

**А.В. ЛЯМИН, Д.Д. ИСМАТУЛЛИН**

Самарский государственный медицинский университет

**МИКОБАКТЕРИОЗЫ: ОСОБЕННОСТИ ЭПИДЕМИОЛОГИИ  
И ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ**

Статья посвящена особенностям эпидемиологии и современным методам лабораторной диагностики микобактериозов. Приведены данные о заболеваемости в развитых странах за период, когда был отмечен наибольший рост выявленных случаев микобактериозов бронхолегочной системы. Описаны факторы риска по инфицированию нетуберкулезными микобактериями, имеющие важное клиническое значение. Представлены данные о возможности идентификации нетуберкулезных микобактерий.

**Ключевые слова:** микобактериозы, нетуберкулезные микобактерии, лабораторная диагностика

*Лямин Артем Викторович* – доцент кафедры общей и клинической микробиологии, иммунологии и аллергологии. E-mail: avlyamin@rambler.ru

*Исматуллин Данир Дамирович* – студент 6 курса медико-профилактического факультета. E-mail: danirbalitov@mail.ru

**A.V. LYAMIN, D.D. ISMATULLIN**

Samara State Medical University

**MYCOBACTERIOSIS: FEATURES OF EPIDEMIOLOGY  
AND LABORATORY DIAGNOSTICS**

The article is devoted to peculiarities of epidemiology and the modern methods of laboratory diagnosis of mycobacteriosis. The article presents the data on morbidity in developed countries during the period of the highest incidence of respiratory system mycobacteriosis. Risk factors of being infected with non-tuberculous mycobacteria which have an important clinical significance are also presented. The possibilities of identification of nontuberculous mycobacteria are given in the article.

**Key words:** mycobacteriosis, nontuberculous mycobacteria, laboratory diagnosis

*Artem Viktorovich Lyamin* – Associate Professor, General and Clinical Microbiology, Immunology and Allergology Chair. E-mail: avlyamin@rambler.ru

*Danir Damirovich Ismatullin* – the Sixth-year student of the Epidemiological Department. E-mail: danirbalitov@mail.ru

Микобактериозы – группа заболеваний различной локализации, этиологическим фактором в развитии которых являются нетуберкулезные микобактерии (НТМБ). В Российской Федерации отсутствует клиническая классификация микобактериозов, практически отсутствуют данные о распространенности, видовой структуре, особенностях эпидемиологии, не разработаны нормативные документы, регламентирующие проведение лабораторной диагностики данной группы заболеваний [1].

В последние годы во всех развитых странах отмечается значительный рост заболеваемости микобактериозами, который обусловлен, с одной стороны, внедрением в практику новых методов диагностики и, с другой, – увеличением доли пациентов с иммуносупрессией и другими коморбидными состояниями, которые

могут являться факторами риска инфицированности НТМБ. Особенно это можно связать с резким подъемом заболеваемости ВИЧ-инфекцией, когда было отмечено наибольшее число случаев смертности от генерализованных форм инфекций, вызываемых НТМБ [2].

В ряде исследований, проведенных в последнее время, было отмечено увеличение частоты заболеваемости микобактериозами, связанное с иммуносупрессией неинфекционной этиологии – системной глюкокортикоидной и цитостатической терапией, лечением противоопухолевыми препаратами, широким распространением вторичных и первичных иммунодефицитов [3].

Кроме клинической значимости и роста заболеваемости микобактериозами важную роль в актуализации проблемы играет совершенствование методов диа-

гностики. Появление высокоспецифичных и чувствительных методов выделения и идентификации НТМБ (культивирование в автоматизированных системах с использованием жидких питательных сред, молекулярно-генетические методы и метод высокопроизводительной жидкостной хроматографии миколовых кислот (High Performance Liquid Chromatography – HPLC), MALDI-TOF масс-спектрометрия) позволило существенно ускорить диагностику микобактериозов и повысить ее эффективность [3, 4].

При лабораторной диагностике микобактериозов необходимо учитывать значительную неоднородность группы НТМБ. Представителей НТМБ можно разделить по скорости роста на искусственных средах, способности выделять пигменты и условиям его образования, температурному оптимуму культивирования и потенциальному клиническому значению. В РФ используется классификация НТМБ, основанная на способности микобактерий образовывать пигменты и различиях в скорости роста, которая была предложена в 1959 году. При этом в отечественных публикациях упоминается, как правило, около 20 видов НТМБ, идентифицированных молекулярно-генетическими методами, среди которых преобладают медленно растущие представители.

#### **Факторы риска развития микобактериозов**

В настоящее время существует ряд факторов риска, способствующих инфицированию НТМБ, которые необходимо учитывать при проведении лабораторных исследований клинического материала. Поражение бронхолегочной системы НТМБ происходит чаще всего в трех группах пациентов. В первую группу можно включить пациентов с анатомическими аномалиями легких различной этиологии, без генетических изменений (локализованные бронхоэктазы, эмфизема, силикозы) [5, 6]. Вторая группа – пациенты с иммунологическими или генетическими нарушениями, у которых формируется высокий риск развития инфекционной патологии легких различной этиологии (муковисцидоз, первичная цилиарная дискинезия, дефицит альфа-1-антитрипсина, синдромы Вильямса-Кемпбелла, Мунье-Куна, Шегрена, альвеолярный протеиноз, иммунодефициты различной этиологии) [7, 8]. Третья группа включает пациентов с аномалиями бронхолегочной системы неизвестной этиологии [9].

Следует отметить, что по данным некоторых авторов любое хроническое пора-

жение бронхо-легочной системы увеличивает риск развития микобактериоза в 16,5 раз [10, 11].

Отдельно следует учитывать риски, связанные с факторами окружающей среды: водные аэрозоли естественного и искусственного происхождения, системы водоснабжения на предприятиях промышленного комплекса и в быту, профессиональные контакты с домашними животными, в сельском хозяйстве, рыболовстве и рыбоводстве [10, 12].

Диссеминированные формы микобактериозов могут развиваться у пациентов без сопутствующих анатомических аномалий бронхо-легочной системы и генетических отклонений на фоне проведения противоопухолевой терапии, иммуносупрессии у пациентов после трансплантации органов и пациентов в терминальной стадии ВИЧ-инфекции.

#### **Эпидемиология микобактериозов**

Распространенность микобактериозов в странах с различным экономическим состоянием имеет особенности, связанные с организацией работы лабораторной службы, а также с учетом и выявлением НТМБ. Кроме того, в некоторых странах могут преобладать микобактериозы, вызванные определенными НТМБ, что обусловлено географическим положением, климатическими условиями, культурными и национальными особенностями.

В последние десятилетия XX века практически во всех экономически развитых странах был отмечен рост заболеваемости микобактериозами различной локализации.

В Северной Америке распространенность микобактериозов в период с 1998 по 2010 гг. варьировала от 5,6 (США) до 9,8 (Канада) на 100 тыс. населения. Во всех регионах США и Канады при микробиологическом исследовании клинического материала преобладали представители *M.avium complex (MAC)*, которые выделялись от 64% до 80% у всех пациентов с микобактериозами. На втором месте по частоте выделения в США были *M.abscessus/chelonae* (до 13%), в Канаде – *M xenopi* (до 21%) [13, 14, 15, 16].

В Южной Америке данные, представленные в литературе, отражают ситуацию по распространенности микобактериозов только в Бразилии. Так, с 1996 по 2005 гг. НТМБ были выделены у 1,0 на 100 тыс. населения. По данным за период с 1996 по 2005 гг. преобладающей группой НТМБ были представители *MAC* (62,9%). Однако с 2000-х годов отмечается рост распространенности *M.kansasii* (до 20,8%) со сни-

жением выделения бактерий из МАС комплекса до 20,0% [17, 18].

В Европе заболеваемость в период с 1992 по 2010 гг. варьировала от 0,6 до 1,7 на 100 тыс. населения, однако в Шотландии с 2005 по 2010 гг. этот показатель достигал значения 3,1. В большинстве стран преобладали представители (МАС), количество выделенных от 22% до 82%, кроме Хорватии и Англии, в которых выделялись преимущественно *M.xenopi* (28,0%) и *M. kansasii* (70 %) соответственно [12].

В Восточной Азии отсутствуют официальные данные о распространенности микобактериозов, однако по данным ряда исследований можно оценить структуру НТМБ, выделенных в странах данного региона. В Южной Корее в период с 2002 по 2010 гг. были проанализированы сведения о 1191 штамме НТМБ, выделенном от пациентов, среди которых преобладали представители (МАС) – 64%, кроме этого выделялись *M.abscessus* – 26%, *M.fortuitum* – 4% и *M.kansasii* – 6% [12].

По данным ряда авторов, в Японии в период с 1970 по 2003 гг. было выявлено 938 случаев легочного микобактериоза, при этом основным возбудителем была *M.kansasii* (73%). Следует отметить, что характер распространения НТМБ в Японии находится в тесной связи с географическим положением: частота выделения *M. avium* была значительно выше на севере страны (87 культур против 13), а *M. intracellulare* чаще встречали на востоке (80 культур против 20) [19, 20].

В Российской Федерации не ведется официальной статистики по распространенности микобактериозов. В публикациях 2016 года преобладающими в структуре НТМБ, выделенных от пациентов на территории РФ, были медленно растущие микобактерии. По данным Центрального научно-исследовательского института г. Москвы, при анализе 100 медицинских карт пациентов с заболеваниями респираторной системы и однократно выделенными НТМБ было установлено, что наиболее часто из мокроты выделялись медленно растущие НТМБ (*M. avium*, *M. gordonae*, *M. xenopi*, *M. kansasii*) [10]. По данным авторов из Новосибирского НИИ туберкулеза МЗ РФ, с 2013 по 2015 гг. отмечен рост медленно растущих НТМБ более чем в 4 раза. В работе был идентифицирован 131 штамм НТМБ: *M. fortuitum* – 32 (24,4%), *M. gordonae* – 19 (14,5%), *M. intracellulare* – 17 (13,0%), *M. abscessus* – 15 (11,5%), *M. kansasii* – 14 (10,7%), *M. avium* – 20 (15,3%), *M. agri* – 1 (0,7%), *M. chelonae* – 3 (2,3%), *M. scrofulaceum* – 3 (2,3%), *M. peregrinum* – 7 (5,3%) [21].

### Лабораторная диагностика микобактериозов

Наличие факторов риска по инфицированности НТМБ в анамнезе пациента является ключевым звеном, определяющим диагностический поиск. Диагноз микобактериоза устанавливают на основании выделения НТМБ из клинического материала и наличия характерной клинической симптоматики [1].

Американское торакальное общество разработало диагностические критерии микобактериоза легких, так как бронхолегочная локализация при микобактериозах является наиболее распространенной. К наиболее значимым критериям можно отнести: наличие на рентгенограмме грудной клетки инфильтрата, этиологию которого не удалось установить с помощью клинических и лабораторных исследований; повторное массивное выделение одного и того же вида микобактерий при отсутствии других патогенных микробов; выделение микобактерий из закрытого очага, проба из которого получена в стерильных условиях (биопсия, операционный материал) [12].

Таким образом, выделение НТМБ из клинического материала является важным фактором, обеспечивающим диагностику микобактериозов.

Среди лабораторных методов наиболее широкое распространение получили микроскопическое исследование клинического материала на кислотоустойчивые микроорганизмы и культуральный метод исследования.

При проведении микроскопического исследования материала, собранного из в норме не стерильных локусов необходимо проводить оценку его качества. Критериями пригодности мокроты для проведения микроскопического исследования является наличие более 25 сегментоядерных нейтрофилов и не более 10 эпителиальных клеток в поле зрения при просмотре, как минимум 20 полей зрения мазка (подувеличением x100) [22]. Однако следует помнить, что применение специальных методов окраски по методу Циля-Нильсена и восприимчивость к флюорохромным красителям (аурамином и родамина) дает возможность выявить микобактерии в клиническом материале, но не позволяет провести дифференцировку НТМБ от микобактерий туберкулезного комплекса.

Культуральный метод является наиболее широко используемым методом для диагностики микобактериозов. Следует учитывать, что культивирование НТМБ отличается от культивирования микобак-

терий туберкулезного комплекса, в связи со значительной неоднородностью данной группы микроорганизмов. Общепринятая методика выделения микобактерий из клинического материала подразумевает культивирование на плотных (Финн-П, Левенштейна-Йенсена) и жидких (Миддлбрук) средах. В последнее время в лабораториях наиболее часто используются автоматические и полуавтоматические системы культивирования, основанные на работе с жидкими питательными средами. Тем не менее, остается открытым вопрос о выборе оптимальной комбинации сред при выделении НТМБ из клинического материала [12].

Кроме выбора среды для первичного посева НТМБ, к факторам, затрудняющим выделение данной группы микроорганизмов, можно отнести различия в температурных оптимумах культивирования. Среди НТМБ, имеющих потенциальное клиническое значение, могут быть выделены как термофильные, так и психрофильные представители. Как следствие, культивирование посевов с материалом при подозрении на микобактериоз должно проводиться при температурах в диапазоне от 30° до 42°С [3, 12].

Из современных методов идентификации НТМБ можно отметить метод, основанный на времяпролетной матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации (MALDI-TOF) масс-спектрометрии. Метод заключается в воздействии импульсов лазера на бактериальную клетку покрытой матрицей и последующей ионизацией рибосомальных белков. Матрица представляет собой вещество, которое способно понижать деструктивные характеристики лазерного излучения и повышать последующую ионизацию анализируемого вещества. После этого ионизированные белки движутся к детектору, который находится в анализаторе. Программное обеспечение прибора оценивает время пролёта частиц и преобразует эту информацию в спектр молекулярных масс (масс-спектр), представленный в виде отношения массы и заряда. Масс-спектр сравнивается со спектрами из базы данных и на основании определенной массы белков происходит идентификация бактерий. Огромным преимуществом данного метода является то, что на анализ требуется меньше 1-й минуты, однако и этот метод не является идеальным. Качество диагностики зависит от наличия определенных баз данных, что оказывает определенное влияние на стоимость идентификации. Также на идентификацию могут влиять

условия культивирования микроорганизмов, методы подготовки проб и ряд других факторов.

Туберкулинодиагностика также может рассматриваться как косвенный метод, позволяющий поставить диагноз «микобактериоз». Это обусловлено тем, что при деструктивном поражении легких, вызванном НТМБ, в мокроте обнаруживаются кислотоустойчивые микобактерии, а туберкулиновая проба при этом будет давать отрицательный результат, что с большой долей вероятности позволяет предположить этиологическую связь заболевания с НТМБ [1].

### Заключение

Микобактериозы – группа заболеваний, к которым в последнее время возрастает интерес со стороны клиницистов и врачей лабораторной службы. Рост заболеваемости и внедрение новых методов исследования позволяют расширить диагностические возможности их выявления. Однако следует помнить, что главным критерием при постановке диагноза микобактериоза следует считать выделение культуры НТМБ, ее идентификацию и определение резистентности к антимикробным препаратам. В связи с этим развитие микробиологической диагностики микобактериозов в Российской Федерации является одним из приоритетных направлений бактериологии.

### Список литературы

1. Альховик О.И., Дымова М.А., Черденченко А.Г. Распространенность нетуберкулезных микобактерий в Сибири. Тезисы докладов Всероссийской научно-практической конференции по медицинской микробиологии и клинической микологии (XIX Кашкинские чтения) / Проблемы медицинской микологии. – 2016. – Т. 18. – № 2. – 37 с.
2. Елисеев П.И. Роль молекулярно-генетических методов Genotype в повышении эффективности диагностики туберкулеза с лекарственной устойчивостью микобактерий и микобактериозов: автореф... дис. канд. мед. наук. – СПб.: ГБОУ ВПО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, 2013. – 23 с.
3. Майорова А.А. Идентификация нетуберкулезных микобактерий и выбор оптимальной комбинации методов для их видовой дифференциации: Автореф... дис. канд. биол. наук. – М.: ФГУЗ «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Роспотребнадзора РФ, 2007. – 26 с.
4. Методические указания МУК 4.2.3115-13 «Лабораторная диагностика внебольничных пневмоний».
5. Респираторная медицина: в 2 т. / под ред. А.Г. Чучалина. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – Т. 1. – 800 с.

6. Эргешов А.Э., Шмелев Е.И., Ковалевская М.Н., Ларионова Е.Е., Черноусова Л.Н. Нетуберкулезные микобактерии у пациентов с заболеваниями органов дыхания (клинико-лабораторное исследование). – Пульмонология. – 2016. – 26(3). – P. 303-308.
7. Abdrejak C., Nielsen R., Thomsen V. et al. Chronic respiratory disease, inhaled corticosteroids and risk of non-tuberculosis mycobacteriosis. *Thorax*. – 2013. – 68 (3). – P. 256-262.
8. Al-Houqani M., Jamieson F., Chedore P. et al. Isolation prevalence of pulmonary nontuberculous mycobacteria in Ontario in 2007. – *Can Respir J*. – 2011. – 18. – P. 19-24.
9. Bodie E.E., Cunningham J.A., Della-Latta et al. Epidemiology of nontuberculous mycobacteria in patients without HIV infection, New York City. – *Emerg Infect Dis*. – 2008. – 14. – P. 390-396.
10. Cassidy P.M., Hedberg K., Saulson A., et al. Non-tuberculosis mycobacterial disease prevalence and risk factors a changing epidemiology. *Clin Infect Dis*. – 2009. – 49. – P. 124-129.
11. Clinic in chest medicine. Nontuberculous mycobacteria / Editors G.A. Huitt, C.L. Daley // Elsevier. – 2015. – Vol. 36. – № 1. – P. 125.
12. Chan E.D., Kaminska A.M., Gill W. et al. Alpha-1-antitrypsin (AAT) anomalies are associated with lung disease due to rapidly growing mycobacteria and AAT inhibits Mycobacterium abscessus infection of macrophages. – *Scand J Infect Dis*. – 2007. – 39. – P. 690-696.
13. Kim YM, Kim M, Kim SK, et al. Mycobacterial infections in coal workers pneumoconiosis patients in South Korea. – *Scand J Infect Dis*. – 2009. – 41. – P. 656-662.
14. Uji M., Matsushita H., Watanabe T. et al. A case of primary Sjogren syndrome presenting with middle lobe syndrome complicated by nontuberculous mycobacteriosis. *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*. – 2008. – 46. – P. 55-59.
15. Okumura M., Iwai K., Ogata H. et al. Clinical factors on cavitory and nodular bronchiectatic types in pulmonary Mycobacterium avium complex disease *Intern Med*. – 2008. – 47. – P. 1465-1472.
16. Pedro H.S., Pereira M.I., Goloni M.R., Non-tuberculous mycobacteria isolated in Sao Jose do Rio Preto, Brazil between 1996 and 2005. – *J Bras Pneumol*. – 2008. – 34. – P. 950-955.
17. Prevots D.R., Shaw P.A., Strickland D. et al. Non-tuberculous mycobacterial lung disease prevalence at four integrated health care delivery systems. *Am J Respir Crit Care Med*. – 2010. – 182. – P. 970-976.
18. Sakatani M. Non-tuberculosis mycobacteriosis: the present status of epidemiology and clinical studies // *Kekkaku*. – 1999. – Vol. 74. – № 4. – P. 377-384.
19. Sakatani M., Nakajima Y. Treatment of non-tuberculous pulmonary mycobacteriosis. National Hospital Organization Kinki-chuo Chest Medical Center, 1180, Nagasone-cho, Sakai-shi, Osaka 591-8555, Japan. – 2006. – Vol. 81. – № 1. – P. 35.
20. Sonnenberg P., Murray J. Glynn et al. Risk factors for pulmonary disease due to culture-positive M. tuberculosis or non-tuberculous mycobacteria in South African gold miners. – *Eur Respir J*. – 2000. – 15. – P. 291-296.
21. Springer B., Stockman L., Tescher K., et al. Two-laboratory collaborative study on identification of mycobacteria: molecular versus phenotypic methods. – *J Clin Microbiol*. – 1996. – 34. – P. 296-303.
22. Zamaridi L.A., Coelho A.G., Pereira C.M. et al. Descriptive study of the frequency of nontuberculous mycobacteria in the Baixada Santista region of the state of Sro Paulo, Brazil. – *J Bras Pneumol*. – 2008. – 34. – P. 590-594.