

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОБНАРУЖЕНИЯ МЕТОДОМ ПЦР ДНК MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS, CYTOMEGALOVIRUS, TOXOPLASMA GONDII, CANDIDA ALBICANS, HERPES SIMPLEX VIRUS I,II types В БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЛАВАЖНОЙ ЖИДКОСТИ И БИОПТАТАХ БРОНХОВ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С ПОРАЖЕНИЕМ ЛЕГКИХ

*Шахгильдян В.И., Литвинова Н.Г., Морозова С.В.
Павлова Л.Е., Перегудова А.Б., Леонов М.Л.
Шипулина О.Ю., Кравченко А.В., Серебрякова Т.Г.
Сармина Т., Груздев Б.М., Данилова Т.В.
Серебровская Л.В., Шипулин Г.А.*

*Федеральный научно-методический центр ПБ СПИД МЗ РФ
Инфекционная клиническая больница №2 г. Москва
Москва*

Введение.

Наиболее часто поражаемым органом у больных ВИЧ-инфекцией являются легкие. За 13 лет наблюдения среди 537 погибших ВИЧ-инфицированных больных в г. Москве 500 человек имели легочную патологию (Тишкевич О.А. и др., 2004). Из 436 ВИЧ-инфицированных пациентов, госпитализированных в течение года в КИБ №2, 165 (38%) страдали поражением легких (Литвинова Н.Г. и др., 2004). Более 20 инфекционных агентов вызывают легочную патологию у больных ВИЧ-инфекцией. При этом клинико-рентгенологическая картина, изменение функциональных показателей дыхательной системы, лабораторные данные при пневмониях различной этиологии часто идентичны, что обуславливает несвоевременную постановку этиологического диагноза, позднее начало этиотропной терапии и как результат, в ряде случаев - гибель больного. В связи с чем, решение проблемы быстрой этиологической расшифровки легочной патологии у больных ВИЧ-инфекцией является насущной научно-практической задачей.

Цель исследования

Состояла в определении клинического значения обнаружения ДНК *Mycobacterium tuberculosis*, *Cytomegalovirus*, *Toxoplasma gondii*, *Candida albicans*, *Herpes simplex virus* I,II types в бронхоальвеолярной жидкости (БАЛЖ) и биоптатах бронхов, полученных при проведении диагнос-

тической бронхоскопии у ВИЧ-инфицированных больных, имеющих поражение легких.

Материалы и методы.

С января 2002 г. по июнь 2004 г. были проведены 223 диагностические бронхоскопии у 200 больных ВИЧ-инфекцией, проходивших стационарное лечение в КИБ №2 г. Москвы (гл. врач Мясников В.А.). Пациенты находились в возрасте 18 – 64 лет (средний возраст составил 32.2 ± 0.6 года). Мужчин было 167 (83.5%), женщин – 33 (16.5%). Среди наблюдаемых больных 30 (15%) человек имели ВИЧ-инфекцию в стадии первичных проявлений (I), 60 (30%) – стадию вторичных заболеваний IIA – IIIB, 110 (55%) – стадию вторичных заболеваний IIIB (СПИД). Количество CD4-лимфоцитов находилось в пределах от 6 до 803 кл/мм³, 75% больных имели уровень CD4-клеток менее 200/мм³. Анализ абсолютного и относительного количества CD4+-лимфоцитов осуществляли с использованием моноклональных антител фирмы «Vecton Diskinsan, USA» методом проточной цитофлюорометрии. Исследование БАЛЖ и биоптатов бронхов для определения ДНК возбудителей оппортунистических заболеваний осуществляли методом ПЦР с использованием тест-систем производства Центрального НИИ эпидемиологии МЗ РФ. Расчет чувствительности и специфичности диагностического признака осуществляли с использованием таблиц сопряженности (2 x 2).

Результаты.

При исследовании лаважной жидкости ДНК микобактерий туберкулеза (МБТ) была обнаружена у 85 больных (42.7%), ДНК цитомегаловируса (ЦМВ) – у 87 (43.5%), ДНК грибов рода *Candida* – 32 (16%), ДНК вируса простого герпеса (ВПГ) I, II типов – 31 (15.5%), ДНК токсоплазмы (ТОХ) – 3 (1.5%). В биоптатах бронхов ДНК МБТ была выявлена у 64 больных (32%), ДНК ЦМВ – 43 (21.5%), ДНК грибов рода *Candida* – 10 (5%), ДНК ВПГ – 17 (8.5%), ДНК ТОХ – 2 (1%).

Больные туберкулезом легких (82 человека) в 72 (87.8%) случаях имели ДНК МБТ в лаважной жидкости, в 59 (71.9%) – биоптатах бронхов. Среди 85 больных с наличием ДНК МБТ в БАЛЖ туберкулез был диагностирован у 72 (84.7% случаев), среди 64 пациентов с ДНК МБТ в биоптатах бронхов – у 59 (92.1%). Диагностическая чувствительность наличия ДНК МБТ в БАЛЖ составила 87.8%, специфичность – 89%. Диагностическая чувствительность наличия ДНК МБТ в биоптате бронха находилась на уровне 71.9%, специфичность – 95.8%. Клиническая чувствительность обнаружения ДНК МБТ как в БАЛЖ, так и в биоптате бронха составила 65.8%, специфичность – 98.3%.

Из 82 больных туберкулезом легких 45 человек (54.9%) имели ДНК ЦМВ в лаважной жидкости и/или в биоптате бронха. Данный факт является основанием для дальнейшего изучения влияния цитомегаловируса на течение микобактериальной инфекции у пациентов с ВИЧ-инфекцией.

Больные ЦМВ-пневмонией (28 человек) в 24 (85.7%) случаях имели ДНК ЦМВ в лаважной жидкости, в 23 (82.1%) — биоптатах бронхов. Среди 87 больных с наличием ДНК ЦМВ в лаважной жидкости цитомегаловирусное поражение легких было диагностировано у 24 (27.6% случаев), среди 43 пациентов с ДНК ЦМВ в биоптатах бронхов — у 23 (53.5%). Диагностическая чувствительность наличия ДНК ЦМВ в БАЛЖ составила 85.7%, специфичность — 63.4%. Диагностическая чувствительность наличия ДНК ЦМВ в биоптате бронха находилась на уровне 82.1%, специфичность — 88.4%. Клиническая чувствительность наличия ДНК ЦМВ как в лаважной жидкости, так и в биоптате бронха составила 80%, специфичность — 91.9%.

Частота выявления ДНК микобактерий туберкулеза в БАЛЖ в группах ВИЧ-инфицированных больных, имеющих количество CD4-лимфоцитов более 200 кл/мм³, от 200 до 100 кл/мм³ и менее 100 кл/мм³ составила, соответственно, 18.5%, 53.3%, 47.4% случаев. Частота выявления ДНК МКБ в биопсийном материале в указанных группах пациентов соответствовала 20.8%, 40%, 28.2%. ДНК цитомегаловируса в лаважной жидкости у ВИЧ-инфицированных больных с количеством CD4-клеток более 200/мм³ присутствовала в 20.8% случаев, от 200 до 100/мм³ — в 36.7% и при менее 100/мм³ — в 62.8% случаев. В биоптатах бронхов ДНК ЦМВ была выявлена у больных ВИЧ-инфекцией с различной степенью иммуносупрессии, соответственно, в 6.2%, 10% и 32% случаев.

В группе 32 больных, имевших ДНК *C. albicans* в БАЛЖ, грибковая этиология пневмонии была вероятна в 8 случаях (25%), среди 10 больных с ДНК *C. albicans* в биоптатах бронхов грибковая пневмония имела место в 5 случаях (50%).

Среди 31 больного с наличием ДНК ВПГ в лаважной жидкости и 17 больных, имевших ДНК ВПГ в биоптатах бронхов герпетическая пневмония была диагностирована лишь в 1 случае (соответственно, 3.2% и 5.9%).

У всех 3 больных с наличием ДНК *T. gondii* в БАЛЖ и/или биоптатах бронхов был диагностирован генерализованный токсоплазмоз с поражением головного мозга и легких. Причем в 2 случаях обнаружение ДНК *T. gondii* при проведении бронхоскопии опережало на 10 — 14 дней развитие неврологической симптоматики.

Заключение. Обнаружение методом ПЦР ДНК микобактерий туберкулеза в бронхоальвеолярной жидкости или в биоптате бронха у ВИЧ-инфицированного больного подтверждает диагноз заболевания, соответственно, в 85% и 92% случаев. Присутствие ДНК ЦМВ, ДНК грибов рода *Candida*, ДНК ВПГ в лаважной жидкости не является достоверным критерием пневмонии перечисленной этиологии. В тоже время, наличие возбудителя в биопсийном материале имеет существенно большее диагностическое значение: две трети больных с наличием ДНК цитомегаловируса в

биоптате бронха имели ЦМВ-пневмонию; у половины больных с ДНК *C. albicans* в ткани бронха предполагали грибковое поражение легких.

По сравнению с присутствием возбудителя в БАЛЖ диагностическая чувствительность наличия ДНК МБТ или ДНК ЦМВ в биоптатах бронхов ниже, но диагностическая специфичность существенно выше (особенно, при ЦМВ-инфекции).

Степень иммуносупрессии у ВИЧ-инфицированного больного не является решающим фактором, определяющим частоту выявления ДНК *M. tuberculosis* в лаважной жидкости и биоптатах бронхов. Напротив, глубина иммунодефицита у пациентов с ВИЧ-инфекцией определяет степень активности цитомегаловирусной инфекции и, соответственно, частоту обнаружения ДНК ЦМВ в биологических материалах.

Выявление ДНК *Toxoplasma gondii* в материалах, полученных при бронхоскопии, позволяет достоверно утверждать о наличии у больного клинически выраженного, часто генерализованного, токсоплазмоза.

Определение клинического значения обнаружения ДНК вируса простого герпеса в лаважной жидкости и биоптатах бронхов у ВИЧ-инфицированных больных с поражением легких требует дальнейших исследований.