

ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА БРОНХОЛЕГОЧНОГО АСПЕРГИЛЛЕЗА У БОЛЬНЫХ ТУБЕРКУЛЕЗОМ С ПОЛОСТНЫМИ ОБРАЗОВАНИЯМИ В ЛЕГКИХ

**Кулько А.Б. (вед.н.с.)*, Древал П.А.
(врач-хирург), Воробьев А.А. (зав.отд.),
Трусов В.Н. (врач-хирург)**

Московский научно-практический центр борьбы
с туберкулезом Департамента здравоохранения
города Москвы, Россия

© Коллектив авторов, 2008

В статье рассмотрен алгоритм проведения лабораторной диагностики оппортунистического легочного аспергиллеза у больных туберкулезом. Проанализированы результаты лабораторной диагностики аспергиллеза у больных туберкулезом с полостными образованиями в легких. Описан случай аспергиллеза, развившегося на фоне противотуберкулезной химиотерапии у больной фиброзно-кавернозным туберкулезом.

Ключевые слова: аспергиллез легких, полостные образования в легких, туберкулез легких

LABORATORY DIAGNOSIS OF PULMONARY ASPERGILLOSIS IN TUBERCULOSIS PATIENTS WITH LUNG CAVITIES

**Kulko A.B. (leading researcher), Dreval P.A.
(physician-surgeon), Vorobyov A.A. (head of
branch), Trusov V.N. (physician-surgeon)**

Scientific and Clinical Antituberculosis Center of
Moscow Government Health Department, Russia

© Collective of authors, 2008

The algorithm of laboratory diagnosis of opportunistic pulmonary aspergillosis in tuberculosis (TB) patients is discussed. The results of laboratory aspergillosis diagnosis in TB patients with lung cavities

* Контактная информация: Кулько Александр Борисович, тел. (495) 268-70-33

were analyzed. As an illustration we describe case of aspergillosis, developed during anti-tuberculosis chemotherapy, in a female patient with fibrocavernous TB.

Key words: lung cavity, pulmonary aspergillosis, pulmonary tuberculosis

ВВЕДЕНИЕ

К существенным факторам риска развития бронхолегочного аспергиллеза относят хронические заболевания легких, сопровождающиеся формированием полостных изменений (туберкулез, бронхоэктатическая болезнь, хронические абсцессы, кисты, саркоидоз и др.) на фоне длительного лечения, в том числе антибиотиками широкого спектра действия, а также различные иммуносупрессивные состояния [1–5]. В значительном числе описанных в научной литературе случаев (до 70% наблюдений при аспергилломе) фоном развития аспергиллеза легких являлся туберкулез [6–8]. Высокая частота ассоциации легочных форм туберкулеза и аспергиллеза, схожие клиническая симптоматика и рентгенологическая характеристика затрудняют диагностику вторичного аспергиллеза во фтизиатрической клинике [9, 10]. Сложной и крайне важной клинико-лабораторной задачей остается своевременная верификация инвазивных форм аспергиллеза легких и аспергилломы, развитие которых сопряжено с риском осложнений, в том числе опасных для жизни пациента.

Решающее значение в диагностике легочного аспергиллеза имеют данные лабораторных исследований: выявление *Aspergillus* spp. при посеве диагностического материала (мокрота, жидкость бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), тканевые образцы из очагов поражения и др.); обнаружение характерных морфологических элементов гриба в материале методом прямой микроскопии; выявление антигена *Aspergillus* spp. и специфических антител в сыворотке крови иммунологическими методами [9, 11–14].

Алгоритм лабораторной диагностики аспергиллеза легких в клинике туберкулеза

При диагностике микозов органов дыхания у пациентов Московского научно-практического центра борьбы с туберкулезом (МНПЦБТ) проводят микологические исследования трех проб мокроты в динамике и материала, полученного при фибробронхоскопии (ФБС) (БАЛ, бронхиальный секрет, бронхиальный смыв, бронхиальный биопат) [15].

При диагностике и лечении пациентов с деструктивными полостными образованиями в легких на микологическое исследование поступают высокоспецифичные материалы из легочных полостей, полученные при локальном воздействии на полость (пункционный биопат, смывы, аспираты) [16]. Кроме того, в микологическую лабораторию доставляют образцы легочной ткани и содержимое легочных полостей, полученные в процессе оперативного вмешательства, а также материалы из плевральных полостей (аспираты, экссудаты, мазки). При интерпрета-

ции результатов микологического исследования необходимо учитывать видовую принадлежность выделенного гриба-оппортуниста и характер материала, из которого он был выделен. Наиболее информативны материалы, полученные инвазивными методами: биоптаты и/или резекционный материал, а также различные материалы, взятые при ФБС и др.

При дифференциальной диагностике аспергиллеза легких (положительные культуральные и/или клинические и рентгенологические данные) проводят специальное иммунологическое исследование на наличие в сыворотке крови антигенов *Aspergillus* (тест-наборы латекс-агглютинации Pastorex, Bio-Rad – порог определения галактоманна 15 нг/мл) [17]. Обнаружение в сыворотке крови циркулирующих галактоманновых антигенов – эффективный метод ранней диагностики инвазивного аспергиллеза, однако при интерпретации результатов следует учитывать вероятность получения ложноположительных и ложноотрицательных реакций. Диагностическая значимость положительного результата иммунологического исследования возрастает при повторном выявлении галактоманна и в случае выделения *Aspergillus* spp. при культуральном исследовании [1, 11, 14, 18].

Алгоритм микологического исследования включает прямую микроскопию [15], культивирование диагностического материала на питательных средах, идентификацию выделенных штаммов грибов до рода/вида (предпочтительно) и определение чувствительности к противогрибковым препаратам. Остановимся подробнее на этапах культурального исследования при работе с возбудителями аспергиллеза.

В МНПЦБТ для первичного посева диагностического материала используют стандартную среду Сабуро в сочетании с антибиотиком – хлорамфениколом. Контроль загрязнения воздуха посевного бокса спорами плесневых грибов проводят с помощью экспонирования открытой чашки Петри во время проведения посева с последующей ее инкубацией (30 °C). Посевы инкубируют при двух температурных режимах – 30° и 37 °C. Верхняя температурная граница роста (35, 37, 40, 42, 45 °C) – одна из важных физиологических характеристик выделенного штамма *Aspergillus* spp. По имеющимся в литературе сведениям, подтвержденным собственными данными, клинические штаммы основных возбудителей аспергиллеза легких (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*) способны к быстрому росту и споруляции на питательных средах в температурном диапазоне 35-37 °C, однако для некоторых менее распространенных возбудителей аспергиллеза характерен слабый рост или его отсутствие при 35 °C (*A. glaucus*, *A. restrictus*, *A. sydowii*, *A. versicolor*) [19].

Идентификация выделенных при посеве культур грибов – наиболее трудоемкий и клинически значимый этап микологического исследования. Результаты видовой идентификации имеют значение как для интерпретации результатов лабораторного обследо-

вания больного с подозрением на пневмомикоз, так и для подбора противогрибковых препаратов для проведения специфической терапии. Особого внимания заслуживают случаи обнаружения *A. fumigatus* (наиболее частый возбудитель аспергиллеза легких), *A. flavus*, *A. niger*, *A. terreus*; ряда редких возбудителей – *A. nidulans*, *A. restrictus*, *A. sydowii*, *A. versicolor* и случаи неоднократного выделения при посеве гриба *Aspergillus* одного вида. Следует учитывать, что для *A. terreus* и некоторых других видов *Aspergillus* spp. характерна низкая исходная (природная) чувствительность к амфотерицину В [11, 20]. Для ориентировочной оценки чувствительности клинических штаммов *Aspergillus* spp. к противогрибковым препаратам, применяемым при лечении аспергиллеза (амфотерицин В, итраконазол и др.), в МНПЦБТ проводят определение чувствительности *in vitro* диско-диффузионным методом.

Основными дифференцирующими признаками *Aspergillus* spp., используемыми в определителях плесневых грибов, служат: клеточная морфология [строение, цвет, форма, размер конидий (экзогенные споры бесполого размножения), конидиеносцев, конидиальных головок, конидиогенных структур (фиакиды, метулы), гиф мицелия и др.] и морфология колоний (важный дополнительный признак). Для немногочисленной группы гомоталлических видов *Aspergillus* (*A. flavipes*, *A. glaucus*, *A. hollandicus*, *A. nidulans* и др.) специфично образование *in vitro* клейстотеций (структуры полового размножения), содержащих сумки с аскоспорами (споры полового размножения у аскомицетов) [1, 19, 21, 22].

Микроморфологию культуры плесневого гриба изучают после начала споруляции во влажных неокрашенных препаратах с добавлением воды. Для образования у плесневых грибов характерных спорных структур и окраски в МНПЦБТ используют общепринятую методику субкультивирования на специальных идентификационных средах: агаре Чапека-Докса (стандартная справочная среда для *Aspergillus* spp.) и картофельно-декстрозном агаре [15, 17].

Результаты лабораторной диагностики аспергиллеза у больных туберкулезом с полостными образованиями в легких

В данной публикации обобщены результаты лабораторных исследований у больных туберкулезом с деструктивными полостными образованиями в легких, находившихся на лечении в МНПЦБТ в течение 2004-2008 гг. Нами было обследовано 269 пациентов с различными деструктивными формами туберкулеза легких – кавернозный, фиброзно-кавернозный, туберкулома. Все пациенты получали противотуберкулезную химиотерапию.

Aspergillus spp. были обнаружены в диагностическом материале у 66 пациентов (24,5% от числа обследованных). Всего было выделено 12 видов *Aspergillus* spp., из них 31% — штаммы *A. fumigatus*. Часто-

та обнаружения *A. versicolor* составила 15%, *A. niger* – 10%, *A. flavus* – 8%, *A. restrictus* – 8%, *A. terreus* – 6%, *A. flavipes* – 5%, *A. nidulans* – 5%, *A. ustus* – 5%, *A. glaucus* – 3%, *A. sydowii* – 3%, *A. hollandicus* – 1%.

От 116 больных исследован материал из деструктивных полостных образований в легких (каверна, туберкулома, киста, аспергиллома). *Aspergillus* spp. были обнаружены в содержимом легочной полости у 19 больных (16,4%). Наиболее часто (у 12 из 19 пациентов) выделяли *A. fumigatus*. В остальных случаях были обнаружены *A. flavus*, *A. restrictus* (у двух пациентов), *A. niger* (у двух пациентов), *A. terreus*, *A. versicolor*. У 7 больных данной группы (36,8%) *Aspergillus* sp., колонизирующий полость, был выделен также из БАЛ и/или мокроты.

Aspergillus spp. (*A. fumigatus*, *A. niger*, *A. restrictus*, *A. ustus*, *A. terreus*, *A. versicolor*) были выделены также у ряда больных из содержимого плевральной полости (у 9 из 21 больного данной группы).

Колонизация нижних отделов дыхательных путей *Aspergillus* spp. (результаты исследования мокроты и содержимого бронхов, полученного при ФБС) была выявлена у 17,1% обследованных пациентов.

Определение антигена *Aspergillus* spp. в сыворотке крови было проведено у 27 больных деструктивными формами туберкулеза легких из группы риска развития инвазивного легочного аспергиллеза. Присутствие в крови антигена *Aspergillus* spp. наблюдали у 5 больных; у 4 из них при культуральных исследованиях выявляли *Aspergillus* spp. (содержимое полостного образования, БАЛ).

Таким образом, выделенная по результатам лабораторных исследований группа больных деструктивными формами туберкулеза с риском развития бронхолегочного аспергиллеза составила 24,9% от числа обследованных.

В заключение, приводим пример аспергиллезного поражения санированной полости в легком при фиброзно-кавернозном туберкулезе на фоне комплексной противотуберкулезной терапии с применением антибиотиков широкого спектра действия, с выявлением классической рентгенологической (появление интракавитарной тени) и клинической (высокая лихорадка, кровохарканье) картинами.

Пациентка А., 39 лет, ранее туберкулезом не болела, в ноябре 2005 г. отметила появление кашля с гнойной мокротой, слабость, в дальнейшем – повышение температуры тела до 39 °С. При рентгенологическом обследовании выявили диссеминированное поражение верхних долей обоих легких с распадом. Госпитализирована 02.06.2006 г. в терапевтическое отделение МНПЦБТ. При госпитализации – состояние относительно удовлетворительное, больная пониженного питания. Кожные покровы и видимые слизистые оболочки бледные. Дыхание жесткое, единичные сухие хрипы в верхних отделах легких. Физикальное исследование органов сердечнососудистой, пищеварительной и мочевыделительной систем – без особенностей. Рентгенологически в верхних долях обоих легких участки инфильтрации легочной ткани с распадом, очаги с тенденцией к

слиянию, в нижних отделах с обеих сторон многочисленные очаги обсеменения. При ФБС диагностировали инфильтративный туберкулез бронхов верхней доли справа. При посевах мокроты выделили штамм *Mycobacterium tuberculosis*, чувствительный к противотуберкулезным препаратам I и II ряда. Методом иммуноферментного анализа в крови обнаружили антитела к *M. tuberculosis*, методом полимеразной цепной реакции в крови выявили ДНК *M. tuberculosis*. Начата противотуберкулезная терапия комбинацией химиопрепаратов (изониазид, рифампицин, этамбутол, пиразинамид, канамицин) с применением интратрахеальных вливаний (изониазид, диоксидин). На начальном этапе достигнута положительная клинико-рентгенологическая динамика в виде уменьшения симптомов интоксикации, уменьшения инфильтрации вокруг полостей распада. Однако в сентябре 2006 г. наблюдали отрицательную клиническую динамику в виде повышения температуры тела до 38–39 °С, кровохарканья. Рентгенологически обнаружили появление в одной из полостей (3,0×3,5 см) верхней доли левого легкого дополнительной тени (1,5×1,5 см), предположительно — аспергилломы (Рис. 1, 2).



Рис. 1. Рентгеновская компьютерная томограмма органов грудной клетки больной А. (до лечения)



Рис. 2. Томограмма левого легкого больной А. (до лечения)

При проведении лабораторной диагностики микоза у больной был выявлен ряд признаков «вероятного» аспергиллеза: присутствие антигена *Aspergillus* в сыворотке крови, выделение *Aspergillus* spp. из БАЛ (*A. flavus*) и мокроты (*A. fumigatus*), обнаружение элементов плесневого гриба в БАЛ и мокроте при прямой микроскопии (гифы септированного мицелия, конидии). Больной был проведен курс лечения итраконазолом (орунгалом) в дозе 400 мг в

сутки в течение 30 дней, с последующим уменьшением симптомов интоксикации, стойким купированием кровохарканья, положительной рентгенологической динамикой в виде уменьшения размеров и заполнения полостей распада. При контрольной ФБС активных специфических изменений не обнаружили, отмечали рубцовые стенозы верхнедолевого бронха и его сегментарных ветвей справа. При контрольном рентгенологическом исследовании выявили значительное рассасывание перифокальной инфильтрации вокруг очагов, их уплотнение, уменьшение полости в верхней доле левого легкого до 1,3 см, ее заполнение (рис. 3).

В результате проведенной противогрибковой терапии удалось добиться эрадикации *Aspergillus* spp. со слизистых оболочек нижних дыхательных путей (отрицательные результаты микологических исследований БАЛ, мокроты).

Больная выписана из стационара в удовлетворительном состоянии для продолжения лечения в противотуберкулезном диспансере по месту жительства.

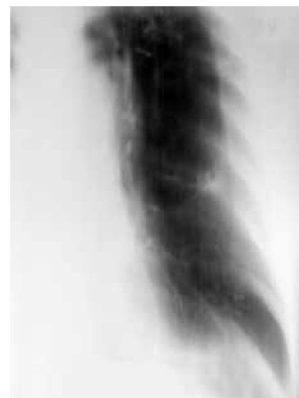


Рис. 3. Томограмма левого легкого больной А. (контроль после лечения)

ЛИТЕРАТУРА

1. Елинов Н.П., Митрофанов В.С., Черноятова Р.М. Аспергиллезная инфекция; подходы к её диагностике и лечению// Ж. Проблемы медицинской микологии. – 2002. – Т.4, № 1. – С. 4-8.
2. Митрофанов В.С., Черноятова Р.М. Аспергиллемы легких// Ж. Проблемы медицинской микологии.- 2000.-Т.2, № 4. – С. 13-20.
3. Митрофанов В.С., Свирицкая Е.В. Аспергиллез легких. – СПб.: Изд-во Фолиант, 2005. – 144 с.
4. Latge J-P. *Aspergillus fumigatus* and Aspergillosis// Clin. Microbiol. Rev.- 1999.- Vol. 12, №2.- P.310-350.
5. Zmeili O.S., Soubani A.O. Pulmonary aspergillosis: a clinical update// Q. J. Med.- 2007.- Vol.100.- P.317-334.
6. Regnard J-F, Icard P, Nicolosi M., et al. Aspergilloma: a series of 89 surgical cases// Ann. Thorac. Surg. – 2000.- Vol. 69.- P.898-903.
7. Vaideeswar P, Prasad S., Deshpande J.R., Pandit S.P. Invasive pulmonary aspergillosis: A study of 39 cases at autopsy// J. Postgrad. Med. – 2004.- Vol. 50, №1.- P.21-26.
8. Soubani A.O. and Chandrasekar P.H. The clinical spectrum of pulmonary aspergillosis// Chest.- 2002.- Vol. 121.- P.1988-1999.
9. Дорожкова И.Р. Методы комплексной лабораторной диагностики воспалительных и аллергических грибковых поражений легких. Пособие для врачей. – М., 1997. – 17 с.
10. Свирицкая Е.В., Митрофанов В.С., Шендеров Р.И., Чужова Н.М. Иммуитет при туберкулезе и аспергиллезе (обзор)// Ж. Проблемы медицинской микологии.-2005.-Т.7, № 1.- С. 3-13.
11. Аравийский Р.А., Климо Н.Н., Васильева Н.В. Диагностика микозов. – СПб.: СПб МАПО, 2004. – 186 с.
12. Климо Н.Н., Васильева Н.В., Елинов Н.П. и др. Перечень основных методов и критериев диагностики микозов. – СПб.: СПб МАПО, 2001. – 24 с.
13. Кулько А.Б., Дубровский А.В., Кузьмин Д.Е. Случай аспергиллеза легких, вызванного *Aspergillus terreus*// Проблемы туберкулеза. – 2003. – №12. – С. 30-32.
14. Сергеев А.Ю., Сергеев Ю.В. Грибковые инфекции. Руководство для врачей. – М.: Изд-во Бином, 2003. – 439 с.
15. Кулько А.Б., Митрохин С.Д. Лабораторная диагностика грибковых инфекций легких у больных туберкулезом// Ж. Проблемы медицинской микологии. – 2005. – Т.7. №3. – С. 25-29.
16. Трусов В.Н. Методы миниинвазивного воздействия в диагностике и лечении заболеваний, связанных с наличием внутрилегочных полостных образований и ограниченных эмпием плевры: Автореф. дис... канд. мед. наук. – М., 2004. – 25 с.
17. Kulko A., Doroshkova I. Laboratory diagnosis of pulmonary aspergillosis in tuberculosis patients// 16th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases Nice, France. 1-4 April 2006. Abstracts and Posters on CD-ROM. Clinical Microbiology and Infection. <http://www.akm.ch/eccmid2006>.
18. Ascoglu S., Rex J.H., de Pauw B. et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus// Clin. Infect. Dis. – 2002.- Vol. 34.- P.7-14.
19. Самтон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. – М.: Изд-во Мир, 2001. – 468 с.
20. Steinbach, W.J., Benjamin, D.K. Jr., Kontoyiannis, D.P., et al. Infections due to *Aspergillus terreus*: a multicenter retrospective analysis of 83 cases// Clin. Infect. Dis.- 2004.- Vol. 39.- P.192.
21. Елинов Н.П. Краткий микологический словарь. – СПб., 2004. – 176 с.
22. de Hoog G.S., Guarro J., Gene J. and Figueras M.J. Atlas of Clinical Fungi 2d ed. CBS, Utrecht the Netherlands; Universitat Rovira i Virgili Reus, Spain, 2000. – 1126 p.

Поступила в редакцию журнала 25.10.08

Рецензент: В.С.Митрофанов