УДК 616.8.009.6:582.28:576.8.097.2:612.014:612.017.1:616-002.5

А.Є. Богомолов, С.В. Зайков
Вінницький національний медичний університет імені М.І. Пирогова

Можливості використання шкірного тестування з умовно-патогенними грибами для оцінки функціонального стану клітинної ланки імунної системи у хворих на туберкульоз

Мета роботи — удосконалити діагностику порушень клітинної ланки імунітету у хворих на туберкульоз шляхом внутрішньошкірного мультитестування з антигенами умовно-патогенних грибів *Alternaria alternata, Cladosporium sp., Monilia sitophila, Chrysonilia sitophila, Botrytis cinerea, Aspergillus mixt* (*A. fumigatus, A. niger*), *Penicillum sp.* та туберкуліном.

Матеріали та методи. Використовували клініко-анамнестичний, фізикальний, рентгенологічний (оглядова рентгенографія у двох проекціях, томографія на оптимальних зрізах), лабораторні (гемограма, мікроскопічне та культуральне дослідження мокротиння на мікобактерії туберкульозу, визначення чутливості їх до антимікобактеріальних препаратів), імунологічні (імунологічний анамнез, шкірне тестування, реакція інгібіції міграції лейкоцитів з антигенними комплексами умовно-патогенних грибів та туберкуліном), інструментальні (електрокардіографія, визначення функції зовнішнього дихання, фібробронхоскопія) та статистичні методи дослідження.

Результати та обговорення. Результати тестування з антигенами умовно-патогенних грибів корелюють із виразністю інтоксикаційного та бронхопульмонального синдромів, реакції інгібіції міграції лейкоцитів (коефіцієнт Спірмена від 0,55 до 0,63, кореляція обернено пропорційна) та даними показників гемограми (значення коефіцієнта Спірмена від 0,50 до 0,65).

Висновки. Стандартний курс хіміотерапії поліпшує стан клітинної ланки імунної системи. Різницю між станом клітинного імунітету хворих на туберкульоз та практично здорових осіб найвірогідніше відображають антигени *Alternaria alternata, Penicillum sp., Chrysonilia sitophila, Monilia sitophila*.

Ключові слова

Туберкульоз легень, антигени умовно-патогенних грибів, клітинна ланка імунної системи.

У розвитку туберкульозного запалення велику роль відіграють імунопатологічні процеси, а стан імунної системи організму є однією із причин уповільненої регресії специфічних змін та збереження морфологічної активності туберкульозного процесу [3, 4]. При цьому антимікобактеріальна терапія при туберкульозі не стимулює захисні сили організму і не може в усіх випадках зумовити повне одужання хворих. Тому у значної частини з них відбувається поглиблення вторинного імунодефіцитного стану. Виходячи з особливостей патогенезу туберкульозу, найбільше зниження показників стосується клітинної ланки імунітету [2, 3]. Такий стан зумовлює погіршення клінічної картини захворювання, сприяє хронізації патологічного процесу, виникненню резистентності мікобактерій туберкульозу до антимікобактеріальних препаратів [5], що призводить до подальшого зростання кількості хворих на туберкульоз і розповсюдження епідемії цього захворювання.

© А.Є. Богомолов, С.В. Зайков, 2012

Однак подібний вторинний набутий імунодефіцитний стан у практичних умовах протитуберкульозних закладів діагностується вкрай рідко, що пов'язано з кількома причинами. Так, сучасні можливості імунології та потужний технологічний прогрес у світі зумовили присутність в Україні кількох мереж імунологічних лабораторій європейського рівня та розвиток лабораторної бази державних лікувальних та наукових установ охорони здоров'я. Проте однією з найбільш вагомих причин недоступності імунодіагностики залишається вартість визначення лабораторних показників стану імунної системи, яка на даний момент є достатньо високою.

Саме тому метою нашого дослідження було удосконалити діагностику порушень клітинної ланки імунітету у хворих на туберкульоз шляхом застосування внутрішньошкірного мультитестування з антигенами умовно-патогенних грибів *Alternaria alternata, Cladosporium sp., Monilia sitophila, Chrysonilia sitophila, Botrytis cinerea, Aspergillus mixt* (*A. fumigatus, A. niger*), *Penicillum sp.* та туберкуліном.

Матеріали та методи

Нами було обстежено 120 хворих на туберкульоз та 40 здорових волонтерів. До числа обстежуваних хворих увійшли дорослі пацієнти віком 18—60 років з різними формами (вогнищевою, інфільтративною, дисемінованою та фіброзно-кавернозною) і типами (вперше діагностований — ВДТБ, рецидив — РТБ, хронічний — ХТБ) туберкульозного процесу в легенях. Згідно з дизайном дослідження пацієнтів групи спостереження було розподілено на 3 підгрупи за типом туберкульозного процесу. Так, до підгрупи А увійшло 40 осіб з ВДТБ, до підгрупи В — 40 осіб з РТБ, до підгрупи С — 40 осіб з ХТБ. До контрольної, або групи порівняння, увійшли 40 здорових добровольців віком 20—41 рік. До групи спостереження увійшли 103 чоловіки (85,8 %) та 17 (14,2 %) жінок, середній вік яких становив (37,2 ± 6,8) року. Групу порівняння (32 чоловіки, або 80,0%, та 8 жінок, або 20,0%) склали особи із середнім віком (31,2 ± 4,6) року.

У подальшому всім пацієнтам було виконане тестування з вказаними вище антигенами умовно-патогенних грибів та проба Манту з 2 ТО туберкуліну ППД-Л з паралельним виконанням реакції інгібіції міграції лейкоцитів (РІМЛ) до кожного з антигенів грибів та туберкуліну. Внутрішньошкірні тести та РІМЛ проводили після надходження пацієнта до стаціонару та отримання результатів лабораторних та інструментальних досліджень з наступною їх інтерпретацією, тобто на 7—10-й день знаходження хворого у стаціонарі та через 90 діб лікування стандартною схемою хіміотерапії.

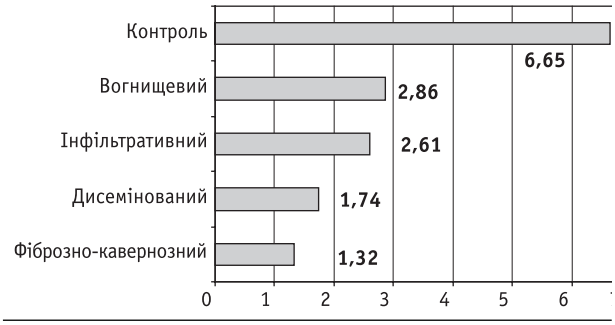

Рис. 1. **Середня кількість позитивних реакцій гіперчутливості у хворих на різні форми туберкульозу легень та у пацієнтів групи порівняння**

Результати та обговорення

Аналіз результатів тестування з антигенами умовно-патогенних грибів показав, що в цілому середня кількість позитивних тестів на одного пацієнта з ВДТБ склала (2,95 ± 0,90) тесту до лікування та (4,5 ± 1,1) тесту після 90 діб перебування в стаціонарі. В підгрупі пацієнтів з РТБ результати склали (2,65 ± 0,53) тесту на одного пацієнта до лікування та (3,87 ± 0,62) тесту після нього, а серед пацієнтів з ХТБ — (0,60 ± 0,33) тесту на одного пацієнта до лікування та (1,1 ± 0,62) тесту при повторному обстеженні. В групі здорових осіб аналогічні результати склали (6,65 ± 0,56) тесту на одного обстежуваного. Така суттєва різниця ($p < 0,01$) у результатах шкірного тестування між хворими на туберкульоз та здоровими особами й зумовила можливість використання тестів з антигенами умовно-патогенних грибів для оцінки функціонального стану клітинної ланки імунітету у пацієнтів протитуберкульозних закладів.

Для оцінки причини майже однакових результатів тестування в цілому між групами осіб з ВДТБ та РТБ ((2,95 ± 0,90) тести і (2,65 ± 0,53) тести відповідно) нами був проведений аналіз тестування хворих за різними формами патологічного процесу в легенях (рис. 1).

При цьому найбільша кількість позитивних тестів була в контрольній групі — (6,65 ± 0,56) тесту, найменша — в підгрупі осіб з фіброзно-кавернозним туберкульозом — (1,32 ± 0,15) тесту. Результати тестування за іншими формами туберкульозу розподілилися таким чином: дисемінований — (1,74 ± 0,51) тесту; інфільтративний — (2,61 ± 0,76) тесту; вогнищевий — (2,86 ± 0,61) тесту. Отже, при обмежених формах туберкульозу у хворих, за нашими даними, не було виявлено виражених порушень імунітету, оскільки в таких

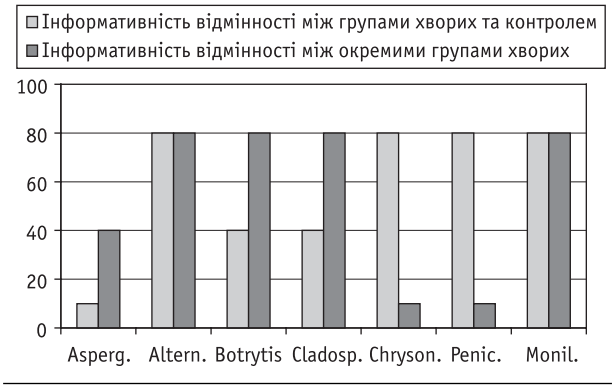

Рис. 2. **Порівняльний аналіз інформативності окремих мітогенів**

випадках при продуктивному типу запалення переважає гіперчутливість сповільненого типу (ГСТ) з достатньо високою чутливістю шкіри до мітогенів, до яких належать і антигени умовно-патогенних грибів. Таким чином, у таких хворих незначне пригнічення клітинного імунітету підтверджується достовірно більшою середньою кількістю реакцій гіперчутливості до умовно-патогенних грибів.

При розповсюджених формах туберкульозу з деструкцією легеневої паренхіми різко виражена ГСТ сприяє формуванню ексудативного компонента запалення з розвитком казеозного некрозу та його розплавленням. Унаслідок порушень імунітету (за різким індукуванням ГСТ відбувається її пригнічення) у хворих спостерігається зменшення діаметра позитивних туберкулінових проб та зниження кількості реакцій гіперчутливості до умовно-патогенних грибів. У подальшому при порівняльному аналізі даних тестування з окремими антигенами умовно-патогенних грибів у різних підгрупах обстежуваних можна було зробити висновок, що найбільш достовірно різницю між досліджуваними підгрупами та контрольною групою відображали антигени *Alternaria sp., Penicillum sp., Chrysonilia sitophila, Monilia sitophila*, що дає змогу зменшити кількість шкірних тестів при обстеженні хворих на туберкульоз. Більш наглядно порівняльний аналіз інформативності окремих мітогенів представлено на рис. 2.

Окрім того, з метою підтвердження інформативності шкірних тестів з антигенами умовно-патогенних грибів для визначення функціонального стану клітинної ланки імунної системи нами було проаналізовано результати проведення РІМЛ з туберкуліном та грибковими антигенами. Виявлено, що результати РІМЛ корелюють з результатами шкірних проб з умовно-патогенними грибами, причому ступінь кореляційного зв'язку коливається від слабкого до сильного залежно від типу туберкульозного процесу та виду антигену. Так, у підгрупі А для грибів *Alternaria alternata, Chrysonilia sitophila, Monililia sitophila, Aspergillus mixt* (*A. fumigatus, A. niger*), *Cladosporium sp.* та туберкуліну ступінь сили зв'язку був помірним, для грибів *Penicillum sp. div.* та *Botrytis cinerea* ступінь зв'язку виявився слабким. У групі порівняння для грибів *Botrytis cinerea, Chrysonilia sitophila, Monilia sitophila, Aspergillus mixt* (*A. fumigatus, A. niger*), *Cladosporium sp.* та туберкуліну ступінь сили зв'язку був помірним (значення коефіцієнта рангової кореляції Спірмена склали 0,50—0,62), а для грибів *Penicillum sp.* та *Alternaria alternate* ступінь зв'язку виявився слабким. Отримані дані свідчать про недоцільність використання антигенів *Penicillum sp.* та *Botrytis cinerea* як методу оцінки стану клітинної ланки імунітету у хворих на ВДТБ, антигенів *Penicillum sp.* та *Alternaria alternata* у здорових осіб, антигену *Penicillum sp.* у осіб з РТБ, оскільки ступінь сили кореляційного зв'язку між ними та РІМЛ з відповідними антигенами є слабким, а отже, результати тестування можуть бути недостатньо достовірними відносно даних груп пацієнтів.

Оскільки ми вивчали зміни стану гіперчутливості до антигенів умовно-патогенних грибів серед хворих на туберкульоз під час їх лікування, то цілком логічно було визначити кореляційний зв'язок між динамікою картини захворювання (вираженість інтоксикаційного і бронхопульмонального синдромів, показники гемограми) та результатами шкірного тестування. Так, при порівняльному аналізі даних вираженості зазначених синдромів у динаміці виявлено, що в цілому пацієнти з ВДТБ мали найменшу вираженість базових клінічних синдромів та найкращу динаміку зменшення ступеня цих синдромів під впливом стандартизованої антимікобактеріальної терапії. При цьому пацієнти з ХТБ мали істотно ($p < 0,01$) більш виражений інтоксикаційний та бронхопульмональний синдроми як до лікування, так і через 90 діб після його проведення. Пацієнти всіх трьох підгруп реагували на лікування зменшенням скарг вказаних вище синдромів, що свідчило про поліпшення клінічної картини в кожному з випадків та проявлялося зменшенням долі пацієнтів з вираженими скаргами та збільшенням кількості пацієнтів зі слабковираженими скаргами. В цілому краща динаміка після лікування спостерігалася в підгрупах пацієнтів з ВДТБ та РТБ, гірша — пацієнтів з ХТБ, що було не випадковим, враховуючи особливості перебігу хронічного туберкульозу. В подальшому за допомогою

методів непараметричної статистики визначено, що між ступенем вираженості інтоксикаційного синдрому в осіб з туберкульозом легень та результатами тестування з антигенами умовно-патогенних грибів існує кореляційний зв'язок середньої сили (r = –0,57—0,63 при первинному обстеженні та r = –0,61—0,65 при повторному). Між ступенем вираженості бронхопульмонального синдрому у пацієнтів підгруп групи спостереження та результатами тестування антигенами умовно-патогенних грибів теж існує кореляційний зв'язок середньої сили (r = –0,51—0,55 при первинному обстеженні та r = 0,55—0,56 при повторному).

Серед клініко-лабораторних даних, що характеризують динаміку туберкульозного процесу, важливе значення також мають і показники гемограми пацієнтів, які при туберкульозі достатньо достовірно характеризують вираженість запального процесу в організмі хворих і, крім того, дають змогу оцінити стан імунної системи пацієнтів [1]. Так, до призначення лікування у хворих групи спостереження були виявлені зміни показників периферичної крові, які були достатньо характерними для цього захворювання і свідчили про наявність активного запального процесу [4]. При поступленні в стаціонар у 55,0 % хворих з ВДТБ відмічався лейкоцитоз $(11,46 \pm 0,32) \times 10^9$/л. Серед пацієнтів з РТБ він був у 70,0 % хворих із середнім показником кількості лейкоцитів $(10,83 \pm 0,28) \times 10^9$/л, а серед осіб з ХТБ — у 60,0 % пацієнтів $(10,25 \pm 0,29) \times$ $\times 10^9$/л. Після 90 діб лікування кількість хворих з нормальними показниками кількості лейкоцитів у гемограмі у підгрупі пацієнтів з ВДТБ збільшилася до 67,5 %, лейкоцитоз $(9,23 \pm 0,25) \times$ $\times 10^9$/л відповідно спостерігався у 32,5 % осіб з даної підгрупи. У підгрупі пацієнтів з РТБ вже у 57,5 % осіб відмічалися нормальні показники лейкоцитів крові, а лейкоцитоз $(9,38 \pm 0,27) \times 10^9$/л ще мав місце у 42,5 % хворих з цієї підгрупи. Половина пацієнтів з ХТБ мали нормальну кількість лейкоцитів після 90 діб лікування, а лейкоцитоз $(9,52 \pm 0,29) \times 10^9$/л відповідно спостерігався у іншої половини осіб з цієї підгрупи. Природно, що на тлі цих даних середній рівень лейкоцитів у гемограмі хворих на ВДТБ змінився за 90 діб з $(9,13 \pm 0,48) \times 10^9$/л до $(7,82 \pm 0,51) \times$ $\times 10^9$/л, хворих на РТБ — з $(9,78 \pm 0,37) \times 10^9$/л до $(7,52 \pm 0,43) \times 10^9$/л, а хворих на ХТБ — з $(9,93 \pm 0,37) \times 10^9$/л до $(8,62 \pm 0,43) \times 10^9$/л.

Безумовно, з точки зору стану імунної системи пацієнтів із загальнолабораторних аналізів нас цікавила кількість лімфоцитів периферичної крові пацієнтів при первинному і повторному обстеженнях. Виявлено, що зниження кількості лімфоцитів при первинному обстеженні спостерігалось у 52,5 % пацієнтів з ВДТБ, 57,5 % пацієнтів з РТБ та 75,0 % пацієнтів з ХТБ. При цьому при повторному обстеженні в підгрупі пацієнтів з ВДТБ нормальні показники кількості лімфоцитів гемограми мали вже 61,0 % пацієнтів, у підгрупі з РТБ — 52,5 % пацієнтів, у підгрупі з ХТБ — 50,0 % пацієнтів.

Таким чином, показники гемограми пацієнтів з різними типами туберкульозного процесу свідчили, з одного боку, про наявність активного запалення в організмі, з іншого — про наявність непрямих ознак імунодефіцитного стану у пацієнтів. При цьому, незважаючи на активний туберкульозний процес, лейкоцитоз відмічався лише у 55,0 % хворих з ВДТБ, 70,0 % хворих з РТБ та 60,0 % хворих з ХТБ при поступленні до стаціонару, що теж може свідчити про певний ступінь імуносупресії пацієнтів. При цьому між показниками гемограми периферичної крові при первинному та повторному обстеженнях та результатами реакції ГСТ з антигенами умовно-патогенних грибів визначено кореляційний зв'язок середньої сили зі значеннями коефіцієнта кореляції Спірмена від 0,50 до 0,65.

Зважаючи на дані клінічного та лабораторного обстеження, найбільший ступінь недостатності клітинної ланки імунітету було відмічено у пацієнтів з ХТБ. Такий висновок підтверджувався даними РІМЛ з антигенами умовно-патогенних грибів, значною лейкопенією та лімфопенією та корелював з даними клінічного обстеження. В процесі лікування такі пацієнти мали позитивну динаміку, проте вона була недостатньою. Причинами подібного стану були важкість процесу в легенях (до групи ввійшли особи з дисемінованою та фіброзно-кавернозною формами туберкульозу), хронічний перебіг процесу та відсутність корекції імунного статусу. Хворі з ВДТБ та РТБ мали практично однакову картину важкості захворювання та розповсюдженості процесу, динаміки зниження клінічних проявів туберкульозу під впливом хіміотерапії, що лабораторно підтверджувалося відсутністю достовірної різниці показників РІМЛ у групах.

Отже, хворі усіх підгруп групи дослідження мали виражений в тому чи іншому ступені вторинний імунодефіцитний стан за клітинним типом, наявність якого підтверджувалася клінічними, лабораторними даними та результатами тестування з антигенами умовно-патогенних грибів. В результаті антимікобактеріальної терапії функціональний стан клітинної ланки імунітету за клініко-лабораторними даними та результатами шкірних тестів з грибковими антигенами покра-

щився, але не в усіх хворих, особливо з поширеними формами ВДТБ, РТБ та перш за все у пацієнтів з ХТБ, що зумовлює використання за показаннями імунокоригуючої терапії в протитуберкульозних закладах.

Отже, рекомендованими для діагностики функціонального стану клітинної ланки імунітету у хворих на туберкульоз, за нашими даними, є:

— при вперше виявленому туберкульозі легень — комплекс *Alternaria alternata, Cladosporium sp., Monililia sitophila, Chrysonilia sitophila, Botrytis cinerea, Aspergillus mixt* (*A. fumigatus, A. niger*);
— при рецидиві туберкульозу легень — комплекс *Alternaria alternata, Chrysonilia sitophila, Monilia sitophila, Aspergillus mixt* (*A. fumigatus, A. niger*), *Botrytis cinerea*;
— при хронічному туберкульозі легень — комплекс *Alternaria alternata, Chrysonilia sitophila, Monililia sitophila, Aspergillus mixt* (*A. fumigatus, A. niger*), *Botrytis cinerea*.

Висновки

Підсумовуючи результати проведених досліджень, можна констатувати, що пацієнти з різними типами туберкульозного процесу мають різного ступеня вираженості вторинний імунодефіцитний стан клітинного типу, що, скоріше всього, був індукований розвитком у цих пацієнтів туберкульозу легень. Запропоновані нами тести за допомогою внутрішньошкірного введення антигенних комплексів умовно-патогенних грибів, з одного боку, корелювали з важкістю клінічної картини туберкульозу, даними реакції інгібіції міграції лейкоцитів як високоспецифічного імунологічного лабораторного тесту, з іншого — дали нам змогу визначити інформативність тестування з кожним антигенним комплексом окремо. Отже, отримані нами результати дають змогу прискорити і спростити діагностику порушень функціонального стану клітинної ланки імунної системи та швидше вирішувати питання про доцільність призначення відповідним категоріям хворих разом з антимікобактеріальною терапією імуномодулювальних засобів.

Список літератури

1. Дранник Г.Н. Клиническая иммунология и аллергология.— М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2010.— 604 с.
2. Корж Е.В. и др. Состояние иммунной системы у больных туберкулезом легких в период эпидемии // Український пульмонологічний журнал.— 2004.— № 2.— С. 35—38.
3. Пликанчук О.В., Зайков С.В. Вплив імуномодулятора мурамілпептидного ряду на стан імунної системи хворих з вперше діагностованим деструктивним туберкульозом легень // Інфекційні хвороби (Тернопіль).— 2008.— № 1.— С. 49—51.
4. Туберкулёз: Руководство для врачей / Под ред. А.Г. Хоменко.— М.: Медицина, 1996.— 496 с.
5. Bondarchuk O.B., Pukhlik B.M., Bogomolov A.E. Hypersensitivity to micromycetes in practice of allergists and immunologists // Materials of international conference «XII Dni alergii pylkowej».— Krakiv, 2010.— C. 39—40.

А.Е. Богомолов, С.В. Зайков

Возможности использования кожного тестирования с условно-патогенными грибами для оценки функционального состояния клеточного звена иммунной системы у больных туберкулезом легких

Цель работы — усовершенствование диагностики нарушений клеточного звена иммунной системы у больных туберкулезом путем применения внутрикожного тестирования с антигенами условно-патогенных грибов *Alternaria alternata, Cladosporium sp., Monilia sitophila, Chrysonilia sitophila, Botrytis cinerea, Aspergillus mixt* (*A. fumigatus, A. niger*), *Penicillum sp.* и туберкулином.

Материалы и методы. Применяли клинико-анамнестический, физикальный, рентгенологический (обзорная рентгенография в двух проекциях, томография на оптимальних срезах), лабораторные (гемограмма, микроскопическое и культуральное исследование мокроты на микобактерии туберкулеза, определение чувствительности к антимикобактериальным препаратам), иммунологические (иммунологический анамнез, кожное тестирование, реакция ингибиции миграции лейкоцитов с антигенными комплексами условно-патогенных грибов и туберкулином), инструментальные (электрокардиография, определение функции внешнего дыхания, фибробронхоскопия) и статистические методы исследования.

Результаты и обсуждение. Результаты тестирования с антигенами условно-патогенных грибов коррелируют с выраженностью интоксикационного и бронхолегочного синдромов, реакции ингиби-

рования миграции лейкоцитов (коэффициент Спирмена от 0,55 до 0,63, корреляция обратно пропорциональная) и данными гемограммы (коэффициент Спирмена от 0,50 до 0,65).

Выводы. Стандартный курс химиотерапии улучшает состояние клеточного звена иммунной системы. Разницу между состоянием клеточного иммунитета больных туберкулезом и практически здоровых лиц наиболее достоверно отражают антигены *Alternaria alternata, Penicillum sp., Chrysonilia sitophila, Monilia sitophila.*

A.Ye. Bohomolov, S.V. Zaikov

The possibilities of implementation of skin test with opportunistic pathogenic fungi for evaluation of the functional state of the immune system in the tuberculosis patients

Objective: to improve diagnostics of the abnormalities of the cell-mediated immune system in the tuberculosis patients with the use of intradermal testing with the antigens of opportunistic pathogenic fungi, such as *Alternaria alternata*, *Cladosporium sp*., *Monilia sitophyla*, *Chrysonilia sitophila*, *Botrytis cinerea*, *Aspergillus mixt* (*A. fumigatus*, *A. niger*), *Penicillum sp*. and tuberculine.

Materials and methods. The study was carried out with the use of clinic-anamnestic, physical, X-ray (biplane X-ray, tomography), laboratory (complete blood count, sputum analysis with drug susceptibility), immunological (immunological anamnesis, skin testing, IML reaction), instrumental (electrocardiography, spirography, fibrobronchoscopy), statistical methods.

Results and discussion. The results of testing with the opportunistic pathogenic fungus antigens correlated with the intoxication and bronchopulmonary syndromes manifestation, leukocyte migration inhibition reaction (Spearman coefficient range between 0.55 and 0.63, inverse correlation) and blood count data (Spearman coefficient range between 0.50 and 0.65).

Conclusions. The standard chemotherapeutic course of treatment improves the condition of the cell-mediated immune system. The difference in the condition of the cell-mediated immunity in tuberculosis patients and almost healthy persons is sighnificantly reflected by such antigens as *Alternaria alternata*, *Penicillum sp*., *Chrysonilia sitophila*, *Monilia sitophila.*

Контактна інформація:

Зайков Сергій Вікторович, д. мед. н., проф. кафедри фтизіатрії з курсом клінічної імунології та алергології
21018, м. Вінниця, вул. Пирогова, 56
Тел. (0432) 56-66-43
E-mail: votd@mail.ru

Стаття надійшла до редакції 8 липня 2012 р.