© Коллектив авторов, 2017

DOI: 10.24110/0031-403X-2019-98-4-32-39
https://doi.org/10.24110/0031-403X-2019-98-4-32-39

А.Г. Волкова[1], А.С. Фролова[1], А.Н. Швецов[1], И.Ю. Николаев[2], В.Е. Карев[4], О.В. Паина[1], К.А. Екушев[1], П.В. Кожокарь[1], Е.В. Семенова[1], Л.С. Зубаровская[1], Н.Н. Климко[3], Б.В. Афанасьев[1]

ЗНАЧЕНИЕ БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОГО ЛАВАЖА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ПОРАЖЕНИЙ ЛЕГКИХ У ДЕТЕЙ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

[1]ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ; Клиника «НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой», [2]Отделение рентгеновской компьютерной томографии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, [3]ФГБОУ ВО «Северо-западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» МЗ РФ, [4]ФГБУ «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней ФМБА России» (ФГБУ ДНКЦИБ ФМБА России), г. Санкт-Петербург, РФ

Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) – эффективное диагностическое пособие для оценки легочных осложнений после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК). Однако единого мнения относительно использования бронхоскопии у гематологических пациентов из-за различия имеющихся данных о технике проведения, диагностической значимости и возможных осложнениях не существует. Особенно это касается реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) детского возраста, у которых диагностическая эффективность и безопасность проведения бронхоскопии вызывают особую степень настороженности. Целью нашего исследования было оценить безопасность и эффективность исследования жидкости БАЛ (ЖБАЛ) (n=223) для диагностики инфекционных поражений легких у 149 пациентов детского возраста после ТГСК. Значимых побочных явлений при проведении фибробронхоскопии (ФБС) не выявлено. Наибольшая диагностическая эффективность (89%, p<0,001) была достигнута при комплексном микробиологическом исследовании ЖБАЛ. Из 223 образцов ЖБАЛ, полученных у 149 реципиентов алло- и ауто-ГСК, в 60% (n=134) случаев выявили инфекционные патогены. Бактериальные микроорганизмы были выделены в 37% (n=84) образцов ЖБАЛ, среди которых преобладали *Klebsiella pneumoniae* (18%) и *Acinetobacter baumanii* (12%); вирусы – в 16% (n=35), чаще цитомегаловирус (50%); грибы – в 26% (n=59) и основными возбудителями инвазивных микозов легких были *Aspergillus spp.* (64%). Отмечен значительный уровень грибково-бактериальных ассоциаций – у 23 (10%) по сравнению с грибково-вирусными – у 5 (2,2%) и грибково-вирусно-бактериальными – у одного (0,4%) пациента, 95% ДИ (0,568–1,29 при значении 0,856) (p<0,001). При наличии адаптированного технического оснащения и квалифицированной операционной бригады ФБС с БАЛ является безопасным исследованием у детей с заболеваниями системы крови, включая реципиентов ГСК.

Ключевые слова: *онкогематологические заболевания, трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, бронхоальвеолярный лаваж, диагностика инфекционных поражений легких, дети.*

Цит.: *А.Г. Волкова, А.С. Фролова, А.Н. Швецов, И.Ю. Николаев, В.Е. Карев, О.В. Паина, К.А. Екушев, П.В. Кожокарь, Е.В. Семенова, Л.С. Зубаровская, Н.Н. Климко, Б.В. Афанасьев. Значение бронхоальвеолярного лаважа для диагностики инфекционных поражений легких у детей с онкогематологическими заболеваниями после трансплантации гемопоэтических стволовых клеток. Педиатрия. 2019; 98 (4): 32–39.*

Контактная информация:
Волкова Алиса Георгиевна **– к.м.н., врач педиатр, заведующая отделением восстановительной медицины Клиники НИИ ДОГиТ им. Р.М. Горбачевой ФГБОУ ВО «ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова» МЗ РФ**
Адрес: Россия, 197022, г. Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6–8
Тел.: (911) 919-01-36, E-mail: alisa-md@inbox.ru
Статья поступила 25.12.17, принята к печати 19.06.19.

Contact information:
Volkova Alisa Georgievna **– Ph.D., pediatrician, head of Restorative Medicine Department, clinic of R.M. Gorbacheva Scientific Research Institute of Pediatric Hematology and Transplantation, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University**
Address: Russia, 197022, St. Petersburg, Lva Tolstogo str., 6–8
Tel.: (911) 919-01-36, E-mail: alisa-md@inbox.ru
Received on Dec. 25, 2017, submitted for publication on Jun. 19, 2019.

A.G. Volkova[1], A.S. Frolova[1], A.N. Shvetsov[1], I.Yu. Nikolaev[2], V.E. Karev[4], A.V. Panina[1], K.A. Ekushev[1], P.V. Kozhokar[1], E.V. Semenova[1], L.S. Zubarovskaya[1], N.N. Klimko[3], B.V. Afanasyev[1]

BRONCHOALVEOLAR LAVAGE VALUE FOR DIAGNOSIS OF LUNGS INFECTIOUS LESIONS IN CHILDREN WITH ONCOHEMATOLOGICAL DISEASES AFTER HEMATOPOIETIC STEM CELLS TRANSPLANTATION

[1]Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, clinic of R.M. Gorbacheva Scientific Research Institute of Pediatric Hematology and Transplantation; [2]Department of X-ray computed tomography, Department of X-ray computed tomography; [3]North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, [4]Pediatric Scientific Clinical Center of Infectious Diseases, Federal Biomedical Agency of Russia, St. Petersburg, Russia

Bronchoalveolar lavage (BAL) is an effective diagnostic tool for assessing pulmonary complications after hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). However, there is no consensus regarding the use of bronchoscopy in hematological patients due to the difference in the available data on the technique of conduction, diagnostic significance and possible complications. This is especially true for recipients of hematopoietic stem cells (HSC) of childhood age, in which the diagnostic efficacy and safety of bronchoscopy cause special alertness. Objective of the research – to assess safety and efficacy of BAL fluid (BALF) test (n=223) for diagnosis of lungs infectious lesions in 149 pediatric patients after HSCT. Significant side effects during fibro-bronchoscopy (FBS) were not detected. The highest diagnostic efficacy (89%, p<0,001) was achieved with a complex microbiological study of BALF. Out of 223 BALF samples obtained from 149 recipients of allo- and auto-HSC, infectious pathogens were found in 60% (n=134) of cases. Bacterial microorganisms were isolated in 37% (n=84) of BALF samples, among which *Klebsiella pneumoniae* (18%) and *Acinetobacter baumanii* (12%) prevailed; viruses – in 16% (n=35), more often cytomegalovirus (50%); fungi — in 26% (n=59) and main causative agents of lungs invasive mycoses were *Aspergillus spp.* (64%). A significant level of fungal-bacterial associations was noted – in 23 (10%) compared with fungal-viral – in 5 (2,2%) and fungal-viral-bacterial – in one (0,4%) patient, 95% CI (0,568–1,29 with a value of 0,856) (p<0,001). With adapted technical equipment and qualified operating team, FBS with BAL is a safe study in children with blood system diseases, including HSCs recipients.

Keywords: *oncohematological diseases, hematopoietic stem cell transplantation, bronchoalveolar lavage, lung lesions, children.*

Quote: *A.G. Volkova, A.S. Frolova, A.N. Shvetsov, I.Yu. Nikolaev, V.E. Karev, A.V. Panina, K.A. Ekushev, P.V. Kozhokar, E.V. Semenova, L.S. Zubarovskaya, N.N. Klimko, B.V. Afanasyev. Bronchoalveolar lavage value for diagnosis of lungs infectious lesions in children with oncohematological diseases after hematopoietic stem cells transplantation. Pediatria. 2019; 98 (4): 32–39.*

Легочные осложнения встречаются у 25% реципиентов гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) детского возраста [1]. Инфекционная этиология является ведущей причиной поражения легких у детей после трансплантации ГСК (ТГСК) [2]. Несмотря на эмпирическую терапию, проводимую пациентам с подозрением на инфекционные поражения легких, задержка в установлении окончательного диагноза является отрицательным прогностическим фактором у пациентов, находящихся в состоянии дисрегуляции гуморального и клеточного звеньев иммунитета [3], в то время как своевременная диагностика инфекционных легочных осложнений у пациентов после ТГСК является одним из факторов, положительно влияющим на выживаемость пациентов [4]. Радиографические изменения легочной ткани у пациентов в посттрансплантационном периоде могут указывать на инфекционные и неинфекционные процессы, включая изменения, связанные с синдромом идиопатической пневмонии, облитерирующим бронхиолитом, посттрансплантационным лимфопролиферативным заболеванием, а также с токсическим поражением легких вследствие применения высокодозной полихимиотерапии [5]. Не вызывает сомнения связь между острой и хронической реакцией «трансплантат против хозяина» (РТПХ) при выполнении ТГСК от аллогенного донора (алло-ТГСК) и осложнениями со стороны легких [6].

В настоящее время исследование жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) является рутинным диагностическим методом раннего выявления инфекционных осложнений у иммунокомпрометированных пациентов с различными рентгенологическими изменениями в легочной ткани (диффузными, нодулярными) [7]. Однако диагностическая ценность комплексного исследования ЖБАЛ у реципиентов ГСК детского возраста варьирует в разных исследованиях от 29 до 68% [8, 9]. Некоторые авторы связывают снижение диагностических возможностей исследования ЖБАЛ с получаемой пациентами иммуносупрессивной терапией. Результаты исследования ЖБАЛ у пациентов с подозрением на инфекционное поражение легких также могут зависеть от сроков прове-

Таблица 1

Заболевания, лечение которых потребовало проведения ТГСК у наблюдаемых больных

Заболевание	Количество пациентов (n=149)
Острый миелоидный лейкоз	45
Острый лимфобластный лейкоз	56
Острый бифенотипический лейкоз	4
Хронический миелолейкоз	4
Миелодиспластический синдром	8
Лимфома Ходжкина	3
Неходжкинская лимфома	4
Апластическая анеми	6
Врожденные/наследственные заболевания (анемия Фанкони – 3, мукополисахаридоз типа I – 2, лейкодистрофия Краббе – 1, талассемия – 1, синдром Вискотта–Олдрича – 1)	8
Солидные опухоли (нейробластома – 7, медуллобластома – 2, саркома Юинга – 2)	11

дения бронхоскопии с момента развития легочных инфильтратов, по данным мультисрезовой компьютерной томографии (МСКТ) [10].

Имеющиеся сложности ранней диагностики инфекционного поражения легких у детей после ТГСК создали предпосылки для изучения эффективности и безопасности комплексного исследования ЖБАЛ в ранние сроки после появления легочных инфильтратов, по данным МСКТ, у реципиентов ГСК детского возраста, что и являлось целью нашего исследования.

Материалы и методы исследования

Мы провели проспективное исследование когорты пациентов в возрасте до 18 лет после алло-ТГСК и ауто-ТГСК, выполненных в клинике «НИИ детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой» Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университете им. акад. И.П. Павлова с 2009 по 2014 гг. Критерием включения пациентов в исследование была необходимость выполнения фибробронхоскопии (ФБС) с комплексным микробиологическим исследованием ЖБАЛ в связи с подозрением на инфекционный процесс в органах грудной клетки после проведенной ТГСК, по данным МСКТ, что являлось единственным показанием для диагностической ФБС с исследованием ЖБАЛ в посттрансплантационном периоде. Перед обследованием у всех родителей пациентов получали информированное согласие.

За исследуемый период детям и подросткам до 18 лет были проведены 600 ТГСК (396 алло- и 204 ауто-ТГСК). В настоящее исследование включены 149 пациентов – 94 мальчика и 55 девочек в возрасте от 8 мес до 18 лет (медиана возраста 12 лет) с выявленными изменениями в легких, по данным МСКТ органов грудной клетки. Наиболее частыми заболеваниями, послужившими показаниями для проведения ТГСК у наблюдаемых пациентов, были острый миелоидный (ОМЛ) и острый лимфобластный лейкозы (ОЛЛ) (n=105, 70%) (табл. 1).

Всего проанализировали 223 образца ЖБАЛ. При повышении температуры тела выше 38,5 ^{0}C без видимого очага инфекции пациенты получали первую линию эмпирической антибактериальной терапии. До проведения ФБС только 32 (21%) пациента получали эмпирическую противогрибковую терапию. Повторные исследования ЖБАЛ проведены у 48 (32%) пациентов. Кратность повторных ФБС составила от 2 до 6 исследований за период наблюдения. Показаниями для повторных ФБС были: отсутствие идентификации патогена при первичном микробиологическом исследовании ЖБАЛ, отрицательная динамика или появление новых зон поражения легких и необходимость исследования ЖБАЛ при отмене антимикробной терапии у пациентов с сохраняющимися изменениями в ткани легкого, по данным МСКТ.

Большинству больных провели алло-ТГСК от неродственного совместимого (52,7%) или родственного гаплоидентичного (26,7%) доноров (табл. 2). Для подготовки пациентов перед алло-ТГСК применяли миелоаблативные режимы кондиционирования (МАК) и режимы со сниженной интенсивностью доз/немие-лоаблативные режимы кондиционирования (РИК). Классический МАК включал бусульфан и циклофосфан в общепринятых дозах препаратов. Режим кондиционирования со сниженной токсичностью включал треосульфан и циклофосфан в миелоаблативных стандартных дозах препаратов. РИК использовали у 64,7% пациентов. Все РИК включали флударабин в комбинации с другими цитостатиками (мелфалан, бусульфан, треосульфан, циклофосфан).

Для профилактики РТПХ использовали комбинацию иммуносупрессивных препаратов на основе циклоспорина А или такролимуса. При проведении ТГСК от неродственного донора и родственного гаплоидентичного донора в режим подготовки включали антилимфоцитарный глобулин или посттрансплантационный циклофосфан.

Во время проведения ФБС 21 (14%) больной находился в отделении реанимации и интенсив-

Таблица 2

Варианты ТГСК, проведенные включенным в исследование больным

Варианты ТГСК	Количество пациентов (n= 149)
Алло-ТГСК от совместимого неродственного донора	80
Алло-ТГСК от родственного гаплоидентичного донора	41
Алло-ТГСК от родственного совместимого донора	14
Ауто-ТГСК	14
Миело/немиелоаблативный режим кондиционирования	62/87

ной терапии (ОРИТ), у 74 (49%) больных были агранулоцитоз (абсолютное число нейтрофилов $<0{,}5 \cdot 10^9$/л) или тромбоцитопения (с числом тромбоцитов $<20 \cdot 10^9$/л).

МСКТ органов грудной полости проводили пациентам на 3–5-й день лихорадки в период нейтропении без предварительной рентгенографии грудной клетки и независимо от аускультативной картины легких, а также пациентам с симптомами поражения органов дыхания в посттрансплантационном периоде. При обнаружении любых впервые выявленных изменений на МСКТ всем пациентам в течение первых 2 суток, по возможности до начала эмпирической терапии, проводили ФБС с комплексным микробиологическим исследованием ЖБАЛ.

ФБС осуществляли врачи-эндоскописты с базовым педиатрическим образованием в специально оборудованном помещении, соответствующем требованиям малой операционной. Находящимся в ОРИТ пациентам ФБС выполняли непосредственно в палатах отделения. Использовали фиброоптические аппараты фирмы «Fujinon» и видеобронхоскопы фирмы «Olympus» с наружным диаметром дистального конца 3,5 и 4,9 мм. При выполнении щипцовой или браш-биопсии использовали стандартные инструменты, полностью совместимые с типом бронхоскопа. Решение о проведении ФБС принимали совместно лечащий врач-гематолог, врач-эндоскопист и анестезиолог для подбора метода анестезиологического пособия. Показания для общей анестезии включали: возраст пациента младше 13 лет, непереносимость местных анестезирующих средств, дыхательная недостаточность (II–III степени) или гипоксемия (Sat $O_2 \leq 90\%$), некупируемый болевой синдром в грудной клетке, а также желание пациента. При наличии нарушений функции сердечно-сосудистой системы исследование временно откладывали для проведения корригирующей терапии. Агранулоцитоз не являлся препятствием для проведения ФБС. Пациенты с тромбоцитопенией (число тромбоцитов $<20 \cdot 10^9$/л) и выраженными нарушениями свертывающей системы получали заместительную терапию плазменными факторами свертывания крови и гемокомпонентами непосредственно перед исследованием. Независимо от наличия и степени выраженности дыхательной недостаточности, все пациенты во время исследования получали пассивную ингаляцию увлажненного кислорода. Во время ФБС проводили мониторинг жизненно важных функций организма: ЧСС, ЭКГ, АД, степень насыщения периферической крови кислородом.

Методика получения ЖБАЛ зависела от возраста и массы тела больного. Для пациентов старше 15 лет или массой тела ≥20 кг применяли стандартную методику, рекомендованную Американским торакальным обществом [11, 12]. После окклюзии искомого бронха IV порядка осуществляли дробную инстилляцию (от 2 до 4 инстилляций) подогретого до температуры тела физиологического раствора по 10–20 мл в каждой порции до получения адекватного объема материала (40 мл), что составляет 40–70% от введенного объема жидкости. Максимальный объем введенной жидкости не превышал 100 мл. Для пациентов массой тела менее 20 кг, независимо от возраста, объем введенного физиологического раствора соответствовал 1 мл/кг массы тела на одно введение, который кратно до 3 инстилляций вводили в заинтересованный бронх. Материал считали адекватным при получении как минимум 30% от введенного объема физиологического раствора [13, 14].

Полученные образцы ЖБАЛ немедленно отправляли в лаборатории для дальнейшего микробиологического обследования. Всем пациентам проводили цитологическое исследование препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, карболовым фуксином по Цилю и реактивом Шиффа (ШИК/PAS). В ряде наблюдений для этиологической верификации диагноза применяли иммуноцитохимический метод с использованием поликлональных кроличьих или моноклональных мышиных антител к антигенам инфекционных возбудителей. В каждом наблюдении оценивали клеточный состав, состояние эпителиальных клеток, степень выраженности и характер макрофагальной активности эпителиальных и неэпителиальных клеток, степень выраженности и характер экссудативного воспаления, а также наличие специ-фических возбудителей, в т.ч. кислотоустойчивых палочек. Идентификация микобактерий туберкулеза включала микроскопию с люминесцентными красителями и культивирование на специализированных средах. Бактериологическое исследование включало посевы ЖБАЛ, культивирование бактерий и определение чувствительности штаммов к антибиотикам. Посевы ЖБАЛ для выделения бактерий проводили на готовые питательные среды отечественного производителя фирмы «BIOMEDIA» г. Санкт-Петербург (Россия). Идентификацию бактериальных патогенов производили рутинными методами с использованием тест-системы BD BBL Crystal (Australia). Учитывая получение материала из дистальных отделов бронхиального дерева, мы не оценивали концентрацию выделенных патогенов и

считали положительным результат, независимо от обилия роста колоний. Чувствительность к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом в соответствии со стандартом европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST). Вирусологическое исследование ЖБАЛ проводили с использованием методов качественной и количественной полимеразной цепной реакции (ПЦР). Идентификация инвазивных микозов (ИМ) включала микроскопию, посев и серологическое исследование ЖБАЛ. Из образцов ЖБАЛ готовили препараты в просветляющей жидкости (10% раствор КОН в 10% водном растворе глицерина) с добавлением флуоресцирующего маркера (калькофлуор белый). Окрашенный препарат просматривали в люминесцентном микроскопе, отмечали наличие септированных нитей мицелия, ветвящихся под углом 45^0. Для определения возбудителя выполняли посев материала на специализированную среду и инкубировали в течение 10 дней при +28 ^{0}C и +37 ^{0}C. Из биопсийного материала готовили гистологические препараты, для выявления элементов гриба окрашивали срезы по Гомори–Грокотту, гематоксилином и эозином, а также проводили PAS-реакцию. Серологическое исследование включало определение галактоманнана (ГМ) в сыворотке крови и ЖБАЛ двойным иммуноферментным методом с использованием специфической диагностической тест-системы PLATELIA® Aspergillus (BIO–RAD Laboratories, США). Наличие ГМ оценивали путем сравнения оптической плотности исследуемого материала и контрольного образца, содержащего 1 нг/мл ГМ. Диагностически значимым считали индекс оптической плотности (ИОП) выше 0,5 в сыворотке крови и 1 в ЖБАЛ.

Статистическую обработку данных проводили с помощью прикладного пакета статистики SPSS (Statistical Package for the Social Sciences), версия 14. Было выполнено построение логистической регрессии для зависимых переменных, отражающих наличие и отсутствие положительных результатов и набором независимых переменных. Разведочный анализ был проведен на основе критериев Манна–Уитни, Хи-квадрат и теста Фишера. Из базы данных были отобраны переменные с уровнем значимости $p>0,05$. В результате полученной модели нам удалось оценить диагностическую эффективность исследования ЖБАЛ у детей и провести сравнительный анализ отдельных методов исследования.

Результаты

За исследуемый период были проведены 396 алло- и 204 ауто-ТГСК. Изменения в легких, по данным МСКТ органов грудной клетки, были зафиксированы у 25% (n=149) пациентов, которые и были включены в настоящее исследование. При этом у 60% пациентов встречалось двустороннее поражение и у 40% отмечались одиночные участки поражения легочной ткани. Единичные и/или множественные очаговые поражения легких наблюдали у 25%, инфильтративные – у 39%, смешанные изменения – у 36% пациентов. Плевриты с накоплением жидкости были зафиксированы у 18% детей. Осложнения в виде периферических ателектазов с нарушением вентиляции различных размеров легочной ткани были выявлены у 32% пациентов. Признаки бронхиолита зарегистрированы у 12% пациентов. Полостные образования отмечали у 7%, другие поствоспалительные изменения – у 4% пациентов. Для определения этиологии легочных изменений всего проанализировали 223 образца ЖБАЛ, полученных от 149 пациентов. Повторные исследования ЖБАЛ были проведены у 48 (32%) пациентов. Медиана времени проведения первичных ФБС у детей была 90 дней, повторных – 210 дней после ТГСК.

Из 223 образцов ЖБАЛ, полученных у 149 реципиентов алло- и ауто-ГСК, в 60% (n=134) выявили инфекционные патогены. Бактериальные микроорганизмы были выявлены в 37% (n=84), вирусы – в 16% (n=35) и грибы – в 26% (n=59) образцов ЖБАЛ. Выделенные из ЖБАЛ возбудители представлены в табл. 3.

Ассоциации микроорганизмов (рис. 1) были определены с помощью таблиц сопряженных признаков на основе трех бинарных переменных: грибы-вирусы-бактерии. Отмечен значительный уровень грибково-бактериальных ассоциаций – у 23 (10%) по сравнению с грибково-вирусными – у 5 (2,2%) и грибково-вирусно-бактериальными – у одного (0,4%) пациента, 95% ДИ (0,568–1,29 при значении 0,856) ($p<0,001$).

При цитологическом исследовании ЖБАЛ пациентов с вирусным поражением легких эпителиальные клетки, полученные при проведении БАЛ, были увеличены в размере, с явлениями полиморфизма и гиперхроматоза ядер. При иммуноцитохимическом исследовании выявляли экспрессию соответствующего вируса (рис. 2).

У пациентов с бактериальным поражением легких наблюдали картину разной степени выраженности бактериального воспалительного процесса при цитологическом исследовании ЖБАЛ. В цитологических мазках этих пациентов среди многочисленных лейкоцитов были видны клетки бронхиального эпителия с признаками реактивной пролиферации и клетки альвеолярного эпителия с признаками макрофагаль-

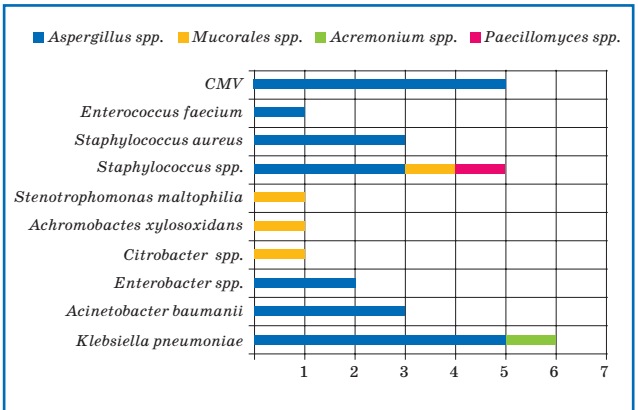

Рис. 1. Ассоциации микроорганизмов, выделенных из ЖБАЛ.

Таблица 3

Патогены, выделенные из ЖБАЛ, у наблюдаемых пациентов

Выделенные патогены		Абс. число образцов ЖБАЛ
Бактерии грамотрицательные	*Klebsiella pneumoniae*	15
	Acinetobacter baumanii	10
	Pseudomonas aeruginosa	8
	Enterobacter spp.	7
	Neisseria spp.	3
	Citrobacter spp.	2
	Achromobactes xylosoxidans	1
	Stenotrophomonas maltophilia	3
	Serratia liquefaciens group	1
	Escherichia coli	1
Бактерии грамположительные	*Streptococcus viridans*	16
	Staphylococcus aureus	7
	Streptococcus epidermidis	1
	Streptococcus warneri	1
	Enterococcus faecium	3
	Streptococcus b-haemolytic	1
Микоплазмы	*Mycoplasma pneumoniae*	4
Вирусы	*CMV*	20
	Adenovirus	1
	Parainfluenza	1
	Herpes simplex virus	5
	RSV	1
	EBV	11
	Norovirus	1
Грибы	*Aspergillus spp.*	13
	Paecillomyces spp.	2
	Rhizopus spp.	2
	Alternaria spp.	1
	Acremonium spp	1
	Rhizomucor spp.	1
	Lichthemia corymbifera	1

ной реакции. Микробная флора встречалась как внутриклеточно, в цитоплазме лейкоцитов, так и внеклеточно, располагаясь свободно (рис. 3).

В соответствии с критериями диагностики EORTC/MSG 2008, ИМ был выявлен у 59 (9,8%) реципиентов ГСК («доказанный» – 17, «вероятный» – 42). Частота ИМ после алло-ТГСК была достоверно выше, чем после аутоТГСК: 14 и 1,5% соответственно (p<0,001). Положительные результаты при прямой микроскопии и выделении культуры плесневых грибов из ЖБАЛ были получены у 29 из 59 (49%) пациентов с ИМ, причем у 5 (8%) – только при повторном исследовании ЖБАЛ. Преобладающими возбудителями, выделенными в культуре, были Aspergillus spp. (64%) – у 13 пациентов. Основным возбудителем инвазивного аспергилеза легких (ИАЛ) был A. fumigatus (65%), реже – A. flavus, A. nidulans и A. niger (рис. 4).

Тест на ГМ в 223 образцах ЖБАЛ был положительным при ИОП≥1 у 75% (n=38) пациентов с ИАЛ (n=51). При многофакторном анализе тест на ГМ в ЖБАЛ выявил более высокие показатели чувствительности по сравнению с прямой микроскопией и посевом (83,3 и 46,3% соответственно) (рис. 5).

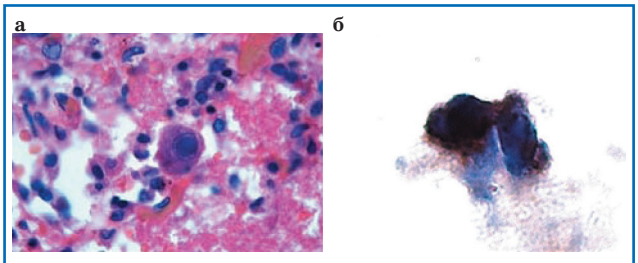

Рис. 2. Цитоморфологические признаки цитомегаловирусной (CMV) пневмонии, по данным цитологического исследования ЖБАЛ.
а – окраска гематоксилином и эозином, ув. 1000; б – экспрессия антигенов CMV (коричневое окрашивание) при иммуноцитохимическом исследовании, ИЦХ метод, DAB, ув. 1000.

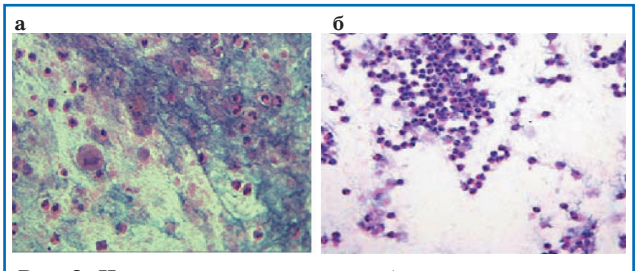

Рис. 3. Цитологические признаки бактериального воспаления, по данным цитологического исследования ЖБАЛ.
а – фибринозно-гнойный характер экссудата, окраска гематоксилином и эозином, ув. 400; б – гнойный характер экссудата, окраска гематоксилином и эозином, ув. 200.

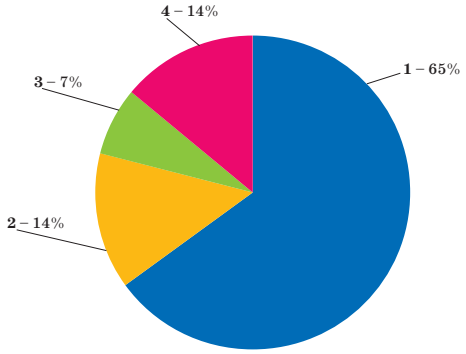

Рис. 4. Этиологическая структура ИАЛ у наблюдаемых детей после ТГСК.
1 – *A. fumigatus*, 2 – *A. flavus*, 3 – *A. niger*, 4 – *A. nidulans*.

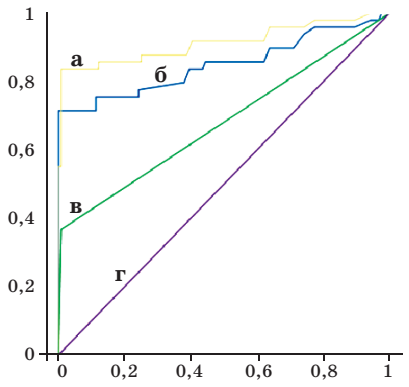

Рис. 5. Сравнительный ROC анализ культуральных методов и ГМ в ЖБАЛ.
а – ГМ, б – микроскопия+посев, в – комбинация, г – опорная линия.

На рис. 5 видно, что наибольшая диагностическая эффективность была достигнута при использовании трех методов: микроскопии, посева и теста на ГМ в ЖБАЛ, – критерий AUG равен 0,926 (ДИ от 0,869 до 0,928).

Все осложнения после ФБС у 26 (17%) пациентов были временными, проходили спонтанно, либо требовали коррекции в 16% случаев в виде симптоматической терапии. Никто из пациентов не нуждался в дополнительной ИВЛ или переводе в отделение интенсивной терапии. Виды осложнений отличались в зависимости от применяемых анестетиков. При использовании галотана отмечалось возбуждение пациентов во время индукции препарата в 19,3% (n=3), ларингоспазм – в 6,45% (n=2), аритмия – в 6,45% (n=2), артериальная гипотензия – в 9,6% (n=3), транзиторная гипоксемия – в 9,6% (n=3) случаев. Пропофол имел преимущества в виде быстрой индукции и пробуждения после наркотического сна, улучшая контроль над пациентом, однако в 6,3% (n=3) случаев отмечалась артериальная гипотензия, в 8,5% (n=4) – аритмия, в 0,4% (n=1) – апноэ. Только 2,3% (n=2) осложнений были отмечены при использовании севорана в виде возбуждения при его индукции. При проведении ФБС под местной анестезией 2% раствором лидокаина отмечались носовые кровотечения в 5% (n=3) случаев, потребовавшие проведения местного гемостаза. Осложнения ФБС представлены на рис. 6.

Обсуждение

Ранняя диагностика инфекций легких у пациентов после ТГСК детского возраста – трудная задача. Исследование ЖБАЛ является рутинным методом диагностики инфекционной патологии легких у пациентов с иммунодефицитом. Применение исследования ЖБАЛ для диагностики инфекций легких, активно используемое у взрослых больных с заболеваниями системы крови, до сих пор широко не внедрено в педиатрическую практику. Анализ крупнейшего многоцентрового исследования, изучавшего безопасность и эффективность исследования ЖБАЛ у 193 педиатрических реципиентов ГСК, показал 40% диагностическую ценность данного метода [15], что согласуется с данными чувствительности метода, описанного ранее на меньших популяциях пациентов, которые варьируют от 29 до 68% [16, 17]. Мы показали высокие диаг-ностические возможности комплексного исследования ЖБАЛ у детей после ТГСК, особенно при ИМ, включающего прямую микроскопию, посевы на специализированные среды и серологические методы диагностики. Применение ФБС после подтверждения воспалительных изменений легких на МСКТ позволяет получить материал (ЖБАЛ) непосредственно из зоны поражения легких, выявить возбудитель, определить его чувствительность к антимикотикам и антибактериальным препаратам in vitro и назначить направленную терапию.

Исследование ЖБАЛ является эффективной диагностической процедурой в отношении инфекционных поражений легких у онкогематологических пациентов после ТГСК – у 60% больных с легочными осложнениями после ТГСК были выявлены различные инфекционные патогены в ЖБАЛ. В случае отрицательного результата исследования ЖБАЛ по выявлению возбудителей возникает необходимость в продолжении диагностического поиска патогена.

Мы не получили значимых осложнений во время проведения ФБС и считаем, что при наличии адаптированного для детей технического оснащения и квалифицированной опе-

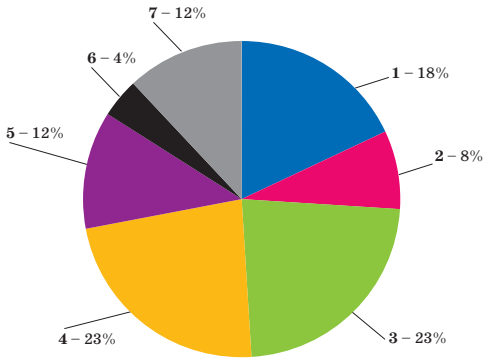

Рис. 6. Спектр осложнений при ФБС у наблюдаемых детей.
1 – возбуждение, 2 – ларингоспазм, 3 – артериальная гипотензия, 4 – аритмия, 5 – гипоксемия, 6 – апноэ, 7 – носовые кровотечения.

рационной бригады ФБС с БАЛ является безопасным исследованием и может проводиться у пациентов с различными злокачественными заболеваниями как гематологического профиля, так и при солидных опухолях, включая реципиентов ГСК, в т.ч. в ранние сроки после трансплантации.

В данной работе мы не оценивали спектр чувствительности штаммов бактериальных патогенов к антибиотикам и влияние данных результатов на тактику ведения и прогноз пациентов. Эти аспекты считаем необходимым рассмотреть в дальнейших исследованиях.

Выводы

1. 25% реципиентов ГСК детского возраста со злокачественными заболеваниями системы крови имеют очаговые и инфильтративные изменения со стороны легких, по данным МСКТ, что является показанием для проведения ФБС с исследованием ЖБАЛ с целью выявления причинно значимого инфекционного патогена.

2. Комплексное исследование ЖБАЛ позволило выявить инфекционные патогены в 60% случаев среди пациентов с поражением легочной ткани после ТГСК, по данным МСКТ. Наиболее частыми патогенами были бактерии (37%), вирусы были выделены в 16% и грибы – в 26% образцов ЖБАЛ.

3. Специализированное оборудование, адекватное анестезиологическое пособие и адаптированная методика проведения ФБС позволяют избежать осложнений при проведении этой процедуры у детей со злокачественными заболеваниями системы крови после различных видов ТГСК.

Конфликт интересов: *авторы статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования.*

Volkova A.G. 0000-0003-3183-3462
Frolova A.S. 0000-0003-1143-4851
Shvetsov A.N. 0000-0001-7173-7673
Nikolaev I.Yu. 0000-0002-8589-4618
Karev V.E. 0000-0002-7972-1286
Panina O.V. 0000-0001-7263-4326
Ekushev K.A. 0000-0002-1104-6499
Kozhokar P.V. 0000-0002-5721-0207
Semenova E.V. 0000-0002-8936-3590
Zubarovskaya L.S. 0000-0003-2594-7703
Klimko N.N. 0000-0001-6095-7531
Afanasyev B.V. 0000-0002-8153-8122

Литература

1. *Eikenberry M, Bartakova H, Defor T, Haddad IY, Ramsay NK, Blazar BR, Milla CE, Cornfield DN.* Natural history of pulmonary complications in children after bone marrow transplantation. Biol. Blood Marrow Transplant. 2005; 11 (1): 56–64.

2. *Griese M, Rampf U, Hofmann D, Fuhrer M, Reinhardt D, Bender-Gotze C.* Pulmonary complications after bone marrow transplantation in children: twenty-four years of experience in a single pediatric center. Pediatr. Pulmonol. 2000; 30: 393–401.

3. *Dunagan DP, Baker AM, Hurd DD, Haponik EF.* Bronchoscopic evaluation of pulmonary infiltrates following bone marrow transplantation. Chest. 1997; 111: 135–141.

4. *Kaya Z, Weiner DJ, Yilmaz D, Rowan J, Goyal RK.* Lung function, pulmonary complications, and mortality after allogeneic blood and marrow transplantation in children. Biol. Blood Marrow Transplant. 2009; 15: 817–826.

5. *Maschmeyer G, Carratalà J, Buchheidt D, Hamprecht A, Heussel CP, Kahl C, Lorenz J, Neumann S, Rieger C, Ruhnke M, Salwender H, Schmidt-Hieber M, Azoulay E*; Infectious Diseases Working Party of the German Society of Hematology and Medical Oncology. Diagnosis and antimicrobial therapy of lung infiltrates in febrile neutropenic patients (allogeneic SCT excluded): updated guidelines of the Infectious Diseases Working Party (AGIHO) of the German Society of Hematology and Medical Oncology (DGHO). Ann. Oncol. 2015; 26 (1): 21–33.

6. *Forslow U, Remberger M, Nordlander A, Mattsson J.* The clinical importance of bronchoalveolar lavage in allogeneic SCT patients with pneumonia. Bone Marrow Transplant. 2010; 45: 945–950.

7. *Efrati O, Gonik U, Bielorai B, Modan-Moses D, Neumann Y, Szeinberg A, Vardi A, Barak A, Paret G, Toren A.* Fiberoptic bronchoscopy and bronchoalveolar lavage for the evaluation of pulmonary disease in children with primary immunodeficiency and cancer. Pediatr. Blood Cancer. 2007; 48: 324–329.

8. *Collaco JM, Gower WA, Mogayzel PJ. Jr.* Pulmonary dysfunction in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients: overview, diagnostic considerations, and infectious complications. Pediatr. Blood Cancer. 2007; 49: 117–126.

9. *Kasow KA, King E, Rochester R, Tong X, Srivastava DK, Horwitz EM, Leung W, Woodard P, Handgretinger R, Hale GA.* Diagnostic yield of bronchoalveolar lavage is low in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving immunosuppressive therapy or with acute graft-versus-host disease: the St. Jude experience, 1990–2002. Biol. Blood Marrow Transplant. 2007; 13: 831–837.

10. *Shannon VR, Andersson BS, Lei X, Champlin RE, Kontoyiannis DP.* Utility of early versus late fiberoptic bronchoscopy in the evaluation of new pulmonary infiltrates following hematopoietic stem cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2010; 45: 647–655.

11. *Sampsonas F, Kontoyiannis DP, Dickey BF, Evans SE.* Performance of a Standardized Bronchoalveolar Lavage Protocol in a Comprehensive Cancer Center. Cancer. 2011; 117 (15): 3424–3433.

12. *Meyer KC, Raghu G, Baughman RP, Brown KK, Costabel U, Bois RM, Drent M, Haslam PL, Kim DS, Nagai S, Rottoli P, Saltini C, Selman M, Strange C, Wood B.* An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline: The Clinical Utility of Bronchoalveolar Lavage Cellular Analysis in Interstitial Lung Disease. J. Respir. Crit. Care Med. 2012; 185 (9): 1004–1014.

13. *Vega-Briceño LE, Holmgren NL, Bertrand P, Rodríguez JI, Barriga F, Contreras I, Sáncheza I.* Utility of Bronchoalveolar Lavage in Immunocompromised Children: Diagnostic Yield and Complications. Arch. Bronchpneumol. 2004; 40 (12): 570–574.

14. *Blic J, Midulla F, Barbato A, Clement A, Dab I, Eber E, Green C, Grigg J, Kotecha S, Kurland G, Pohunek P, Ratjen F, Rossi G.* Bronchoalveolar lavage in children. Eur. Respir. J. 2000; 15: 217–231.

15. *Qualter E, Satwani P, Ricci A, Jin Z, Geyer MB, Alobeid B, Radhakrishnan K, Bye M, Middlesworth W, Della-Letta P, Behr G, Muniz M, Van de Ven C, Harrison L, Morris E, Cairo MS.* A Comparison of Bronchoalveolar Lavage versus Lung Biopsy in Pediatric Recipients after Stem Cell Transplantation. Biol. Blood Marrow Transplant. 2014; 20 (8): 1229–1237. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.04.019.

16. *Collaco JM, Gower WA, Mogayzel PJ Jr.* Pulmonary dysfunction in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients: overview, diagnostic considerations, and infectious complications. Pediatr. Blood Cancer. 2007; 49: 117–126. [PubMed: 17029246].

17. *Kasow KA, King E, Rochester R, Tong X, Srivastava DK, Horwitz EM, Leung W, Woodard P, Handgretinger R, Hale GA.* Diagnostic yield of bronchoalveolar lavage is low in allogeneic hematopoietic stem cell recipients receiving immunosuppressive therapy or with acute graft-versus-host disease: the St. Jude experience, 1990–2002. Biol. Blood Marrow Transplant. 2007; 13: 831–837.