

І. В. Ліскіна, С. Д. Кузовкова, Л. М. Загаба, А. І. Барбова, В. В. Куц
ВИЗНАЧЕННЯ ЗАЛЕЖНОСТІ МІЖ МОРФОЛОГІЧНИМИ СТУПЕНЯМИ АКТИВНОСТІ
СПЕЦИФІЧНОГО ЗАПАЛЕННЯ ТА РЕЗУЛЬТАТАМИ МІКРОБІОЛОГІЧНОГО ДОСЛІДЖЕННЯ
БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ У ХВОРИХ НА ФІБРОЗНО-КАВЕРНОЗНИЙ ТУБЕРКУЛЬОЗ
ЛЕГЕНЬ З ХІРУРГІЧНИМ ВТРУЧАННЯМ

ДУ «Національний інститут фіззіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського АМН України»

Значне поширення туберкульозу у багатьох країнах світу на початку 90-х років ХХ століття, що змусило ВООЗ проголосити у квітні 1993 року туберкульоз глобальною небезпекою, продовжує залишатися актуальною проблемою в усіх країнах і у ХХІ сторіччі. В Україні на теперішній момент має місце несприятлива епідеміологічна ситуація з туберкульозу, хоча протягом останніх трьох років спостерігається стабілізація та навіть тенденція до зниження величини показників захворюваності та смертності від туберкульозу [11, 12]. На сьогоднішній день однією із небезпечних особливостей перебігу туберкульозу органів дихання є зростання питомої ваги хворих із розповсюдженими казеозно-некротичними змінами та формуванням порожнин розпаду в тканині легень.

В клінічній практиці умовно виділяють наступні 3 основні фази перебігу туберкульозного запального процесу: початкова або фаза загострення, фаза стабілізації та фаза одужання або виліковування. Згідно Протоколу надання медичної допомоги хворим на туберкульоз основним методом діагностики туберкульозу є бактеріологічний метод дослідження [10] та наявність деструкції легеневої тканини за рентгенологічним дослідженням. Але існують і абацілярні форми туберкульозу, при яких МТБ в харкотинні не визначаються. Окрім того, існують відомості, що клінічна картина та стандартні лабораторні показники перебігу туберкульозу легень повністю не співпадають зі ступенем активності туберкульозного запального процесу за морфологічними ознаками при проведенні гістологічного дослідження [1, 9, 13].

В літературних джерелах практично відсутні дані щодо проведення визначення гістологічної активності туберкульозного запального процесу на момент оперативного втручання у хворих на туберкульоз та їх відповідності результатам мікробіологічного дослідження у цих же хворих. Існують лише поодинокі роботи [2], в яких проведений порівняльний аналіз оцінки гістологічної активності специфічного запального процесу в залежності від визначення кількості позитивних результатів бактеріологічного дослідження мокротиння та оперативного матеріалу.

Мета роботи — проведення порівняльного аналізу морфологічного визначення ступеня активності специфічного запалення та результатів мікробіологічного дослідження біологічного матеріалу у хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз (ФКТ) легень.

Матеріали і методи дослідження

У дослідження увійшло 46 хворих на фіброзно-кавернозний туберкульоз (ФКТ) легень, яким були вико-

нані оперативні втручання різного об'єму внаслідок не-ефективного терапевтичного лікування та/або прогресування інфекції. Усім хворим до проведення оперативного втручання проводили бактеріоскопічне та культуральне дослідження харкотиння, під час оперативного втручання був відібраний біологічний матеріал для проведення власне культурального дослідження та визначення чутливості МБТ до хіміопрепаратів. Матеріал для мікробіологічного дослідження (харкотиння) брали до призначення оперативного лікування впродовж 1 місяця, три дні поспіль, згідно до Стандарту [8]. Проводили світлову бактеріоскопію харкотиння та культуральне дослідження харкотиння і операційного матеріалу, яке включало посів на щільні живильні середовища Левенштейна-Йенсена і Фіна-2. Оцінку результатів світлової бактеріоскопії та результатів культурального дослідження харкотиння та операційного матеріалу проводили згідно Наказу № 45 МОЗ України [7]. Ріст культури на живильному середовищі умовно оцінювали за шкалою від 0 до 4+ [4], при цьому враховували кількість колоній МБТ, що зростали на середовищі за певний проміжок часу. Визначення наявності мікобактерій туберкульозу проводилось у 100 полях зору (п/зору). Гістологічне дослідження операційного матеріалу проводили наступним чином: матеріал кожного випадку включав 3–5 фрагментів легеневої тканини з візуально максимально представленим ураженням, потім шматочки легень проводили по розчинам спиртів висхідних концентрацій (від 50 °С до абсолютного спирту), заливали їх в парафінові блоки, з яких готували гістологічні зрізи товщиною 5–7 мкм, далі гістологічні зрізи тканин забарвлювали традиційним методом гематоксиліном-еозином [6]. В усіх випадках гістологічно була підтверджена наявність специфічного туберкульозного запального процесу та визначений морфологічний ступінь його активності.

Гістологічні препарати вивчали з використанням мікроскопів Olympus CX21. Математична обробка виконувалася з використанням ліцензійних програмних продуктів, що входять до пакету Microsoft Office Professional 2000 (ліцензія Russian Academic OPEN No Level № 17016297).

Результати та їх обговорення

Загальні відомості про хворих, які увійшли в групу дослідження, наведені в табл. 1.

Звертає увагу, що хірургічне лікування було надане людям молодого, працездатного віку і яке пов'язане з тривалим, вже хронічного характеру, несприятливим перебігом захворювання.

При морфологічному аналізі гістологічних препаратів з метою оцінки ступеня активності специфічного

Таблиця 1

Деякі клінічні дані щодо групи хворих на ФКТ

Показник	Стать пацієнтів		Загальний показник
	чоловіки	жінки	
кількість хворих	25 (54,4 %)	21 (45,6 %)	46
середній вік	31,12±2,34	25,14±1,68	28,39±1,48
Характер оперативних втручань			
пульмонектомія	11	12	23 (50,0 %)
резекція верхньої або нижньої частки легені	13	8	21 (45,6 %)
комбінована резекція (2 частки або декілька)	1	1	2 (4,4 %)

запального процесу застосовували розповсюджену спрощену 3-ступеневу градацію активності, а саме: 1 — низький ступінь активності, 2 — помірний ступінь активності та 3 — високий ступінь активності [5].

При гістологічному визначенні ступеня активності туберкульозного запального процесу в легеневій тканині враховували наступні критерії: виразність ексудативно-некротичних проявів, ступінь зрілості капсули каверни, виразність специфічного запального процесу в стінці каверни, виразність ексудативного компоненту поза каверною, специфічної та неспецифічної запально-клітинної інфільтрації, наявності лімфонодулів та виразності формування фіброзних тяжів в перикавітарних зонах.

При морфологічно високому ступені активності туберкульозного запального процесу типовим спостереженням були каверни, які мали 2-3 шарову капсулу та були виповнені некротичними масами, можливо, з домішками "свіжих" некробіотичних мас. Останні зазвичай були оточені молодією грануляційною тканиною, в якій спостерігались явища як специфічного, так і неспецифічного запального процесу (в інфільтраті переважали епітеліоїдні клітини у супроводі великої кількості малих лімфоцитів та багатоядерних макрофагів типу Пирогова-Лангханса). Зовнішній фіброзний шар стінки каверни слабо розвинутий або взагалі відсутній. В перикавітарній зоні спостерігались явища виразної внутрішньоальвеолярної ексудації, утворення гострих пневмонічних каверн. Серед осередкових та у вигляді тяжів розростають грубоволокнистої сполучної тканини визначалася досить велика кількість типових туберкульозних гранулом з центральним некрозом та лімфоїдноклітинних скупчень.

При морфологічно помірному ступені активності специфічного запального процесу найчастіше визначалася сформована 3-и шарова каверна, з добре оформленим шаром зрілої грануляційної тканини, в якому визначалися поодинокі епітеліоїдноклітинні гранульоми з ознаками їх інкапсуляції грубими, переважно колагеновими, волокнами сполучної тканини. Зовнішній, фіброзний шар каверни був представлений зрілими клітинними формами — фіброцитами, з домішкою незначної кількості лімфоцитів та макрофагів. В перикавітарній зоні визначалися численні поля фіброзу з невеликою кількістю "замурованих" серед сполучної тканини епітеліоїдноклітинних гранулом, з присутністю багатоядерних клітин Пирогова-Лангханса. В осередках фіброзу спостерігалась велика кількість лімфонодулів.

При морфологічно низькому ступені активності специфічного запального процесу визначалася 1-2-х шарова стінка каверни, практично без наявності внутрішніх казеозних мас. Спостерігались явища епітелізації внутрішнього шару каверни. Капсула каверни була сформована переважно зрілою сполучною тканиною, без ознак специфічного запального процесу. В перикавітарній зоні визначалися нечисленні інволютивні специфічні гранульоми, які були представлені переважно скупченнями макрофагів та численних фіброblastів. Осередки фіброзу були сформовані грубоволокнистою сполучною тканиною, в яких визначалися невеликі лімфонодулі.

За результатами гістологічного дослідження хворі були розподілені, згідно визначеного ступеня активності специфічного запального процесу, на 3 групи: з високим ступенем активності (15 хворих, 32,6 %), з помірним (17 хворих, 36,9 %) та з низьким ступенем активності (14 хворих, 30,4 %).

Результати бактеріологічного дослідження харкотиння та операційного матеріалу у зіставленні з морфологічно визначеною активністю специфічного запалення для кожного хворого представлені в табл. 2.

Статистична обробка отриманих кількісних даних з метою визначення можливих кореляцій між морфологічно встановленим ступенем активності туберкульозного запального процесу та результатами власне мікробіологічного дослідження клінічного матеріалу від хворих (мокротиння та операційного матеріалу) проводилась з використанням непараметричних методів аналізу, а саме методу рангової кореляції Кендала та критерію χ^2 [3].

Проведена перевірка наявності зв'язку між встановленим рівнем морфологічної активності туберкульозного процесу в операційному матеріалі хворих на ФКТ та результатами мікробіологічного дослідження посіву цього ж операційного матеріалу. За методом рангової кореляції Кендала значення отриманого коефіцієнту складало 0,375 при розмірі вибірки $n=32$, що відповідає рівню значущості $\alpha=0,01$ і свідчить про високий рівень вірогідності виявленого зв'язку.

Окрім цього, проаналізована залежність між морфологічно визначеними різними рівнями гістологічної активності в операційному матеріалі хворих на ФКТ від інтенсивності росту МБТ в посівах мокротиння. Розрахункове значення коефіцієнту Кендала становило 0,571428 при рівні значущості $\alpha=0,01$ і розмірі вибірки $n=36$ (з урахуванням 11 випадків, коли при посіві мокротиння був отриманий від'ємний результат, тобто росту МБТ не було отримано). Це свідчить про наявність вірогідно більш сильного зв'язку між гістологічними градаціями ступеня активності запалення та мікробіологічним визначенням кількості зрослих колоній МБТ власне з харкотиння таких хворих.

Додатково було запропоновано виразити в частках (відсотках) кількість випадків з різними проявами мікробіологічної картини кількісного росту колоній МБТ з посівів мокротиння та випадків з різними ступенями гістологічної градації активності туберкульозного запального процесу у цих же хворих з ФКТ. Це дозволило провести порівняння отриманих значень (у відсотках) та виявити наявність чи відсутність достовірних відмінностей за t -критерієм між кількістю випадків з певними

Таблиця 2

**Зведені показники активності туберкульозного запалення у хворих на ФКТ
(за гістологічним та мікробіологічним дослідженням)**

Результати визначення гістологічної активності туберкульозного запального процесу	Результати бактеріологічного дослідження зразків матеріалу		
	Мокротиння		Операційний матеріал
	світлова бактеріоскопія*	посів**	посів**
1	2	3	4
Висока активність специфічного запалення (n=15)	0	—	—
	0	4+	3+
	1-9 в препараті	0	1-19 колоній
	0	—	4+
	1-9 в препараті	1-19 колоній	4+
	0	3+	3+
	0	1+	1+
	1-9 в препараті	1-19 колоній	4+
	1-9 в препараті	4+	4+
	—	4+	4+
	—	4+	4+
	1-9 в препараті	4+	2+
	—	4+	1+
	—	1-19 колоній	1+
	2+	—	4+
Помірна активність специфічного запалення (n=17)	0	1-19 колоній	3+
	1-9 в препараті	—	2+
	—	—	3+
	0	4+	1-1 колоній
	1-9 в препараті	3+	—
	—	1-19 колоній	3+
	—	2+	—
	1-9 в препараті	—	4+
	—	—	4+
	0	—	0
	—	—	0
	—	4+	0
	—	0	—
	—	—	—
	—	2+	1-19 колоній
1-9 в препараті	—	—	
—	3+	—	
1-9 в препараті	—	2+	

мікробіологічними градаціями в оцінці результатів посівів та гістологічно визначеними ступенями активності туберкульозного процесу. З'ясувалося, що існує вірогід-

	1	2	3	4
Низька активність специфічного запалення (n=14)	—	—	0	0
	0	0	0	0
	1-9 в препараті	—	2+	3+
	0	0	0	—
	1-9 в препараті	—	4+	1+
	—	0	0	—
	0	0	0	—
	0	—	—	—
	0	0	0	0
	—	0	0	—
	0	0	3+	3+
	0	—	1-19 колоній	—
	0	—	1-19 колоній	0
	0	—	1-19 колоній	0

Примітки: 1. * — оцінка результатів бактеріоскопічного дослідження: — — бактеріологічне дослідження не проводили, 0 — негативний результат (КСП не виявлені на 300 п/зору), 2+ — 1-10 КСП у п/зору в 50 п/зору;

2. ** — оцінка результатів культурального дослідження: — культуральне дослідження не проводили, 0 — ріст культури відсутній, 1-19 колоній — ріст поодиноких колоній МБТ, 1+ — ріст 20-100 колоній МБТ

2+ — ріст 100-200 колоній МБТ, 3+ — ріст 200-500 колоній МБТ

4+ — більше 500 колоній МБТ,

на різниця в кількості отриманих від'ємних результатів посівів у хворих з низьким та високим ступенями активності за гістологічною верифікацією: $(58,3 \pm 14,2) \%$ проти $(7,7 \pm 7,4) \%$ ($p < 0,05$). Тобто, у хворих із морфологічно низьким ступенем активності специфічного запалення вірогідно частіше отримують від'ємний результат посіву харкотиння, ніж у хворих з активним туберкульозом. Для випадків з морфологічно помірним ступенем активності подібна залежність не встановлена.

Подібний висновок отриманий і при аналізі мікробіологічного дослідження посівів харкотиння з отриманим результатом найінтенсивнішого росту колоній МБТ (4+) у зіставленні з різними рівнями гістологічно визначеного ступеня активності туберкульозного запалення за операційним матеріалом. Встановлено, що існує вірогідна різниця у кількості визначених випадків з максимальним ростом колоній та морфологічно низьким і високим ступенями активності туберкульозного процесу в операційному матеріалі — при морфологічно низькому ступені активності такі результати мікробіологічного дослідження зустрічаються вкрай рідко (8,3 %), і навпаки, при визначенні високого ступеня активності вони сягають 46,2 % (7 випадків з 15) за нашими даними (див. табл. 2).

При визначенні відмінностей між кількістю випадків з максимальною інтенсивністю росту МБТ (4+) в операційному матеріалі та кількістю випадків з морфологічно різними ступенями активності туберкульозного процесу з'ясовано, що дійсно існує вірогідна кількісна різниця для низького та помірного ступенів активності у порів-

нянні з кількістю випадків високої активності ($p < 0,05$). А саме, в жодному випадку морфологічно низького ступеня активності запального процесу не отримали такого результату мікробіологічного дослідження; при помірному ступені такий результат отриманий тільки в 8,3 % випадків, тоді як при високому ступені активності зазначений результат отримали в 40,0 % випадків.

Висновки

Аналіз отриманих даних показує, що за сукупністю результатів мікробіологічного та гістологічного досліджень окремих випадків ФКТ легень з різними ступенями активності специфічного запального процесу досить легко визначити або підтвердити високий та низький ступені активності специфічного туберкульозного процесу, які клінічно трактують як стадії активного туберкульозу із бациловиділенням та стадію загострення, без бациловиділення. Найбільші труднощі виникають при морфологічному визначенні помірному ступеня активності запалення за гістологічними даними, коли при мікробіологічному дослідженні можуть бути отримані досить різні результати інтенсивності росту колоній МБТ або навіть від'ємні результати. Тим не менш визначення хоча б за гістологічними градаціями цього ступеня активності запального процесу (а клінічно — це має відповідати стадії стабілізації специфічного процесу) має суттєве значення для адекватної оцінки та корекції, за необхідністю, призначеного режиму хіміотерапії в різні фази лікування.

ЛІТЕРАТУРА

1. Ариэль, Б. М. Морфологические особенности фиброзно-кавернозного туберкулеза на операционном материале [Текст] / Б. М. Ариэль [и др.] // Арх. патологии — 2004. — № 1. — С. 14–18.
2. Журило, О. А. Сучасні морфологічні та мікробіологічні особливості туберкульозу легень, який потребує хірургічного лікування [Текст] / О. А. Журило, І. В. Ліска, А. І. Барбова // Інфекційні хвороби — 2009. — № 1. — С. 50–55.
3. Лапач, С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel [Текст] / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич. — 2-е изд., перераб. и доп. — К.: Морион, 2001. — 408 с.
4. Ліпкан, Г. М. Лабораторна діагностика туберкульозу та контроль за якістю бактеріоскопічних досліджень [Текст] / Г. М. Ліпкан [та ін.]. — К.: Медицина, 2006. — 128 с.
5. Ліска, І. В. Гістологічна діагностика ступеня активності туберкульозного запального процесу при фіброзно-кавернозному туберкульозі легень в операційному матеріалі [Текст] : інформаційний лист / І. В. Ліска [та ін.] ; ДУ "Національний інститут фізіатрії і пульмонології імені Ф. Г. Яновського АМН України". — Київ, 2009.
6. Меркулов, Г. А. Курс патогистологической техники [Текст] / Г. А. Меркулов. — Москва: Медгиз, 1986. — 342 с. : ил.
7. Наказ МОЗ України № 45 від 06.02.2002 Про затвердження інструкції з бактеріологічної діагностики туберкульозної інфекції.
8. Стандарт надання медичної допомоги хворим на хіміорезистентний туберкульоз [Текст]: [Наказ МОЗ України від 22.10.08 № 600]. — Розробники: Ю. І. Феценко [та ін.] .
9. Суркова, Л. К. Остропрогрессирующий туберкулез легких: морфологические и бактериологические особенности [Текст] / Л. К.

Суркова, М. И. Дюсьмикеева // Проблемы туберкулеза — 2003. — № 3. — С. 31 — 35.

10. Україна. Протокол надання медичної допомоги хворим на туберкульоз [Текст] : [Наказ МОЗ України від 09.06.06 № 384]. — Розробники: Ю. І. Феценко [та ін.] .
11. Феценко, Ю. І. Організація лікування хворих на туберкульоз [Текст] / Ю. І. Феценко, В. М. Мельник. — К. : Здоров'я, 2009. — 488 с. — ISBN 978-966-463-025-9.
12. Феценко, Ю. І. Сучасні погляди на епідситуацію з туберкульозу в Україні [Текст] / Ю. І. Феценко, В. М. Мельник // Укр. пульмонолог. журн. — 2000. — № 2. — С. 75 — 80.
13. Яценко, Б. П. Актуальные вопросы туберкулеза органов дыхания [Текст] / Б. П. Яценко — К. : Вища школа. Головне вид-во, 1980. — Яз. Рус. — 312 с.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ МЕЖДУ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ СТЕПЕНЬЮ АКТИВНОСТИ СПЕЦИФИЧЕСКОГО ВОСПАЛЕНИЯ И РЕЗУЛЬТАТАМИ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА У БОЛЬНЫХ ФИБРОЗНО-КАВЕРНОЗНЫМ ТУБЕРКУЛЕЗОМ ЛЕГКИХ С ХИРУРГИЧЕСКИМ ВМЕШАТЕЛЬСТВОМ

И. В. Лискина, С. Д. Кузовкова, Л. М. Загаба, А. И. Барбова, В. В. Куц

Резюме

В результате проведенного исследования установлено наличие корреляционной связи между результатами микробиологического и гистологического исследований биологического материала больных ФКТ. Анализ методом ранговой корреляции Кендала возможной связи между разными морфологически установленными степенями активности специфического воспалительного процесса в легочной ткани больных ФКТ и интенсивностью роста МБТ в посевах мокроты выявил статистически достоверную связь между этими параметрами ($0,571428, p \leq 0,01$). Дополнительно установлено достоверное различие в количестве получаемых отрицательных результатов посевов мокроты на выявление МБТ у больных с низким и высоким степеням активности по гистологической верификации: ($58,3 \pm 14,2$) % против ($7,7 \pm 7,4$) % ($p < 0,05$).

DETERMINATION OF CORRELATION BETWEEN MORPHOLOGICAL DEGREE OF SPECIFIC INFLAMMATION AND RESULTS OF MICROBIOLOGICAL TESTING OF BIOLOGICAL SPECIMENS FROM PATIENTS WITH FIBROCAVERNOUS PULMONARY TUBERCULOSIS, REQUIRING SURGERY

I. V. Liskina, S. D. Kuzovkova, L. M. Zagaba, A. I. Barbova, V. V. Kuts

Summary

The correlation between the results of microbiological and histological examinations of biological specimens from patients with fibro-cavernous tuberculosis has been revealed. Using Kendall's rank correlation analysis we determined a statistically significant correlation between morphologically defined degrees of specific inflammatory process in lung tissues and the intensity of mycobacteria tuberculosis growth in sputum cultures ($0,571428, p \leq 0,01$). Additionally it was demonstrated a significant difference in number of culture-negative results in patients from groups with mild and severe grades of activity of a disease according to histological verification: ($58,3 \pm 14,2$)% vs ($7,7 \pm 7,4$)% ($p < 0,05$).