Ю.А. Тюрин^{1,2}, И.Д. Решетникова^{1,3}, Е.В. Агафонова^{1,2}, Э.И. Хайрутдинова⁴
(Yu.A. Tyurin, I.D. Reshetnikova, E.V. Agafonova, E.I. Khayrutdinova)

РАСПРОСТРАНЁННОСТЬ КИШЕЧНЫХ ГЕЛЬМИНТОЗОВ И ПРОТОЗООЗОВ СРЕДИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ (PREVALENCE OF INTESTINAL HELMINTHIASES AND PROTOZOSES AMONG HIV-INFECTED PATIENTS)

¹ФБУН "Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии" Роспотребнадзора;
²ФГБОУ ВО "Казанский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения РФ;

³Институт фундаментальной медицины и биологии ФГАОУ ВО "Казанский (Приволжский) Федеральный университет" Минобрнауки РФ;

⁴ГАУЗ "Республиканский центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями
Министерства здравоохранения Республики Татарстан".

1FBUN "Kazan Scientific Research

Institute of Epidemiology and Microbiology" of Rosпотребнадзор;

2FGBOU VO "Kazan State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation;

4 State Autonomic public Health institution "Republicam Center for the Prevention and Control of AIDS and Infection Diseases of the Ministry of Health of the Republic of Tatarstan".

Данные о распространённости инвазированности кишечными гельминтами у ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих АРВТ, недостаточны. Есть предположения, что инвазия кишечными паразитами снижается у пациентов с назначенной АРВТ.

Цель исследования - определить распространённость кишечных гельминтозов и протозоозов, характерных для ВИЧ-инфицированных пациентов и проверка гипотезы влияния АРВТ на распространённость этих инвазий. Исследование включало 122 ВИЧ-инфицированных пациентов. Паразитологическое исследование образцов фекалий проводилось согласно Санитарным правилам и нормам - СанПин 3.2.3215-14. В результате исследования образцов фекалий у ВИЧ-инфицированных пациентов (102 человека) были выявлены яйца гельминтов (яйца нематод, трематод, цестод) у 23 (22,5% CI 15,1-32,1) человек, а у 18 (17,6% CI 11,1-26,7) человек цисты простейших. Из значимых факторов риска инвазирования кишечными лямблиями в группе ВИЧ-инфицированных пациентов установлено только патология гепатобилиарной системы (OR=1,875, p=0.02).

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, кишечные гельминты, кишечные лямблии, факторы риска.

Введение. Инфекция, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ-инфекция) представляет собой глобально распространённую хроническую вирусную инфекцию. Представляет собой одну из серьёзных проблем здравоохранения большинства стран мира, в том числе и России. Одной из основных медицинских проблем среди ВИЧ-инфицированных пациентов является присоединение оппортунистических инфекций, вызванных дефектом иммунной системы, обусловленной вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ1).

Необходимо отметить, что инфекционные процессы желудочно-кишечного тракта представляют одну из существенных проблем при лечении ВИЧ-инфицированных пациентов. Как правило, ВИЧ-инфекция часто бывает ассоциирована с несколькими оппортунистическими кишечными паразитарными инвазиями, которые могут приводить к хронической диарее.

Учтены данные ряда клинических сообщений, рекомендующих проведение стандартного лабораторного исследования фекалий у ВИЧ-инфицированных пациентов, даже при отсутствии кишечного синдрома [3, 5]. Как правило, для диагностики паразитарной инвазии бывает достаточно проведение гельминтоовоскопических лабораторных исследований фекалий.

Необходимо отметить, что данные о распространённости инвазированности кишечными гельминтами у ВИЧ-инфицированных пациентов, получающих АРВТ, недостаточны. Есть предположения, что инвазия кишечными паразитами снижается у пациентов с назначенной АРВТ. Основные механизмы этого эффекта не вполне ясны. Есть предположение исследователей, что эффект от АРВТ, так и профилактический курс назначения котримоксазола может снижать риск инвазированности кишечными гельминтозами и протозоозами у этой категории пациентов [7, 6, 9]. К сожалению, эти исследования не были хорошо разработаны для решения конкретного эффекта АРВТ на процессы инвазии кишечными гельминтами. Возможно этот эффект может быть обусловлен общим побочным действием большинства антиретровирусных препаратов – митохондриальной токсичностью.

Цель настоящего исследования состояла в выборочной оценке распространённости кишечных гельминтозов и протозоозов, характерных для ВИЧ-инфицированных пациентов и проверке предварительной гипотезы влияния АРВТ на распространённость кишечных гельминтов.

Материалы и методы.

За период с 2012-2015 гг. годы совместно с ГАУЗ «Республиканский Центр по профилактике и борьбе со СПИД и инфекционными заболеваниями Министерства здравоохранения Республики Татарстан» проведено клинично-лабораторное исследование ВИЧ-инфицированных пациентов. При планировании исследования были предварительно сформированы две группы пациентов: первая группа –получающие АРВТ- 71 человек из них 50 человека мужчины и 21 женщин, вторая группа – пациенты, не получающие АРВТ – 51 человек, из них 35 мужчин и 16 женщин. Всего в исследование было включено 122 человека ВИЧ-инфицированных пациента. Пациенты наблюдались каждые 3 месяца с последующим визитом через 2 недели, если пациент получал АРВТ.

Паразитологическое исследование образцов фекалий проводилось согласно Санитарным правилам и нормам - СанПин 3.2.3215-14 [4]. Сбор фекалий пациенты осуществляли в полистироловые контейнеры с вмонтированной ложечкой, содержащие 8-10 мл фиксирующего раствора Турдыева. Ежедневно на протяжении двух- трех дней в контейнер добавляли небольшую порцию (объемом с горошину) кала, объем усредненной пробы кала помещенной в раствор составлял 2-3 мл, при каждом добавлении материал тщательно перемешивали с консервантом и рекомендовали сохранять пробу в темном прохладном месте. Перед исследованием пациенту рекомендовали не употреблять в пищу грибы, печень, большое количество грубой клетчатки, мед. Жидкий стул собирали в консервант в количестве не менее 5 мл и одновременно доставляли в лабораторию пробы кала без консерванта, собранные в тот же день в чистую сухую посуду. Рекомендации по сбору кала и подготовке материала вручали пациенту вместе с контейнерами (с консервантом Турдыева и без консерванта). Перед исследованием пробы кала доставленные в консерванте, тщательно перемешивали и центрифугировали со скоростью 1500об/мин в течение 8 мин., надосадочную жидкость сливали, осадок исследовали на глистные и протозойные инвазии.

Комплексное исследование на глистные инвазии включало модифицированный метод седиментации с применением одноразовых концентраторов Parasep, метод толстого мазка под целлофаном по Като и Миура, комбинированный гельминтоовоскопический метод паразитологической диагностики. Комбинированные методы диагностики паразитозов основаны на комбинации противоположных приёмов обработки проб фекалий. Разработанный комбинированный гельминтоовоскопический метод объединяет монометоды флотации и седиментации, при этом используется оригинальная флотационная система, в состав которой входят насыщенные водные растворы хлорида цинка ($ZnCl_2$, $p -1,82$), хлорида натрия ($NaCl$, $p -1,12$) и глицерин (х.ч.)

соотношении 1:1:1. Использование трехкомпонентной смеси в комбинированном гельминтоовоскопическом методе исследования фекалий позволило решить следующие задачи: создать оптимальный флотационный раствор для выявления яиц нематод, цестод и протозойных инвазий, увеличить время кристаллизации для более длительного просмотра образцов, уменьшить количество детрита и себестоимость анализа за счет использования хлористого натрия и глицерина. Комбинированный гельминтоовоскопический метод применяется как оригинальный универсальный метод диагностики паразитозов вызываемых гельминтами (преимущественно нематодами и цестодами) и простейшими (лямблии, амёбы, балантидии) [2].

Комплексное исследование на протозойные инвазии включало: метод влажного мазка с физиологическим раствором, растворами Люголя и метиленового синего; модификацию метода седиментации с применением одноразовых концентраторов Parasep (для исследования на протозоозы к осадку добавляли 2% раствор Люголя); комбинированный гельминтоовоскопический метод паразитологической диагностики по способу [1].

При отрицательном результате первого исследования на протозойные инвазии исследование повторяли с применением метод влажного мазка с физиологическим раствором, растворами Люголя и метиленового синего и/или комбинированного гельминтоовоскопического метода с интервалом 3-8 дней. Комплексные методы диагностики на гельминтозы и протозоозы применяемые в нашем исследовании, используют комбинации методов при первичном исследовании пациентов, позволяют оптимизировать паразитологическую диагностику и существенно улучшить выявляемость паразитов, что особенно актуально при инвазиях низкой степени интенсивности.

Статистический анализ. Влияние АРВТ на инвазированность кишечными паразитами у пациентов с диагностированной инвазией получающих антиретровирусные препараты, сравнивали с неинвазированными пациентами, используя χ^2 критерий и двухсторонний критерий Фишера. Также были вычислены экспоненты коэффициентов логистической регрессии с учётом 95% доверительного интервала, выраженные как отношение шансов (OR) в качестве оценки вероятности развития инвазии.

Результаты. Всего в исследование было включено 122 пациента. Основными критериями отборы были наличие одного или двух ведущих симптомов у пациентов в течение 6 месяцев наблюдения. Ведущие симптомы у подавляющего большинства ВИЧ-инфицированных пациентов, отобранных на проведение паразитологического исследования, включали в себя: дефицит массы тела (потеря веса) - 81,9% (100); диарея - 24,6% (30); боли в животе - 38,5% (47); анемия - 14,8% (18); кашель - 28,6% (35); сочетанная симптоматика (дефицит массы тела + боли в животе, анемия, кашель + боли в животе, диарея, дефицит массы и диарея) – 12,3% (15). Болевой абдоминальный симптом, характеризовался развитием периодических болей в животе в области мезогастрия и эпигастрия был выявлен в 38,5% случаев. Анемический симптом (снижение уровня гемоглобина менее 120 г/л) регистрировался редко не более чем у 14,8%.

В процессе проведения исследования образцы фекалий были предоставлены только 102 пациентами. Из них у 75 (73,5%) человек было проведено полное трехкратное исследование фекалий с интервалом 1-3 дня. Остальные 20 пациентов в последующем были исключены из данного исследования как не предоставившие материал для исследования.

В сформированной группе из 102 пациентов, получающих АРВТ – было 61 пациент, у 35 из них диагностирована ВИЧ инфекция 3 стадии, а у 6 человек - ВИЧ-инфекция 4 стадии. Около 70% пациентов получала АРВТ не менее года. Почти половина из них получала терапию котримоксазолом. Не получающих АРВТ пациентов было 41 человек, из них у 35 человек диагностирована ВИЧ-инфекция 3 стадия, у 6 человек – ВИЧ-инфекция 4 стадия. Необходимо отметить, что из всей когорты отобранных пациентов преобладали лица мужского пола. Количество CD4 лимфоцитов во время участия в исследовании составляло 346 клеток/мкл (межквартильный интервал [IQR] 218-429).

В результате исследования образцов фекалий в общей группе ВИЧ-инфицированных пациентов (102 человека) были выявлены яйца гельминтов (яйца нематод, трематод, цестод) у 23 (22,5% CI 15,1-32,1) человек, а у 18 (17,6% CI 11,1-26,7) человек цисты простейших (рис. 1). В 59,8% случаев инвазия гельминтами и простейшими не была установлена.

Рисунок 1. Структура диагностированных кишечных гельминтов и простейших при исследовании фекалий ВИЧ-инфицированных пациентов (n=102) прямыми гельминтоовоскопическими методами.

Влияние АРВТ на встречаемость инвазии кишечными гельминтами и простейшими (лямблиями), выявленных при использовании прямых гельминтоовоскопических методов, была оценена в двух

группах с помощью статистических критериев Хи-квадрат (X²) и точного двустороннего критерия Фишера (F) (табл.1).

Установлено, что достоверных различий между группами пациентов, как получающих, так и не получающих АРВТ в распространённости у них инвазий вызванных круглыми, плоскими кишечными гельминтами не выявлено (табл.2). Однако, по распространённости простейших (кишечных лямблий) различия достоверны по встречаемости. У пациентов получающих АРВТ выявление инвазий, вызванных кишечными простейшими регистрировалось на 12,8% реже, чем в группе сравнения (p<0,001).

Таблица 1.

Сравнительная оценка частоты встречаемости инвазии гельминтами и простейшими в двух группах ВИЧ-инфицированных.

Тип инвазии	Группа 1 АРВТ получают не менее 12 мес %, 95%CI (n=61)	Группа 2 АРВТ не получают %, 95%CI (n=41)	P ^a
1. Нематодами	5.8±0.02% (2,4-12,87)	6.8±0.03% (3,04-14,1)	0.28 ^a 0.36 ^b
2. Цестодами	2.9±0.02% (0,76-8,9)	4.9±0.02% (1,8-11,6)	0.18 ^a >0.05 ^b
3. Трематодами	0.98±0.01% (0,05-6,12)	0.98±0.01% (0,05-6,12)	0.76 ^a >0.05 ^b
4. Простейшими	3.9±0.02% (1,26-10,3)	13.7±0.03% (7,9-22,3)	<0,001^a <0.05^b
5. Всего инвазированных	13.7±0.03% (7,9-22,3)	26.5±0.04% (18,4-36,3)	<0,001 <0.05

Примечание: различия между группами в 5 категориях по критерию Хи-квадрат (X²) а с поправкой Йейтса и Фишера (F)^b

Для характеристики воздействия факторов риска на распространённость инвазий гельминтами и простейшими в группе ВИЧ-инфицированных пациентов в данном исследовании использован статистический критерий (OR, odds ratio). Что позволило провести ретроспективное сравнение влияния ряда факторов риска (возраст, пол, уровень вирусной нагрузки, показатели гемоглобина в общем анализе крови, наличие или отсутствие терапии АРВ препаратами в течении 12 мес, CD4) на развитие инвазии гельминтами и /или простейшими (табл.2).

В общей группе ВИЧ-инфицированных пациентов достоверную значимость в качестве факторов риска (табл.3) развития инвазии гельминтами, выявляемой прямыми гельминтовоскопическими методами, показали такие факторы как снижение уровня гемоглобина в ОАК менее 120 г/л (OR=2,5, p=0.02) т.е. развитие анемии, наличие сопутствующей патологии ЖКТ и гепатобилиарной системы (OR=2,1, p=0.01) и снижение CD4 лимфоцитов менее 250 кл/мкл. Риск инвазирования кишечными лямблиями в группе ВИЧ-инфицированных пациентов показал из значимых факторов только наличие сопутствующей патологии ЖКТ и гепатобилиарной системы (OR=1,875, p=0.02).

В группе пациентов, не получающих АРВ терапию достоверную значимость в качестве факторов риска (табл.3) развития инвазии гельминтами, показали (OR>1), такие факторы как показатели концентрации гемоглобина в ОАК (т.е. наличие анемии), уровень CD4 клеток и сопутствующая патология ЖКТ (табл.2). К факторам риска (табл.2) развития инвазии кишечными лямблиями в этой группе пациентов были отнесены такие значимые факторы как развитие анемии (лабораторный показатель концентрации гемоглобина менее 120 г/л) и сопутствующая патология ЖКТ и гепатобилиарной системы.

Обсуждение.

Общие данные по изучаемой выборке ВИЧ-инфицированных пациентов показали, что распространённость инвазий вызванных кишечными гельминтами (*Ascaris lumbricoides*, *Enterobius sp.*, *Opisthorchis felineus*, *Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*, *Taenia solium*) составляет не более 22,5% (95%CI 15,1-32,1). Инвазия кишечными простейшими (лямблиями) составила не более 17,6% CI 11,1-26,7.

Таблица 2.

Степень влияния факторов риска на распространённость гельминтозов и протозоозов в группе ВИЧ-инфицированных пациентов.

Факторы/группа	Инвазированные гельминтами			Инвазированные простейшими		
	OR	95%CI	P-value	OR	95%CI	P-value
Общая группа ВИЧ-инфицированных (n=102)						
1.Пол	0.575	0.210-1.571	0.63	0.961	0.298-3.102	0.16
2.Возраст	2.700	0.804-9.063	0.42	2.800	0.719-10.901	0.54
3.Вирусная нагрузка	0.276	0.089-0.849	0.15	0.735	0.227-2.378	0.56
4.Приверженность к АРВТ	0.68	0.45–1.73	0.71	0.67	0.27–1.61	0.37
5.Показатели гемоглобина в ОАК	2.523	0.824-7.730	0.02	0.728	0.179-2.957	0.25
6. Наличие сопутствующей патологии	2.143	0.774-5.933	0.01	1.875	0.625-5.629	0.02
7.CD4	3.18	0.84–8.13	0.02	0.889	0.241-3.283	0.02
Группа пациентов не получающих АРВТ (n=41)						
1.Пол	0.550	0.130-2.325	0.15	0.122	0.011-1.303	0.91
2.Возраст	1.29	0.10–3.80	0.32	1.18	0.06–2.56	0.04
3.Вирусная нагрузка	2.59	0.461-4.53	0.46	2.588	0.255-3.308	0.58
5.Показатели гемоглобина в ОАК	1.643	0.129-20.94	0.001	2.875	0.208-19.682	0.04
6.Наличие сопутствующей патологии	2.87	0.617-13.37	0.03	3.692	0.34-23.84	0.009
7.CD4 кл/мкл	2.22	0.33-5.21	0.003	1.667	0.18-13.13	0.11

Примечание: 1) мужской или женский; 2) возраст >38 лет; 3) нагрузка РНК ВИЧ более >12 коп/мл; 4) получает АРВТ не менее 1 года; 5) гемоглобин ОАК (Hb<120 г/л); 6) сопутствующая патология ЖКТ и гепатобилиарной системы; 7) CD4<250 кл/мкл.

Результаты этого исследования показали избирательную распространенность таких кишечных гельминтозов как аскаридоза и энтеробиоза среди ВИЧ-инфицированных пациентов, среди

которых преобладали лица мужского пола, что в целом характеризует преобладание среди ВИЧ-инфицированных мужчин в возрасте от 25 до 44 лет со стадией ВИЧ 3-4 стадия.

При данном объеме выборки достоверное влияние гендерного фактора как фактора риска в распространённости инвазии гельминтами или простейшими в этой группе пациентов не установлено. При статистическом анализе гипотезы о возможном влиянии АРВТ на распространённость инвазий гельминтами (нематодами, трематодами, цестодами) у ВИЧ-инфицированных пациентов не было получено достоверных подтверждений, влияния АРВТ на встречаемость паразитарных инвазий.

Выводы.

В структуре паразитозов у ВИЧ-инфицированных пациентов в данном исследовании преобладали инвазии вызванные простейшими, в частности, лямблиями. При данной инвазии, возможно был реализован контактно-бытовой путь передачи. Среди гельминтозов в группе ВИЧ-инфицированных пациентов, преобладали инвазии вызванные нематодами (*Ascaris lumbricoides*) и на втором месте цестодозы (*Hymenolepis nana*, *Hymenolepis diminuta*). Инвазии, вызванные данными гельминтами возможно также были вызваны бытовым и пищевым путем передачи. Таким образом, полученные данные, показывающие значимость таких факторов как показатели концентрации гемоглобина в ОАК (т.е. наличие анемии), уровень CD4 клеток на распространённость инвазии у пациентов не получающих АРВТ, могут служить лабораторными критериями при выявлении которых необходимо проводить дополнительно паразитологическое исследование фекалий прямыми методами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Долбин Д. А., Тюрин Ю. А., Фассахов Р. С., Агафонова Е.В., и др. Патент на изобретение № 2371719. Способ диагностики лямблиозной инвазии. // Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации 27.10. 2009 г. /Бюл. № 30. [Dolbin D. A., Tyurin Yu. A., Fassakhov R. S., Agafonova E.V., et. al. Patent No. 2371719. A method for diagnosing giardous invasion. // Registered in the State Register of Inventions of the Russian Federation 27.10. 2009 / Bull. No. 30. [in Russian]
2. Долбин Д. А., Фассахов Р. С., Тюрин Ю. А., Решетникова И.Д., и др. Патент на изобретение № 2368324. Способ диагностики аскаридоза у человека. //Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации от 27. 09. 2009 г. / Бюл. № 27. [Dolbin D. A., Fassakhov R. S., Tyurin Yu. A., Reshetnikova I. D., et al. Patent No. 2368324. A method for diagnosing ascariasis in humans. // Registered in the State Register of Inventions of the Russian Federation 27. 09. 2009 / Bull. No. 27. [in Russian]
3. Озерецковская Н. Н. Гельминтозы с преимущественным поражением органов пищеварения/диагностика и лечение внутренних болезней: // Руководство для врачей. /Под ред. Ф. И. Комарова.- М.: Медицина, 1999. – Т.3. с.150-164. [Ozeretskovskaya N. N. Helminthiasis with a primary lesion of the digestive organs / diagnosis and treatment of internal diseases: // Guide for doctors. / Ed. F.I. Komarova.- М.: Medicine, 1999. - V.3. pp. 150-164. [in Russian].
4. Профилактика паразитарных болезней на территории Российской Федерации. // Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 3.2.3215-14. Москва, 2014 г. С. 25-113. [Prevention of parasitic diseases in the territory of the Russian Federation. //Sanitary and epidemiological rules and regulations /SaNPiN 3.2.3215-14. Moscow, 2014, pp. 25-113. [in Russian]
5. Сергеев В.П., Лобзин Ю. В., Козлов С. С. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы): // Руководство для врачей.- СПб.: Фолиант, 2006. С 28-35. [Sergiev V.P., Lobzin Yu. V., Kozlov S. S. Parasitic Human Diseases (protozoa and helminthiasis): A Guide for Physicians. - SPb.: Foliant, 2006. P 28-35. [in Russian].
6. Abate E., Belayneh M., Gelaw A., Idh J., Getachew A, Alemu S, et al. The impact of asymptomatic helminth co-infection in patients with newly diagnosed tuberculosis in north-west Ethiopia. // PLoS One. 2012; 7(8): e42901.
7. Bachur T. P., Vale J. M., Coelho I. C., Queiroz T. R., Chaves C. S. Enteric parasitic infections in HIV/AIDS patients before and after the highly active antiretroviral therapy. // Braz J Infect Dis 2008; 12(2): 115–22.
8. Tanzania Commission for AIDS (TACAIDS), National Bureau of Statistics (NBS), and ORC Macro. Tanzania HIV/AIDS Indicator Survey 2003-04. Calverton, MD: TACAIDS, NBS, and ORC, Macro. 2005
9. Taye B., Desta K., Ejigu S., Dori G. U. The magnitude and risk factors of intestinal parasitic infection in relation to Human Immunodeficiency Virus infection and immune status, at ALERT Hospital, Addis Ababa, Ethiopia. // Parasitol Int. 2014. 63(3). P. 550–556.

Поступила 18.10.18