

УДК 616.98 : 578.828.6] – 06 : 616 – 002.5 – 07

ОЦЕНКА ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ РОЛИ БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ, СОЧЕТАННОЙ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ, КАК ИСТОЧНИКА ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

В.И. Сергевнин¹*, Е.В. Сармометов², В.Н. Зимина³, О.Е. Микова², Т.А. Варецкая²

¹Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера,

²Пермский краевой центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями,

³Российский университет дружбы народов, г. Москва, Россия

ASSESSMENT OF POTENTIAL ROLE OF PATIENTS WITH ASSOCIATED HIV-INFECTION AND TUBERCULOSIS AS A SOURCE OF TUBERCULOUS INFECTION

V.I. Sergevnin¹*, E.V. Sarmometov², V.N. Zimina³, O.E. Mikova², T.A. Varetskaya²

¹Academician Ye.A. Vagner Perm State Medical University,

²Perm Regional Centre for Prevention and Fight against AIDS and Infectious Diseases,

³Russian University of Peoples' Friendship, Moscow, Russian Federation

Цель. Оценка потенциальной роли больных ВИЧ-инфекцией, сочетанным с туберкулезом, как источника туберкулезной инфекции в сравнении с больными монотуберкулезом.

Материалы и методы. Оценку эпидемиологической опасности пациентов определяли по степени массивности бактериовыделения и доле в структуре *M. tuberculosis* вирулентного генотипа Beijing. Массивность бактериовыделения изучали по результатам люминесцентной микроскопии и бактериологического анализа мокроты, генотипирование – с помощью тест-системы «Амплитуб-Beijing» и метода MIRU-VNTR.

Результаты. Установлено, что, несмотря на меньшее количество выделяемых *M. tuberculosis* больными ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, по сравнению с пациентами с монотуберкулезом, коинфицированные чаще выделяют высоковирулентный генотип Beijing и, следовательно, могут представлять более высокую эпидемиологическую опасность как источник туберкулезной инфекции.

Выводы. По результатам бактериологических исследований мокроты с использованием плотных питательных сред у больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, выявлена меньшая массив-

© Сергевнин В.И., Сармометов Е.В., Зимина В.Н., Микова О.Е., Варецкая Т.А., 2017

тел.: +7 912 359 29 14

e-mail: viktor-sergevnnin@mail.ru

[Сергевнин В.И. (*контактное лицо) – доктор медицинских наук, профессор кафедры эпидемиологии с курсом гигиены и эпидемиологии факультета дополнительного образования; Сармометов Е.В. – кандидат медицинских наук, главный врач; Зимина В.Н. – доктор медицинских наук, профессор кафедры инфекционных болезней с курсами эпидемиологии и фтизиатрии медицинского института; Микова О.Е. – заместитель главного врача; Варецкая Т.А. – заведующая бактериологической лабораторией].

ность выделения *M. tuberculosis*, чем у пациентов с туберкулезом без ВИЧ-инфекции. В структуре *M. tuberculosis*, изолированных от больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, доля генотипа Beijing составила более 90 %, при туберкулезе без ВИЧ-инфекции – лишь 70 %.

Ключевые слова. ВИЧ-инфекция в сочетании с туберкулезом; массивность выделения и генотипы *M. tuberculosis*.

Aim. To estimate the potential role of patients with associated HIV infection and tuberculosis as a source of tuberculous infection as compared with monotuberculosis patients.

Materials and methods. Epidemiological danger of patients was assessed by the degree of bacterioexcretion massiveness and its share in the structure of *M. tuberculosis* of virulent genotype Beijing. Massiveness of bacterioexcretion was studied by the results of luminescent microscopy and bacteriological analysis of phlegm, genotyping – with test-system “Amplitub-Beijing” and method MIRU-VNTR.

Results. It was established that in spite of the lesser quantity of *M. tuberculosis*, excreted by patients with HIV-infection associated with tuberculosis, as compared to patients with monotuberculosis, coinfecting patients more often discharge high-virulent genotype Beijing, therefore, may be more epidemiologically dangerous as a source of tuberculous infection.

Conclusions. According to the results of bacteriological study of the phlegm by means of dense nutrient medium, in patients with associated HIV infection and tuberculosis lesser massiveness of *M. tuberculosis* excretion than in patients with tuberculosis without HIV infection was revealed. In the structure of *M. tuberculosis*, isolated from patients with associated HIV-infection and tuberculosis, the share of genotype Beijing was more than 90 %, from patients with tuberculosis without HIV-infection – only 70 %.

Key words. HIV infection associated with tuberculosis, massiveness of *M. tuberculosis* genotype excretion.

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы увеличивается заболеваемость ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом (ВИЧ+ТБ). При этом все чаще обсуждается потенциальная роль больных ВИЧ+ТБ как источника *Mycobacterium tuberculosis* (МБТ) по сравнению с пациентами с монотуберкулезом. По мнению одних авторов, больные ВИЧ+ТБ менее заразны по сравнению с ВИЧ-отрицательными пациентами. В подтверждение этого тезиса авторы приводят данные о том, что от больных ВИЧ+ТБ, по сравнению с ВИЧ-негативными больными, реже и в меньшем количестве выделяются МБТ из мокроты [8, 10]. Это обстоятельство объясняют относительно не-

большим количеством туберкулезных полостных поражений в результате быстрого прогрессирования болезни и более ранним обращением за медицинской помощью, а также слабым кашлевым рефлексом при более тяжелом течении заболевания. Вместе с тем немало авторов, которые считают, что частота и массивность бактериовыделения у больных ВИЧ+ТБ, напротив, выше, чем у ВИЧ-негативных. Так, А.А. Попова и соавт. [5] установили, что у больных сочетанной инфекцией уменьшение СБ₄-лимфоцитов, играющих ключевую роль в противотуберкулезном иммунитете, сопровождается усиленным размножением в легких МБТ. Н.М. Корецкая и И.А. Большакова [1] показали, что у больных микст-инфекцией удель-

ный вес обильного роста МБТ на питательных средах был в два раза выше, чем у ВИЧ-негативных пациентов с туберкулезом (74,4 против 38,3 %; $p < 0,001$), что, по мнению авторов, свидетельствует об их более высокой эпидемиологической значимости.

Следует подчеркнуть, что, изучая частоту и массивность выделения МБТ от коинфицированных и больных туберкулезом без ВИЧ-инфекции, авторы не оценивают степень вирулентности возбудителей. Между тем, очевидно, что контагиозность той или иной инфекции зависит не только от количества выделяемых возбудителей, но и от их патогенного потенциала.

Цель исследования – оценка потенциальной роли больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, как источника туберкулезной инфекции в сравнении с пациентами с монотуберкулезом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценку эпидемиологической опасности больных ВИЧ+ТБ в сравнении с пациентами с монотуберкулезом определяли по степени массивности бактериовыделения и доле в структуре *M. tuberculosis* вирулентного генотипа Beijing.

Массивность бактериовыделения оценивали по результатам исследования мокроты с помощью люминесцентной микроскопии (43 больных ВИЧ+ТБ и 116 пациентов с монотуберкулезом) и бактериологического анализа с использованием плотной питательной среды Левенштейн–Йенсена (198 и 202 человека соответственно). Обследование проведено непосредственно после установления ди-

агноза туберкулеза центральной врачебной контрольной комиссией. Во фтизиатрической лабораторной диагностике принято, что при обнаружении кислотоустойчивых микроорганизмов методом микроскопии в ответе указывается точное число найденных бактерий при их обнаружении в 100 полях зрения, в остальных случаях в соответствии со следующей градацией: 1+ – единичные кислотоустойчивые микроорганизмы (КУМ) в поле зрения; 2+ – умеренное количество КУМ; 3+ – значительное количество КУМ. На плотных питательных средах интенсивность роста МБТ обозначают по трехбалльной системе: 1+ (1–20 КОЕ – колониеобразующие единицы) – скудное бактериовыделение; 2+ (21–100 КОЕ) – умеренное бактериовыделение; 3+ (более 100 КОЕ) – обильное бактериовыделение [3].

Генотипирование МБТ проведено в два этапа. На первом этапе с помощью тест-системы «Амплитуб-Beijing» (ООО «Синтол», г. Москва) определена принадлежность к группам Beijing и non-Beijing *M. tuberculosis*, выделенных от 16 пациентов с ВИЧ+ТБ и 116 больных монотуберкулезом. Исследование проведено на базе Пермского краевого центра по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями. В дальнейшем дополнительно осуществлено генотипирование 64 штаммов МБТ, выделенных от коинфицированных, методами MIRU-VNTR по 24 локусам и методом делеционного анализа по RD 105 и 207 с определением наиболее вирулентного субтипа B0/W148 генотипа Beijing по методике, предложенной И.В. Мокроусовым [2]. Типирование осуществляли на базе Иркутского научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека.

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Statistica 6 и WinPepi (PEPI-for-Windows). Рассчитывали 95%-ный доверительный интервал показателей (ДИ). Оценку достоверности различий показателей определяли с помощью критерия χ^2 Пирсона с поправкой Йетса. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Достоверных различий по нагруженности мазков мокроты КУМ у больных ВИЧ+ТБ по сравнению с пациентами с монотуберкулезом не выявлено (табл. 1). Доля мазков с массивным бактериовыделением (3+) в пер-

вом случае составила 20,93 % [11,38 – 33,68], во втором – 36,21 % [27,49 – 45,65] ($\chi^2 = 2,69$; $p = 0,10$). Однако на плотной питательной среде отмечено, что массивное бактериовыделение у больных ВИЧ+ТБ составило лишь 14,82 % [95%-ный ДИ = 8,71 – 22,94] против 33,16 % [26,72 – 40,12] у больных моноинфекцией ($\chi^2 = 9,59$; $p = 0,003$) (табл. 2).

При генотипировании МБТ с применением тест-системы «Амплитуб-Beijing» оказалось, что при ВИЧ+ТБ частота выделения генотипа Beijing составила 93,75 % [69,77 – 99,84], тогда как при монотуберкулезе – лишь 70,69 % [61,52 – 78,78] ($\chi^2 = 6,91$; $p = 0,009$) (табл. 3). К генотипам non-Beijing и микст-генотипам (Beijing + + non-Beijing) относилось небольшое количество культур.

Таблица 1

Массивность бактериовыделения при люминесцентной микроскопии мокроты у больных коинфекцией и монотуберкулезом

Массивность выделения МБТ	Коинфекция ($n = 43$)		Монотуберкулез ($n = 116$)		$\chi^2; p$
	абс.	% [95%-ный ДИ]	абс.	% [95%-ный ДИ]	
1+ (1–20 КОЕ – скудное бактериовыделение)	22	51,16 [37,72–64,48]	53	45,69 [36,41–55,19]	0,18; 0,66
2+ (21–100 КОЕ – умеренное бактериовыделение)	12	27,91 [16,96–41,26]	21	18,10 [11,57–26,33]	1,26; 0,26
3+ (более 100 КОЕ – обильное бактериовыделение)	9	20,93 [11,38–33,68]	42	36,21 [27,49–45,65]	2,69; 0,10

Таблица 2

Массивность бактериовыделения при посеве мокроты на плотные среды у больных коинфекцией и монотуберкулезом

Массивность выделения МБТ	Коинфекция ($n = 108$)		Монотуберкулез ($n = 202$)		$\chi^2; p$
	абс.	% [95%-ный ДИ]	абс.	% [95%-ный ДИ]	
1+ (1–20 КОЕ – скудное бактериовыделение)	78	72,22 [64,26–79,24]	77	38,12 [31,39–45,65]	31,39; 0,0005
2+ (21–100 КОЕ – умеренное бактериовыделение)	14	12,96 [8,01–19,52]	58	28,71 [22,58–35,48]	8,93; 0,004
3+ (более 100 КОЕ – обильное бактериовыделение)	16	14,82 [8,71–22,94]	67	33,16 [26,72–40,12]	9,59; 0,003

Распределение *Mycobacterium tuberculosis*, изолированных от больных коинфекцией и монотуберкулезом, по основным генотипам (исследование с помощью тест-системы «Амплитуб-Beijing»)

Генотип	Количество штаммов				$\chi^2; p$
	коинфекция (n = 16)		монотуберкулез (n = 116)		
	абс.	% [95%-ный ДИ]	абс.	% [95%-ный ДИ]	
Beijing	15	93,75 [69,77–99,84]	82	70,69 [61,52–78,78]	6,91; 0,009
Non-Beijing	1	6,25 [0,16–30,23]	29	17,68 [12,17–24,40]	4,06; 0,04
Beijing + non-Beijing	0	0	5	4,31 [1,41–9,77]	0,15%; 0,69

При дополнительном генотипировании 64 штаммов МБТ, выделенных от больных ВИЧ+ТБ, обнаружены генотипы Beijing, LAM, Ural и микст-генотипы (табл. 4). Доля генотипа Beijing составила 92,19 % [82,70 – 97,41], тогда как генотипов LAM и Ural – лишь 3,13 [0,38 – 10,83] и 4,69 % [0,98 – 13,09] соответственно. Доля микст-генотипов оказалась равной 14,06 % [6,64 – 25,02]. При этом в выборке генотипа Beijing в 37,29 % случаев был выявлен субтип B0/W148, считающийся наиболее вирулентным [2]. В структуре микст-генотипов доля B0/W148 составила 77,78 %.

Таблица 4

Распределение *Mycobacterium tuberculosis*, изолированных от больных коинфекцией, по основным генотипам (исследование методами MIRU – VNTR)

Генотип	Количество штаммов (n = 64)	
	абс.	% [95%-ный ДИ]
Beijing	59	92,19 [82,70–97,41]
– в том числе субтип B0/W148	22	37,29 [25,04–50,86]
LAM	2	3,13 [0,38–10,83]
Ural	3	4,69 [0,98–13,09]
Микст-генотипы	9	14,06 [6,64–25,02]
– в том числе с субтипом B0/W148	7	77,78 [39,97–97,19]

Полученные данные указывают, что массивность выделения МБТ от больных ВИЧ+ТБ может быть меньшей, чем от пациентов с монотуберкулезом. Однако для оценки эпидемиологической значимости больных как источника туберкулезной инфекции, видимо, следует учитывать и вирулентность МБТ. Известно, что генотип МБТ Beijing, преимущественно выделяющийся от коинфицированных, отличается повышенной вирулентностью [2, 11] и высокой трансмиссивностью [6, 9]. Эти свойства особенно характерны для субтипа B0/W148 генотипа Beijing, который, по оценке некоторых авторов, может в десятки раз более эффективно, чем другие варианты МБТ, передаваться от человека к человеку [2]. Преобладание генотипа Beijing, в том числе субтипа B0/W148, в структуре МБТ, изолированных от больных ВИЧ+ТБ, указывает, что больные ВИЧ-инфекцией, по-видимому, в силу своего иммунодефицита, с одной стороны, наиболее подвержены воздействию высоковирулентных эпидемических генотипов возбудителя туберкулеза, а с другой – обеспечивают селекцию эпидемического варианта МБТ. Косвенным доказательством того, что в организме больных ВИЧ+ТБ мо-

гут персистировать МБТ повышенной вирулентности, являются работы ряда авторов, свидетельствующих о высокой вирулентности других бактерий, выделяемых от ВИЧ-инфицированных. Так, Л.Ю. Отдушкина [4] изучила микробиоценоз фекалий у 68 ВИЧ-инфицированных и 45 ВИЧ-негативных детей в возрасте от 1 месяца до 3 лет. У всех ВИЧ-инфицированных и у ВИЧ-негативных детей в 100 % случаев высевался *Enterococcus faecalis*. Изучение биологических свойств энтерококков позволило установить, что культуры, изолированные от ВИЧ-инфицированных детей, обладали более выраженными факторами агрессии. Количество штаммов энтерококков, обладающих липазной активностью, в основной группе было в 2,5 раза больше (22 %), чем в группе сравнения (9 %), а ДНКазная активность была присуща только энтерококкам, выделенным от ВИЧ-инфицированных детей (3 %). В 6 раз чаще в кишечном содержимом ВИЧ-позитивных детей определялись гемолизин-продуцирующие штаммы энтерококков. О.В. Шеховцова и Е.В. Шаталова [7] изучили структуру популяций *Pseudomonas aeruginosa* по признакам вирулентности в условиях иммуносупрессии организма. Эксперименты выполнены на мышах линии СВА. Для создания иммуносупрессии в организме животных выбрана модель термического ожога IIIВ степени. На фоне глубокой иммуносупрессии у животных наблюдалась высокая микробная обсемененность селезенки и отмечалась выраженная прямая корреляция между уровнем иммуносупрессии и непрерывным увеличением особей с признаками вирулентности ($r = 0,981 \pm 0,090$) в популяциях псевдомонад.

Таким образом, несмотря на меньшее количество выделяемых *M. tuberculosis* больными ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, по сравнению с пациентами с монотуберкулезом, коинфицированные, по-видимому, могут представлять более высокую эпидемиологическую опасность как источник туберкулезной инфекции в связи с повышенной вирулентностью выделяемых микобактерий.

Выводы

1. По результатам бактериологических исследований мокроты с использованием плотных питательных сред у пациентов с ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, выявлена меньшая массивность выделения *M. tuberculosis*, чем у больных туберкулезом без ВИЧ-инфекции.

2. В структуре *M. tuberculosis*, изолированных от больных ВИЧ-инфекцией, сочетанной с туберкулезом, доля генотипа Beijing составила более 90 %, у пациентов с туберкулезом без ВИЧ-инфекции – лишь 70 %. В выборке микобактерий генотипа Beijing, изолированных от коинфицированных, в 34,4 % случаев обнаружен субтип В0/W148.

Библиографический список

1. Корецкая Н.М., Большакова И.А. Биологические свойства микобактерий у ВИЧ-негативных и ВИЧ-позитивных лиц с диссеминированным туберкулезом. Сибирское медицинское обозрение 2012; 4: 62–66.

2. Мокроусов И.В. Методические подходы к генотипированию *Mycobacterium tuberculosis* для эволюционных и эпидемиологических исследований. Инфекция и иммунитет 2012; 3: 603–614.

3. О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации: Приказ Минздрава РФ № 109 от 21 марта 2003 г. (ред. от 29.10.2009), available at: http://urobcg.ru/documents/recommend/_1_prikaz_o_overshenstvovanii_protivotuberkulez-nih_meroprijatij_v_rosijskoi_federacii.pdf.

4. *Отдушкина Л.Ю.* Биологические свойства кокковой микрофлоры кишечника у ВИЧ-инфицированных детей. Медицина в Кузбассе 2015; 4: 14–18.

5. *Попова А.А., Синдыкова Ю.Р., Кравченко А.В., Серебровская Л.В.* Изменения системы иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией и туберкулезом. Эпидемиология и инфекционные болезни 2008; 4: 54–55.

6. *Савилов Е.Д., Синьков В.В., Огарков О.Б.* Эпидемиология туберкулеза на Евроазиатском континенте. Оценка глобального движения штаммов генотипа «Пекин». Иркутск: ИГМАПО 2013; 121.

7. *Шеховцова О.В., Шаталова Е.В.* Механизм формирования госпитальных штаммов возбудителей внутрибольничных инфекций и способ их предупреждения. Клиническая лабораторная диагностика 2012; 7: 58–61.

8. *Cain K.P., McCarthy K.D., Heilig C.M.* An algorithm for tuberculosis screening and diagnosis in people with HIV. N Engl J Med 2010. 362 (8); 707–716.

9. *Camínero J.A., Pena M.J., Campos-Herrero M.I.* Epidemiological evidence of the spread of a Myco-bacterium tuberculosis strain of the Beijing genotype on Gran Canaria Island. Am J Respir Crit Care Med 2001; 164: 1165–1170.

10. *Linguissi L.S., Mayengue P.I., Sidibé A.* Prevalence of national treatment algorithm defined smear positive pulmonary tuberculosis in HIV positive patients in Brazzaville, Republic of Congo. BMC Res Notes 2014; 7: 578.

11. *Lopez B., Aguilar D., Orozco H., Burger M., Espi-tia C., Ritacco V., Barrera L., Kremer K., Hernandez-Pando R., Huygen K., Soolingen D. van.* A marked difference in pathogenesis and immune response induced by different Mycobacterium tuberculosis genotypes. Clin Exp Immunol 2003; 133: 30–37.

Материал поступил в редакцию 01.06.2017