

Информативность различных методов выявления грибов при неинвазивном микозе околоносовых пазух

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Областной консультативно-диагностический центр, Ростов-на-Дону

³Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону

Резюме. Рост количества больных с персистирующей вирусной инфекцией, а также применение антибактериальных препаратов привели к увеличению популяции пациентов с высоким риском развития грибковых заболеваний. В содержимом околоносовых пазух более чем у половины пациентов, страдающих хроническим синуситом, выявлены грибы или грибово-микробные ассоциации. Несмотря на то, что эпидемиологические данные в публикациях современных отечественных и зарубежных исследователей по грибковым риносинуситам довольно разноречивы, совершенно однозначно, что распространенность грибковых синуситов имеет выраженную тенденцию к росту особенно за последнее десятилетие. Сравнивается информативность микроскопической, микробиологической и патоморфологической методик исследования операционного материала для выявления грибковых тел. Проанализированы результаты патологического содержимого околоносовых пазух 148 больных, подвергнутых эндоназальным эндоскопическим хирургическим вмешательствам. По данным спиральной компьютерной томографии грибковые тела локализовались в верхнечелюстной пазухе – у 113 больных, в клиновидной пазухе – у 25 больных, в решетчатой пазухе – у 7 больных, в лобной пазухе – у 3 больных. При микроскопии нативного материала и препаратов, окрашенных калькофлюором белым, присутствие грибов выявлено у 114 (77%) и 136 (91,9%) больных соответственно. При посеве содержимого пазух на селективные среды и культивировании в двух температурных режимах (28 и 37°C) обнаружен рост мицелиальных грибов у 26 (17,6%) больных. Гистопатологическое исследование подтвердило клинический диагноз грибкового тела у 128 (86,5%) больных. Наиболее информативной методикой выявления грибкового тела является микроскопия препаратов, окрашенных калькофлюором белым.

Ключевые слова: грибковое поражение, грибковые тела околоносовых пазух, грибковое тело носа, полость носа, микоз, диагностика, микроскопия, микробиологическое исследование, патоморфологическое исследование, околоносовые пазухи, риносинусит.

Введение. С внедрением эндоскопических методик, компьютерной и магнитнорезонансной томографии в ринологическую практику отмечено возрастание этиологической роли грибов в развитии воспалительных заболеваний носа и околоносовых пазух, что, по всей вероятности, объясняется улучшением диагностики данной патологии [1]. Однако существуют и объективные предпосылки роста числа грибковых заболеваний. Использование новых антибиотиков широкого спектра действия, цитостатической и иммуносупрессивной терапии способствует увеличению популяции иммунокомпрометированных пациентов, предрасположенных к возникновению микозов [6, 5, 12].

Диагностика микозов нередко оказывается затруднительной, поскольку клинические признаки этих поражений неспецифичны [2]. Лабораторное подтверждение диагноза может быть затруднено из-за локализации процесса. Серологические методы диагностики разработаны лишь для немногих микозов. Трудности идентификации грибковых заболеваний объясняют весьма широкий разброс статистических показателей частоты грибкового поражения околоносовых пазух: от 7–14% [7] до 56% [9].

Цель исследования. Сравнить диагностическую ценность клинических, микробиологических и гистопатологических методов выявления грибковых тел околоносовых пазух (ОНП).

Материалы и методы. Исследование проводилось по материалам результатов обследования и лечения 148 больных с грибковыми телами ОНП. Больные находились на стационарном лечении в период с января 2008 по январь 2018 г. Изолированное поражение верхнечелюстной пазухи было у 113 больных, клиновидной пазухи – у 25 больных, поражение решетчатой пазухи – у 7 больных, лобных – у 3 больных. Возраст больных – от 25 до 67 лет.

Помимо общеклинического исследования, всем больным до операции произведена спиральная компьютерная томография (СКТ) околоносовых пазух на мультиспиральном шестидесятичетырехсрезовом томографе «BrillianceCT 64 slice» фирмы «PHILIPS». Исследование проводили в режиме спирального томографирования с толщиной среза 0,75 мм (стандартный режим Sinus/Facial для носа и околоносовых пазух) с последующей обработкой данных с помощью программы многоплоскостных реформаций (MPR) с расстоянием между слоями 1,5 мм.

Исследование удаленного во время операции материала включало микроскопию, культуральное и гистопатологическое исследование.

При прямой (первичной) микроскопии изучали содержимое пазух, удаленное во время операции, при вторичной исследовали культуру возбудителя, полученную из того же материала. Прямой микроскопии подвергались как нативные препараты, так и

окрашенные калькофлюором белым. Калькофлюор – флуорохромный краситель, имеющий сродство к хитину клеточной стенки грибов, после обработки препарата 10–20% раствором щелочи он поглощается мицелием и дает характерное свечение при исследовании препарата под люминесцентным микроскопом.

Для исследования культуральных свойств грибов производили посев содержимого пазух на элективные среды (Сауро с хлорамфенилом) и культивирование в двух температурных режимах: 28 и 37°C.

При гистопатологическом исследовании использовали ШИК-метод – окраску на полисахариды с применением фуксинсернистой кислоты (PAS-реакция), которая является наиболее информативным способом выявления грибов [11].

Результаты и их обсуждение. Анализ жалоб больных выявил их зависимость от локализации патологического процесса.

У больных с изолированным поражением верхнечелюстной пазухи преобладали локальные симптомы в виде давящей боли в области щеки (у 52 из 113 больных), периодически появляющихся выделений из носа (у 73 из 113 больных) и затруднения носового дыхания (у 65 из 113), стекания слизи по задней стенке глотки (у 24 из 113). Длительность заболевания составляла от 6 месяцев до 7 лет. В течение этого периода больные неоднократно лечились амбулаторно с диагнозом «хронический синусит». Стоматологические вмешательства предшествовали появлению заболевания лишь у одного больного (экстракция второго премоляра). У 3 больных в прошлом была вскрыта верхнечелюстная пазуха по Калдвелл-Люку, но после операции периодически возобновились односторонние гнойные выделения из носа и затруднение носового дыхания.

У больных с изолированным поражением клиновидной пазухи ведущим симптомом была головная боль, чаще всего – на стороне пораженной пазухи (у 17 из 25 больных), реже – в затылочной области (у 5 из 25), у 3 больных головная боль носила диффузный характер. Вторым по частоте симптомом было стекание экссудата по задней стенке глотки (у 15 из 25), причем у четырех больных экссудат был гнойно-геморрагическим. Эти симптомы беспокоили больных в течение длительного периода, в среднем – в течение 2–3 лет. У одной больной, не имеющей признаков синусита в анамнезе, заболевание дебютировало симптомами пареза отводящего нерва в виде сходящегося косоглазия, ограничения подвижности глазного яблока кнаружи и двоения при взгляде в сторону пораженной мышцы. Подобные наблюдения описаны в литературе как редко встречающиеся [4], а вот головная боль и «постназальный затек», особенно с примесью крови, называют в числе наиболее характерных симптомов изолированной аспергиллемы клиновидной пазухи [13].

Больных с поражением решетчатой и лобной пазух на протяжении многих лет периодически беспокоили симптомы риносинусита.

При исследовании больных с поражением верхнечелюстной пазухи у одной больной в среднем носовом

ходе на стороне поражения были обнаружены серо-черные массы, у 52 больных отмечено искривление перегородки носа в сторону пораженной пазухи.

При эндоскопическом исследовании больных с поражением клиновидной, решетчатой и лобной пазух признаков грибкового заболевания полости носа или характерных анатомических особенностей внутриносовых структур не выявлено.

На СКТ во всех случаях отмечено наличие содержимого в пораженных пазухах, как правило, имелись высокоплотные включения (одиночные или в виде нескольких мелких очагов), что является важным диагностическим признаком грибкового тела [10]. Данные томографического исследования определяли показания к хирургическому лечению.

Всем больным произведено эндоназальное эндоскопическое вскрытие пораженных пазух, во время операции в пазухах были обнаружены пластилинообразные серые массы, на основании чего во всех случаях было заподозрено наличие грибковых тел.

Патологическое содержимое пазух подвергалось микроскопическому, культуральному и гистопатологическому исследованию.

Гистопатологическое исследование подтвердило клинический диагноз грибкового тела у 128 (86,5%) из 148 исследуемых больных: у 24 больных с поражением клиновидной пазухи, у 99 больных с поражением верхнечелюстной пазухи, у 4 больных с поражением решетчатой пазухи, у 1 больного с локализацией процесса в лобной пазухе.

При посеве содержимого пазух на элективные среды и культивировании в двух температурных режимах (28 и 37°C) обнаружен рост мицелиальных грибов у 26 (17,6%) больных.

Идентификация полученных в культуре грибов включала макроскопическое исследование колоний и микроскопию первичной культуры. Среди выделенных грибов преобладали *Aspergillus* spp (у 14 больных), в 9 случаях была определена их видовая принадлежность: преимущественно *Aspergillus niger* в достаточно высоком титре – 10^4 – 10^6 КОЕ/мл (у 3 больных), в 2 случаях – *Aspergillus flavus* 10^6 КОЕ/мл, также в 2 случаях – *Aspergillus terreus* 10^4 – 10^5 КОЕ/мл, в одном случае – *Aspergillus fumigatus* 10^4 КОЕ/мл; ещё в одном случае обнаружен *Aspergillus oryzae* 10^6 КОЕ/мл. В 4 случаях обнаружены грибы рода *Alternaria* spp в количестве 10^2 и 10^7 КОЕ/мл, причем у одного больного обнаружен микст *Alternaria* spp 10^4 КОЕ/мл в сочетании с *Candida albicans* 10^3 КОЕ/мл. В 2 случаях получен *Sporotrichum* spp 10^4 и 10^6 КОЕ/мл; по одному случаю выявлены *Arthrographis* 10^4 КОЕ/мл, *Rhizopus* spp. 10^4 КОЕ/мл, *Fusarium* spp. 10^4 КОЕ/мл, *Bipolaris spicifera* 10^6 КОЕ/мл, *Candida albicans* 10^6 КОЕ/мл и недифференцируемый плесневый гриб 10^3 КОЕ/мл. Грибы часто обнаруживались в бактериально-грибковых ассоциациях. Наиболее распространенными «спутниками» грибов в этих ассоциациях оказались *Pseudomonas aeruginosa* 10^7 КОЕ/мл, *Klebsiella pneumoniae* 10^7 КОЕ/мл, *Staphylococcus aureus* 10^4 КОЕ/мл.

Самым информативным методом исследования оказалась микроскопия удаленного патологического содержимого пазух. При прямой первичной микроскопии препаратов с окраской по Романовскому – Гимзе грибы выявлены у 114 (77%) больных. При микроскопии препаратов, окрашенных калькофлюором белым, присутствие грибов выявлено у 135 (91,9%) пациентов.

Сопоставление полученных результатов выявляет низкую информативность культуральных методов диагностики грибковых тел околоносовых пазух: при посеве грибы обнаружены в 5,2 раза реже, чем при микроскопическом исследовании с окраской калькофлюором белым, и в 4,8 раз реже, чем при гистопатологическом исследовании. Это можно объяснить тем, что в центральной части грибкового тела мицелий дегенерирует [8] и утрачивает способность к росту. Возможно, забор материала для культурального микологического исследования в случаях отсутствия роста был произведен именно из этой части грибкового тела, поскольку при его эндоскопическом удалении трудно идентифицировать полученный фрагмент мицелия. Помимо этого, известно, что грибковое тело проходит в своем развитии несколько стадий [3, 14]. Возможно, грибковые тела, обнаруженные нами у длительно болеющих людей, содержали только мертвые грибы.

Информативность микроскопического исследования значительно повышается при использовании окраски калькофлюором белым по сравнению со стандартно применяемым методом окрашивания по Романовскому – Гимзе – с 77 до 91,9%.

Выводы

1. Микроскопическое исследование содержимого пазухи с окраской калькофлюором белым является наиболее информативным методом диагностики грибковых тел и выявляет их присутствие в 91,9% случаев.

2. Гистопатологическое исследование обнаруживает присутствие грибковой флоры у 86,5% больных.

3. Культуральное исследование патологического содержимого пазух выявляет наличие грибов лишь в 17,6% случаев.

Литература

1. Бойко, Н.В. Неинвазивный микоз околоносовых пазух / Н.В. Бойко, С.А. Банников // Росс. ринология. – 2010. – № 2 (18). – С. 39–41.
2. Бойко, Н.В. Изолированные и сочетанные микозы полости носа и околоносовых пазух / Н.В. Бойко, С.А. Банников, В.Н. Колесников // Росс. ринология. – 2011. – № 2 (19). – С. 8.
3. Климко, Н.Н. Микозы: диагностика и лечение: руководство для врачей / Н.Н. Климко. – М.: Премьер МТ, 2007. – 331 с.
4. Колесников, В.Н. Клинические проявления изолированных поражений клиновидной пазухи / В.Н. Колесников, Н.В. Бойко, В.В. Быкова // Росс. ринология. – 2017. – № 1 (25). – С. 31–35.
5. Колмакова, Т.С. Влияние антропогенного загрязнения на здоровье жителей Ростовской области / Т.С. Колмакова, В.А. Тупиков, Л.И. Шпак // Мед. вестн. Юга России. – 2012. – № 3. – С. 16–18.
6. Крюков, А.И. Эпидемиология грибковых заболеваний верхних дыхательных путей / А.И. Крюков, В.Я. Кунельская, Г.Б. Шадрин // Проблемы мед. микологии. – 2011. – № 1(13). – С. 28–31.
7. Кунельская, В.Я. Лечение грибковых поражений верхних дыхательных путей / В.Я. Кунельская, А.И. Мачулин, Г.Б. Шадрин // Вестн. оторинолар. – 2008. – № 2. – С. 78–80.
8. Митрофанов, В.С. Аспергиллемы легких / В.С. Митрофанов, Р.М. Чернопятков // Проблемы мед. микологии. – 2000. – № 4 (2). – С. 13–20.
9. Нестерова, К.И. Грибковые риносинуситы и их лечение с использованием ультразвуковых технологий / К.И. Нестерова // Росс. оторинолар. – 2010. – № 4. – С. 52–59.
10. Пискунов, И.С. Компьютерная томография в диагностике заболеваний полости носа и околоносовых пазух / И.С. Пискунов. – Курск, 2002. – 189 с.
11. Хмельницкий, О.К. Патоморфология микозов человека / О.К. Хмельницкий, Н.М. Хмельницкая. – СПб.: Издательский дом СПб МАПО, 2005. – 431 с.
12. Denning, D.W. Pulmonary and sinus fungal diseases in non-immunocompromised patients / D.W. Denning, A. Chakrabarti // Lancet Infect Dis. – 2017. – Vol. 17, № 11. – P. 357–366.
13. Lee, T.J. Characteristics of isolated sphenoid sinus aspergilloma: report of twelve cases and literature review / T.J. Lee, S.F. Huang, P.H. Chang // Ann Otorhinolaryngol. – 2009. – Vol. 118, № 3. – P. 211–217.

V.G. Mironov, S.A. Bannikov, N.V. Boiko

Informative value of various methods used to study fungi in paranasal sinuses' noninvasive mycosis

Abstract. The increase in the number of patients with persistent viral infection, as well as the use of antibacterial drugs, caused the increase in the population of patients with a high risk of developing fungal diseases. In the content of paranasal sinuses, a more than half of the patients with chronic sinusitis showed fungi or fungal-microbial associations. Despite the fact that the epidemiological data in the publications of modern national and foreign researchers on fungal rhinosinusitis are rather discrepant, it is quite decisive that the prevalence of fungal sinusitis has a significant tendency to grow, especially in the last decade. The informativeness of the microscopic, microbiological, and pathomorphological studies of the surgical material with the aim of fungal balls detection. The results contents of paranasal sinuses in 148 patients who had undergone endonasal endoscopic surgical intervention. Computer tomography the maxillary sinus in 113 patients, in the sphenoidal sinus in 25 patients, in the ethmoidal sinus in 7 patients, and in the frontal sinus in 3 patients. With microscopy of native material and preparations stained with white flour white, the presence of fungi is revealed 114 and 136 patients (77 and 91,9%) correspondingly. When sowing the contents of the sinuses onto elective media its cultivation under two temperature conditions (28 and 37°C) revealed growth of filamentous fungi in 26 (17,6%) patients. Histopathological examination confirmed the clinical diagnosis of a fungal ball in 128 (86,5%) patients. The most informative method for detecting the fungal body is the microscopy of preparations stained with white flour white.

Key words: fungal infections, fungal bodies of the paranasal sinuses, the fungal body of the nose, nasal cavity, mycosis, diagnosis, microscopy, microbiological examination, pathomorphological examination. paranasal sinuses, rhinosinusitis.

Контактный телефон: +7-905-277-14-12; e-mail: vmeda-nio@mil.ru