

Нелинейная диагностика инвазивного аспергиллеза легких

G. Muller, A. Rosenberg

Клиника Бетаниен, Франкфурт-на-Майне

Представлены результаты NLS-исследования 55 пациентов с инвазивным аспергиллезом легких (ИАЛ), установленным на основании комплексного клинического, иммунологического, гистологического, микологического исследований больных, находившихся на стационарном лечении в микологическом отделении клиники Бетаниен, а также обследовавшихся амбулаторно. Диагностическое обследование пациентов включало выполнение рентгенографии и компьютерного нелинейного исследования (NLS) грудной клетки с целью выявления и определения локализации измененной легочной паренхимы, определения характерных для микотического поражения симптомов, а также выявление зависимости NLS-картины от клинических признаков и данных лабораторных исследований. В результате показана большая информативность NLS-графики в диагностике инвазивных микозов легких по сравнению с рентгенографией. Ее чувствительность составляет 86%, специфичность – 75%, диагностическая точность – 80%.

Введение

В последние десятилетия стремительными темпами развиваются новые медицинские технологии. Достигнуты значительные успехи в лечении онкологических и онкогематологических заболеваний. Развитие трансплантологии увеличивает шансы онкологических больных на выздоровление. Однако применение цитостатических и иммуносупрессивных

препаратов, обеспечивающих функционирование трансплантатов, приводит к выраженному снижению иммунитета и возникновению осложнений в форме оппортунистических инфекций. Кроме того, к группе риска развития инфекций относят больных с синдромом приобретенного иммунодефицита (СПИД), осложнениями после абдоминальных хирургических вмешательств, обширными тяжелыми ожогами, а также недоношенных новорожденных с малой массой тела и новорожденных, которым впервые дни жизни проводили интенсивную терапию (парентеральное питание и массивную антибактериальную терапию). Из сопутствующих факторов риска развития инвазивных микозов можно назвать применение антибиотиков широкого спектра действия более 14 сут, полное парентеральное питание, длительную искусственную вентиляцию легких, шок, предшествующие грибковые инфекции.

По результатам 8124 аутопсий заболеваемость грибковыми инфекциями в клиниках Франкфурта-на-Майне увеличилась с 2,2% в 1978г. до 5,3% в 2004г. В основном этот прирост произошел за счет аспергиллеза, частота которого за этот период увеличилась почти в 10 раз.

Особенностью течения аспергиллеза является разнообразие его клинических проявлений. Выделяют инвазивный и неинвазивный аспергиллез легких.

Инвазивный аспергиллез легких (ИАЛ) является наиболее тяжелой формой заболевания, при которой возможна диссеминация процесса в другие органы (ЦНС, паренхиматозные органы брюшной

полости). Часто первым симптомом инвазивной грибковой инфекции является лихорадка, рефрактерная к антибиотикам широкого спектра действия. Отсутствие эффекта при лечении антибактериальными препаратами при клинической картине острой пневмонии у больных с выраженной иммуносупрессией должно рассматриваться как возможность развития ИАЛ. При таких клинических появлениях необходимо проводить диагностические мероприятия. Скорость и выраженность проявлений ИАЛ зависят от степени иммуносупрессии. Отчетливо признаки ИАЛ проявляются после окончания гранулоцитопении. Иногда диагноз ИАЛ можно поставить только на основании результатов биопсии, одним из препятствий для проведения которой у больных гемобластозами может быть риск геморрагических осложнений.

Материал и методы

Обследовано 55 пациентов с ИАЛ. Диагноз был установлен на основании комплексного клинического, иммунологического, гистологического, микологического исследований больных, находившихся на стационарном лечении в микологическом отделении клиники Бетаниен, а также обследовавшихся амбулаторно.

При постановке диагноза использовали критерии диагностики инвазивных микозов, разработанные Европейской организацией по изучению и лечению рака и Микологической исследовательской группой Национального института аллергии и инфекционных болезней США.

Общеклинические методы исследования включали осмотр терапевта, клинические и биохимические анализы крови, фибробронхоскопию, исследование

функции внешнего дыхания. Микробиологическое исследование проводили по общепринятой методике. Для выявления повышенной чувствительности организма к возможным аллергенам применяли метод кожных проб и выявление специфического IgE в сыворотке крови. Аллергологическое тестирование проводили в аллергологическом кабинете микологического отделения.

Для микологического исследования мокроты, промывных вод из бронхов мокроту собирали в стерильную посуду после обработки слизистой полости рта (чистка зубов, полоскание содовым раствором), промывные воды из бронхов получали входе бронхоскопических исследований.

Для гистологического исследования использовали парафиновые и криостатные срезы, которые окрашивали гематоксилином и эозином, азур II-эозином, по Граму–Вейгерту, PAS-реакцией, по Гомори–Грокотту.

Преципитирующие антитела к антигенам грибов *Aspergillus spp.* определяли с использованием иммуноферментного анализа (ИФА). Участи больных была проведена реакция преципитации.

Общий уровень IgE и специфические IgE к *A.fumigatus* определяли методами радиоиммуносорбентного теста в радиоизотопной лаборатории и ИФА в лаборатории аллергенных препаратов и аллергодиагностики. Измерение общего IgE производилось в кU/l (тысяч международных единиц в 1 л, 1 ед. = 2,4 нг).

Антиген *A.fumigatus* определяли методом латекс-агглютинации фирмы Pastorex.

Диагностическое обследование пациентов включало выполнение

рентгенографии и компьютерного нелинейного исследования (NLS) грудной клетки. Целью проведения NLS-графии грудной клетки являлось выявление и определение локализации измененной легочной паренхимы, определение характерных для микотического поражения симптомов, а также выявление зависимости NLS-картины от клинических признаков и данных лабораторных исследований.

Исследование грудной клетки выполняли на аппарате фирмы Siemens (Германия) в двух проекциях (прямой и боковой), дополняли томограммами. NLS-графию выполняли на аппарате «Метатрон»-4025 (ИПП, Россия) с высокочастотным генератором, частотой 4,9 ГГц, блоком сплошного спирального сканирования с профессиональной компьютерной программой «Metapathia GR Clinical», позволяющей проводить трехмерную визуализацию легких.

В процессе обследования применяли режим NLS-ультрамикросканирования со спектрально-энтропийным анализом (СЭА), позволяющим определить спектральное сходство пораженных тканей легкого к эталону «*Aspergillus fumigatus*». При первичном проведении NLS-графии органов грудной клетки исследование выполняли преимущественно в трехмерном режиме. Это позволяло в отличие от двухмерного сканирования исключить возможность пропуска небольших патологических образований (очаги, полости, бронхоэктазы и т.п.), повысить разрешающую способность вдоль продольной оси сканирования для оценки продольных структур, расположенных перпендикулярно или под углом к плоскости NLS-граммы.

При выявлении изменений в протокол исследования включали NLS-сканирование в режиме 4D Tissue с NLS-

ультрамикросканированием морфологических структур в зоне интереса. Некоторым пациентам выполняли повторные NLS-исследования с целью оценки динамики изменений, выявления осложнений и контроля терапевтических мероприятий. При подозрении на диссеминацию микотического процесса проводили NLS-ультрамикросканирование с СЭА других анатомических областей (брюшной полости, головного мозга, околоносовых пазух).

Полученные в процессе исследования данные обрабатывали на персональном компьютере IntelPentium 166 MMX с помощью программной системы Statistica for Windows (версия 5.11).

Результаты и их обсуждение

Всего обследовано 55 пациентов с ИАЛ. У 54 пациентов ИАЛ развился на фоне выраженного снижения иммунитета (нейтропения $< 0,1 \cdot 1$ млрд/л).

Основную категорию пациентов с ИАЛ составили больные отделения онкогематологии (52 человека). Еще 2 пациента страдали бронхоэктатической болезнью с длительным приемом глюкокортикоидных препаратов и СПИДом.

У одного пациента ИАЛ развился на фоне полного благополучия. Однако было известно, что обследуемый являлся работником сенохранилища, где повышен риск заражения спорами *Aspergillus*. Возраст обследованных варьировал от 7 до 63 лет (средний возраст $31,9 \pm 2,21$ года). В данной группе обследованных преобладали мужчины – 34 (61,8 %) человека.

Определение антигена *A.fumigatus* в крови проводили у всех пациентов. Положительный результат был получен в 82% случаев. Культуральное исследование

мокроты и бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) проводили в 69%, рост *A.fumigatus* был получен в 24 и 40% соответственно. При микроскопии мицелии в мокроте и промывной жидкости бронхов выявляли в 12 и 20% случаев.

У 98,6% пациентов ИАЛ был диагностирован при использовании СЭА. В очагах поражения было выявлено высокое спектральное сходство к эталону «*Aspergillus fumigatus*» ($D < 0,425$). В начале развития ИАЛ повышение температуры тела более 38°C, рефрактерное к антибиотикам, отмечали в 54 (98%) случаях, кашель – в 34 (62%), кровохарканье – в 13 (24%). На боли в грудной клетке жаловались 13 (24%) пациентов. Диссеминация процесса, определенная с помощью СЭА, наблюдалась у 3 (5%) пациентов, при этом у всех отмечалось поражение головного мозга. За время исследования умерли 14 (26%) пациентов. В одном случае наблюдалось самоизлечение пациента, у которого ИАЛ развился на фоне нормального иммунитета.

В начале развития ИАЛ (появление лихорадки) при рентгенографическом исследовании интерстициальные изменения были выявлены у 22% пациентов. У 19% пациентов определяли очаги. Отсутствие каких-либо изменений на рентгенограммах было отмечено у 75% обследуемых. При исследовании в динамике на повторных рентгенограммах грудной клетки при прогрессировании процесса определялись множественные очаги, фокусы и зоны инфильтрации легочной ткани с частотой 40, 47 и 25% соответственно. Поражение легких было двусторонним в 75% случаев. У 2 (3,6%) пациентов на 3–4-й неделе был

выявлен патогномичный для ИАЛ симптом полумесяца. При этом выявление данного симптома совпало по времени с завершением периода агранулоцитоза. Надо отметить, что даже при проведении соответствующей антимикотической терапии и положительной клинической динамике изменения в легких существенно нарастали при завершении периода нейтропении. Это явление было отмечено у 15 (27%) пациентов. После продолжающихся терапевтических мероприятий наблюдали уменьшение объема и интенсивности изменений в легких.

NLS-семиотика ИАЛ была более разнообразной. В табл. 1 представлены данные о различных типах изменений в легких, выявленных у пациентов с нейтропенией.

Самым часто встречающимся изменением легочной паренхимы при ИАЛ были очаги и фокусы гиперхромогенности (5-6 баллов по шкале Флейндлера) легочной ткани – 75%.

Альвеолярную инфильтрацию определяли примерно у 1/3 пациентов.

Одно из серьезных осложнений ИАЛ – инфаркт-пневмония была выявлена с использованием NLS-графии у 7 (13%) пациентов. При этом наблюдали зоны гиперхромогенности легочной ткани конической формы, широким основанием прилежащие к плевре. С такой же частотой наблюдали развитие гидроторакса.

Необходимо отметить, что выявленные очаги, фокусы и зоны инфильтрации легочной ткани в большинстве случаев имели субплевральное расположение.



Рис.1. Больной Т., 14 лет. Острый миелобластный лейкоз (ОМЛ). ИАЛ. Обзорная рентгенограмма грудной клетки. В парамедиастинальных отделах обоих легких на фоне усиленного легочного рисунка определяются множественные очаги и фокусы инфильтрации с нечеткими размытыми контурами.

Кроме того, примерно в половине случаев при NLS была выявлена связь фокусов с сосудами. При рентгенографическом исследовании этот признак не определялся ни в одном случае.

Нами была отмечена связь между NLS-симптомокомплексом и сроками

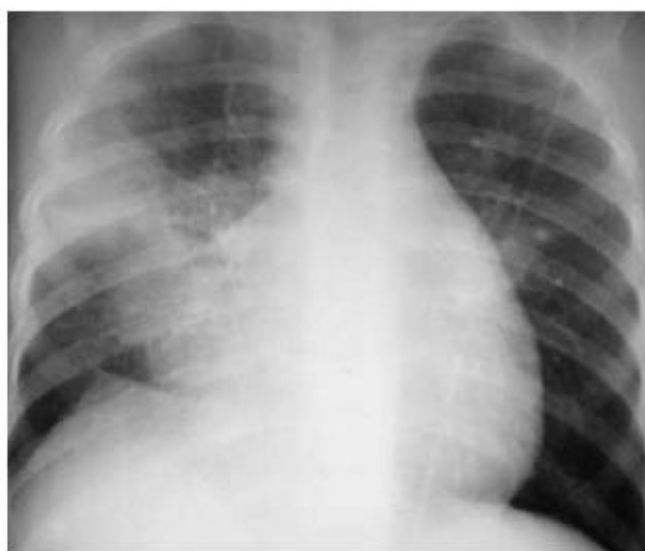


Рис.2. Больной С., 10 лет. ОМЛ. ИАЛ. Обзорная рентгенограмма грудной клетки. Массивные инфильтративные изменения в средних отделах правого легкого, неоднородного характера, с нечеткими контурами. Уменьшение объема правого легкого, купол правой половины диафрагмы подтянут кверху.

заболевания. Однако данные, полученные при рентгенографии и NLS, имели определенные различия. Для наиболее показательного распределения признаков во времени мы выбрали 3 временных интервала с момента появления клинической симптоматики: с 1-го по 4-й день, с 4-го по 8-й день, с 8-го по 20-й день.

Таблица 1. Характеристики NLS и рентгенографии в диагностике микотических поражений легких

Параметр, %	ИАЛ		
	NLS	р	рентгенография
Чувствительность	85	-	44
Специфичность	75	-	78
Прогностичность:	75	-	75
	86	-	48
Диагностическая точность	80	<0,05	58

Наиболее ранними признаками ИАЛ являлись очаговые и интерстициальные гиперхромогенные изменения тканей,

выявляемые при NLS с частотой 75 и 67% соответственно. Рентгенография оказалась менее информативной на начальном этапе.

Частота выявления очаговых и интерстициальных изменений по данным рентгенографии была достоверно меньшей и составила 19 и 42% соответственно. Фокусы альвеолярной инфильтрации выявлялись в значительно меньшем проценте случаев по данным обоих методов.

Очаговые изменения легочной ткани во втором временном промежутке (4–8-й день) выявлялись реже, чем в первом. Также уменьшилась частота выявления зон интерстициальных изменений. Зато с максимальной частотой по данным NLS определялись гиперхромогенные фокусы и уплотнения легочной ткани. Фокусы имели различную форму, чаще округлую, однородную структуру, располагались субплеврально, отмечалась их связь с сосудами.



В третий временной промежуток (с 8-й по 20-й день) отмечали уменьшение частоты изменений, выявляемых по данным обоих методов ранее.

В третьем временном промежутке мы наблюдали патогномичный для ИАЛ симптом – симптом полумесяца, который представлен умеренно хромогенной полостью с округлым солидным содержимым. Содержимое отделено от стенки полости тонкой серповидной ахромогенной прослойкой воздуха, напоминающей полумесяц. Признак выявлялся с частотой 9% при NLS и 3,6% при рентгенографии.

У одного пациента был диагностирован пневмоторакс.

Рис.3. Больная Ф., 7лет. ОМЛ. ИАЛ. Обзорная рентгенограмма грудной клетки. В обоих легких выявляются округлые тонкостенные полостные образования с солидным содержимым, прилежащим к нижним стенкам полостей и образующим симптом полумесяца.

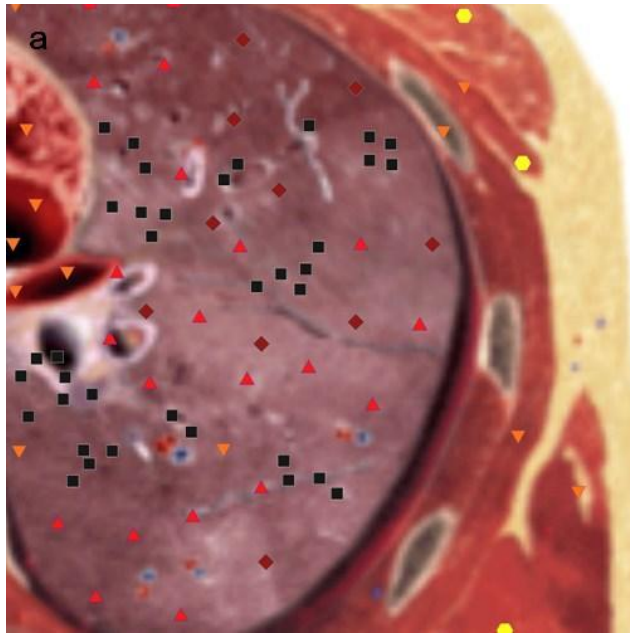
В 87% случаев по данным NLS патологические изменения были выявлены в обоих легких.

ИАЛ был диагностирован, прежде всего, у пациентов с выраженным снижением иммунитета (нейтропения $< 0,1 \cdot 10^9$ /л). У всех этих пациентов отмечалось высокое спектральное сходство к эталону «*Aspergillus fumigatus*» ($D= 0,108 \pm 0,035$), обнаруженное при проведении СЭА.

Жалобы пациентов с ИАЛ были неспецифичными и включали лихорадку, резистентную к антибактериальной терапии.

Основным серологическим методом диагностики ИАЛ являлось обнаружение грибов рода *Aspergillus*. Также использовались данные микологических исследований мокроты и БАЛ.

При аппаратном обследовании наиболее информативной по сравнению с традиционной рентгенографией являлась NLS-графия, с помощью которой с



наибольшей частотой удавалось выявить патологические изменения в легких ($p < 0,05$). Преобладали случаи с двусторонним поражением легких.

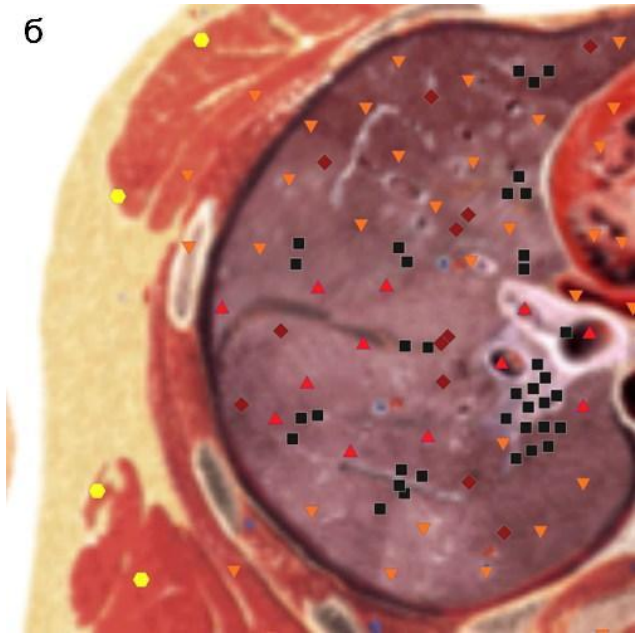


Рис 4. Больная А. 21 год. ОМЛ. ИАЛ. NLS-граммы.

В S_{VI} правого легкого (а) и $S_{I-II,IV}$ левого легкого (б) выявлены гиперхромогенные очаги с нечеткими контурами.

NLS-семиотика ИАЛ включала очаговые и интерстициальные гиперхромогенные изменения, выявляемые с максимальной частотой на наиболее ранних стадиях заболевания (с 1-го по 4-й день с момента клинических проявлений).

С 5-го по 7-й день в основном мы сталкивались с фокусами и зонами альвеолярной инфильтрации, что свидетельствовало о прогрессировании процесса. Надо отметить преимущественно субплевральную локализацию очаговых и инфильтративных изменений, а также

выявляемую при NLS связь очагов и фокусов инфильтрации с сосудами.

В более позднем периоде, с 8-го дня клинических проявлений, изменения были полиморфными: можно было видеть изохромогенные очаги, фокусы, зоны инфильтрации, реже – интерстициальные изменения легочной ткани. Только в третьем периоде ИАЛ наблюдали симптом полумесяца. Выявление этого симптома являлось благоприятным признаком и свидетельствовало о разрешении патологических изменений.

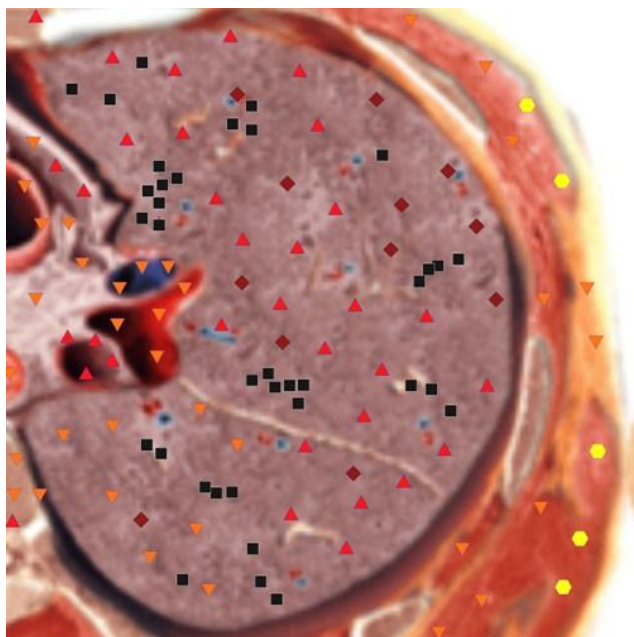


Рис 5. Больной Т. 14 лет. ОМЛ. ИАЛ. Компьютерная NLS-грамма. В правом легком определяются гиперхромные фокусы интерстициальной инфильтрации, связанные с сосудами.

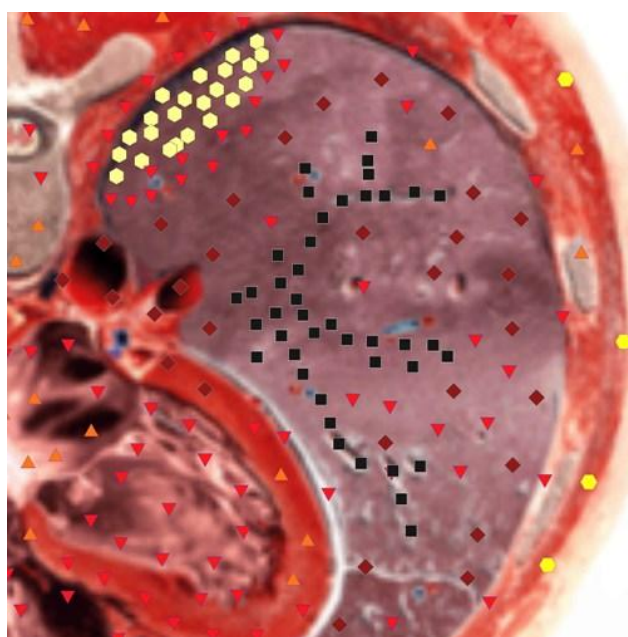


Рис 6. Больная Г. 22 года. ОМЛ. ИАЛ. Компьютерная NLS-грамма на уровне сердца. В S_x левого легкого определяется зона поражения легочной ткани, на фоне которой видна ахромогенная серповидная прослойка воздуха (симптом полумесяца).



Рис 7. Больной Х. 56 лет. Неходжинская лимфома. ИАЛ. NLS-ультрамикросканирование. Определяется поражение легочной ткани, как проявление инфаркт-пневмонии при прогрессировании ИАЛ.

Появление зон инфильтрации конической формы, широким основанием обращенных к плевре, свидетельствовало о развитии инфаркт-пневмонии, которая

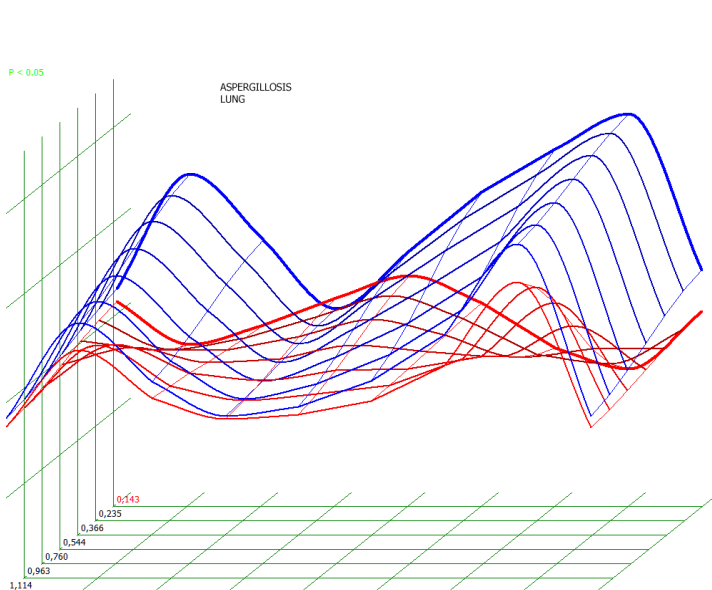


Рис 8. Спектрально-энтропийный анализ. Аспергиллез легких ($D=0,143$).

является одним из проявлений ИАЛ в результате инвазии стенки сосуда и закупорки его просвета гифами грибов. Прогностически неблагоприятным

признаком являлась мелкоочаговая гиперхромогенная диссеминация, которую выявляли в легких у пациентов с генерализацией аспергиллеза. У всех троих в результате генерализации был поражен головной мозг, изменения в котором подтверждались данными NLS и МРТ, с последующим летальным исходом.

Необходимо отметить, что при обследовании пациентов с ИАЛ NLS-графия была более информативной по сравнению с традиционным рентгенографическим исследованием (см. табл. 1).

Выводы

1. NLS-графия является более информативным методом лучевой диагностики инвазивных микозов легких по

сравнению с рентгенографией. Ее чувствительность составляет 86%, специфичность – 75%, диагностическая точность – 80% (67,2–90,3) ($p < 0,05$).

2. Рентгенологическая картина зависит от продолжительности заболевания при ИАЛ. В начале заболевания (1–3-и сутки) с наибольшей частотой определяются очаговые и интерстициальные изменения легких (75%). На 4–7-е сутки преобладают округлые фокусы уплотнения легочной ткани (75%), выявляется симптом ореола (40%). При продолжительности более 8 сут. очаговые и инфильтративные изменения определяются с меньшей частотой, может быть выявлен симптом полумесяца (9%).

Список литературы

1. Fridkin S.K., Jarvis W.R. Epidemiology of nosocomial fungal infection // Clin. Microbiol. Rev. 1996. V. 9. N4. P.499–511.
2. Groll A.H., Shah P.M., Mentzel C. et al. Trends in the postmortem epidemiology of invasive fungal infections at a university hospital // J. Infect. 1996. V. 33. N1. P. 23–32.
3. Denning D.W. Invasive aspergillosis // Clin. Infect. Dis. 1998. V. 26. P. 781–805.
4. Rosenberg A.S., Armstrong D. Aspergillus infection in the cancer patients // Infect. Med. 1993. V. 10. N8. P. 10–40.
5. Ascoglu S., Rex J.H., Pauw B. et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplant: an international consensus // Clin. Infect. Dis. 2002. V. 34. P. 7–14.
6. Макарова С.Н. «NLS-диагностика абсцесса легких» // Сборник научных трудов Института прикладной психофизики «Актуальные проблемы NLS-диагностики». Том I. М.: Каталог, 2006, с. 27-29