказывается связанной с белками, из-за чего снижаются ее гидрофильность и гигроскопичность, что ведет к изменению вязкости внеклеточного матрикса, снижению уровня его гидратации. Меняется структура и метаболизм белковых молекул, ухудшаются амортизирующие свойства, и как следствие боли в суставах и снижение их подвижности.

Таким образом, она играет системную роль, замедляя старение и предотвращая заболевания суставов. Поддержание оптимальных концентраций гиалуроновой кислоты в синовиальной жидкости предотвращает потерю протеогликанов суставным матриксом. Многочисленными исследованиями подтверждено, что данная кислота модулирует процесс заживления ран, пролиферацию и миграцию клеток, проявляет антиоксидантную активность. Нанесение на кожу снимает болезненность, и отек в области выраженного воспаления значительно уменьшается.

Прием гиалуроновой кислоты в качестве добавки к пище увеличивает концентрацию собственной кислоты в коже и соединительных тканях [16-18].

Витамин С (аскорбиновая кислота) является одним из основных веществ в рационе человека, которое необходимо для нормального функционирования соединительной и костной тканей. В организме аскорбиновая кислота это антиоксидант, который инактивирует свободные радикалы, предохраняя мембраны клеток от повреждающего действия перекисного окисления. Способствует абсорбции железа, влияет на образование гемоглобина и созревание эритроцитов, необходим для образования коллагена, активизирует деятельность желез внутренней секреции, стимулирует гуморальный и клеточный иммунитет, синтез интерферона и выработку антител, оказывает противовоспалительное и противоаллергическое действие.

Ресвератрол - природное соединение, которое содержится в красном винограде, относится к группе растительных полифенолов. Это мощный антиоксидант, который препятствует развитию окислительного стресса и замедляет процессы старения [19, 20].

Среди многочисленных позитивных эффектов ресвератрола — нормализация клеточного обмена и усиление транспорта кислорода, регуляция жирового обмена в печени, укрепление сосудистой стенки и снижение ее проницаемости, улучшение реологических показателей крови, противоаллергическое, радиопротекторное, противовоспалительное, антитромботическое, нейропротекторное, противораковое и сосудорасширяющее действие, защищает хрящевую ткань, задерживает старение организма.

В настоящее время есть данные по клиническим испытаниям ресвератрола, в ведущих институтах и клиниках мира (цит. по источнику US National Institute of Health; [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)) [20]. Было подтверждено, что употребление ресвератрола (250 - 500 мг/сут) усиливает мозговое кровообращение у взрослых людей. Кроме того, введение этого соединения модулирует функции мозга у здоровых пожилых людей, улучшая метаболизм глюкозы. Исследования показали, что продукты, богатые ресвератролом, оказывают защитный эффект при возрастных заболеваниях - атеросклероз,

рак, артрит, катаракта, остеопороз, ожирение, сахарный диабет 2-го типа, болезнь Альцгеймера [21].

В течение жизни происходят качественные возрастные изменения фибриллярных белков дермы – коллагена, эластина, фибриллина. Эти изменения касаются системы межмолекулярных поперечных связей. Так, в коллагенах уменьшается количество восстанавливаемых связей, возрастает количество соединений, возникающих при неферментативном гликозилировании. AGE (advanced glycation end-products) - это конечные продукты реакции между сахарами (глюкоза, фруктоза и др.) и свободными аминогруппами фибриллярных белков, протекающая без участия ферментов, что приводит к накоплению их в организме. Основное токсическое действие конечных продуктов гликирования (AGE) связано с образованием поперечных сшивок между молекулами клеточных полимеров, что вызывает внутренние повреждения в клетках и в конечном итоге гибель клетки. Они являются одним из факторов старения, развития или осложнения многих заболеваний: диабет, атеросклероз, хроническая болезнь почек и болезнь Альцгеймера. AGE накапливаются и достигают в старческом возрасте значительной степени. Важно, что эти поперечные связи образуются хаотично, влияют на образование свободных кислородных радикалов, растворимости (понижают), жесткость (повышают) и резистентность к катализируемому ферментами процессу гидролиза белков. Такая модификация коллагена снижает взаимодействие с клетками кожи, связывание коллагеновых фибрилл, нарушаются адгезия и миграция клеток. В культуре фибробластов AGE угнетают деление клеток, а при длительном соприкосновении AGE с клетками вызывает гибель, угнетается синтез коллагена, кадгерина, фибронектина. Конечные продукты AGE, накапливаясь, способствуют развитию изменений, свойственных старению. Неферментативному гликированию в большей степени подвергается коллаген [15]. Формированию и предотвращению негативных эффектов конечных продуктов гликирования (AGE) препятствуют витамины С и группы В, таурин, карнозин, природные фенолы, такие как ресвератрол.

Компоненты линейки нутрицевтиков находятся в растворенном виде, что способствует их усвоению в неизменном виде. Разработан сбалансированный состав, основанный на научных знаниях и опыте применения «Коллаген + гиалуроновая кислота + витамин С ЭКОлаб» [22, 23]. Неденатурированный морской коллаген I-III типа с сохраненной структурой молекулы и эффективностью при минимальных дозах – от 50 мг для суставов, ногтей, волос, кожи и нормализации веса. Он получен из тканей глубоководных моллюсков, не содержит пестицидов, вирусов и гормонов. В составе присутствуют 18 аминокислот, в том числе 6 незаменимых. Коллаген замедляет старение, укрепляет кости, способствуют быстрой регенерации поврежденных клеток организма. Гиалуроновая кислота служит адсорбентом для выведения токсинов из организма, поддерживает упругость, эластичность и мягкость кожи, сухожилий и связок, обеспечивает защиту от воспалительных процессов. Витамин С антиоксидант и жизненно важный кофермент в биосинтезе коллагена.

«Коллаген Anti AGE ЭКОлаб» изготовлен из коллагена V типа с научно доказанной эффективностью

и нулевой цитотоксичностью. Коллаген оказывает стимулирующее клеточное обновление верхних слоев эпидермиса, способствуют дополнительной выработке коллагена, что в свою очередь формирует подкожный каркас для упругости и гладкости кожи, борется с сухостью кожи, уменьшает пигментацию, укрепляет волосы и ногти, повышает клеточное обновление и активность фибробластов.

«Коллаген Anti AGE + ресвератрол ЭКОлаб» - специально разработанный продукт, содержащий сбалансированный комплекс биологически активных компонентов, имеющих огромное значение для функционирования всех систем и оказывающий стимулирующее влияние на организм, повышающий его адаптационные возможности, проявляет потенцированное действие и усиливает положительное действие на организм коллагена V типа, гиалуроновой кислоты и ресвератрола.

«Коллаген Артро ЭКОлаб» научно обоснованный и сбалансированный состав продукта направлен на поддержание и здоровье суставов и сухожилий, борется с возрастными изменениями в жидкости, заполняющей полости суставов, обеспечивая смазку и амортизацию от удара, снижая трение и износ сустава. Эффект достигается благодаря инновационному компонентному составу из таких биологически активных компонентов как: коллаген I и II типа, гиалуронат натрия, витамин C (L-аскорбиновая кислота), хондроитина сульфат.

Многокомпонентный состав из биологически активных веществ, способствует увеличению желаемого эффекта, ускорению и усилению его наступления, снижению возможных побочных действий.

Линейка продуктов фармацевтического предприятия «ЭКОлаб» выпускается для людей, которые заботятся о своем здоровье, интересуются современными достижениями науки и ценят высокое качество.

#### ЛИТЕРАТУРА (п.п. 7, 8, 10-12, 15, 21 с.м. REFERENCES)

1. Рогожников А.Ю., Рогожникова Е.П., Киселева В.А. Линейка продуктов компании АО «ЭКОлаб». *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2023; 3: 24–29.
2. Помазанов В.В., Марданлы С.Г., Киселева В.А. [и др.] Биологически активные добавки. Разработка и маркетинг. *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2020; 4: 247–255.
3. Высокос Я.Р. Применение биологически активных добавок для профилактики цистита. *Биотехнология в медицине и фармации*. 2025; 2 (1): 39–43.
4. Кубанова А.А., Смольяникова В.А., Служаева Н.Г. Старение кожи и возможности коррекции препаратом коллагена. *Вестник дерматологии и венерологии*. 2007; 5: 70–73.
5. Ястребов А.П., Мещанинов В.Н. Старение, перекисное окисление липидов и биовозраст. Екатеринбург: Урал. следопыт; 2005. 217 с.
6. Смирнова Г.О. [и др.] Прогнозирование результатов эстетических вмешательств по механизмам старения кожи и соотношению коллагена I-III типов. *Фундаментальные исследования*. 2012; 7 (1): 190–194.
9. Гунин А.Г. Возрастные изменения численности и пролиферации фибробластов в коже человека. *Успехи геронтологии*. 2011; 24 (1): 43–47.
13. Казакова В.С., Землякова Е.С. Источники получения гиалуроновой кислоты. В: Материалы VII Международного Балтийского морского форума: в 6 т. Том 4. Калининград: Калининградский государственный технический университет; 2019. С. 64–69.
14. Громова О.А., Торшин И.Ю., Лила А.М., Шавловская О.А. О перспективах использования неденатурированного коллагена II типа в терапии остеоартрита и других заболеваний суставов. *Современная ревматология*. 2022; 16 (4): 111–116.
16. Рачкова Н.А., Соклаков В.В., Воротников Б.Ю. Биоэкологический потенциал морского плацентарного коллагена в косметологии. *Известия КГТУ*. 2022; 65: 66–80.
17. Рачкова Н.А., Соклаков В.В., Воротников Б.Ю. Подходы к решению проблемы определения достаточности очистки морского плацентарного коллагена. *Известия КГТУ*. 2022; 64: 108–118.
18. Базарный В.В. Иммунная система кожа. *Мезотерапия*. 2011; 2: 4–11.
19. Хабаров В.Н., Бойков П.Я., Селянин М.А. Гиалуроновая кислота: получение, свойства, применение в биологии и медицине. М.: *Практическая медицина*; 2012. 164 с.
20. Генералов И.И., Коротина О.Л., Моисеева А.М. [и др.] Оценка антимикробной активности ресвератрола и ресвератрол-содержащих экстрактов, полученных из местных растительных источников. В: Актуальные проблемы микробиологии, вирусологии, иммунологии: Материалы юбилейной науч.-практ. конф. Минск: БГМУ; 2018. С. 33–37.
22. Балакин В.Д. Биологически активные добавки на российском рынке: получение, свойства, применение в биологии и медицине. М.: *Практическая медицина, фармация*. 2023; 2: 63–66.
23. Данилова Д.И. Результат продвижения на маркетплейсах биологически активных добавок и спортивного питания (итоги 2022 года). *Известия ГГТУ. Медицина, фармация*. 2023; 1: 20–23.

#### REFERENCES

1. Rogozhnikov A.Yu., Rogozhnikova E.P., Kiseleva V.A. Product line of JSC "EKOlab" company. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya* [Proceedings of GGTU. Medicine, Pharmacy]. 2023; 3: 24–29 (in Russ.).
2. Pomazanov V.V., Mardany S.G., Kiseleva V.A. [et al.] Dietary supplements. Development and marketing. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya* [Proceedings of GGTU. Medicine, Pharmacy]. 2020; 4: 247–255 (in Russ.).
3. Vysokos Ya.R. The use of dietary supplements for the prevention of cystitis. *Biotehnologiya v meditsine i farmatsii* [Biotechnology in Medicine and Pharmacy]. 2025; 2 (1): 39–43 (in Russ.).
4. Kubanova A.A., Smolyannikova V.A., Sluzhaeva N.G. Skin aging and possibilities of correction with collagen preparation. *Vestnik dermatologii i venerologii* [Bulletin of Dermatology and Venereology]. 2007; 5: 70–73 (in Russ.).
5. Yastrebov A.P., Meshchaninov V.N. Aging, lipid peroxidation and biological age. Yekaterinburg: *Ural. sledopyt*; 2005. 217 p. (in Russ.).
6. Smirnova G.O. [et al.] Prediction of aesthetic intervention results based on skin aging mechanisms and collagen I-III ratio. *Fundamental'nye issledovaniya* [Fundamental Research]. 2012; 7 (1): 190–194 (in Russ.).
7. Arnesen S.M., Lawson M.A. Age-related changes in focal adhesions lead to altered cell behavior in tendon fibroblasts. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2006; 127 (9): 726–732.
8. Simpson R.M. [et al.] Aging fibroblasts resist phenotypic maturation because of impaired hyaluronan-dependent CD44/epidermal growth factor receptor signaling. *The American Journal of Pathology*. 2010; 176 (3): 1215–1228.
9. Gunin A.G. [et al.] Age-related changes in the number and proliferation of fibroblasts in human skin. *Uspekhi gerontologii* [Advances in Gerontology]. 2011; 24 (1): 43–47 (in Russ.).
10. Lee J.J., Spicer P.A. Hyaluronan: multifunctional megadalton, stealth molecule. *Current Opinion in Cell Biology*. 2000; 12: 582–586.
11. Robert L. Hyaluronan, a truly "youthful" polysaccharide. Its medical applications. *Pathologie Biologie*. 2015; 63 (1): 32–34.
12. Duterme C. [et al.] Two novel functions of hyaluronidase-2 are formation of the glycocalyx and control of CD44-ERM interactions. *Journal of Biological Chemistry*. 2009; 284 (48): 33495–33508.
13. Kazakova V.S., Zemlyakova E.S. Sources of hyaluronic acid production. In: Proceedings of the VII International Baltic Sea Forum: in 6 vols. Vol. 4. Kaliningrad: Kaliningrad State Technical University; 2019. P. 64–69 (in Russ.).
14. Gromova O.A., Torshin I.Yu., Lila A.M., Shavlovskaya O.A. Prospects for the use of undenatured type II collagen in the therapy of osteoarthritis and other joint diseases. *Sovremennaya revmatologiya* [Modern Rheumatology]. 2022; 16 (4): 111–116 (in Russ.).
15. Reigle K.L. [et al.] Non-enzymatic glycation of type I collagen diminishes collagen-proteoglycan binding and weakens cell adhesion. *Journal of Cellular Biochemistry*. 2008; 104 (5): 1684–1698.
16. Rachkova N.A., Soklakov V.V., Vorotnikov B.Yu. Biocological potential of marine placental collagen in cosmetology. *Izvestiya KGTU*. 2022; 65: 66–80 (in Russ.).

17. Rachkova N.A., Soklakov V.V., Vorotnikov B.Yu. Approaches to solving the problem of determining the sufficiency of purification of marine placental collagen. *Izvestiya KGTU*. 2022; 64: 108–118 (in Russ.).
18. Bazarny V.V. Immune system skin. *Mezoterapiya*. 2011; 2: 4–11 (in Russ.).
19. Khabarov V.N., Boykov P.Ya., Selyanin M.A. Hyaluronic acid: production, properties, application in biology and medicine. Moscow: *Prakticheskaya meditsina*; 2012. 164 p. (in Russ.).
20. Generalov I.I., Korotina O.L., Moiseeva A.M. [et al.] Evaluation of antimicrobial activity of resveratrol and resveratrol-containing extracts obtained from local plant sources. In: Current problems of microbiology, virology, immunology: Proceedings of the jubilee scientific-practical conference. Minsk: BSMU; 2018. P. 33–37 (in Russ.).
21. Wahab A., Gao K., Jia C., Zhang F., Tian G., Murtaza G., Chen J. Significance of Resveratrol in Clinical Management of Chronic Diseases. *Molecules*. 2017; 22 (8): 1329.
22. Balakin V.D. Dietary supplements on the Russian market. *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2023; 2: 63–66 (in Russ.).
23. Danilova D.I. Results of promotion of dietary supplements and sports nutrition on marketplaces (results of 2022). *Izvestiya GGTU. Meditsina, farmatsiya*. 2023; 1: 20–23 (in Russ.).