

УДК 616.25-002.5:616.98

ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ТУБЕРКУЛЁЗНОГО ПЛЕВРИТА У БОЛЬНЫХ С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ

¹К.Б.Владимиров, ²В.Ю.Журавлёв, ²Г.Ю.Марфина, ²А.К.Иванов¹ФКУЗ МСЧ-78 ФСИН России, Санкт-Петербург, Россия²Санкт-Петербургский НИИ Фтизиопульмонологии Минздрава России, Россия

ETIOLOGICAL VERIFICATION OF TUBERCULOUS PLEURISY IN HIV INFECTED PATIENTS

¹K.B.Vladimirov, ²V.Yu.Zhuravlev, ²G.Yu. Marfina, ²A.K.Ivanov¹Federal health care institution Medical Sanitary Department 78, Federal Department of Correction of Russia, Saint-Petersburg, Russia²Scientific and Research Institute of Phthisiopulmonology, Saint-Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2014 г.

Обследованы 102 больных с впервые выявленным туберкулёзом с плевральным выпотом. Средний возраст больных 31,5 года, у 88 (86,3%) имелось сочетание туберкулёза и ВИЧ-инфекции. У 57 (55,9%) пациентов плеврит был единственным проявлением туберкулёза, у остальных сочетался с другими формами туберкулёза. Методом посева экссудата туберкулёзный генез плеврита подтверждён в трети, методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) экссудата — в 68,6% случаев. Чувствительность метода ПЦР у больных с ВИЧ-инфекцией была выше, чем у ВИЧ-негативных пациентов. Ведущей причиной туберкулёзного плеврита у больных с ВИЧ-инфекцией является непосредственное поражение плевры. Для диагностики туберкулёзного плеврита необходимо одновременно использовать все возможные способы верификации, с приоритетным применением в стандарте обследования больных плевритом ПЦР исследования экссудата, особенно при ВИЧ-инфекции. Биопсия плевры при торакоскопии повышает возможности этиологической верификации туберкулёзного плеврита.

Ключевые слова: плеврит, туберкулёз, ВИЧ, экссудат, верификация.

As much as 102 new TB cases with pleurisy were studied. Average age was 31,5 years, 88 (86,3%) patients had TB/HIV co-infection. In 57 (55,9%) cases pleura was the only site of active TB, in the remaining cases other locations of active TB were also detected. TB origin of pleurisy was approved with exudates culture for Mycobacterium TB positive in each third case and with exudates positive for Mycobacterium TB complex DNA in 68,6% cases. Sensitivity of polymerase chain reaction (PCR) in pleural fluid was higher in TB/HIV patients. Direct TB affection of the pleura is the leading reason of tuberculous pleural effusion in HIV infected patients. All possible diagnostic tools should be used simultaneously to approve the origin of TB pleurisy. Regarding diagnostics of pleurisy, PCR of pleural fluid should be considered as the priority method, especially in patients with HIV-infection. Thoracoscopy with pleural biopsy increases the diagnostic potential of etiological verification of TB pleurisy.

Key words: pleurisy, TB, effusion, HIV, verification.

Введение. В Российской Федерации от трети до половины всех случаев экссудативного плеврита вызваны туберкулёзом. Как самостоятельное заболевание, туберкулёзный плеврит в структуре туберкулёза органов дыхания составляет до 6–8%, а так же осложняет течение туберкулёза лёгких до 15% случаев [1]. У лиц молодого возраста доля плевритов составляет до 40% всех случаев заболевания туберкулёзом [2].

У больных с ВИЧ-инфекцией высокий риск заболевания туберкулёзом требует быстрой и достоверной верификации генеза плевральных выпотов [3]. Своевременная этиологическая диагностика туберкулёзного плеврита сохраняет свою актуальность и лимитиро-

вана длительностью и невысокой чувствительностью традиционных методов исследования [2, 4].

Для пациентов с ВИЧ-инфекцией характерно быстрое прогрессирование туберкулёза с его генерализованным течением и вовлечением в патологический процесс серозных оболочек [5]. Частая встречаемость лекарственно — устойчивых форм туберкулёза у больных с ВИЧ-инфекцией требует проведения ускоренных тестов на лекарственную чувствительность микобактерий туберкулёза (МБТ) в рамках первичной диагностики [3, 5].

Цель исследования. Исследовать особенности клинических проявлений и способов диагностики туберкулёзного плеврита у больных с ВИЧ-инфек-

цией, и возможности использования молекулярно-генетических методов для верификации туберкулёзного поражения плевры.

Материалы и методы. Обследованы все больные с впервые выявленным активным туберкулёзом, сопровождающимся плевральным выпотом, которые находились на стационарном лечении в Областной больнице имени доктора Ф.П.Гааза (с 2011 г. — больница № 1 ФКУЗ МСЧ-78) ФСИН России (г. Санкт-Петербург) с июня 2009 г. по декабрь 2013 г. Диагноз туберкулёза устанавливался на основании анамнеза, клинических данных, результатов рентгенологического, эндоскопического, бактериологического, гистологического исследований, полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Наличие и точное расположение выпота в плевральной полости подтверждалось рентгенологическим и ультразвуковым исследованием. Плевральный выпот получали при пункции, выполненной в общепринятом порядке, и исследовали на бактериоскопию с окраской по Цилю-Нильсену, посев на микобактерии туберкулёза (МБТ) на твёрдых средах по Лёвенштейну — Йенсену, а так же на наличие ДНК микобактерий туберкулёзного комплекса методом ПЦР. При неинформативных результатах выполнялась видеоторакоскопия с биопсией плевры (с направлением материала на гистологическое и ПЦР — исследование, посев на МБТ) либо повторное ПЦР исследование экссудата в динамике.

Посевы на МБТ выполнялись в городском противотуберкулёжном диспансере г. Санкт-Петербурга.

чимыми признавались различия при $p < 0,05$. Все пациенты дали письменное информированное согласие на проведение обследования.

Результаты исследования. Обследованы 108 пациентов с туберкулёзным плевритом. У шести из них выявлена туберкулёзная эмпиема плевры и эти пациенты были исключены из дальнейшего исследования. У оставшихся 102 больных имело место поражение плевры с серозным выпотом, 98 из них — мужчины. Возраст больных составил в среднем 31,5 лет (от 19 до 54).

У 88 из 102 пациентов зарегистрировано сочетание туберкулёза и ВИЧ-инфекции (группа ТБ/ВИЧ), при этом у 85 туберкулёз развивался на фоне ВИЧ-инфекции, у трёх туберкулёз и ВИЧ-инфекция были выявлены одновременно. Остальные 14 человек были ВИЧ-негативными.

У 57 больных плеврит был единственным клинико-морфологическим проявлением туберкулёза (изолированный плеврит), в 29 случаях плеврит являлся осложнением туберкулёза лёгких и/или внутригрудных лимфоузлов. У 16 пациентов поражение плевры было проявлением генерализованного туберкулёза, в виде экссудативного плеврита, туберкулёза лёгких и/или внутригрудных лимфоузлов; а так же одной или несколькими верифицированными внелёгочными локализациями туберкулёзного процесса.

Данные о числе CD4-лимфоцитов крови были известны у 41 больного с ВИЧ-инфекцией. В среднем этот показатель составил 155,1 клеток/мкл (медиана 124 клеток/мкл, 61—220 25%—75%), в зависимости

Таблица 1

Распространённость туберкулёзного процесса

Распространённость туберкулёзного процесса	Группы больных			
	ВИЧ-негативные (n=14)	ТБ/ВИЧ (n=88), в том числе:	CD4 менее 200 клеток/мкл (n=27)	CD4 более 200 клеток/мкл (n=14)
Изолированный плеврит	8 (57,1)	49 (55,7)	11 (40,7)*	11 (78,6)*
Туберкулёз органов дыхания, осложнённый плевритом	6 (42,9)	23 (26,1)	10 (37,1)*	1 (7,1)*
Генерализованные формы туберкулёза	—	16 (18,2)	6 (22,2)*	2 (14,3)*

Данные представлены как n (%). * — $p = 0,0212$.

Иммунологические исследования проводились в инфекционной больнице № 30 г. Санкт-Петербурга. Исследования патологического материала методом ПЦР, изоляцию ДНК и амплификацию последовательности нуклеотидов IS6110 — маркеров ДНК МБТ, выполняли в ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ Фтизиопульмонологии».

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием критериев χ^2 Пирсона и точного критерия Фишера, статистически зна-

от CD4 статуса больные с ВИЧ-инфекцией были разделены на две подгруппы — с уровнем CD4-лимфоцитов менее 200 клеток/мкл и выше 200 клеток/мкл.

Сведения о распространённости туберкулёзного процесса и уровне CD4 в группах больных представлены в табл. 1.

Следует отметить, что генерализованные формы туберкулёза наблюдались только у больных с ВИЧ-инфекцией. Формы туберкулёза с поражением органов дыхания и плевритом, генерализацией процесса

чаще отмечались у больных с ВИЧ-инфекцией с выраженным иммунодефицитом, изолированный плеврит — у пациентов с уровнем CD4-лимфоцитов выше 200 клеток/мкл.

плевральной жидкости у пациентов с ВИЧ-инфекцией до 70,7% ($p=0,0108$). Методом посева культуры МБТ в экссудате выделяли примерно в трети случаев. У больных с ВИЧ-инфекцией с иммунодефи-

Таблица 2

Чувствительность ПЦР исследований плевральной жидкости

Результат ПЦР	Группы больных			
	ВИЧ-негативные (n=14)	ТБ/ВИЧ (n=82), в том числе:	CD4 менее 200 клеток/мкл (n=27)	CD4 более 200 клеток/мкл (n=14)
Отрицательный	9 (64,3)	30 (36,6)	7 (25,9)	3 (21,4)
Обнаружена ДНК микобактерий туберкулёзного комплекса	5 (35,7)	52 (63,4)	20 (74,1)	11 (78,6)

Результаты представлены как n (%).

Таблица 3

Чувствительность посева плевральной жидкости на МБТ

Результат посева	Группы больных			
	ВИЧ-негативные (n=14)	ТБ/ВИЧ (n=88), в том числе	CD4 менее 200 клеток/мкл (n=27)	CD4 более 200 клеток/мкл (n=14)
Отрицательный	9 (64,3)	57 (64,8)	13 (48,1)*	12 (85,7)*
Выделена культура МБТ	5 (35,7)	31 (35,2)	14 (51,9)*	2 (14,3)*

Данные представлены как n (%). * — $p=0,0194$.

Результаты бактериоскопии плевральной жидкости у всех 102 больных были отрицательными. Выполнено 104 ПЦР исследования экссудата у 96 пациентов. В восьми случаях анализ выполнялся дважды, с промежутком между пункциями плевры от семи до 53 суток (в среднем 21,7 дней). У 23 больных исследовали

цитом чувствительность посева экссудата была выше, чем у пациентов с относительно высоким CD4 статусом ($p<0,05$).

Изучены результаты ПЦР и посева экссудата на МБТ у больных в зависимости от распространённости туберкулёзного процесса (табл. 4).

Таблица 4

Результаты исследований экссудата методом ПЦР и посева на МБТ у больных с различной распространённостью туберкулёзного процесса

Результаты ПЦР	Группы больных		
	Изолированный плеврит (n=57)	Туберкулёз органов дыхания, осложнённый плевритом (n=29)	Генерализованный туберкулёз (n=16)
Обнаружена ДНК микобактерий туберкулёзного комплекса	35 (68,6)*	15 (51,7)	13 (81,2)
Получен рост МБТ	17 (29,8)	11 (36,7)	8 (50)

Данные представлены как n (%). * — ПЦР исследование выполнялось у 51 из 57 больных.

биоптаты плевры, из них у шести пациентов это был единственный направленный на ПЦР материал.

Результаты ПЦР и культурального исследований плевральной жидкости представлены в табл. 2 и табл. 3.

У больных с ВИЧ-инфекцией ДНК МБТ в плевральном экссудате была выявлена значительно чаще, чем у ВИЧ-негативных пациентов. При повторном ПЦР исследовании экссудата у двух ВИЧ-негативных пациентов конверсии результата не выявлено, а у больных с ВИЧ-инфекцией во всех шести случаях была обнаружена ДНК МБТ, что позволило повысить чувствительность ПЦР исследования

В плевральной жидкости ДНК МБТ у больных с генерализованным туберкулёзом выявляли в подавляющем большинстве случаев, несколько реже — при изолированном плеврите и при туберкулёзе органов дыхания. Чувствительность посева экссудата на МБТ у больных всех групп была существенно ниже, чем при ПЦР исследовании, чаще всего рост МБТ был отмечен у больных с генерализованным туберкулёзом.

У 13 пациентов были так же выявлены МБТ при посеве мокроты, в двух случаях — при посеве биоптата периферического лимфатического узла и в трёх — при посеве мочи.

Диагностическая видеоторакоскопия с биопсией плевры была выполнена у 23 больных изолированным плевритом. Результаты исследования биоптатов плевры представлены в табл. 5.

Чувствительность гистологического исследования и ПЦР анализа на ДНК МБТ в биоптатах плевры

У 29 больных выполнено исследование ТБ-Биочип, материалом послужили биоптаты плевры (n=10) и экссудат (n=19, рисунок).

Более чем в половине случаев наблюдались мутации, ассоциированные с лекарственной устойчивостью (ЛУ) МБТ одновременно к изониазиду и ри-

Таблица 5

Результаты исследования биоптатов плевры

Результаты исследований	Группы больных		
	ВИЧ-негативные (n=5)	ТБ/ВИЧ (n=18)	Все больные
ПЦР исследование			
Отрицательный	1 (20)	3 (16,7)	4 (17,4)
Обнаружена ДНК микобактерий туберкулёзного комплекса	4 (80)	15 (83,3)	19 (82,6)
Гистологическое исследование			
Неспецифический плеврит	—	2 (11,1)	2 (8,7)
Туберкулёзный плеврит	5 (100)	16 (88,9)	21 (91,3)
Посев на МБТ			
Отрицательный	4 (80)	12 (66,7)	16 (69,6)
Получен рост МБТ	1 (20)	6 (33,3)	7 (30,4)

Данные представлены как n (%).

оказалась соизмеримой и превышала 80% для обоих методов. Вне зависимости от ВИЧ-статуса пациентов чувствительность метода ПЦР была одинаковой. У двух больных (один из них с ВИЧ-инфекцией) с негативным результатом ПЦР биоптата плевры при гистологическом исследовании был верифицирован туберкулёзный плеврит.

При гистологическом исследовании плевры диагноз был подтверждён у 21 из 23 (91,3%) больных изолированным туберкулёзным плевритом, при этом у двух больных этот метод верификации был единственным.

У больных с ВИЧ-инфекцией при посеве биоптатов плевры рост МБТ отмечен чаще, чем у ВИЧ-негативных пациентов. В одном случае при культуральном исследовании биоптатов был получен рост МБТ, в то время как ПЦР и гистологическое исследование плевры были неинформативными.

Таким образом, с учётом ПЦР исследования биоптатов, ДНК МБТ в диагностическом материале из плевральной полости была обнаружена у 52 (91,2%) больных изолированным туберкулёзным плевритом, в 15 (51,7%) случаях туберкулёза органов дыхания, осложнённого плевритом и в 13 (81,3%) случаях при генерализованном туберкулёзе. Следует отметить, что обнаружение ДНК МБТ у 19 из 57 (33,3%) больных изолированным плевритом было единственным методом верификации туберкулёза.

У одного из 57 больных изолированным туберкулёзным плевритом диагноз был установлен только по результатам пробной терапии.

фампицину. Мутации ДНК МБТ, приводящие к ЛУ только к одному из противотуберкулёзных препаратов, наблюдались редко. В каждом третьем случае ЛУ МБТ методом ТБ-Биочип выявлено не было. В 17 из 29 случаев результаты ТБ-Биочип были сопоставлены с данными посева на МБТ в том же исследуемом материале. Во всех случаях множественной ЛУ МБТ по данным посева, методом ТБ-Биочип также выявлялись мутации в генах, ответственные за резистентность к этим препаратам. В то же время, в двух случаях при наличии мутации в гене *groV* и в одном случае — при мутации в гене *inhA* чувствительность МБТ к соответствующим противотуберкулёзным препаратам при посеве была сохранена.

Обсуждение. У большинства больных имел место изолированный туберкулёзный плеврит. У остальных пациентов наблюдалось сочетание поражения плевры с другими формами специфического процесса, причём около трети из них составляли больные генерализованным туберкулёзом.

Считается, что верификация туберкулёзной этиологии плеврита сопряжена с рядом объективных сложностей. По мнению ряда авторов [2, 5, 6], чувствительность культурального метода в плевральном экссудате у больных специфическим плевритом составляет около 25%. Полученные нами данные показывают, что у больных туберкулёзным плевритом при посеве экссудата на твёрдые среды рост МБТ отмечается не чаще, чем в 35% случаев. При этом, чувствительность культурального метода была одинако-

вой у больных с ВИЧ-инфекцией и ВИЧ-негативных пациентов. В то же время, у больных с ВИЧ-инфекцией с низким CD4 статусом посев экссудата на МБТ был положительным в половине случаев. Возможно,

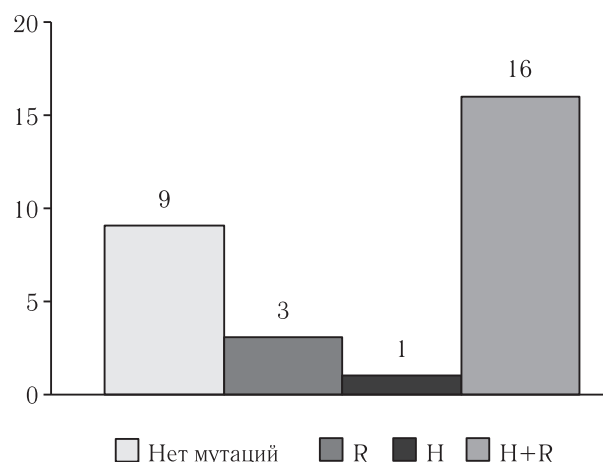


Рисунок. Результаты исследования материала из плевральной полости методом ТБ-Биочип.

R — мутация, ассоциированная с устойчивостью к рифампицину (ген *rpoB*);

H — мутации, ассоциированные с устойчивостью к изониазиду (гены *KatG*, *inhA*, *AhpC*);

H+R — одновременно выявлены мутации, приводящие к резистентности к изониазиду и рифампицину.

данные показатели являются пределом точности метода Лёвенштейна—Йенсена.

Чувствительность ПЦР исследований экссудата у больных изолированным туберкулёзным плевритом составила 68,6%. Это значительно выше, чем при использовании традиционного культурального метода. У ВИЧ-негативных больных результаты посева и ПЦР исследования экссудата были сопоставимы. У больных с ВИЧ-инфекцией чувствительность ПЦР плевральной жидкости была значительно выше, чем у ВИЧ-негативных пациентов. Существенных вариаций результатов данного исследования у больных с ВИЧ-инфекцией с различным CD4 статусом не отмечено.

У восьми пациентов с отрицательным результатом первого ПЦР анализа плевральной жидкости в ходе дальнейшей диагностики выполняли повторное ПЦР исследование экссудата. Шестеро из этих восьми страдали ВИЧ-инфекцией. Интересно, что у всех шести больных с ВИЧ-инфекцией отмечена конверсия результата — при повторном ПЦР исследовании в плевральной жидкости обнаружена ДНК МБТ.

Видеоторакоскопия значительно повышает возможности этиологической диагностики туберкулёзного плеврита за счёт данных осмотра плевральной полости и исследований биоптатов плевры гистологическим, культуральным и ПЦР методами у больных с от-

рицательными результатами исследования экссудата. Чувствительность ПЦР метода в биоптате плевры была сопоставима с гистологическим исследованием.

К достоинствам молекулярно — генетических методов исследования так же следует отнести возможность ускоренного определения ЛУ МБТ. У обследованного нами контингента больных prevalence первичной множественной ЛУ МБТ превысила 50%. В ряде случаев имелись расхождения в результатах культурального и молекулярно — генетического метода определения ЛУ МБТ. Примечательно, что при исследовании плевры в половине случаев (10 из 21 с положительным результатом ПЦР анализа) удалось выполнить диагностику ЛУ МБТ к изониазиду и рифампицину уже в раннем послеоперационном периоде (до двух суток).

У подавляющего большинства (56 из 57) больных изолированным туберкулёзным плевритом было выполнено этиологическое подтверждение заболевания. Применение с этой целью всех возможных способов верификации туберкулёза плевры (в том числе широкое применение технологии ПЦР, инвазивных методов) на этапе первичной диагностики позволяет объяснить преобладание изолированного туберкулёзного плеврита среди обследованного контингента.

Поражение плевры при активном туберкулёзе органов дыхания часто расценивается как следствие инфекционно — аллергической параспецифической реакции серозных оболочек [7, 8]. С другой стороны, при развитии у больных с ВИЧ-инфекцией генерализованного туберкулёза ведущим механизмом распространения патологического процесса считается лимфогенная и гематогенная диссеминация [5].

У больных туберкулёзом лёгких с плевральным выпотом ДНК МБТ в экссудате обнаруживали только в половине случаев. В то же время, при изолированном туберкулёзном плеврите ДНК МБТ в экссудате (и/или биоптате плевры) обнаруживали так же часто, как и у клинически и прогностически более тяжёлых больных с генерализованными формами туберкулёза. Поэтому, представляется рациональным при выявлении туберкулёзного плеврита у пациента с ВИЧ-инфекцией одновременно с началом лечения продолжить обследование с целью выявления или исключения у него иной локализации туберкулёза.

Заключение. Ведущей причиной туберкулёзного плеврита у больных с ВИЧ-инфекцией вне зависимости от распространённости специфического процесса является непосредственное туберкулёзное поражение плевры.

Диагноз «туберкулёзный плеврит» в отсутствие иных локализаций туберкулёзного процесса требует обязательной этиологической верификации. С этой

целью необходимо уже на этапе первичной диагностики использовать все возможные способы верификации туберкулёзного плеврита, включая биопсию плевры. Метод ПЦР обладает высокой чувствительностью при выявлении возбудителя туберкулёза в плевральной жидкости, что даёт основания включить его в качестве обязательного (приоритет-

ного) в стандарте обследования при плевритах, особенно у больных с ВИЧ-инфекцией.

Применение метода ТБ-Биочип у больных туберкулёзным плевритом позволяет достоверно и в ранние сроки выявлять лекарственную устойчивость микобактерий туберкулёза, при работе с исходным патологическим материалом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Стогова Н.А., Тюхтин Н.С. Общие принципы выявления больных и верификации диагноза при туберкулёзном плеврите // Проблемы туберкулёза и болезней лёгких. — 2007. — № 2. — С. 14–17.
2. Соколов В.А. Плевриты. — Екатеринбург, Баско. — 1998. — 240 с.
3. Priority research questions for tuberculosis/human immunodeficiency virus (TB/HIV) in HIV-prevalent and resource-limited settings / WHO/HTM/TB/2010.8. WHO/HTM/HIV/2010.10. — 2010. — 64 p.
4. Руководство по легочному и внелегочному туберкулёзу / Под ред. Ю.Н.Левашева, Ю.М.Репина. — СПб.: Элби-СПб. — 2006. — 516 с.
5. Пантелеев А.М. Туберкулез органов дыхания у больных с ВИЧ-инфекцией // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. — 2010. — №1. — С. 16–22.
6. Зими́на В.Н., Баты́ров Ф.А., Кра́вченко А.В. Туберкулёзное поражение плевры у больных с ВИЧ — инфекцией — особенности течения, диагностики и лечения // Туберкулёз и болезни лёгких. — 2011. — № 9. — С. 27–32.
7. Туберкулёз / Под ред. М.И.Перельмана. — М.: Гэотар Медицина, 1999. — 208 с.
8. Light R.W., Gary Lee Y.C. Textbook of pleural diseases. — London, 2003. — 553 p.

Статья поступила: 11.11.2014 г.

Контактная информация: *Владимиров Кирилл Борисович*, e-mail kv2001@bk.ru

Коллектив авторов:

Владимиров Кирилл Борисович — к.м.н., Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Медико-санитарная часть № 78» Федеральной службы исполнения наказаний, врач-торакальный хирург туберкулёзного лёгочно-хирургического отделения Больницы № 1, e-mail: kv2001@bk.ru;

Журавлев Вячеслав Юрьевич — к.м.н., руководитель отдела лабораторной диагностики ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава РФ, e-mail: jouravlev-slava@mail.ru;

Марфина Галина Юрьевна — к.м.н., научный сотрудник отделения хирургии сочетанных и осложнённых форм туберкулёза лёгких ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава РФ, e-mail: marfina_galya@mail.ru;

Иванов Александр Константинович — д.м.н., профессор, научный консультант отдела фтизиопульмонологии ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава РФ, e-mail: pargolovo@list.ru.