

ПНЕВМОЦИСТОЗ. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ ПРОБЛЕМЫ

Н.В. Каражас

ФГБУ Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии
им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России

Пневмоцистоз представляет собой оппортунистическую инфекцию, манифестно проявляющуюся поражением легких на фоне иммунодефицитных состояний у детей и взрослых. Заболевание развивается у лиц с подавленным клеточным иммунитетом и нарушением гуморального иммунитета. Диагностика пневмоцистоза только по клинической картине сложна из-за отсутствия патогномичных симптомов. Необходимо применение лабораторных методов диагностики: паразитологических, иммунологических и молекулярно-биологических.

Ключевые слова: пневмоцистная пневмония, бронхоальвеолярный лаваж, спорозоит, трофозоит, прециста, иммунодефицитная вирусная инфекция, иммунофлюоресцентный тест.

PNEUMOCYSTOSIS. THE PRESENT STATE OF THE PROBLEM

N.V. Karazhas

Federal State Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya.
Russian Ministry of Health

Pneumocystosis is an opportunistic infection manifesting itself in lung affection of immunodeficient both children and adults. Pneumocystic pneumonia develops in patients with suppressed cellular immunity and those having impaired humoral immunity. It is very difficult to diagnose pneumocystosis only basing on clinical symptoms when pathognomic diagnostic methods should be employed – parasitological, immunological, and molecular-biological.

Key words: *Pneumocystis carinii* pneumonia, bronchoalveolar lavage, sporozoite, trophozoite, precyst, immunodeficiency virus infection, immunofluorescence test.

Болезненные состояния, вызванные пневмоцистами, согласно Международной классификации (Medic ode Hospital ICD.9.CM, 1999), определяются как пневмоцистоз. Это оппортунистическая инфекция, преимущественно проявляющаяся атипичным поражением легких. Возбудителем инфекции является *Pneumocystis carinii/jiroveci hominis* – условно-патогенные грибы с внеклеточным циклом развития, относящиеся к почкующимся дрожжеподобным грибам (*Blastomycetes*).

В 1909 г. бразильский врач К. Шагас впервые выделил этот микроорганизм из легких гвинейских свиней и расценил его как одну из форм развития трипаномы [11]. В 1912 г. Ф. Деланое и соавт. нашли подобные цисты в легочной ткани крыс и предложили выделить этот микроорганизм в отдельный род *Pneumocystis*, вид *carinii*. С 1999 г. название возбудителя пневмоцистной пневмонии у человека изменено на *Pneumocystis jiroveci hominis* в честь чешского учено-

го-паразитолога Отто Йировица, впервые описавшего этот микроорганизм как причину заболевания пневмонией у человека.

Таксономическое положение возбудителя пневмоцистоза довольно сложное из-за генетической, а в некоторых случаях и фенотипической неоднородности самого вида *Pneumocystis carinii*, его способности поражать как животных, так и человека. Пневмоцисты, выделенные у различных хозяев, сходны, но имеют генотипические различия. В 1976 г. Френкель доказал, что возбудитель пневмоцистоза у людей – *Pneumocystis jiroveci* – морфологически сходен с *Pneumocystis carinii* – возбудителем этого заболевания у животных, но отличается по антигенной структуре. Более того, различные генотипы *P. carinii* были обнаружены у разных больных пневмоцистной пневмонией, а также у одного и того же больного при повторных эпизодах пневмоцистной инфекции. В 1994 г. эти данные послужили основанием к введению триноминальной

номенклатуры, включающей название не только рода и вида, но и хозяина на латинском языке: например, *Pneumocystis carinii f.sp. hominis* – выделенные у человека, *Pneumocystis carinii f.sp. carinii* – обнаруженные у крыс [13, 14].

Долгие годы вопрос о принадлежности *P. carinii* к спорообразующим простейшим или к грибам оставался спорным. В 1988 г. *Pneumocystis carinii* были отнесены к царству грибов – *Blastomycetes*. Основанием для этого послужил ряд вновь установленных генетических критериев. Для этого возбудителя характерно, что в наружном слое трофических форм содержится β -1,3 гликан – так же, как и в клеточной стенке дрожжеподобных грибов. При этом фермент зимолаза разрушает как стенку пневмоциста, так и клеточную стенку грибов. Трофические формы подобны вегетативным формам дрожжевых грибов и способны образовывать цисты, в которых лежат споры. Для пневмоциста характерна ламеллярная ультраструктура митохондрий как у грибов, тогда как у простейших она тубулярная. Подобно актиномицетам и базидиомицетам *P. carinii* содержит 16 Sp РНК. Ген β -tubulin на 89-91% соответствует нитевидным грибам. Фактор элонгации протеина EF-3 пневмоциста в 57% случаев идентичен таковому у *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida albicans*. Такой протеин имеется только у грибов. Процесс синтеза дигидроптероатсинтетазы и дегидрофолатредуктазы протекает в двух разных белках, тогда как простейшие синтезируют один бифункциональный белок. Тем не менее, эргостерол, содержащийся в мембранах большинства грибов, в клеточной стенке пневмоциста не был обнаружен.

Pneumocystis carinii/jiroveci – классический оппортунист, т.к. инфекция, вызванная этим возбудителем, при дефиците гуморального и клеточного иммунитета проявляет себя манифестно. Возможна реактивация латентной инфекции у больных с вторичными иммунодефицитами.

В последние годы отмечен значительный рост числа лиц с иммунодефицитными состояниями различной природы, что позволяет говорить о формировании «популяционных иммунодефицитов». В современных условиях причины возникновения иммунодефицитов могут быть различными: соматические или инфекционные заболевания (в том числе и ВИЧ-инфекция), нарушения экологической обстановки, социально-экономическая нестабильность, стрессы, наркомания и др. На этом фоне могут происходить существенные изменения эпидемиологических закономерностей многих инфекционных заболеваний, в том числе и оппортунистических.

Первые описания пневмоцистной пневмонии были сделаны в Европе. С 1938 по 1963 г. произошли вспышки пневмоцистоза в 45 городах 17 стран. До 1964 г. были описаны 22 случая пневмоцистоза у

взрослых в возрасте от 21 года до 78 лет, диагностированные посмертно.

В 1989 г. на Международной конференции в Женеве по Десятому пересмотру Международной классификации болезней пневмоцистоз был отнесен к X классу болезней органов дыхания (B59) и, согласно этому документу, он подлежит регистрации на основании данных истории болезни.

К 1991 г. в мире было диагностировано более 100 тыс. случаев пневмоцистоза. В России и странах СНГ эта инфекция до настоящего времени официальной статистикой не учитывается из-за трудности постановки этиологического диагноза на основании клинических проявлений и слабого уровня лабораторной диагностики.

Пневмоцистоз, как правило, протекает как острое респираторное заболевание, обострение хронических бронхолегочных заболеваний, обструктивного бронхита, ларингита, а также по типу пневмоний с нарушениями газообмена (интерстициальных пневмоний). Даже в фатальных случаях пневмоцистная пневмония редко выходит за пределы легких, что связано с крайне низкой вирулентностью возбудителя. Однако на фоне нарушенного клеточного иммунитета пневмоцистоз может проявляться и в виде внелегочных поражений (надпочечников, щитовидной железы, печени, селезенки, желудочно-кишечного тракта, сердца, кожи). Могут также развиваться отиты, мастоидиты и гаймориты пневмоцистной этиологии, что, впрочем, случается крайне редко. Патогенез внелегочной диссеминации неясен, предполагается лимфогенное и гематогенное распространение возбудителя.

У больных пневмоцистозом отмечается местная или системная продукция антител, не обладающих протективным действием. Несмотря на то, что первые исследования свидетельствовали о незначительной роли антител в патогенезе пневмоцистной пневмонии, авторы более поздних работ показали, что гуморальный иммунитет является важным звеном в защите от возбудителя этой инфекции. У недоношенных детей с белковой недостаточностью нарушается специфический синтез иммуноглобулинов и, как следствие, может развиваться пневмоцистная пневмония. Инфекционный процесс, связанный с дефектом антителообразования, развивается, как правило, во втором полугодии жизни ребенка после исчезновения из кровотока материнских иммуноглобулинов. Приведенные данные свидетельствуют о роли гуморального иммунитета в патогенезе пневмоцистоза. В сыворотке периферической крови определяются специфические антитела к *Pneumocystis jiroveci* (IgG, IgM и IgA), при этом выявляется дефицит некоторых изотипов антипневмоцистных антител.

Приобретенный иммунитет не является стойким. Рецидивы пневмоцистной пневмонии отмечаются

у 10% детей и взрослых с иммунодефицитами, при СПИДе – у 25%. Обследование методом ПЦР одних и тех же пациентов при повторном заболевании показывает наличие нескольких разных генотипов возбудителя пневмоцистоза, что и подтверждает новое заражение этих больных. Таким образом, доказано, что часто происходит свежее заражение отдельных лиц. Вспышки пневмоцистных пневмоний наблюдаются в детских коллективах, среди взрослых – в стационарах.

Pneumocystis carinii/jiroveci – внеклеточный паразит, весь жизненный цикл которого происходит в альвеоле и включает четыре стадии: трофозоит, прециста, циста, спорозоит.

Размножение паразита сопровождается появлением большого числа трофозоитов – вегетативной формы *Pneumocystis carinii/jiroveci* величиной 1-5 мкм, одноядерных, с двухслойной клеточной тонкой мембраной. С помощью филлоподий они прикрепляются к эпителию легкого, выстланного альвеолоцитами первого порядка, чему способствуют фосфолипиды, мукополисахариды, апопротеины, сурфактант, содержащиеся в поверхностном эпителии альвеол, и пролиферируют. Затем трофозоит округляется, формирует утолщенную клеточную стенку и превращается в раннюю прецисту. Она имеет овальную форму, размер 5 мкм и характеризуется наличием одного крупного ядра, скоплением вокруг него митохондрий и тонкой пелликулой, сходной с пелликулой в трофозоитах. На следующей стадии прециста имеет 2-6 ядер, пелликула утолщается, а в поздней прецисте в цитоплазме вокруг ядер появляются мембраны. Далее прециста развивается в зрелую толстостенную трехслойную цисту размером 7-8 мкм, наружный слой которой выявляется только при электронной микроскопии (при обычных методах окраски для световой микроскопии его выявить не удастся). Внутри нее находится четное число (чаще всего 8) внутрицистных телец – спорозоитов величиной 1-3 мкм (рис. 1). Формирование спорозоитов напоминает формирование аскоспор аскомицетов. Толстая стенка пневмоцисты содержит ряд гликопротеинов, из которых р120 связывается с фи-

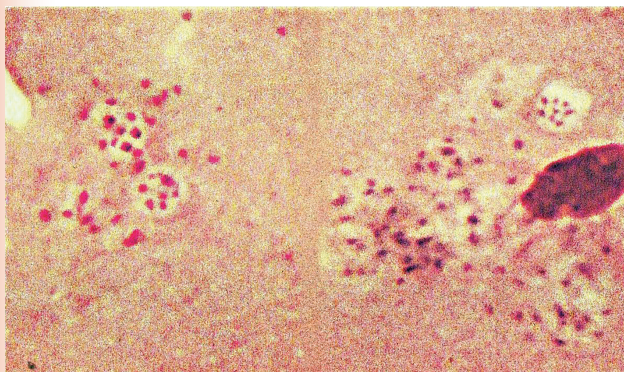


Рис. 1. Пневмоцисты. Окраска по Романовскому – Гимзе

бронектином, формируя фибронектиновый мостик, соединяющий *Pneumocystis carinii/jiroveci* с альвеолярным эпителием хозяина и макрофагами. Довольно часто приходится наблюдать цисты, расположенные внутриклеточно (в макрофагах).

Полный цикл развития *Pneumocystis carinii/jiroveci* протекает двумя фазами: сексуальной и асексуальной [12]. В сексуальной фазе в момент заражения зрелые цисты, попавшие в чувствительный организм, разрываются, высвобождая спорозоиты, часть из которых являются гаплоидами. Они сливаются попарно, образуя трофозоиты, способные развиваться в прецисты и далее в цисты. В асексуальной фазе трофозоиты, перетягиваясь, делятся на две клетки, и каждая из них развивается в пневмоцисту.

Pneumocystis carinii/jiroveci широко распространен и выявляется повсеместно, однако наиболее часто пневмоцистную инфекцию диагностировали в США, Канаде, странах Западной Европы. Непрерывность течения эпидемического процесса поддерживается тремя факторами: источником инфекции, механизмом её передачи и восприимчивостью населения. Источником инвазии является больной или носитель этого микроорганизма, о чем свидетельствуют следующие данные:

- имеющиеся сообщения о семейных вспышках пневмоцистной пневмонии, эпидемических вспышках в пределах одного отделения;
- в воздухе помещений, где находятся больные пневмоцистной пневмонией, определяется ДНК *Pneumocystis jiroveci*;
- титры антипневмоцистных антител значительно выше у медицинских работников, контактирующих с больными пневмоцистной пневмонией.

Среди здорового населения до 10% являются носителями пневмоцист. Механизм передачи пневмоцистоза – аспирационный, а основными путями передачи являются воздушно-капельный, воздушно-пылевой, аэрогенный и ингаляционный. Входными воротами возбудителя служат дыхательные пути. Фактор передачи инфекции – мокрота, слизь верхних дыхательных путей. Возбудитель может неопределенное время находиться на эпителии зева, дыхательных путей больных и здоровых носителей.

В семейных очагах, где источником инфекции являлись родители, их ослабленные дети подвергались инфицированию и заболевали пневмоцистными пневмониями. Описаны внутрибольничные заражения детей в отделениях недоношенных, новорожденных в детских больницах или в домах ребенка от медицинского персонала – носителей пневмоцист. Особенно сильно вспышек являются растянутость во времени, вовлечение в эпидемический процесс до 60-80% детей и медицинского персонала, преобладание стертых форм типа ОРЗ [4, 5].

Возникновению внутрибольничных вспышек пневмоцистоза способствует перевод детей с явлениями интерстициальной пневмонии без установленного этиологического диагноза из отделений новорожденных в общие палаты больниц. Распространение пневмоцистной инфекции также может быть связано с нарушением противоэпидемического режима в стационарах, нарушением цикличности заполнения палат и их переуплотнением. Наиболее часто заболевают дети в возрасте от 7 до 20 дней в период выраженной физиологической гипогаммаглобулинемии. Обычно пневмоцистоз развивается на 4-6-м месяце жизни, когда иммунная система новорожденного еще полностью не сформировалась. К факторам риска возникновения заболевания в больнице относится дефицит полноценного белкового питания, другой фактор риска – так называемый «госпитализм» – включает продолжительное лечение антибиотиками и кортикостероидами, дефекты питания и длительные контакты с другими больными.

Исследования проб атмосферного воздуха стационаров различного профиля и смыслов с медицинского оборудования с помощью разработанной на основе ПЦР методики выявления ДНК *Pneumocystis jiroveci* в биологических и клинических материалах показали, что ДНК пневмоциста сохраняется при комнатной температуре в течение 12 дней, а также после двухчасового ультрафиолетового облучения. После обработки исследуемых поверхностей 0,1% раствором хлорамина с последующим УФ-облучением в течение 30 минут результаты ПЦР были отрицательными [7].

Обследование медицинского персонала противотуберкулезного стационара, работающего с ВИЧ-инфицированными больными, у которых маркеры острой инфекции, вызванной *Pneumocystis jiroveci*, выявлялись в 46%, показало, что они также вовлечены в эпидемический процесс и их инфицированность этим микроорганизмом достигает довольно высокого уровня: маркеры острой пневмоцистной инфекции обнаружены у 34,3% медработников. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что медицинский персонал может инфицироваться от больных и в свою очередь являться источником пневмоцистной инфекции.

На основании данных сероэпидемиологических исследований выявлена зависимость частоты инфицирования детей различных групп от условий жизни. Наибольшее число инфицированных *Pneumocystis jiroveci* (77,6%) было обнаружено у детей из домов ребенка; среди детей, посещающих дошкольные учреждения, инфицированных было 67,5%. При этом только 41,3% из детей, не посещающих детские учреждения, имели антитела к *Pneumocystis jirovecii*. Среди детей из домов ребенка был наибольший процент с антителами в высоких титрах (43,4%); среди детей из дошкольных учреждений высокие титры антител к *Pneumocystis jiroveci*

наблюдались у 18,8%, а детей, не посещающих детские учреждения, – всего у 6,0%. Большое значение в развитии инфекции имеет активация латентной пневмоцистной инфекции на фоне иммунодефицита.

Изучение сезонности пневмоцистоза, проводившееся на протяжении 15 лет, показало, что в отличие от других инфекций, передающихся воздушно-капельным и воздушно-пылевым путями и имеющими пик заболеваемости в зимне-весенний период, наибольшее число заболеваний детей приходится на август и сентябрь. Видимо, это связано с возвращением детей после летнего отдыха в организованные детские коллективы. Анализ числа заболевших взрослых за тот же период показал практически равномерное распределение заболеваний пневмоцистозом в течение года. Выявленная закономерность, вероятно, может объясняться тем, что пневмоцистоз у взрослых развивается на фоне иммунодепрессии, что абсолютно не связано с временем года. Соотношение манифестных и бессимптомных форм в различных возрастных группах колеблется в больших пределах. Группами риска в отношении заражения пневмоцистозом являются:

- недоношенные, ослабленные новорожденные и дети раннего возраста с гипогаммаглобулинемией, гипотрофией и рахитом;
- дети из домов ребенка;
- пожилые люди из домов престарелых;
- больные лейкозом, онкологические больные, реципиенты органов, получающие иммунодепрессанты;
- больные туберкулезом;
- больные цитомегалией и другими вирусными инфекциями;
- ВИЧ-инфицированные;
- больные, перенесшие массивную кровопотерю;
- больные, длительно получающие стероидную терапию;
- пациенты с лучевой болезнью.

Для изучения распространенности *Pneumocystis jiroveci* в России и странах СНГ было проведено обследование 1550 здоровых лиц. На основании определения уровней антител к *Pneumocystis jiroveci* (IgG) было выявлено широкое распространение этого возбудителя на всех изученных территориях. Уровень инфицированности взрослого населения составлял в Душанбе 45,0%, в Йошкар-Оле – 73,0%, в Москве – 75,0%, в Вильнюсе – 84,0%, в Гомеле – 88,5%.

Исследование 650 сывороток крови практически здоровых взрослых лиц, проживающих в различных городах Армении, показало, что в среднем наличие антител к *Pneumocystis jiroveci* (IgG) составило 68,9% (от 53,2 до 87,7%); наивысшие показатели наблюдались в двух возрастных группах: 1) 16-19 лет и 2) 70 лет и старше [9].

Дети представляют собой группу риска в отношении этой инфекции. Острые респираторные заболевания занимают ведущее место в инфекционной патологии детского возраста. Особого внимания требуют дети с частыми острыми болезнями верхних и нижних дыхательных путей, со сложностями лечения и реабилитации. Среди недоношенных детей смертность от пневмоцистной пневмонии может составлять 50%. Исследования мокроты от 176 часто болеющих детей в возрасте от 2 месяцев до 14 лет методами НРИФ и ПЦР выявили антиген *Pneumocystis jiroveci* и ДНК этого возбудителя у 2,85% обследованных, что подтвердило диагноз «пневмоцистоз» при отсутствии клинических проявлений этого заболевания.

Дальнейшие обследования детей и взрослых с заболеваниями респираторного тракта показали их высокую пораженность пневмоцистной инфекцией. Из 443 детей у 79 (17,0%) были выявлены антитела к *Pneumocystis jiroveci* (IgM), свидетельствующие об острой инфекции, при этом в мокроте и бронхоальвеолярном лаваже были обнаружены цисты и трофозоиты у 27 обследованных (6,1%). Среди 404 взрослых эти показатели были несколько выше. Антитела к *Pneumocystis jiroveci* (IgM) обнаружены у 93 человек (23,0%), а возбудитель в мокроте и лаваже – у 24 (5,9%). Таким образом, доказано наличие острой пневмоцистной инфекции у 23,1% детей и у 28,9% взрослых с респираторной симптоматикой.

Пневмоцистоз – это ведущая СПИД-ассоциированная инфекция. Среди всех случаев пневмоцистных пневмоний $\frac{3}{4}$ приходится на долю больных СПИДом. Пневмоцистная пневмония – основное сопутствующее заболевание у ВИЧ-инфицированных. Сочетание ВИЧ-инфекции и пневмоцистоза резко ухудшает течение основного заболевания. При отсутствии лечения пневмоцистная пневмония у больных СПИДом всегда приводит к летальному исходу. Летальность при поздней диагностике первичного заболевания составляет около 40%, своевременно начатое лечение пневмоцистоза позволяет снизить летальность до 25%. Тем не менее, через несколько месяцев возможны рецидивы (от 10 до 30%) [3].

Проведенные нами в 2001-2002 гг. совместно с сотрудниками ФГУ Центрального НИИ эпидемиологии и Московской инфекционной клинической больницы №2 (Т.Н. Ермак и др.) исследования ВИЧ-инфицированных больных, у которых развилась острая пневмония, показали, что 61% взрослых серопозитивны в отношении *Pneumocystis jiroveci*, 29,8% из них имеют антитела к *Pneumocystis jiroveci* (IgM), свидетельствующие об острой инфекции; среди детей обнаружено 52,3%, обладающих антителами к *Pneumocystis jiroveci*, у 26,7% из них были выявлены антитела к *Pneumocystis jiroveci* (IgM). Результаты этих исследований позволили сделать вывод о том, что

этиологическим агентом, вызвавшим острые пневмонии у серопозитивных к *Pneumocystis jiroveci* ВИЧ-инфицированных пациентов, являлись пневмоцисты.

Недавние исследования 483 образцов клинического материала от 360 ВИЧ-инфицированных методом ПЦР, проведенные сотрудниками ФГУ Центрального НИИ эпидемиологии, подтвердили клинический диагноз «пневмоцистная пневмония» в 34% случаев. В исследованиях, проведенных украинскими учеными (2004), была изучена распространенность *Pneumocystis jiroveci* среди больных с неспецифической патологией легких. Пневмоцистоз регистрировался у 54% ВИЧ-инфицированных лиц с патологией органов дыхания и у 56% неинфицированных, но с неспецифическими заболеваниями легких.

Проведенный анализ структуры выявленных маркеров пневмоцистной инфекции у ВИЧ-инфицированных больных туберкулезом показал, что при диссеминированных и генерализованных формах туберкулеза пневмоцистоз клинически проявляется реже, чем при ограниченных формах. Тем не менее, обращает на себя внимание тот факт, что при стабилизации процесса диссеминированного и генерализованного туберкулеза пневмоцистная инфекция протекает манифестно. Лабораторные исследования показали, что высокий процент (61,9%) больных с маркерами острой и недавно перенесенной пневмоцистной инфекции был выявлен у ВИЧ-инфицированных с ограниченными формами туберкулеза. Среди больных туберкулезом без ВИЧ-инфекции 44,8% имели маркеры острой и недавно перенесенной пневмоцистной инфекции, при этом у лиц с генерализованным туберкулезом маркеры острой инфекции не превышали 34,4%, тогда как у больных инфильтративным туберкулезом они составили 56,3%. Таким образом, пневмоцистоз как оппортунистическая инфекция актуален как при СПИДе, так и при туберкулезе.

В 2006-2008 гг. нами совместно с сотрудниками ГУ ГНЦ РАМН и ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН было проведено обследование 450 пациентов с различными гематологическими диагнозами с подозрением на пневмоцистную пневмонию. Исследовали бронхоальвеолярный лаваж на антигены *Pneumocystis jiroveci* и сыворотку крови на наличие антител к *Pneumocystis jiroveci* (IgG и IgM). Острая пневмоцистная инфекция выявлена у трети обследованных. У лиц с миеломной болезнью маркеры острой инфекции были зарегистрированы в 43,3% наблюдений; у больных лимфомой – в 35,6%, острым лейкозом и анемией – в 34,3 и 33,3% соответственно.

Обследование 45 детей из Морозовской детской клинической больницы с диагнозом иммунная нейтропения показало, что маркеры острой инфекции пневмоцистоза были выявлены у трети из них. Приведенные данные еще раз подтверждают уязвимость

гематологических больных – взрослых и детей – этим оппортунистом, активным в отношении иммунодепрессированных лиц.

Для более глубокого изучения причин развития пневмоцистной инфекции у человека моделирование этой инвазии на животных начали проводить R. Weller, J. Frenkel, W. Hughes и соавт. с 1955 г. Пневмоцистоз удалось воспроизвести на крысах, мышах, хорьках. Нами в экспериментах на животных – мини-свиньях светлогорской породы – было показано значение иммунодефицитного состояния организма и качества белкового питания для возникновения пневмоцистоза. Вместе с тем, изучение возможного спектра микроорганизмов в биомассе, полученной из легких лабораторных моделей, дало неожиданные результаты: наряду с пневмоцистами было обнаружено большое количество вирусных частиц, ультраструктурная организация которых соответствовала строению коронавируса. Вирионы были представлены округлыми или овальными частицами, размер которых варьировал от 80 до 130 нм. Хорошо выявлялась плотная мембрана, покрытая булавовидными отростками, образующими характерный вид короны, величина отростков составляла от 12 до 24 нм. Зрелые и незрелые вирусные частицы плотно контактировали с наружной поверхностью пневмоцист. Тесная структурная связь коронавируса с пневмоцистами наводит на мысль о неслучайной находке этих микроорганизмов и подтверждает тезис об усилении пневмоцистной инфекции в присутствии эндогенного кофактора – вируса или бактерий (рис. 2).

Клиническая картина пневмоцистоза не имеет четких характерных признаков [6].

Для диагностики пневмоцистоза необходимо использовать комплекс лабораторных методов исследования, включающий паразитологический и иммунологические.

Паразитологический метод основан на прямом морфологическом выявлении пневмоцист в биоло-

гическом материале (легочной ткани, бронхоальвеолярном лаваже, индуцированной мокроте) [1]. Для окраски паразитологических препаратов с целью выявления *Pneumocystis jiroveci* используют классические методы: импрегнацию метенамин-серебряным нитратом по Гомори, окраску толуидиновым синим, гематоксилином и эозином по Грамму и раствором Шиффа, а также методом Романовского – Гимзы [2, 8]. Диагноз «пневмоцистоз» основывается на выявлении паразитов, характерных размеров и формы (цисты, прецисты и трофозоиты) или по специфической эозинофильной пене (окраска гематоксилином и эозином), внутри которой лежат цисты.

К **иммунологическим методам** относят иммунофлюоресцентные методы (НРИФ, РИФ) и иммуноферментный анализ (ИФА). Иммунофлюоресцентные методы для выявления цист и трофозоитов основаны на использовании как моноклональных, так и поликлональных антител. Мышинные моноклональные антитела могут быть получены против цист или трофозоитов, а также против отдельных антигенов *Pneumocystis carinii/jiroveci*. В настоящее время только две фирмы в Европе выпускают тест-системы для диагностики пневмоцистоза:

– «Медак диагностика» (Германия) выпускает тест-системы РИФ на основе моноклональных антител для выявления пневмоцист в мазках из мокроты и бронхоальвеолярных смывов. Этот метод обладает высокой специфичностью и чувствительностью, даже большей, нежели гистохимическое окрашивание препаратов;

– «Биорад» (Франция) выпускает тест-системы РИФ для выявления пневмоцист в мазках из мокроты и бронхоальвеолярных смывов.

В России в НИИЭМ им Н.Ф. Гамалеи РАМН разработаны и выпускаются два вида диагностикумов пневмоцистоза («МЕДГАМАЛ»). Эти методы прошли многолетние клинко-эпидемиологические испытания и показали себя надежными в работе, чувствительными и специфичными.

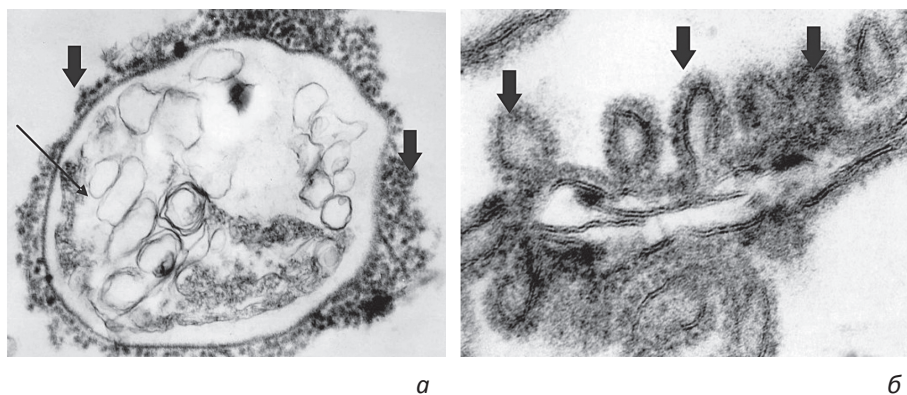


Рис. 2. Коронавирусы, плотно контактирующие с наружной поверхностью клеточной стенки пневмоцист:
а – коронавирусы на наружной поверхности клеточной стенки пневмоцисты. $\times 24000$;
б – почкование коронавирусов. $\times 84000$

1. «ПневмоцистоФлюоАГдиагностика» – набор реагентов, предназначенный для проведения непрямой реакции флуоресценции для выявления всех форм пневмоцист (цист, прецист и трофозоитов) в мазках, приготовленных из мокроты, бронхоальвеолярного лаважа (рис. 3).

2. «ПневмоцистоСтрип» – набор реагентов, предназначенный для выявления антител к антигену *Pneumocystis carinii* в сыворотках крови больных с подозрением на пневмоцистоз и у здоровых при проведении эпидемиологических исследований. Этот набор основан на непрямом иммуноферментном анализе на твердой фазе с использо-

ванием пероксидазы хрена в качестве маркерного фермента.

Эффективным **молекулярно-биологическим методом** является метод амплификации фрагментов генов пневмоцист с помощью ПЦР, которая выявляет участки ДНК возбудителя в любых биологических материалах. Для диагностики пневмоцистоза необходима разработка количественных критериев оценки выявления цист в субстратах от больных [10].

Применение комплекса диагностических методов позволяет проводить своевременную качественную прижизненную диагностику, за которой должна последовать адекватная терапия.

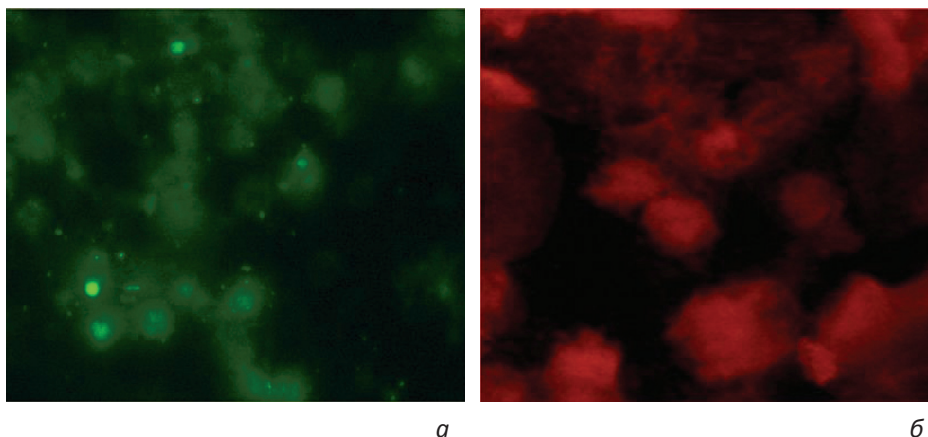


Рис. 3. Иммунофлуоресцентный препарат: а – положительный контроль (пневмоцисты и трофозоиты); б – отрицательный результат

ЛИТЕРАТУРА

1. Аравийский Р.А., Семенова Л.А. К вопросу о диагностике пневмоцистной пневмонии (применение реакции Бауэра для индикации *Pneumocystis carinii* в патологическом материале) // Лаб. дело. 1991. №6. С.44-46.
2. Галстян Г.М., Городецкий В.М., Готман Л.Н. и др. Алгоритм диагностики поражений легких при депрессиях кроветворения: Пособие для врачей. Гематологический научный центр Российской академии медицинских наук. М., 2001.
3. Ермак Т.Н., Ревакова Т.М., Скворцов П.А. Клиническая диагностика пневмоцистной пневмонии у больных ВИЧ-инфекцией // Эпидемиол. и инфекц. болезни. 2004. №4. С.52-54.
4. Иваненко И.П. К эпидемиологическим аспектам пневмоцистоза // Актуальные вопросы изучения адаптационных реакций организма в эксперименте и клинике. М.: ЦОЛИУВ, 1986. Т.265. С.39-40.
5. Иваненко И.П. Особенности эпидемиологии пневмоцистоза как внутрибольничной инфекции: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1986.
6. Каражас Н.В., Малышев Н.А., Смагулов К.З. Пневмоцистоз – эпидемиология, клиника, диагностика и лечение: Методические рекомендации. М., 1999. 17 с.
7. Кунакбаева А.Ф., Зигангирова Н.А., Каражас Н.В. и др. Выявление ДНК *Pneumocystis carinii* в клиническом материале у детей с респираторной патологией // ЖМЭИ. 2006. №6. С.44-47.
8. Лавдовская М.В. Лабораторная диагностика пневмоцистной инфекции (оценка существующих методов окраски возбудителя и применение кристаллического фиолетового для индикации *P.carinii* в патологическом материале) // Мед. паразитол. и паразитар. болезни. 1994. №4. С.22-23.
9. Меймарян М.А. Серологическая диагностика пневмоцистоза у населения Республики Армения // Мед. паразитол. 2005. №2. С.27-28.
10. Сафонова А.П., Шипулина О.Ю., Шахгильдян В.И. и др. Молекулярная диагностика пневмоцистной пневмонии у ВИЧ-инфицированных больных с легочной патологией // Эпидемиол. и инфекц. болезни. 2008. №3. С.58-60.
11. Chagas C. Nova tripanozomiasis humana // Mem. Inst. Oswaldo Cruz Rio J. 1909. V.1. P.159-218.
12. Cushion M.T. Taxonomy, genetic organization, and life cycle of *Pneumocystis carinii* // Semin. Respir. Infect. 1998. V.13, No.4. P.304-312.
13. Redhead S.A., Cushion M.T., Frenkel J.K., Stringer J.R. *Pneumocystis* and *Trypanosoma cruzi*: nomenclature and typifications // J. Eukariot. Microbiol. 2006. V.53, №1. P.2-11.
14. Stringer J.R., Stringer S.L., Zhang J. et al. Molecular genetic distinction of *Pneumocystis carinii* from rats and humans // J. Eukariot. Microbiol. 1993. V.40. P.733-741.