

СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА У ЛИЦ, ИМЕЮЩИХ ДЛИТЕЛЬНЫЙ ПРОФЕССИОНАЛЬНЫЙ КОНТАКТ С ТУБЕРКУЛЕЗНОЙ ИНФЕКЦИЕЙ

Т. Ю. САЛИНА¹, Т. И. МОРОЗОВА^{1,2}

IMMUNITY IN PATIENTS LONG OCCUPATIONALLY EXPOSED TO TUBERCULOSIS INFECTION

T. YU. SALINA¹, T. I. MOROZOVA^{1,2}

¹ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» МЗ России

²Саратовский областной клинический противотуберкулезный диспансер

Цель исследования – изучить влияние длительного профессионального контакта с туберкулезной инфекцией на показатели иммунного ответа у сотрудников противотуберкулезных стационаров. У лиц данной категории проведена оценка результатов пробы с диаскинтестом, определен количественный уровень спонтанной и стимулированной антигенами H37Rv и ESAT-6 продукции IFN- γ и антител к *M. tuberculosis* в периферической крови в сравнении с туберкулинположительными лицами без бытового и профессионального контакта. У сотрудников противотуберкулезных учреждений в результате многолетнего контакта с больными туберкулезом, выделяющими *M. tuberculosis*, не установлено истощения функциональной способности иммунокомпетентных клеток, однако среди обследованных данной категории выявлена группа лиц, имеющих латентную туберкулезную инфекцию и нуждающихся в применении превентивных мер, направленных на предупреждение развития активного туберкулеза.

Ключевые слова: туберкулез, иммунная система, профессиональный контакт.

Objective: to study the impact of long-term occupational exposure to tuberculosis infection on the immune response of tuberculosis hospital workers. In this category of people versus tuberculin-positive persons having no household or occupational contacts, the investigators assessed the results of Diaskintest and determined the spontaneous and H37Rv and ESAT-6 antigen-stimulated production of IFN- γ and anti-*M. tuberculosis* antibodies in peripheral blood. The functional abilities of immunocompetent cells were not established to be exhausted in the workers of tuberculosis institutions due to their long-term contact with *M. tuberculosis*-excreting patients; however, among these examinees, there was a group of patients who had latent tuberculosis infection and needed preventive measures against active tuberculosis.

Key words: tuberculosis, immune system, occupational exposure.

Туберкулез – хроническое инфекционное заболевание, вызываемое микобактериями туберкулеза. Развитие заболевания и его исход зависят как от массивности и вирулентности возбудителя, так и от состояния реактивности макроорганизма и его способности противостоять внедрению инфекции. Работники медицинских учреждений являются контингентами высокого риска заражения инфекционными болезнями, вызываемыми условно- и облигатно-патогенными микроорганизмами [7]. В структуре профессиональных заболеваний медицинских работников туберкулез органов дыхания занимает первое место, на его долю приходится более половины всех регистрируемых профессиональных заболеваний (50,4-67,9%) [7]. Заражение туберкулезом возможно как в противотуберкулезных учреждениях, так и в лечебных учреждениях общемедицинского профиля. Однако наибольшая степень риска заболевания туберкулезом наблюдается у работников бактериологических лабораторий и стационаров противотуберкулезных учреждений, имеющих длительный профессиональный контакт с живыми микобактериями туберкулеза, включая штаммы с лекарственной устойчивостью.

Постоянное и длительное влияние биологических агентов на иммунную систему может приводить к истощению функциональных резервов иммунокомпетентных клеток и развитию вторичных иммунодефицитов, поэтому оценка иммунного статуса является достоверным методом, отражающим неблагоприятное воздействие производственной среды на организм человека [4]. Изучение функционирования иммунной системы работников учреждений здравоохранения позволяет своевременно выявить лиц с разным риском развития иммунопатологических состояний и профессионально обусловленных заболеваний.

Цель исследования – изучение влияния длительного профессионального контакта с туберкулезной инфекцией на показатели иммунного ответа у сотрудников противотуберкулезных стационаров.

Материалы и методы

В зависимости от наличия контакта с туберкулезной инфекцией 36 здоровых туберкулинположительных лиц в возрасте от 35 до 65 лет разделены на 2 группы. В группу 1 включены 16 человек –

сотрудников (врачи и медицинские сестры) стационара Саратовского областного клинического противотуберкулезного диспансера (ОКПТД), по роду работы постоянно и длительно контактирующих с больными активным туберкулезом легких с бактериовыделением и при отсутствии у них локальных изменений в легких и других органах мета- и посттуберкулезного характера. Средний стаж работы – $23,0 \pm 3,5$ года. Группу 2 составили 20 туберкулинположительных лиц, направленных в ОКПТД с диагностической целью из учреждений общей медицинской сети и не имеющих бытового и профессионального контакта с туберкулезной инфекцией. У лиц данной категории при комплексном обследовании не выявлено активного и неактивного туберкулеза легких и внелегочных локализаций. Обследованные обеих групп были сопоставимы по полу и возрасту, у всех получено добровольное информированное согласие.

Выявление клеточного иммунного ответа проводили с помощью диаскинтеста, основанного на оценке гиперчувствительности замедленного типа. Применяли внутрикожное введение препарата диаскинтест в дозе 0,2 мкг в 0,1 мл, содержащего белки ESAT-6 и CFP-10 («Лекко», Россия), присутствующие в вирулентных штаммах микобактерий туберкулеза. Учет реакции оценивали визуально через 72 ч и измеряли размер папулы в мм. Результат считали отрицательным при полном отсутствии инфильтрата, сомнительным – при наличии гиперемии без инфильтрата, положительным – при наличии инфильтрата (папулы) любого размера, гиперергическим – при размере инфильтрата 15 мм и более и везикулонекротических реакциях и (или) наличии лимфангоита, лимфаденита. Реакцию проводили в строгом соответствии с Приказом МЗ и СР РФ от 29.10.2009 г. № 855.

Для оценки функционального состояния Т-клеточного иммунитета определяли содержание гамма-интерферона (IFN- γ) в супернатантах 48-часовых культур разведенной в 10 раз гепаринизированной периферической крови. Культивирование осуществляли в 96 луночных культуральных планшетах в среде RPMI, содержащей 5% инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМоль L-глутамин и по 100 мкг/мл пенициллина и стрептомицина при $t = 37^\circ\text{C}$ в атмосфере повышенной влажности и CO_2 . Изучали спонтанную и индуцированную продукцию IFN- γ . В качестве специфического стимулятора использовали два антигена: H37Rv в рабочей концентрации 10 мкг/мл и ESAT-6 – 15 мкг/мл. Антиген H37Rv представляет собой суспензию биомассы вирулентного штамма микобактерий туберкулеза, обработанную по специальной технологии, разработанной сотрудниками Российского НИИ фтизиопульмонологии [1]. ESAT-6 – секретлируемый пептид, продуцент метаболической активности микобактерий [8], получен из Института биоорганической химии

им. М. М. Шемякина и Ю. Н. Овчинникова. Оценку содержания IFN- γ в супернатантах культур проводили с помощью метода иммуоферментного анализа (ИФА) с использованием тест-системы «гамма-Интерферон-ИФА-Бест», ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск. Концентрацию IFN- γ определяли путем построения калибровочной кривой по результатам титрования рекомбинантного IFN- γ в качестве стандарта и выражали в пг/мл. Возможность использования исследования спонтанной и индуцированной специфическими антигенами продукции IFN- γ в супернатантах культур цельной крови для оценки функциональной способности иммунокомпетентных клеток и зависимость этой продукции от особенностей течения туберкулезного процесса установлены нами ранее [6].

Для оценки гуморального иммунного ответа проводили качественное определение суммарных антител (Ig G, M, A) к *M. tuberculosis* в сыворотке крови методом ИФА с применением набора реагентов «АТ-Туб-Бест-стрип», ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск. Количественный учет результатов реакции ИФА оценивали на иммуоферментном анализаторе марки «Линкей», НПО «Научные приборы», г. Санкт-Петербург, при длине волны 450 нм.

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с использованием компьютерных программ Microsoft Excel для Windows и Statistica. Использовали методики описательной статистики, в том числе вычисление среднего арифметического (M), ошибки среднего арифметического (m), медианы, моды, интервал наименьших и наибольших значений и критерий соответствия χ^2 . Сравнение двух групп, подчиняющихся нормальному распределению, осуществляли с помощью t -критерия Стьюдента, а не подчиняющихся нормальному распределению – теста Вилкоксона, для оценки достоверности рассчитывали величину p , указывающую вероятность безошибочного прогноза. В качестве критического уровня достоверности был принят критерий 0,05.

Результаты и обсуждение

В ходе проведенных исследований в группе 1 положительный результат на пробу с диаскинтестом зарегистрирован у 8 (50%) человек, включая гиперергический – у 4 (25%), сомнительный – у 3 (18,7%), отрицательный – у 5 (31,3%) обследованных. Средний размер папулы составил $7,3 \pm 2,1$ мм, медиана – 4, мода – 4, интервал колебаний 0-28 мм. В группе 2 положительный результат на пробу с диаскинтестом выявлен только у 3 (15%) человек, гиперергический результат не отмечен ни в одном случае, сомнительный выявлен у 8 (40%) человек, отрицательный – у 9 (45%), средний размер папулы составил $1,8 \pm 0,39$ мм, медиана – 2, мода – 0, интервал колебаний 0-5 мм. Результаты представлены

в табл. 1. В группе 1 получено достоверно большее число положительных результатов на пробу с диаскинтестом и установлен достоверно больший средний размер папул по сравнению с группой 2. По данным многочисленных исследований [2, 3], диаскинтест может быть использован в качестве маркера активного туберкулеза не только при локальных формах, но и при латентной туберкулезной инфекции, по-видимому, приобретающей активный характер. Поэтому полученные результаты могут указывать на наличие среди сотрудников противотуберкулезных стационаров большого числа лиц, имеющих латентную туберкулезную инфекцию с более высоким риском развития активного туберкулеза.

При оценке функциональной способности иммунокомпетентных клеток на основе изучения спонтанной и индуцированной продукции IFN- γ существенных различий в обеих группах не установлено. Среднее значение уровня спонтанной (нестимулированной) продукции IFN- γ в группе 1 составило $31,3 \pm 5,8$ пг/мл (медиана – 35, мода – 0)

против $48,2 \pm 11$ пг/мл (медиана – 40, мода – 20) в группе 2, $p = 0,2801$. Колебания индивидуальных значений спонтанной продукции IFN- γ в цельной крови составили у лиц группы 1 от 0 до 70 пг/мл и от 20 до 130 пг/мл в группе 2. При изучении индуцированной антигенами H37Rv и ESAT-6 продукции IFN- γ также не установлено достоверных различий. Среднее значение стимулированной антигеном H37Rv продукции IFN- γ составило $50,0 \pm 9$ пг/мл (медиана – 40, мода – 20) в группе 1 против $61,0 \pm 10$ пг/мл (медиана – 50, мода – 40) в группе 2. Среднее значение индуцированной антигеном ESAT-6 продукции IFN- γ составило $61,9 \pm 9,3$ пг/мл (медиана – 50, мода – 50) против $48,1 \pm 7,0$ пг/мл (медиана – 40, мода – 50) в группе 1 и 2 соответственно. Результаты представлены в табл. 2. Полученные результаты указывают на то, что у сотрудников противотуберкулезных стационаров, несмотря на длительный, многолетний профессиональный контакт с туберкулезной инфекцией, сохраняется нормальная функциональная способность иммунокомпетентных клеток.

Таблица 1

Результаты пробы с диаскинтестом у сотрудников противотуберкулезного стационара и здоровых без контакта

Показатели DST	Группа 1 (n = 16)	Группа 2 (n = 20)	p
Положительные результаты (абс. %)	4 (25%)	3 (15%)	0,0300
Гипергические результаты (абс. %)	4 (25%)	0	
Сомнительные (абс. %)	3 (18,7%)	8 (40%)	0,1835
Отрицательные (абс. %)	5 (31,3%)	9 (45%)	0,3976
Средний размер папулы в мм (M $\pm$ m)	$7,3 \pm 2,1$	$1,80 \pm 0,39$	0,0445
Медиана	4	2	
Мода	4	0	
Интервал колебаний	0-28	0-5	

Таблица 2

Продукция IFN- γ в супернатантах цельной крови у лиц с длительным профессиональным контактом с туберкулезной инфекцией и здоровых без контакта

Уровень продукции IFN- γ , пг/мл	Группа 1 (n = 16)	Группа 2 (n = 20)	p
Спонтанная			
Средний уровень (M $\pm$ m)	$31,3 \pm 5,8$	$48,2 \pm 11,0$	1-2 = 0,2801
Медиана	35	40	
Мода	0	20	
Интервал колебаний	0-70	20-130	
Индуцированная антигеном H37Rv (пг/мл)			
Средний уровень (M $\pm$ m)	$50,0 \pm 9,0$	61 ± 10	1-2 = 0,5633
Медиана	40	50	
Мода	20	40	
Интервал колебаний	20-100	30-130	
Индуцированная антигеном ESAT-6 (пг/мл)			
Средний уровень (M $\pm$ m)	$61,9 \pm 9,3$	$48,1 \pm 7,0$	1-2 = 0,1925
Медиана	50	40	
Мода	50	50	
Интервал колебаний	20-110	30-130	

Результаты иммуноферментного анализа (ИФА) определения антител к *M. tuberculosis* у лиц с длительным профессиональным контактом с туберкулезной инфекцией и здоровых без контакта

Группы обследованных	n	Антитела к <i>M. tuberculosis</i> (ОП) M ± m	Медиана	Интервал колебаний	Число пациентов с положительным результатом ИФА абс. %
Группа 1	16	0,266 ± 0,060	0,18	0,01-0,74	5 (31,3)
Группа 2	20	0,142 ± 0,020	0,15	0,01-0,36	1 (5,0)
p	—	0,234	—	—	0,0446

Примечание: ОП – оптическая плотность образца

При исследовании уровня антител к *M. tuberculosis* установлено большее число положительных результатов иммуноферментного анализа в группе 1 у 5 из 16 (31,3%) обследованных по сравнению с группой 2, в которой получен только 1 (5%) положительный результат исследования, $p = 0,0446$. Средний уровень оптической плотности (ОП) образцов в группе 1 существенно не отличался от таковой группы 2, так ОП в группе 1 составила $0,266 \pm 0,06$ (медиана – 0,18, мода – 0,17, интервал колебаний 0,01-0,74) против $0,142 \pm 0,02$ (медиана – 0,15, мода – 0,15, интервал колебаний 0,01-0,36) в группе 2, $p = 0,234$. Однако у 5 сотрудников противотуберкулезного стационара группы 1 выявлены высокие значения ОП от 0,28 до 0,74, что свидетельствует о напряжении гуморального иммунного ответа. Результаты представлены в табл. 3.

Выводы

1. Установлено, что длительный, многолетний профессиональный контакт с туберкулезной инфекцией не оказывает отрицательного влияния на функциональную способность иммунокомпетентных клеток, что подтверждается отсутствием изменений уровня спонтанной и индуцированной специфическими антигенами продукции IFN-γ в периферической крови.

2. Среди сотрудников противотуберкулезных учреждений достоверно чаще по сравнению со здоровыми регистрируются лица с положительной пробой с диаскинтестом и уровня антител к *M. tuberculosis*, которые представляют группу высокого риска по заболеванию туберкулезом и требуют проведения превентивной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирский М. А. Иммунологические и биотехнологические методы в повышении эффективности диагностики и лечения туберкулеза: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – М., 1993.
2. Литвинов В. И., Шустер А. М., Слобоцкая Л. В. и др. Эффективность применения нового диагностического препарата Diaskintest® у детей для выявления и диагностики туберкулеза // Пробл. туб. – 2009. – № 4. – С. 19-22.
3. Литвинов В. И. Латентная туберкулезная инфекция – миф или реальность? // Туб. – 2011. – № 6. – С. 3-9.
4. Оборина С. В. Влияние факторов производственной среды на состояние иммунной системы медицинского персонала лабораторий лечебно-профилактических учреждений: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Челябинск, 2010.
5. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 29.10.2009 г. № 855 «О внесении изменений в приложение № 4 к приказу МЗ России от 21.03.2003 г. № 109». – М., 2009.
6. Салина Т. Ю., Морозова Т. И. Спонтанная и индуцированная антигеном (H37Rv) продукция гамма-интерферона в цельной крови больных туберкулезом в зависимости от клинических проявлений туберкулезной инфекции // НМЖ. – 2006. – № 6. – С. 25-29.
7. Сацук А. В. Особенности эпидемиологии и профилактики туберкулеза среди работников медицинских учреждений: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. – М., 2010.
8. Doherty T. M., Demissie A., Olobo J. et al. Immune responses to the *Mycobacterium tuberculosis*-specific antigen ESAT-6 signal subclinical infection among contacts of tuberculosis patients // J. Clin. Microbiol. – 2002. – Vol. 40. – P. 704-706.

ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Салина Татьяна Юрьевна

ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В. И. Разумовского» Минздрава России, доктор медицинских наук, доцент.

410012 г. Саратов, ул. Б. Казачья, д. 112.

E-mail: meduniv@sgmu.ru

Поступила 31.01.2014