

Клинико-лабораторная диагностика пневмоцистоза

Заболевания, вызванные пневмоцистами согласно международной классификации (ICD-9-СМ), классифицируются как пневмоцистоз и относится к часто встречающимся оппортунистическим инфекциям, которые, активизируясь, в свою очередь, являются маркерами иммунодефицитных состояний.

До недавнего времени возбудитель пневмоцистоза – *Pneumocystis carinii* относили к простейшим, но биохимический анализ нуклеиновых кислот показал его таксономическую принадлежность к дрожжевым грибам–споровикам, аскомицетам, филогенетически связанным с *Schizosaccharomyces pombe*. В естественных условиях пневмоцисты встречается практически у всех животных как диких, так и сельскохозяйственных.

Эта патология известна с 1909 года с тех пор, как в 1911 г. была установлена ведущая роль *Pneumocystis carinii* в этиологии пневмонии. В 1930-40е годы получили распространение эпидемические вспышки, вызванные пневмоцистами у недоношенных и ослабленных новорожденных, а также у детей и взрослых с иммунодефицитами различной природы. К 1991 г. в мире было диагностировано более 100 тыс. случаев пневмоцистоза. Этот возбудитель выявлен как этиологический фактор тяжелой пневмонии у больного СПИДом. Именно, в связи с этим, в настоящее время большое внимание уделяется изучению пневмоцистной пневмонии при данной патологии. С 1994г. название возбудителя *Pneumocystis carinii* изменено на *Pneumocystis jiroveci* по имени чешского ученого (паразитолога) Отто Йировеца, который описал этот микроорганизм, вызывавший заболевание у человека. *Pneumocystis carinii/jiroveci* - внеклеточный паразит со строгим тропизмом к легочной ткани, поражает пневмоциты 1 и 2 порядка.

Как правило, пневмоцистоз протекает в виде острых респираторных заболеваний, обострений хронических бронхолегочных заболеваний, обструктивного бронхита, ларингита, а также по типу пневмоний с нарушениями газообмена (интерстициальных пневмоний).

Весь жизненный цикл *Pneumocystis carinii jiroveci* происходит в альвеоле и включает четыре стадии, которые отражают стадии его развития: трофозоит; прециста; циста; спорозоит.

Во время инфицирования в легкие попадают зрелые цисты. При разрыве оболочки цист в просвет альвеол выходят спорозоиты, часть из которых являются гаплоидами. Спорозоиты сливаются попарно, образуют одноядерные, с двухслойной клеточной тонкой мембраной трофозоиты, - вегетативные формы пневмоцит величиной 1-5 мкм. Затем трофозоит округляется, формирует утолщенную клеточную стенку и превращается в раннюю прецисту размером 5 мкм, овальной формы содержащую одно крупное ядро, вокруг которого имеется скопление митохондрий и тонкая пелликула, сходная с пелликулой в трофозоитах. На следующей стадии предциста содержит 2-6 ядер, пелликула утолщается, а в поздней прецисте в цитоплазме вокруг ядер появляются мембраны. Далее поздняя прециста развивается в зрелую толстостенную (трехслойную) цисту размером 7-8 мкм; внутри неё находится четное количество внутрицистных телец (от 2 до 8, чаще -8) - спорозоитов размером 1-3 мкм, которые с помощью филлоподий прикрепляются к поверхности эпителия альвеол.

Трехслойная стенка пневмоцисты содержит ряд гликопротеинов, из которых gp 120 связывается с фибронектином и формирует фибронектиновый мостик, соединяющий *Pneumocystis carinii/jiroveci* с альвеолярным эпителием и макрофагами. Таким образом, прецисты и зрелые цисты находятся в просвете альвеол, в составе пенистого экссудата. Однако, нередко обнаруживаются цисты, расположенные и внутриклеточно (в макрофагах). Инкубационный период пневмоцистоза длится от 2 дней до 2 месяцев; заболевание развивается постепенно: появляется тахипное,

отмечается коклюшеподобный кашель, лихорадка, ночная потливость, наличие молочницы на слизистых верхних дыхательных путей, иногда отмечается выделение пенистой мокроты. По мере прогрессирования болезни трофозоиты и детрит накапливаются в просвете альвеол вплоть до их полной облитерации, это влечет за собой нарушение синтеза сурфактанта. При этом резко снижается диффузия газов и развивается дыхательная недостаточность.

Патогенез заболевания обусловлен механическим поражением интерстициальной ткани легкого как самим возбудителем, так и воспалительными клетками, вследствие чего стенки альвеол инфильтрируются мононуклеарами, интерстиций - плазматическими клетками. Толщина альвеолярной стенки увеличивается в 5-20 раз, и это приводит к развитию альвеолокапиллярного блока.

Заболевание развивается только на фоне иммунодефицитных состояний. Ведущую роль играют нарушения клеточного иммунитета. Снижение Т-хелперов (CD4+ клеток) и увеличение содержания цитотоксических лимфоцитов, Т-супрессоров (CD8+) приводит к развитию пневмоцистной пневмонии, что было показано в эксперименте.

Диагностика пневмоцистной пневмонии трудна и основывается на клинических проявлениях и данных лабораторного обследования. Клинико-лабораторными диагностическими критериями пневмоцистной пневмонии являются длительное постепенное начало заболевания с нарастающей дыхательной недостаточностью, снижение содержания pO_2 в крови, высокая активность суммарной ЛДГ, ускоренная СОЭ.

Лабораторная диагностика пневмоцистной инфекции включает: паразитологические методы, иммунобиологические и молекулярно-генетические методы. Паразитологический метод предусматривает морфологическое обнаружение пневмоцист; для этого исследуют свободно отделяемую или индуцированную мокроту, бронхоальвеолярный лаваж, трахеальный аспират, а также трансбронхиальный биоптат.

Цитологические препараты, окрашивают различными методами: серебрение по методу Гомори, окраска толуидиновым синим, по Грамму, реактивом Шиффа. Большинство этих методов позволяют обнаружить лишь цисты. Характерным и диагностическим критерием является обнаружение цист, оболочка которых имеет вид прозрачного кольца, внутри которого лежат от 4-х до 8-и темных включений

Следует предпочесть окраску препаратов по методу Романовского – Гимзы, дополненную окраску метиленовым синим. Такая комбинированная окраска позволяет выявить все формы пневмоцист (циста, трофозоит, спорозоит).

В окрашенных гистологических препаратах определяются обычно лишь многоядерные цисты. Но следует отметить, что пневмоцисты в мокроте больных обнаруживают крайне редко, а способов культивирования пневмоцист человека пока еще не разработано.

Метод ИФА позволяет выявлять в сыворотке крови антитела класса IgM и IgG. Однако серологическая диагностика носит скорее ориентировочный характер и менее достоверна, чем паразитологическая, так как в организме пациентов не генерируется своевременная выработка антител в ответ на инфекцию.

Поэтому чаще для подтверждения данной инфекции используются метод полимеразной цепной реакции-ПЦР, который основан на обнаружении фрагмента генома возбудителя. Учитывая тот факт, что у 10% населения отмечается носительство пневмоцист, предпочтительней использовать ПЦР - количественный метод, потому что применение качественного метода ПЦР выявляет все формы заболевания, включая и латентные, которые не требуют специфического лечения.

В анализе крови при пневмоцистозе практически нет характерных особенностей; нередко (в зависимости от тяжести заболевания) можно наблюдать гипохромную анемию; лейкоцитоз до $20-50 \times 10^9$ /л; эозинофилия до 14-24%; ускоренная СОЭ 25-50 мм/час; ЛДГ- более 250 МЕ/л; уменьшение Т-хелперов (CD4+).

Таким образом, диагностика пневмоцист затруднена из-за неспецифичности симптомов заболевания и стертости клинической картины. Поэтому для диагностики этого заболевания следует применять комплексное лабораторное обследование пациентов с использованием указанных методов диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Вороньжев І.О. Особливості променевої діагностики пневмоцистної пневмонії у ВІЛ-інфікованих та хворих на СНІД. //Проблеми безперервної медичної науки та освіти. - 2019.-34 - с.52-56.
2. Кунакбаева А.Ф. Выявление ДНК *Pneumocystis carinii* в клиническом материале у детей с респираторной патологией. Кунакбаева А.Ф., Зигангирова Н.А., Каражас Н.В. и др.// ЖМЭИ. 2006. №6. С.44-47.
3. Майская М.Ю. Генерализованный пневмоцистоз при ВИЧ-инфекции. Майская М.Ю., Пантелеев А.М., Карев В.Е. Архив патологии. 2014;76, С.36.
4. Меймарян М.А. Серологическая диагностика пневмоцистоза у населения Республики Армения // Мед. паразитология. 2005. №2. С.27-28.
5. Рыбалкина Т.Н., Каражас Н.В., Калугина М.Ю. и др. Лабораторная диагностика оппортунистических инфекций при длительных субфебрилитетах и обструктивных бронхитах у детей при микст-инфекциях. Детские инфекции. 2013, 12 (3): 40-43.
6. Савинков П.А. Роль герпесвирусов и пневмоцист в этиологии инфекционных заболеваний у детей с иммуносупрессией различной природы. Савинков П.А., Рыбалкина Т.Н., Каражас Н.В. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2015, 17 (4): 254-261.
7. Сафонова А.П., Шипулина О.Ю., Шахгильдян В.И. и др. Молекулярная диагностика пневмоцистной пневмонии у ВИЧ-инфицированных больных с легочной патологией // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2008. №3. С.58-60.