ФГБОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет»

Направление «Медицина»

Кафедра госпитальной терапии

Допускается к защите

Заведующий кафедрой

д.м.н., проф. Обрезан А.Г.,

\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ (подпись)

« » \_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_ 2019 г.

ВЫПУСКНАЯ КВАЛИФИКАЦИОННАЯ РАБОТА

НА ТЕМУ:

«ЧРЕЗБРОНХИАЛЬНАЯ БИОПСИЯ ЛЕГКОГО В ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА»

«TRANSBRONCHIAL LUNG BIOPSY IN THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF PULMONARY TUBERCULOSIS»

Выполнила: студентка

Медицинского факультета 607 группы

Курчавая Екатерина Германовна

Научный руководитель:

к.м.н., Торкатюк Елена Александровна

Санкт-Петербург

2019

Оглавление

[СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 4](#_Toc9369899)

[ВВЕДЕНИЕ 6](#_Toc9369900)

[ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 8](#_Toc9369901)

[1.1. АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ 8](#_Toc9369902)

[1.2. ЧРЕЗБРОНХИАЛЬНАЯ БИОПСИЯ ЛЕГКОГО 10](#_Toc9369903)

[1.2.1. РОЛЬ МЕТОДА ЧББЛ В ИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ 10](#_Toc9369904)

[1.2.2. ОБСЛЕДОВАНИЕ ПАЦИЕНТА ПЕРЕД ПРОВЕДЕНИЕМ ЧББЛ 12](#_Toc9369905)

[1.2.3. ТЕХНИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЧББЛ ПОД РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИМ КОНТРОЛЕМ 13](#_Toc9369906)

[1.2.4. ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОПСИЙНОГО ОБРАЗЦА 16](#_Toc9369907)

[1.2.5. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ИНФОРМАТИВНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ЧББЛ 16](#_Toc9369908)

[1.2.6. КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЧББЛ 17](#_Toc9369909)

[1.3. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ МАТЕРИАЛА ЧББЛ 19](#_Toc9369910)

[ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ 23](#_Toc9369911)

[ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МИНИМУМ 24](#_Toc9369912)

[ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ 28](#_Toc9369913)

[ИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ - ЧРЕЗБРОНХИАЛЬНАЯ БИОПСИЯ ЛЕГКИХ 28](#_Toc9369914)

[СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ 29](#_Toc9369915)

[ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ 29](#_Toc9369916)

[ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ 31](#_Toc9369917)

[3.1. НОЗОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПАЦИЕНТОВ 31](#_Toc9369918)

[3.2. РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ 33](#_Toc9369919)

[3.3. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЧББЛ 36](#_Toc9369920)

[3.3.1.ОБЩАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ЧББЛ 36](#_Toc9369921)

[3.3.2. ОБЩАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПЦР 40](#_Toc9369922)

[3.3.3. ОБЩАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 42](#_Toc9369923)

[3.3.4. ОБЩАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ 44](#_Toc9369924)

[3.3.5. СРАВНЕНИЕ ИНФОРМАТИВНОСТИ ДИГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРИ ЧББЛ 46](#_Toc9369925)

[ВЫВОДЫ 48](#_Toc9369926)

[СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 49](#_Toc9369927)

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АТР - аллерген туберкулезный рекомбинантный

БАЛ (BAL) – бронхоальвеолярный лаваж (bronchoalveolar lavage)

БЭ – бронхоэктазы

ВАТС - видеоассистированная торакоскопия

ВГЛУ - внутригрудные лимфатические узлы

ВТС - видеоторакоскопия

ГК - грудная клетка

ДПЛ – диссеминированные процессы легких

КУМ – кислотоустойчивые микробактерии

ЛЧ – лекарственная чувствительность

МСКТ (MSCT) – мультиспиральная компьютерная томография (multispiral computer tomography)

ОДМ - обязательный диагностический минимум

ООЛ – округлые образования легких

ПМСП - первичная медико-санитарная помощь

ПЦОО (PVN) - прогностическая ценность отрицательного ответа (negative predictive value)

ПЦПО (PVP) - прогностическая ценность положительного ответа (positive predictive value)

РТ-ПЦР (RT-PCR) - полимеразная цепная реакция в режиме реального времени (real-time polymerase chain reaction)

ЧББЛ (TBLB) – чрезбронхиальная биопсия легкого (transbronchial lung biopsy)

EBUS - endobronchial ultrasound (эндобронхиальное ультразвуковое исследование)

EBUS-TBNA - еndobronchial ultrasound transbronchial needle aspiration (трансбронхиальная аспирационная биопсия лимфоузлов средостения под контролем ультрасонографии)

EUS-FNA - Endoscopic Ultrasound Fine Needle Aspiration (чрезпищеводная тонкоигольная аспирационная биопсия лимфоузлов средостения под контролем эндосонографии)

FN - false negative (ложноотрицательные результаты ответа)

FP - false positive (ложноположительные результаты ответа)

IASLC - The International Association for the Study of Lung Cancer (Международная ассоциация по изучению рака легкого)

MBT - Mycobacterium tuberculosis (Микобактерии туберкулеза)

Rg - рентген

# ВВЕДЕНИЕ

Актуальность исследования

Туберкулез является одной из самых распространенных инфекций во всем мире. Для предотвращения и снижения заболеваемости и смертности необходимо раннее распознавание заболевания и соответствующее лечение.

Дифференциальная диагностика туберкулеза является сложной и актуальной проблемой в современной медицине [1]. Ряд факторов затрудняет сбор материала для постановки диагноза и требует альтернативных методов диагностики. До настоящего времени исследования не дают рекомендаций по использованию единого референтного метода для верификации туберкулеза [2].

Одним из возможных перспективных методов диагностики туберкулеза является бронхоскопия, позволяющая получить материал для микробиологического и гистологического исследования [3].

Цель исследования.

Выявление диагностической эффективности чрезбронхиальной биопсии легких в дифференциальной диагностике туберкулеза.

Задачи исследования.

1.                Определить информативность чрезбронхиальной биопсии легкого в верификации диагноза при округлых образованиях легких и диссеминированных процессах в легких.

2.                Оценить результаты микроскопического, бактериологического, молекулярно-генетического исследований на туберкулёз материала чрезбронхиальной биопсии легкого.

3.                Выявить диагностическую эффективность (чувствительность, специфичность, положительную/отрицательную прогностическую ценность) чрезбронхиальной биопсии легкого в дифференциальной диагностике туберкулеза.

В данной работе приводится исследование, проведенное на базе II хирургического отделения и амбулаторно-консультативного отделения ФГБУ «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт Фтизиопульмонологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации с июля 2017 года по декабрь 2018 года.

В рамках исследования был проведен ретроспективный анализ 220 историй болезни, проведено распределение больных по установленным диагнозам, проведено распределение больных на две группы в зависимости от рентгенологического синдрома в соответствии с номенклатурой Флейшнеровского сообщества [4], выявлены внутригрупповые характеристики диагностических критериев.

# ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## АЛГОРИТМ ДИАГНОСТИКИ ТУБЕРКУЛЕЗА ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

В соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями для верификации диагноза туберкулеза используется определенный алгоритм [5]. Процесс диагностики включает несколько этапов:

1. Отбор лиц с различными заболеваниями легких среди больных, обратившихся за медицинской помощью в учреждения первичной медико-санитарной помощи:

– Лица с рентгенологическими изменениями, подозрительными на туберкулез, при прохождении ежегодной флюорографии.

– Лица с жалобами, подозрительными на туберкулез (кашель более 3 недель, кровохарканье, субфебрильная температура более 2 недель).

– Дети и подростки с положительными реакциями на диагностические тесты.

2. Дообследование в ПМСП:

2.1. 3-кратное исследование мокроты на наличие кислотоустойчивых микобактерий.

2.2. Обзорная рентгенография органов грудной клетки.

2.3. Общеклинический анализ крови.

3. Обследование в учреждениях противотуберкулезной службы. Обязательный диагностический минимум:

3.1. Рентгенография грудной клетки цифровая или аналоговая.

3.2. Линейная томография.

3.3. Микробиологические исследования, включающие:

– исследование двух образцов диагностического материала методами микроскопии, ПЦР, посева на жидкие и/или плотные питательные среды;

– идентификация культур, выросших на питательных средах;

– определение лекарственной чувствительности микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным препаратам классическими микробиологическими и молекулярно-генетическими методами.

3.4. Диаскинтест детям и подросткам.

Если диагноз неясен, проводятся дополнительные методы исследования:

3.5. Неинвазивные

3.5.1. Допускается (при необходимости) увеличение кратности микробиологического исследования мокроты.

3.5.2. Спиральная компьютерная томография в алгоритме высокого разрешения с шагом томографа не более 2 мм легких и средостения.

3.6. Инвазивные (по показаниям) с цитологическим, гистологическим и микробиологическим исследованием диагностического материала (микроскопия, ПЦР, посев, определение ЛЧ микробиологическими и молекулярно-генетическими методами).

3.6.1. Фибробронхоскопия с комплексом биопсий: браш-биопсией, транстрахеальной и трансбронхиальной пункцией, прямой биопсией слизистой оболочки бронхов, патологических образований в них, исследование бронхоальвеолярных смывов.

3.6.2. Трансторакальная аспирационная биопсия легкого.

3.6.3. Пункционная биопсия плевры.

3.6.4. Диагностические операции: медиастиноскопия с биопсией лимфоузлов, открытая биопсия легкого и лимфоузлов, открытая биопсия плевры [5].

Бактериоскопия мокроты – простейший, быстрый, недорогой и наиболее широко распространенный метод, применяемый в диагностике туберкулеза. Однако, чувствительность данного метода необычайно низкая - от 20 до 60% при ее оптимальном проведении [6]. Более того, 1/3 (37%) пациентов с туберкулезом имеют отрицательный результат бактериоскопии мокроты [2,6].

Также 20% пациентов имеют трудности с отделением мокроты, что делает невозможным адекватный сбор материала для анализа [7].

Помимо этого, невозможно исследовать дыхательные пути и получить материал из нижних отделов легкого [2].

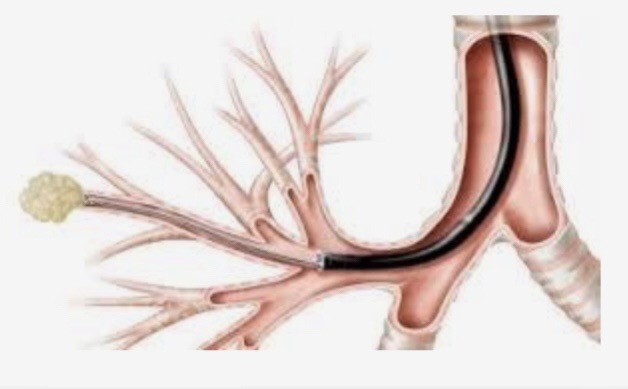
Проведение бронхоскопии с получением смыва, бронхоальвеолярного лаважа и биопсией могут играть решающую роль в получении образцов для диагностики туберкулеза [8].

Диагноз туберкулеза считается верифицированным при гистологическом или микробиологическом подтверждении диагноза.

Микробиологическое исследование мокроты и смывов из бронхов на микобактерии туберкулеза позволяет подтвердить диагноз туберкулеза у 46% пациентов [9], более перспективным методом этиологической диагностики туберкулеза является молекулярно-биологическое исследование – метод полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Одним из доступных способов верификации диагноза является чрезбронхиальная биопсия легкого.

## ЧРЕЗБРОНХИАЛЬНАЯ БИОПСИЯ ЛЕГКОГО



* + 1. РОЛЬ МЕТОДА ЧББЛ В ИНВАЗИВНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ПАТОЛОГИИ ГРУДНОЙ КЛЕТКИ

Чрезбронхиальная биопсия легких, или «бронхоскопическая биопсия легких», является одной из важнейших пробовых процедур, выполняемых при фибробронхоскопии. Впервые чрезбронхиальная биопсия легкого была описана Andersen и соавт. и применена в 1965 году в клинике Мейо с использованием ригидного бронхоскопа у пациентов с интерстициальными заболеваниями легких [23]. В большинстве случаев ЧББЛ проводится в амбулаторных условиях под воздействием седативных препаратов с сохранением сознания [11].

ЧББЛ проводится для выделения образцов ткани из периферических отделов легкого, очагов или диффузных легочных инфильтратов. Эта техника необходима для пациентов с подозрением на рак легких; грибковую и микобактериальную легочную инфекцию; при наличии инфильтратов неясного генеза у пациентов с иммуносупрессией; при подозрении на саркоидоз легких; лимфангитический карциноматоз легких; в некоторых случаях клеточного гистиоцитоза и лейомиоматоза; при криптогенной пневмонии. ЧББЛ также играет важную роль в оценке реакции отторжения и инфекционных осложнений после трансплантации легких. ЧББЛ не эффективна в гистологической диагностике идиопатического легочного фиброза, в выявлении гистологических субтипов идиопатической интерстициальной пневмонии. Диагностическая ценность близка к оптимальной в легочных узлах диаметром менее 2 см [10]. Некоторые недавно появившиеся техники, такие как радиальная эндобронхиальная ультрасонография с использовнием тубус-проводника (EBUS-GS), электромагнитная навигационная бронхоскопия, виртуальная 3D бронхоскопия, разработаны для совершенствования диагностической ценности ЧББЛ при исследовании солитарных легочных узлов. Кровохаркание и пневмоторакс остаются ведущими осложнениями ЧББЛ, случающимися менее чем в 2% случаев [11]. Проведение ЧББЛ - необходимый навык каждого бронхоскописта. Помимо владения техникой, бронхоскопист должен иметь всестороннее представление о показаниях, клинической пользе, ограничениях к процедуре. Также при необходимости врач должен быть готовым справиться с возможными осложнениями, такими как кровотечение и пневмоторакс [12].

### 1.2.2. ОБСЛЕДОВАНИЕ ПАЦИЕНТА ПЕРЕД ПРОВЕДЕНИЕМ ЧББЛ

Перед проведением ЧББЛ необходим подробный сбор анамнеза, физикальное обследование, рентгенография и КТ грудной клетки. Цели, риски и ограничения к ЧББЛ должны быть тщательно оговорены с пациентом. Пациент должен быть информирован о том, что постановка диагноза не всегда может быть возможна с помощью данной техники. Рутинные методы обследования (клинический анализ крови, коагулограмма, биохимический анализ крови, исследование функции внешнего дыхания, исследование газового состава артериальной крови, ЭКГ) не являются обязательными перед проведением процедуры ЧББЛ. Данные обследования проводятся по показаниям. Например, оценка состояния свертывающей системы крови должна проводиться у пациентов с геморрагическим диатезом, у пациентов, получающих антикоагулянтную терапию, у пациентов с риском кровотечения вследствие заболеваний печени и почечной недостаточности [13].

Вследствие высокого риска кровотечения у пациентов с уремией, при подозрении на почечную недостаточность необходимо контролировать уровень креатинина сыворотки. В 50% случаев уремия является противопоказанием к проведению ЧББЛ [14].

В большинстве случаев легочная гипертензия является относительным противопоказанием к ЧББЛ, легочная гипертензия легкой и умеренной степени тяжести не являются противопоказаниями [15].

Имеются следующие противопоказания для проведения ЧББЛ:

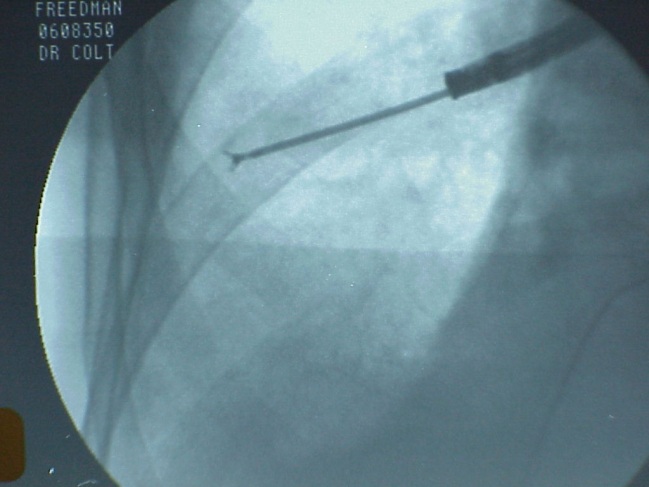
* Рефрактерная гипоксемия
* Некорригируемая коагулопатия
* Неконтролируемая аритмия
* Тяжелая легочная гипертензия
* Неконтролируемый бронхоспазм
* Неконтактный больной
* Невозможность контролировать кашель

Снижение количества тромбоцитов менее 50х109/л или повышение более 1000х109/л [14].

### ТЕХНИКА ПРОВЕДЕНИЯ ЧББЛ ПОД РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКИМ КОНТРОЛЕМ

Тщательное обследование дыхательных путей необходимо провести перед ЧББЛ, т.к. кровотечение после биопсии может препятствовать адекватному обследованию дыхательных путей. Для контроля кашлевого рефлекса и профилактики пневмоторакса во время процедуры применяют лидокаин (местно) и опиаты (в/в) [16].

Выбор участка легкого для взятия биопсии проводится под контролем рентгеноскопии (рисунок 1.1).

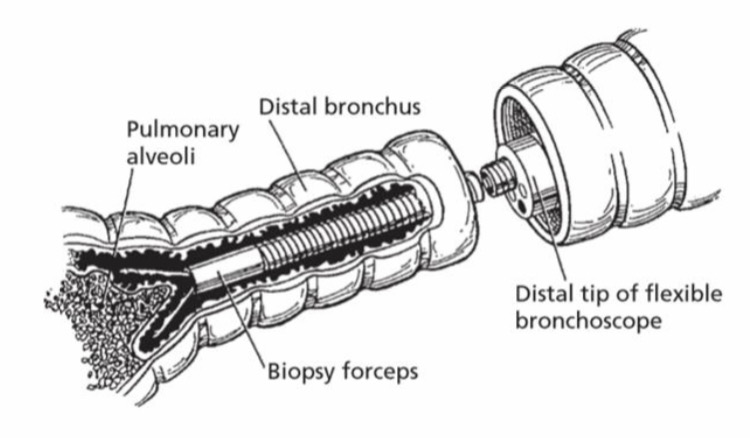


**Рисунок 1.1. – Проведение чрезбронхиальной биопсии легких под контролем рентгеноскопии**

Противопоказано взятие материала из обоих легких в течение одной процедуры бронхоскопии в связи с риском развития двустороннего пневмоторакса. При наличии очагового образования в легком забор материала производится непосредственно из очагового образования. При наличии диссеминированных процессов в легких предпочтителен забор материала из нижних сегментов легких. В случае кровотечения кровь будет скапливаться в нижних долях и не будет затрагивать другие доли легкого. Также более предпочтителен забор материала из левого легкого, что связано с тем, что левый главный бронх длиннее правого, что позволяет большему количеству крови скапливаться в нижней доле легкого, прежде чем кровь достигнет противоположной стороны (правого бронха и правого легкого). Это позволяет «выиграть время» и своевременно верифицировать осложнения, чтобы предотвратить нежелательные последствия [17].

Когда участок легкого для забора материала выбран, дистальный конец бронхоскопа вводится в сегментарный бронх. Последующая манипуляция производится по возможности под рентгенологическим контролем. Щипцы продвигаются и вводятся через проводник в рабочую область. Когда биопсийные щипцы достигают дистального конца гибкого бронхоскопа, ощущается небольшое сопротивление, особенно при проведении ЧББЛ в верхних долях или в верхних сегментах нижних долей. Это связано с тем, что дистальный конец бронхоскопа должен быть изогнут под острым углом, для того, чтобы достичь сегментарных бронхов. Для того чтобы не повредить внутреннюю поверхность бронхоскопа щипцами, необходимо уменьшить степень сгибания дистальной секции бронхоскопа. Хотя это действие обычно проходит успешно, оно может привести к вклинению бронхоскопа. Если этот маневр не увенчался успехом, необходимо вывести бронхоскоп до уровня долевых или главных бронхов, и выдвинуть биопсийные щипцы на несколько сантиметров за пределы дистального конца бронхоскопа и провести щипцы в сегментарный бронх. Таким образом, биопсийные щипцы выполняют роль проводника для продвижения бронхоскопа и установки его в изогнутом положении. Это позволяет ввести щипцы в труднодоступные сегменты с минимальным риском повреждения бронхоскопа [10].

Строение биопсийных щипцов отражено на рисунке 1.2.



**Рисунок 1.2. – Строение биопсийных щипцов**

Для получения образца ткани биопсийные щипцы продвигаются в легочную паренхиму по направлению к плевре до ощущения сопротивления. Затем щипцы направляются проксимально на 1,5 – 2 см, после чего пациента просят сделать глубокий вдох и задержать дыхание. Этот маневр расширяет периферические дыхательные пути, что позволяет широко раскрыть бранши щипцов. На выдохе щипцы под рентгенологическим контролем мягко продвигаются к выбранной области, наконечник щипцов не должен касаться края плевры. Во время дыхания продвижение биопсийных щипцов затруднено. Далее бранши щипцов схлопываются и щипцы плавно выводятся из ткани легкого. Если образец ткани захвачен удачно, то присутствует ощущение «натяжения». Однако, это не гарантирует того, что извлечен хороший образец ткани. Во время извлечения биопсийных щипцов под контролем рентгеноскопии необходимо проследить движение легочного инфильтрата. Как правило, движение легочного инфильтрата говорит об успешном захвате образца легочной ткани. Извлечение легочной ткани сопровождается разрывом терминальных бронхиол. Извлечение щипцов из дыхательных путей должно быть плавным и постепенным в целях избежания осложнений[10].

1.2.4. ХАРАКТЕРИСТИКИ БИОПСИЙНОГО ОБРАЗЦА

Качество и адекватность проведенной биопсии сложно оценить во время процедуры. Обычный размер образца составляет 1-3 мм. В связи с небольшим размером легочной ткани ЧББЛ не может быть применена для диагностики интерстициального легочного фиброза, при котором необходимо идентифицировать типичные изменения архитектоники легочной паренхимы [18].

Иногда образец ткани содержит преимущественно бронхиальный секрет, а не альвеолярную ткань. Это происходит, когда забор производится из проксимальных отделов легких. Подобные образцы не могут быть информативными для диагностики заболеваний легких. Кроме того, биопсия из проксимальных отделов чаще вызывает кровотечения. В то же время биопсия из дистальных отделов чаще вызывает пневмоторакс [19].

* + 1. ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ИНФОРМАТИВНОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ ЧББЛ

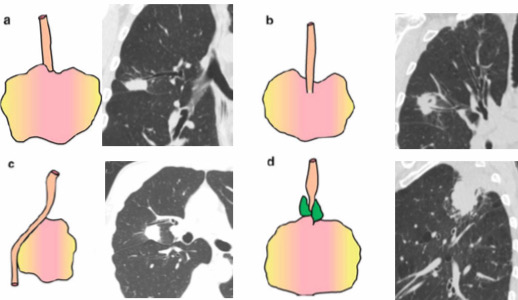
Традиционная гибкая бронхоскопия с чрезбронхиальной биопсией у пациентов с периферическими образованиями в легких имеет достаточно низкую информативность: в среднем 34% для периферических образований <2 см в диаметре и 63% для образований > 2 см в диаметре [24,25].

По данным многофакторного анализа прогностическими параметрами получения информативного материала являлись злокачественная этиология образования, диаметр образования больше 2 см и наличие подходящего к образованию бронха [27].

На основе операционного материала установлено 4 типа взаимоотношений образования и прилежащего бронха: I тип- когда бронх ведет к образованию и как бы «обрывается» в нем, II тип – когда бронх окружен образованием, III тип – когда бронх сужается и смещается за счет давления подлежащего образования и IV тип – когда подлежащий бронх сдавливается перибронхиально растущей опухолью, фиброзными тканями или увеличенными лимфоузлами [26].

ЧББЛ наиболее информативна при I и II типе по Tsuboi (60-82%), в то время как при III и IV типе – информативность мала (0-44%) и в таких случаях лучше использовать альтернативные методы диагностики, в частности трансбронхиальную тонкоигольную биопсию образования [24,28].

Варианты пространственного расположения периферического образования и прилежащего бронха по Tsuboi представлены на рисунке 1.3.



**Рисунок 1.3. - Варианты пространственного расположения периферического образования и прилежащего бронха по Tsuboi**

1. I тип - бронх ведет к образованию и как бы «обрывается» в нем, b) II тип – бронх окружен образованием, c) III тип – бронх сужается и смещается засчет давления подлежащего образования, d) IV тип – бронх сдавливается перибронхиально растущей опухолью, фиброзными тканями или увеличенными лимфоузлами [24].

### 1.2.6. КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ЧББЛ

Биопсия легких необходима для соответствующей диагностики и исследования различных заболеваний легких. Образцы легочной ткани могут быть получены с помощью ЧББЛ, КТ-ассистированной тонкоигольной биопсии, видеоторакоскопической биопсии или резекционной биопсии. За редким исключением, резекционная биопсия является «золотым стандартом» для получения ткани легкого у пациентов с интерстициальными легочными заболеваниями, но эта процедура инвазивная, дорогостоящая, проводится под общей анестезией, требует госпитализации. Напротив, процедура ЧББЛ имеет более широкое клиническое применение, имеет более низкий риск осложнений, проводится в амбулаторных условиях с использованием комбинированной анестезии, ее также используют при необходимости взятия нескольких биопсийных образцов [21].

Различные исследования с большой выборкой пациентов подтверждают эффективность ЧББЛ в гетерогенных группах пациентов с различными заболеваниями. Тем не менее, несмотря на то, что в 70-90% случаев при ЧББЛ производится забор адекватного образца ткани, окончательный диагноз не может быть поставлен у значительной части пациентов. Диагностическая эффективность для конкретного диагноза широко варьируется в зависимости от размера образца, локализации забора, объема материала, патофизиологии протекающего в легких патологического процесса. Результаты ЧББЛ также зависят от опыта и профессиональных навыков бронхоскописта. Неспецифические изменения ткани при ЧББЛ обычно не являются диагностически значимыми [21].

Заболевания легких, которые можно верифицировать при помощи ЧББЛ:

* Опухоли (рак легкого, метастазы)
* Инфекции (туберкулез, нетуберкулезные микобактериальные инфекции, грибковые заболевания, пневмоцистная пневмония, вирусные инфекции (ЦМВ) и др.)
* Реакция отторжения легочного трансплантата
* Недиагностированные инфильтраты у больных на ИВЛ
* Диффузные легочные заболевани (саркоидоз, лимфангитический карциноматоз, альвеолярный легочный протеиноз, легочный гистиоцитоз Лангерганса, альвеолярный микролитиаз, лимфангиолейомиоматоз, амилоидоз, облитерирующий бронхиолит) [23].

Фибробронхоскопия зачастую проводится у пациентов с отрицательным результатом микроскопии мазка. В большинстве случаев, бронхиальный смыв, бронхоальвеолярный лаваж и ЧББЛ проводятся для максимальной эффективности диагностики. ЧББЛ обеспечивает экспресс-диагностику в 17-60 % случаев подтвержденного активного туберкулеза и является единственным достоверным методом диагностики у 10-20% данных пациентов. [2]

ЧББЛ также проводят для экспресс-диагностики милиарного туберкулеза. Более того, у значительной части пациентов ЧББЛ выявляет заболевания, имитирующие туберкулез, например, рак легкого, грибковые инфекции. Поэтому целесообразно выполнять ЧББЛ при проведении ФБС у пациентов с отрицательным на M. Tuberculosis посевом мокроты [11].

* 1. ПОЛИМЕРАЗНАЯ ЦЕПНАЯ РЕАКЦИЯ МАТЕРИАЛА ЧББЛ

Ряд исследований сообщает, что исследование биоптата легочной ткани методом полимеразной цепной реакции может быть информативным в дифференциальной диагностике заболеваний легких [29].

Эти исследования имеют большое клиническое значение, так как

такой метод позволяет верифицировать инфекцию и определить микроорганизм в течение нескольких дней, по сравнению с 3-10 неделями, необходимыми для рутинной культуральной идентификации. Использование ПЦР делает возможной быструю диагностику микобактериальной инфекции с чувствительностью, равной чувствительности культурального метода респираторных образцов - мокроты и аспиратов бронхоальвеолярной жидкости [29,32].

Первое упоминание об использовании материала ЧББЛ для исследования методом ПЦР относится к 1990 году при описании клинического случая 77-летней женщины, у которой был заподозрен туберкулез по данным рентгенологического исследования. Пациентке была проведена ЧББЛ с последующим молекулярно-биологическим исследованием биоптата. Метод ПЦР выявил экспрессию гена Mycobacterium tuberculosis, и пациентке был поставлен диагноз туберкулеза. Пациентке была проведена соответствующая противотуберкулезная терапия, на фоне терапии рентгенологическая картина улучшилась, а пациентка не предъявляла жалоб в течение 3 лет после проведения терапии [30].

В 1994 году Yamada M и соавт. провели исследование информативности ПЦР материала ЧББЛ. Метод ПЦР для быстрого выявления микобактерий туберкулеза был использован для диагностики 30 клинических случаев пациентов, у которых был заподозрен туберкулез по данным рентгенографии грудной клетки. У этих пациентов в 15 случаях был гистологически диагностирован туберкулез. Среди них М. tuberculosis была обнаружена в 8 образцах методом ПЦР. Из 8 ПЦР-положительных образцов 7 также имели положительный результат бактериологического исследования. С другой стороны, 15 случаев, не подтвержденные гистологически, были диагностированы как туберкулез, и эти образцы не показали отрицательных результатов ни в ПЦР, ни в микробиологических тестах. Таким образом, метод ПЦР полезен для быстрого и прямого выявления M. tuberculosis в образцах трансбронхиальной биопсии [31].

Метод ПЦР основан на ферментативной амплификации выбранных специфических участков генома бактерий рода Mycobacterium tuberculosis, их дальнейшей детекции и идентификации. Аналитическая чувствительность метода, определяемая при последовательных разведениях суспензии бактериальных клеток, очень высока и составляет от 1 пг до 5 фг микобактериальной ДНК, что эквивалентно выявлению 1-10 бактериальных клеток. В настоящее время существует ряд разработок по использованию ПЦР в диагностике туберкулеза, но до сих пор не найдена оптимальная маркерная последовательность в геноме Mycobacterium tuberculosis, обеспечивающая максимальную специфичность и чувствительность анализа, что препятствует широкому применению ПЦР с целью выявления МБТ в практическом здравоохранении. Для инициирования ПЦР при определении микобактерий туберкулеза в клинических образцах используются различные праймеры. Одни направлены на амплификацию фрагментов ДНК генов, кодирующих микобактериальные антигены, такие как белок теплового шока (белок 65 kD), антиген b (38 kD) , МРВ 64; другие - на амплификацию повторяемых последовательностей в хромосоме микобактерий туберкулезного комплекса; третьи - на амплификацию рибосомальной РНК [32].

Более удачной оказалась маркерная последовательность, кодирующая ген антигена Mycobacterium tuberculosis 38 kD. Этот антиген не является иммунологически значимым для человека, но он высокоспецифичен в отношении микобактерий туберкулезного комплекса. Эта нуклеотидная последовательность представлена в геноме микобактерий туберкулезного комплекса в единственном числе. При оценке специфичности ПЦР R. Yuen с соавт. в качестве мишени выбрали фрагмент гена, кодирующего видоспецифичный для M. tuberculosis белок 38 kD. Тестированию подвергли 31 штамм M. tuberculosis, 15 атипичных микобактериальных видов и некоторых бактерий верхних дыхательных путей. Амплифицированный продукт в 239 н.п. был обнаружен во всех штаммах M. tuberculosis, в стандартных штаммах M. bovis и M.africanum, в других тестируемых штаммах реакция была отрицательной. Используя праймеры, комплементарные последовательности гена белкового антигена 38 kD, Y.Miyazaky с соавт. удалось определить методом ПЦР 100 КОЕ/ мл. При проведении nested ПЦР в течение 35 циклов - 0,1 КОЕ мл. Использование повторяемых последовательностей в качестве мишени для ПЦР обеспечивает амплификацию с большой чувствительностью, т.к. число копий этих последовательностей в хромосоме микобактерий туберкулезного комплекса колеблется от 9 до 16. При обнаружении МБТ используют повторяемые последовательности IS6110 и IS986, специфичные для микобактерий туберкулезного комплекса. Использование праймеров для синтеза повторяющихся в ДНК МБТ участков обеспечивает большую чувствительность анализа - до 0,1 пг ДНК, т.е. до одного микроорганизма [32].

В большинстве случаев чувствительность варьирует от 74 до 91%, а специфичность - от 72 до 100%. Метод РНК-амплификации используется в ПЦР для амплификации 16S рибосомальной РНК M. tuberculosis. Использование 16S rRNA мишени для ПЦР весьма выгодно, т.к. 16S rRNA - компонент микобактериальных рибосом и экспрессируется в большом количестве копий (от 103 до 104 на клетку). B.Boddinghaus с соавт. показали, что при обратной транскрипции rRNA образуется от 103 до 104 ДНК копий на клетку для амплификации в ПЦР. Кроме того, внутри 16S rRNA гена имеются общие для микобактерий последовательности, что позволяет амплифицировать ДНК для диагностики микобактериальных инфекций. Для дальнейшей идентификации микобактерий необходима гибридизация продукта ПЦР с высокоспецифичными зондами. Чувствительность 16S rRNA тестов достаточно высока (от 82 до 100%), специфичность 99-100%. Однако этот метод технически сложен и трудоемок, требует дорогостоящих реактивов и проведения реакции гибридизации для окончательной идентификации общего продукта ПЦР. Метод ПЦР может быть также применен для типирования микобактерий в эпидемиологических исследованиях. Так, выявление вариаций в последовательности гена, кодирующего белок 32 kD, а также в последовательности, разделяющей гены 16S и 23S РНК, позволяет проводить идентификацию различных видов M. tuberculosis и штаммов одного вида [32].

# ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе ФГБУ «Санкт-Петербургский Научно-исследовательский институт Фтизиопульмонологии» Министерства Здравоохранения Российской Федерации г. Санкт-Петербург. Все пациенты проходили обследование в ФГБУ «НИИФ» Минздрава России с подозрением на патологию грудной клетки, не верифицированную в учреждениях первичной медико-санитарной помощи.

Было отобрано 220 историй болезни пациентов, находившихся на обследовании с июля 2017 года по декабрь 2018 года во II хирургическом отделении и в амбулаторно-консультативном отделении ФГБУ «НИИФ» Минздрава России, которым была проведена чрезбронхиальная биопсия легкого. Пациенты находились на обследовании в сроки от 3 до 30 дней, с медианой 16 дней. Был проведен ретроспективный анализ историй болезни.

Все пациенты были разделены на 2 группы в зависимости от рентгенологического синдрома, выявленного по данным МСКТ, которая проводилась всем пациентам. Группы были обозначены в соответствии с номенклатурой Флейшнеровского сообщества [3]: группа 1 – округлые образования легких (или одиночный легочный узел), группа 2 – диссеминированный процесс легких (или множественное диссеминированное затемнение).

Критериями включения являлись:

* проведение чрезбронхиальной биопсии легкого;
* выявление округлых образований или диссеминированных изменений в легких по данным МСКТ органов грудной клетки;
* молекулярно-биологическое исследование биоптата, полученного при ЧББЛ методом Real-Time PCR;
* бактериологическое исследование материала ЧББЛ;
* гистологическое исследование материала ЧББЛ.

Критериями невключения являлись:

* проведение пациентам других инвазивных методов исследования (EBUS-TBNA, видеоторакоскопия).

Диагноз туберкулеза установлен больным в соответствии с Федеральными клиническими рекомендациями [5]. Обязательный диагностический минимум включал: рентгенографию грудной клетки, МСКТ, микробиологическое исследование, диаскинтест. Если диагноз неясен, проводились дополнительные инвазивные методы обследования. Референтным методом для постановки диагноза туберкулеза считалось бактериологическое исследование. При отрицательном результате бактериологического исследования окончательный диагноз выставлялся на основании клинико-рентгенологических данных.

## ОБЯЗАТЕЛЬНЫЙ ДИАГНОСТИЧЕСКИЙ МИНИМУМ

Всем пациентам проводилось комплексное обследование, включавшее в себя обязательный диагностический минимум в соответствии с клиническими рекомендациями или, при отсуствии таковых, в соответствии с мировыми гайдлайнами.

Комплексное обследование включало:

1. Сбор анамнеза (жалобы пациента на момент осмотра и в течение последних 6 месяцев, течение заболевания, последовательность развития отдельных симптомов, последнее обострение заболевания, предшествующие заболевания в течение жизни, anamnesis vitae, эпидемиологический анамнез (перенесенные ранее инфекционные заболевания или контакт с больными туберкулезом), привычные интоксикации (курение, алкоголь), профессиональный анамнез (профессиональные вредности, контакт с раздражающими веществами, аллергенами), прием лекарственных препаратов);
2. Объективное обследование (состояние больного, сознание, тип конституции, антропометрические данные, состояние кожи и слизистых оболочек, состояние периферических лимфатических узлов, осмотр по системам органов: перкуссия, пальпация, аускультация);
3. Лабораторное обследование: клинический анализ крови, биохимический анализ крови (выявлялись такие показатели, как общий белок, билирубин, АЛТ, АСТ, глюкоза, холестерин, мочевина, креатинин, электролиты), коагулогамма, общий анализ мочи, анализ кала на яйца глистов, анализы крови на ВИЧ, гепатит В, гепатит С, сифилис, определение группы крови
4. Иммунологическое исследование – тест с аллергеном туберкулезным рекомбинантным в стандартном разведении (аллерген туберкулезный рекомбинантный), раствор для внутрикожного введения - рекомбинантный белок CFP10-ESAT6 0,2 мкг, продуцируемый генетически модифицированной культурой Escherichia coli BL21 (DE3)/pCFP-ESAT, разведенный в стерильном изотоническом фосфатном буферном растворе, с консервантом (фенол). Содержит два антигена, присутствующие в вирулентных штаммах микобактерий туберкулеза и отсутствующие в вакцинном штамме БЦЖ.
5. Функциональное обследование. Спирометрия, бодиплетизмография, с измерением параметров ОФВ-1, ФЖЕЛ, индекса Тиффно, измерение диффузионной способности легких.
6. Микробиологическое исследование респираторного материала (мокроты и промывных вод бронхов), включающее:
7. ***Бактериоскопический метод.***

Исследуется не менее двух образцов материала, при увеличении кратности обследования пациента увеличивается результативность метода. Чтобы обнаружить микобактерии туберкулеза методами микроскопии, в 1 мл исследуемого материала должно содержаться не менее 10000 микробных клеток [32].

* *Микроскопия по методу Циля-Нильсена*

Метод окраски по Ziehl-Neelsen является наиболее распространенным методом для выявления кислотоустойчивых микобактерий. Он основан на использовании нескольких специальных методических приемов:

- окраска фуксином (с подогреванием)

- обесцвечивание (3 мин.) 25% раствором серной кислоты или 3% раствором солянокислого спирта. Только кислото- и спиртоустойчивые микроорганизмы стойко удерживают краситель и остаются после обесцвечивания окрашенными в малиново-красный цвет;

- контрастирующая окраска (1 мин.) метиленовым синим для придания контрастности препарату.

В результате микобактерии туберкулеза окрашиваются в малиново-красный цвет, а другие микроорганизмы и клеточные элементы - в голубой.

Препарат исследуют с масляной иммерсией в световом микроскопе.

Используют световой бинокулярный микроскоп с иммерсионным объективом 90x или 100x и окулярами 7x или 10x [32].

* *Люминесцентная микроскопия.*

Мазки, окрашенные флюорохромными красителями, просматривают под значительно меньшим увеличением (обычно 250x - 630x). В силу этого поле зрения, просматриваемое под люминесцентным микроскопом, имеет значительно большую площадь, чем поле зрения светового микроскопа. Таким образом, в ответе о результатах исследования мазка, окрашенного флюорохромами, при увеличении в 250 раз будет содержаться значительно больше бактерий, чем при исследовании этого же препарата, окрашенного по Ziehl-Neelsen и просмотренного при увеличении в 1000 раз. Используются флюорохромные красители карболового производного 0,1% аурамина О и 0,01% родамина С, окрашивающие МБТ в желто-зеленый цвет. При приготовлении мазка необходимо соблюдение и коррекция рН мазка. Применять этот метод рекомендуется при исследовании мазков, приготовленных после центрифугирования из осадка материала, обработанного для культурального исследования и нейтрализованного после деконтаминации. Поэтому метод ЛМ следует применять в бактериологических лабораториях, где культуральное и микроскопическое исследование может быть произведено из одной и той же порции диагностического материала [32].

1. ***Посев респираторного материала на жидкие и плотные питательные среды.***

Наиболее распространенным методом выявления микобактерий туберкулеза является культуральный метод. Это "золотой стандарт" бактериологической диагностики туберкулеза, так как чувствительность метода существенно выше микроскопического. Рост МБТ может быть зафиксирован через 3-8 недель культивирования. Используются плотные питательные среды на яичной основе (Левенштейна-Йенсена и Финн-2). Также используются жидкие агаровые среды Миддлбрука (7Н10, 7Н11), которые позволяют быстрее обнаружить рост микобактерий (от двух до четырех недель) и обеспечивают лучшие возможности для изучения морфологии колоний, чем на яичных средах. Для агаризованных питательных сред необходима инкубация посевного материала в термостате с углекислым газом. Для культивирования используется автоматизированная люминесцентная система BACTEC MGIT 960BD. Флаконы MGIT с жидкой питательной средой 7Н9 содержат в придонной части под силиконом флуоресцентный индикатор, "погашенный" высокими концентрациями кислорода. При наличии роста микобактерий в процессе поглощения кислорода индикатор начинает светиться, регистрация флуоресценции в сисиеме BACTEC MGIT производится автоматически. Использование флаконов MGIT возможно и "вручную", тогда регистрацию свечения производят с помощью трансиллюминатора на флаконах MGIT составляет 11 суток [32].

1. *Идентификация культур* [5]*.*
2. *Определение лекарственной чувствительности МБТ к противотуберкулезным препаратам классическими микробиологическими и молекулярно-генетическими методами* [5]*.*

## ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ

1. Рентгенография грудной клетки цифровая или аналоговая. Проводилась с помощью цифрового рентгенодиагностического комплекса на аппарате Stephanix (Франция) по стандартной методике в двух проекциях (прямой и боковой).
2. Мультиспиральная компьютерная томография.

Проводилась на аппаратах Aquilion 32 и Aquilion Prime фирмы Toshiba. Система Aquilion 32 представляет собой мультисрезовый КТ-сканер с возможностью одновременного сбора данных 32 срезов толщиной 1 мм со временем полного оборота 0,5 с. Система обеспечивает низкоконтрастное разрешение 2 мм при 0,3% и высококонтрастное разрешение 0,35 мм по осям x, y и z. Рутинные мультисрезовые спиральные КТ исследования осуществляются с использованием тонких срезов, обеспечивая получение высокоточных 3D и мультипланарных реконструкций.  Исследование проводилось в положении больного на спине, начиналось с уровня яремной ямки и достигало плевральных синусов.

## ИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ОБСЛЕДОВАНИЯ - ЧРЕЗБРОНХИАЛЬНАЯ БИОПСИЯ ЛЕГКИХ

Для верификации диагноза пациентам проводилась фибробронхоскопия с ЧББЛ в условиях рентгеноперационной. Манипуляция проводилась под местной анестезией 2% раствором лидокаина или под наркозом. ЧББЛ осуществлялась с использованием видеобронхоскопов Pentax EB-1970 TK (P 32) с внешним диаметром как дистального конца, так и вводимой части тубуса 6,1 мм и инструментальным каналом 2,8 мм, стандартных одноразовых биопсийных щипцов типа «Аллигатор» с механизмом SwingJaw (Olympus, Япония). Полученный биопсийный материал направляли на гистологическое и бактериологическое исследования во всех случаях, независимо от количества полученного материала. Во время одного исследования производилось взятие от 1 до 8 кусочков ткани, в зависимости от переносимости больным процедуры и наличия осложнений. Как правило выполнялся забор 5 биоптатов для гистологического исследования и 1 образец для молекулярно-биологического исследования.

## СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Создание электронной таблицы и графическое сопровождение были произведены с помощью приложения Microsoft Office Excel 2010.

Дискретные показатели описывались абсолютным значением и долей от целого n (%).

Для сравнения порядковых переменных использовался непараметрический критерий Пирсона (χ 2). Были составлены четырехпольные таблицы сопряженности. Был рассчитан показатель степени расхождения реальных (эмпирическое распределение) и ожидаемых частот (теоретическое распределение). Вероятность определенного значения коэффициента рассчитывалась с учетом закона теоретического распределения при условии, что в генеральной совокупности признаки независимы. Достоверно значимыми считались различия при уровне p < 0,05.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

В исследуемую группу входили 115 мужчин (52%) и 105 женщин (48%) в возрасте от 18 до 82 лет. Средний возраст пациентов составил 53 года.

В группе 1 (округлые образования легких) оказалось 110 пациентов (50%). Среди них 59 женщин (53%) и 51 мужчин (47%). Средний возраст составил 53,14 лет.

Данные о распределении больных по полу и возрасту среди пациентов группы 1 (округлые образования легких) представлены в таблице 1. Возраст пациентов распределен в соответствии с международной классификацией ВОЗ. Как видно из таблицы 1 среди пациентов с округлыми образованиями легких преобладают женщины 60-75 лет и мужчины 18-44 лет.

Таблица 1

**Распределение больных по полу и возрасту среди пациентов с округлыми образованиями легких**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 18-44 лет | 44-60 лет | 60-75 лет | 75-90 лет | Всего |
| Мужчины | 23 (21%) | 15 (13%) | 10 (9%) | 3 (2%) | 51 (47%) |
| Женщины | 20 (18%) | 16 (15%) | 20 (18%) | 3 (2%) | 59 (53%) |
| Всего | 43 (40%) | 31 (28%) | 30 (27%) | 6 (5%) | 110 |

В группе 2 (диссеминированный процесс легких) оказалось 110 пациентов. Среди них 46 женщин и 64 мужчин. Средний возраст составил 53,46 лет.

Данные о распределении больных по полу и возрасту среди пациентов группы 2 (диссеминированный процесс легких) представлены в таблице 2. Возраст пациентов распределен в соответствии с международной классификацией ВОЗ. Как видно из таблицы 2, среди пациентов с диссеминированными процессами легких преобладают женщины 60-75 лет и мужчины 60-75 лет.

Таблица 2

**Распределение больных по полу и возрасту среди пациентов с диссеминированными процессами легких**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 18-44 лет | 44-60 лет | 60-75 лет | 75-90 лет | Всего |
| Мужчины | 5 (4%) | 10 (9%) | 14 (13%) | 12 (11%) | 46 (42%) |
| Женщины | 8 (7%) | 15 (13%) | 28 (25%) | 18 (16%) | 64 (58%) |
| Всего | 13 (12%) | 25 (23%) | 42 (38%) | 30 (27%) | 110 |

# ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

## 3.1. НОЗОЛОГИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ПАЦИЕНТОВ

По результатам комплексного обследования диагноз был верифицирован у 87% пациентов. У пациентов группы 1 (ООЛ) диагноз был верифицирован в 98 % случаев. У пациентов группы 2 (ДПЛ) диагноз был верифицирован в 77% случаев. Распределение диагнозов представлено на рисунке 2.1.1., 2.1.2., 2.1.3.

**Рисунок 2.1.1. – Общая верификация диагноза**

**Рисунок 2.1.2. – Верификация диагноза в группе 1 (ООЛ)**

**Рисунок 2.1.3 – Верификация диагноза в группе 2.1.3.**

По результатам комплексного обследования пациентов группы 1 (округлые образования легких) диагностированы следующие заболевания: у 41% (45 человек) выявлен туберкулез; у 50% (55 человек) – злокачественные новообразования; у 2,5% (3 человека) – интерстициальные заболевания неуточненные; у 6% (6 человек) – пневмония; у 0,5% (1 человек) - другие заболевания уточненные (посттуберкулезный пневмофиброз). Распределение больных по окончательному диагнозу (диагноз при выписке) представлено на рисунке 2.2 – Нозологическая структура группы 1 (ООЛ).

**Рисунок 2.2 – Нозологическая структура группы 1 (ООЛ)**

По результатам комплексного обследования пациентов группы 2 (ДПЛ) диагностированы следующие заболевания: у 25% (27 человек) выявлен туберкулез; у 4% (5 человек) – злокачественные новообразования; у 36% (39 человек) – саркоидоз; у 21% (23 человека) – интерстициальные заболевания неуточненные; у 1,5% (2 человека) – пневмония; у 4,5% (5 человек) – микобактериоз, у 8% (9 человек) - другие заболевания уточненные (токсико-аллергический альвеолит, бронхиолит, бронхоэктазы, гистиоцитоз Х). Распределение больных по окончательному диагнозу (диагноз при выписке) представлено на рисунке 2.3 - Нозологическая структура группы 2 (ДПЛ).

**Рисунок 2.3 - Нозологическая структура группы 2 (ДПЛ)**

## 3.2. РЕНТГЕНОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПАЦИЕНТОВ

Всем пациентам была проведена мультиспиральная компьютерная томография. Рентгенологическая картина была классифицирована в соответствии с номенклатурой Флейшнеровского сообщества [3]: группа 1 – округлые образования легких (110 пациентов, что составляет 50%), группа 2 – диссеминированный процесс легких (110 пациентов, что составляет также 50%). Распределение пациентов по рентгенологическому синдрому отражено на рисунке 2.4.

**Рисунок 2.4. – Распределение пациентов по рентгенологическому синдрому**

В группе 1 в зависимости от размера были выделены: узелок (размер менее 1 см), узел (размер 1 – 3 см), масса (более 3 см). Узлы в свою очередь были разделены на узлы менее 2 см и узлы более 2 см. Наибольшую группу составила группа «узлы» - 60 пациентов (54,5 %). Наименьшую группу составила группа «узелок» - 5 пациентов (4,5%). Распределение пациентов по размеру образования представлены в таблице 3.

Таблица 3

**Распределение пациентов группы 1 (ООЛ) по размеру образования**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Менее 1 см | 1 – 2 см | 2 – 3 см | Более 3 см |
| 5 пациентов | 29 пациентов | 31 пациентов | 45 пациентов |
| 4,5% | 26,5% | 28% | 41% |

Диссеминированные поражения (группа 2) были разделены на 2 группы: по распространенности: ограниченное или распространенное поражение одного легкого (28 человек, что составило 25%); диффузное поражение обоих легких (82 человека, что составило 75%). Также диссеминированные поражения были разделены по признаку места забора биоптата: забор биоптата из одного участка (90 пациентов, что составило 93%); из нескольких участков (20 пациентов, что составило 7%).

В группе 1 (ООЛ) наибольшую группу составили пациенты, у которых ЧББЛ производилась из 1 и 2 сегментарного бронхов верхнего сегмента легкого. Пациенты, у которых забор биоптата производился из верхнего сегмента правого легкого (1 – 3 сегментарный бронх) составили 38% (43 пациента). Пациенты, у которых забор биоптата производился из верхнего сегмента левого легкого (1 и 2 сегментарный бронх) составили 21% (23 пациента).

Распределение пациентов группы 1 (ООЛ) в зависимости от локализации места забора биоптата представлено в таблице 3.

Таблица 3

**Локализация места забора биоптата у пациентов группы 1 (ООЛ)**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Левое легкое | | | Правое легкое | | |
| Верхняя доля | | Нижняя доля | Верхняя доля | Средняя доля | Нижняя доля |
| 1 и 2 сегментарные бронхи | 3 - 5 сегментарные бронхи | 6, 8 - 10 сегментарные бронхи | 1 – 3 сегментарные бронхи | 4 – 5 сегментарные бронхи | 6 - 10 сегментарные бронхи |
| 23 | 6 | 11 | 43 | 9 | 18 |
| 21 % | 5,5% | 10% | 38% | 8,5% | 17% |

В группе 2 (ДПЛ) наибольшую группу также составили пациенты, у которых ЧББЛ производилась из 1 и 2 сегментарного бронхов верхнего сегмента легкого. Пациенты, у которых забор биоптата производился из верхнего сегмента правого легкого (1 – 3 сегментарный бронх) составили 45,5% (49 пациентов). Пациенты, у которых забор биоптата производился из верхнего сегмента левого легкого (1 и 2 сегментарный бронх) составили 10% (11 пациентов).

Также у 18% пациентов (20 пациентов) был произведен забор биоптата из обоих легких. Выбор места проведения ЧББЛ был сделан на основании плотности диссеминации, либо наличия одного/нескольких более крупных очагов. ЧББЛ была произведена в различных сегментах легких (1-10 сегмент).

Распределение пациентов группы 2 (ДПЛ) в зависимости от локализации места забора биоптата представлено в таблице 4.

Таблица 4

**Локализация места забора биоптата у пациентов группы 2 (ДПЛ)**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Левое легкое | | | Правое легкое | | | ЧББЛ из обоих легких |
| Верхняя доля | | Нижняя доля | Верхняя доля | Средняя доля | Нижняя доля |
| 1 и 2 сегментарные бронхи | 3 - 5 сегментарные бронхи | 6, 8 - 10 сегментарные бронхи | 1 – 3 сегментарные бронхи | 4 – 5 сегментарные бронхи | 6 - 10 сегментарные бронхи | 1 – 10 сегментарные бронхи |
| 11 | 8 | 4 | 49 | 8 | 10 | 20 |
| 10 % | 7% | 3,5% | 45,5% | 7% | 9% | 18% |

## 3.3. РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОВЕДЕНИЯ ЧББЛ

### 3.3.1.ОБЩАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ЧББЛ

ЧББЛ была проведена всем обследуемым пациентам. 180 больным (82%) окончательный диагноз был поставлен на основании результатов ЧББЛ. Информативным результатом являлось получение легочной ткани, на основании лабораторного исследования которой удалось поставить окончательный диагноз: специфическое гранулематозное воспаление, наличие гигантских эпителиоидных клеток Пирогова-Лангханса или положительный результат бактериологического или молекулярно-биологического исследований (для туберкулезного поражения); наличие опухолевых клеток и положительный результат иммуногистохимического исследования (для опухолевого поражения); гранулематозное воспаление при отрицательных результатах бактериологического исследования (для саркоидозного поражения).

В анализируемой выборке ЧББЛ оказалась высокоинформативным методом обследования. В группе 1 (ООЛ) диагноз по результатам ЧББЛ удалось поставить 100 пациентам из 110, что составляет 90%. В группе 2 (ДПЛ) диагноз по результатам ЧББЛ удалось поставить 81 пациенту из 110 (73%).

В дальнейшем была оценена информативность использования ЧББЛ для верификации туберкулеза.

Критериями верификации туберкулеза при ЧББЛ считалось обнаружение в образце ткани признаков специфического гранулематозного воспаления (казеозного некроза, гигантских эпителиоидных клеток Пирогова-Лангханса), обнаружение ДНК МБТ туберкулезного комплекса методом ПЦР, положительный результат бактериологического исследования биоптата на МБТ. Неинформативным образцом считалось обнаружение в биоптате признаков неспецифического воспаления, пневмофиброза, склероза, обнаружение неизмененной легочной ткани, бронхиального эпителия, слизи.

Для сравнения информативности различных методов верификации диагноза были рассчитаны параметры специфичности, чувствительности, точности, предположительной ценности положительного ответа, предположительной ценности отрицательного ответа.

Чувствительность ЧББЛ различается в группе 1 (ООЛ) чувствительность оказалась выше (86%), чем в группе 2 (ДПЛ) (79%): Специфичность, а следовательно и ПЦПО ЧББЛ в обеих группах (ООЛ и ДПЛ) очень высокая: 100% и 98% соответственно.

В обеих группах (ООЛ и ДПЛ) при сравнении эмпирического и теоретического распределений (значение χ 2) статистически значимых различий не выявлено (p>0,05).

Информативность ЧББЛ в верификации туберкулеза для групп 1 (ООЛ) и группы 2 (ДПЛ) представлена в таблице 5.

Таблица 5

**Информативность ЧББЛ в верификации туберкулеза**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Параметры | Группа 1 (ООЛ) | Группа 2 (ДПЛ) |
| Чувствительность | 86% | 79% |
| Специфичность | 100% | 98% |
| Точность | 93% | 92% |
| ПЦПО | 100% | 96% |
| ПЦОО | 89% | 91% |
| P | >0,05 | >0,05 |

Был проведен анализ информативности ЧББЛ в группе 2 (ДПЛ) в зависимости от того, из одного или из нескольких сегментарных бронхов была проведена ЧББЛ. Информативность ЧББЛ в группе пациентов, у которых забор биоптата производился из двух и более сегментарных бронхов, оказалась значительно выше - 84%, чем у пациентов, которым был производен забор биоптата только из одного сегментарного бронха - 62%.

Чувствительность и специфичность ЧББЛ при заборе биоптата из нескольких сегментарных бронхов выше, чем при заборе из одного сегментарного бронха: 72% и 83% соответственно.

В обеих группах при сравнении эмпирического и теоретического распределений (значение χ 2) статистически значимых различий не выявлено (p>0,05).

Диагностическая ценность ЧББЛ в верификации туберкулеза среди пациентов группы 2 (ДПЛ) в зависимости от места забора биоптата представлена в таблице 6.

Таблица 6

**Информативность ЧББЛ в верификации туберкулеза среди пациентов группы 2 (ДПЛ) в зависимости от места забора биоптата**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Параметры | Забор биоптата из одного сегментарного бронха | Забор биоптата из нескольких сегментарных бронхов |
| Чувствительность | 66% | 72% |
| Специфичность | 73% | 83% |
| Точность | 59% | 69% |
| ПЦПО | 72% | 82% |
| ПЦОО | 60% | 65% |
| p | >0,05 | >0,05 |

В группе 1 (ООЛ) был проведен анализ информативности ЧББЛ в верификации туберкулеза в зависимости от размера образования: менее 2 см и более 2 см. Информативность ЧББЛ при образованиях более 2 см оказалась значительно выше, чем при образованиях менее 2 см: 24% и 68% соответственно.

Чувствительность и специфичность ЧББЛ в верификации туберкулеза при образованиях более 2 см оказалась выше, чем при образованиях менее 2см: 56% и 78% соответственно для образований менее 2 см, 61 и 81 % для образований более 2 см соответственно.

В обеих группах при сравнении эмпирического и теоретического распределений (значение χ 2) статистически значимых различий не выявлено (p>0,05).

Диагностическая ценность ЧББЛ в верификации туберкулеза среди пациентов группы 1 (ООЛ) в зависимости от места забора биоптата представлена в таблице 7.

Таблица 7

**Информативность ЧББЛ в верификации туберкулеза среди пациентов группы 1 (ООЛ) в зависимости от размера образования**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Параметры | Образование менее 2 см | Образование более 2 см |
| Чувствительность | 56% | 61% |
| Специфичность | 78% | 81% |
| Точность | 70% | 74% |
| ПЦПО | 80% | 78% |
| ПЦОО | 55% | 65% |
| p | >0,05 | >0,05 |

### 3.3.2. ОБЩАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ПЦР

Информативность молекулярно-биологического метода (ПЦР) в группе 1 и в группе 2 представлена в таблице 8.

Таблица 8

**Информативность ПЦР в верификации туберкулеза**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Параметры | Группа 1 (ООЛ) | Группа 2 (ДПЛ) |
| Чувствительность | 48% | 59% |
| Специфичность | 82% | 80% |
| Точность | 69% | 76% |
| ПЦПО | 64% | 51% |
| ПЦОО | 70% | 85% |
| p | <0,05 | <0,05 |

В группе 1 (ООЛ) при сравнении эмпирического и теоретического распределений, значение χ 2 показало, что истинно-положительный результат ПЦР встречается достоверно чаще ожидаемого (p<0,05). Данные, на основании которых был рассчитано значение *p* представлены в таблице сопряженности (таблица 9).

Таблица 9

Кросстабуляция ПЦР и диагноза «туберкулез» группы 2

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | туберкулез | | Всего |
| не туберкулез | туберкулез |
| ПЦР | отриц.ПЦР | Наблюдаемое количество | 52 | 24 | 76 |
| Ожидаемое количество | 44,2 | 31,8 | 76,0 |
| Стандартизированный остаток | 1,2 | -1,4 |  |
| полож.ПЦР | Наблюдаемое количество | 12 | 22 | 34 |
| Ожидаемое количество | 19,8 | 14,2 | 34,0 |
| Стандартизированный остаток | -1,7 | 2,1 |  |
| Всего | | Наблюдаемое количество | 64 | 46 | 110 |
| Ожидаемое количество | 64,0 | 46,0 | 110,0 |

В группе 2 (ДПЛ) анализ χ 2 для метода ПЦР показал, что истинно-положительный результат ПЦР встречается достоверно чаще ожидаемого (p<0,05). Данные, на основании которых был рассчитано значение *p* представлены в таблице сопряженности (таблица 10).

Таблица 10

Кросстабуляция ПЦР и диагноза «туберкулез» группы 2 (ДПЛ)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | туберкулез | | Total |
| не туберкулез | туберкулез |
| ПЦР | отриц.ПЦР | Count | 68 | 11 | 79 |
| Expected Count | 59,6 | 19,4 | 79,0 |
| Std. Residual | 1,1 | -1,9 |  |
| полож.ПЦР | Count | 15 | 16 | 31 |
| Expected Count | 23,4 | 7,6 | 31,0 |
| Std. Residual | -1,7 | 3,0 |  |
| Total | | Count | 83 | 27 | 110 |
| Expected Count | 83,0 | 27,0 | 110,0 |

### 3.3.3. ОБЩАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Информативность бактериологического метода в верификации туберкулеза в группе 1 и в группе 2 представлена в таблице 11.

Таблица 11

**Информативность бактериологического метода**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Параметры | Группа 1 (ИИЛ) | Группа 2 (ДПЛ) |
| Чувствительность | 59% | 44% |
| Специфичность | 100% | 100% |
| Точность | 74% | 85% |
| ПЦПО | 100% | 100% |
| ПЦОО | 70% | 84% |
| p | <0,05 | <0,05 |

В группе 1 (ООЛ) при анализе χ 2 бактериологического исследования истинно-положительные результаты встречались достоверно чаще ожидаемого (p<0,05). Данные, на основании которых был рассчитано значение *p* представлены в таблице сопряженности (таблица 12).

Таблица 12

Кросстабуляция бактериологического метода и диагноза «туберкулез» группы 1 (ООЛ)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | туберкулез | | Total |
| не туберкулез | туберкулез |
| посев | отриц.посев | Count | 64 | 30 | 94 |
| Expected Count | 54,7 | 39,3 | 94,0 |
| Std. Residual | 1,3 | -1,5 |  |
| полож.посев | Count | 0 | 16 | 16 |
| Expected Count | 9,3 | 6,7 | 16,0 |
| Std. Residual | -3,1 | 3,6 |  |
| Total | | Count | 64 | 46 | 110 |
| Expected Count | 64,0 | 46,0 | 110,0 |

В группе 2 (ДПЛ) при анализе χ 2 бактериологического исследования истинно-положительные результаты встречались достоверно чаще ожидаемого (p<0,05). Данные, на основании которых был рассчитано значение *p* представлены в таблице сопряженности (таблица 10).

Таблица 13

Кросстабуляция бактериологического метода и диагноза «туберкулез» группы 2 (ДПЛ)

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | туберкулез | | Total |  |
| не туберкулез | туберкулез |  |
| посев | отриц.посев | Count | 83 | 16 | 99 |  |
| Expected Count | 74,7 | 24,3 | 99,0 |  |
| Std. Residual | 1,0 | -1,7 |  |  |
| полож.посев | Count | 0 | 11 | 11 |  |
| Expected Count | 8,3 | 2,7 | 11,0 |  |
| Std. Residual | -2,9 | 5,1 |  |  |
| Total | | Count | 83 | 27 | 110 |  |
| Expected Count | 83,0 | 27,0 | 110,0 |  |

### 3.3.4. ОБЩАЯ ИНФОРМАТИВНОСТЬ ГИСТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Информативность гистологического метода в верификации туберкулеза в группе 1 (ООЛ) и в группе 2 (ДПЛ) представлена в таблице 14.

Таблица 14

**Информативность гистологического метода**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Параметры | Группа 1 (ООЛ) | Группа 2 (ДПЛ) |
| Чувствительность | 48% | 55% |
| Специфичность | 98% | 42% |
| Точность | 78% | 45% |
| ПЦПО | 95% | 24% |
| ПЦОО | 73% | 72% |
| p | <0,05 | >0,05 |

При анализе χ 2 для гистологического исследования оказалось, что ложноотрицательные и ложноположительные результаты гистологического исследования встречаются достоверно реже ожидаемого, а истинно-положительные – достоверно чаще ожидаемого (p<0,05). Данные, на основании которых был рассчитано значение *p* представлены в таблице сопряженности (таблица 15).

Таблица 15

Кросстабуляция гистологического исследования и диагноза «туберкулез» группы 1 (ООЛ)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | туберкулез | | Total |
| не туберкулез | туберкулез |
| гистология | отриц.гистология | Count | 63 | 23 | 86 |
| Expected Count | 50,0 | 36,0 | 86,0 |
| Std. Residual | 1,8 | -2,2 |  |
| полож.гистология | Count | 1 | 23 | 24 |
| Expected Count | 14,0 | 10,0 | 24,0 |
| Std. Residual | -3,5 | 4,1 |  |
| Total | | Count | 64 | 46 | 110 |
| Expected Count | 64,0 | 46,0 | 110,0 |

При анализе гистологического исследования оказалось, что различия эмпирического и теоретического распределений незначимы (p>0,05). Данные, на основании которых был рассчитано значение *p* представлены в таблице сопряженности (таблица 16).

Таблица 16

Кросстабуляция гистологического исследования и диагноза «туберкулез» группы 2 (ДПЛ)

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | туберкулез | | Total |
| не туберкулез | туберкулез |
| гистология | отриц.гистология | Count | 35 | 14 | 49 |
| Expected Count | 37,0 | 12,0 | 49,0 |
| Std. Residual | -,3 | ,6 |  |
| полож.гистология | Count | 48 | 13 | 61 |
| Expected Count | 46,0 | 15,0 | 61,0 |
| Std. Residual | ,3 | -,5 |  |
| Total | | Count | 83 | 27 | 110 |
| Expected Count | 83,0 | 27,0 | 110,0 |

### 3.3.5. СРАВНЕНИЕ ИНФОРМАТИВНОСТИ ДИГНОСТИЧЕСКИХ ТЕСТОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРИ ЧББЛ

Таким образом, в группе 1 (ООЛ) все диагностические тесты сами по себе, изолированно, обладают достаточно высокой специфичностью (82-98%), но низкой чувствительностью (33-48%).

При этом наибольшая чувствительность и специфичность в группе 1 (ООЛ) выявлена для молекулярно-биологического исследования (Se 48%, Sp 82%).

Сравнение информативности трех исследуемых методов в группе 1 (ООЛ) отображено на рисунке 2.5.

**Рисунок 2.5 – Сравнение информативности исследуемых методов в группе 1 (ООЛ)**

В группе 2 (ДПЛ) при анализе информативности различных методов верификации диагноза туберкулеза было выявлено, что все диагностические тесты сами по себе, изолированно, обладают относительно низкой чувствительностью (40-59%) достаточно высокой специфичностью (80-100%), за исключением гистологического метода, который обладает также и низкой специфичностью (42%).

При этом наибольшая чувствительность в группе 2 (ДПЛ) выявлена для метода ПЦР (59%), а наибольшая специфичность – для бактериологического исследования (100%).

Сравнение информативности трех исследуемых методов в группе 2 (ДПЛ) отображено на рисунке 2.6.

**Рисунок 5 - Сравнение информативности исследуемых методов в группе 2.6. (ДПЛ)**

# ВЫВОДЫ

1. Установлена диагностическая эффективность применения чрезбронхиальной биопсии в верификации этиологии округлых образований легких и диссеминированных процессов лёгких. ЧББЛ является высокоинформативным исследованием и может применяться в верификации диагноза туберкулеза. Информативность ЧББЛ в верификации туберкулеза при округлых образованиях легких достоверно выше, чем при диссеминированных процессах легких (90% и 73% соответственно).

Установлено, что информативность ЧББЛ выше при размере образования >2 см в случае ООЛ и при заборе биоптата из нескольких сегментов легких в случае ООЛ.

1. Проведено сравнение диагностической эффективности гистологического, микробиологического и молекулярно-биологического методов диагностики туберкулеза. Отрицательный результат микробиологического исследования на микобактерии туберкулеза не позволяет исключить диагноз туберкулеза и требует продолжения диагностического поиска с использованием других инвазивных методов. Обнаружение ДНК МБТ в материале ЧББЛ с большой вероятностью позволяет заподозрить туберкулез.
2. Установлена зависимость между рентгенологической картиной (синдромом) и информативностью методов верификации диагноза. При ООЛ комплексное обследование позволяет верифицировать диагноз у 98% пациентов, при ДПЛ – у 77% больных соответственно.

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

[1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2016. Geneva: World Health Organization; 2016 WHO/HTM/TB/2016.13.

[2] Michele Mondonia, Alice Repossib, Paolo Carluccia, Stefano Centannia, Giovanni Sotgiu. Bronchoscopic techniques in the management of patients with tuberculosis. International Journal of Infectious Diseases 2017

[3] Theron G, Peter J, Meldau R, et al. Accuracy and impact of Xpert MTB/RIF for the diagnosis of smear-negative or sputum-scarce tuberculosis using bronchoalveolar lavage fluid. Thorax 2013;68:1043–51

[4] Fleishner Sosciety guidelines for management of Incidentally Detecred Pulmonary nodules in adults, 2017

[5] [Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению туберкулеза органов дыхания с множественной и широкой лекарственной устойчивостью возбудителя (Издание третье).](http://roftb.ru/netcat_files/doks2015/rec2018.pdf)2015г. 35 с.

[6] Steingart K.R., Ng V., Henry M, Ramsay A., Cunningham J., Urbanczik R., Perkins M.D., Aziz M.A., Pai M. Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. Lancet. Infect. Dis. 2006;6:664–674. doi: 10.1016/S1473-3099(06)70602-8.

[7] Hepple P, Ford N, McNerney R. Microscopy compared to culture for the diagnosis of tuberculosis in induced sputum samples: a systematic review. Int J Tuberc Lung Dis 2012;16:579–88.

[8] Lewinsohn DM, Leonard MK, LoBue PA, et al. Official American thoracic society/ infectious diseases society of America/centers for disease control and prevention clinical practice guidelines: diagnosis of tuberculosis in adults and children. Clin Infect Dis 2017;64:111–5.

[9] Нечаева О.Б. Эпидемическая ситуация по туберкулезу в России. Туберкулез и болезни легких. 2018;96(8):15-24. [doi10.21292/2075-1230-2018-96-8-15-24](https://doi.org/10.21292/2075-1230-2018-96-8-15-24)

[10] Ahmad M, Livingston DR, Golish JA, Mehta AC, Wiedemann HP. The safety of outpatient bronchoscopy. Chest. 1986;90:403–5.

[11] Transbronchial Lung Biopsy /; Prasoon Jain, Sarah Hadique, Atul C. Mehta doi: 10.1007/978-1-62703-395-4\_2

[12] Blasco LH, Hernandez IMS, Garrido VV, et al. Safety of the transbronchial biopsy in outpatients. Chest. 1991;99:562–5

[13] Cunningham JH, Zavala DC, Corry RJ, Keim LW. Trephine air drill, bronchial brush, and fiberoptic transbronchial lung biopsies in immunosuppressed

patients. Am Rev Respir Dis. 1977;115:213–20.

[14] Diaz-Guzman E, Vadi S, Minai OA, Gildea TR, Mehta AC. Safety of diagnostic bronchoscopy in patients with pulmonary hypertension. Respiration.

2009;77:292–7.

[15] Wahidi MM, Rocha AT, Hollingsworth JW, Govert JA, Feller-Kopman D, Ernst A. Contraindications and safety of transbronchial biopsy via flexible bronchoscopy. Respiration. 2005;72:285–95.

[16] Morris MJ, Peacock MD, Mego DM, Johnson JE, Anders GT. The risk of hemorrhage from bronchoscopic lung biopsy due to pulmonary hypertension

in interstitial lung disease. J Bronchol. 1998;5:117–21.

[17] Kvale PA. Bronchoscopic lung biopsy. How I do it. J Bronchol. 1994;1:321–6.

[18] Zavala DC. Transbronchial biopsy in diffuse lung disease. Chest. 1978;73:727S–33.

[19] Gilman MF, Wang KP. Transbronchial biopsy in sarcoidosis. An approach to determine the optimal number of biopsies. Am Rev Respir Dis. 1980;122:721–4.

[20] Anders GT, Linville KC, Johnson JE, Blanton HM. Evaluation of float sign for determining adequacy of specimens obtained with transbronchial biopsy. Am Rev Respir Dis. 1991;144:1406–7.

[21] Wu CC, Maher MM, Shepard JA. Complications of CT-guided percutaneous needle biopsy of the chest: prevention and management. AJR Am J Roentgenol. 2011;196:678–82.

[22] Descombes E, Gardiol D, Leuenberger P. Transbronchial lung biopsy: an analysis of 530 cases with reference to the number of samples. Monaldi Arch Chest Dis. 1997;52:324–9

[23] Andersen HA. Transbronchial lung biopsy for diffuse pulmonary disease. Results in 939 patients. Chest. 1978;73:734S–6.

[24] Interventional Bronchoscopy. A Clinical Guide. Mehta A., Jain P. //Springer, 2013. p.15-44.

[25] Rivera M.P., Mehta A.C. Initial diagnosis of lung cancer. ACCP evidence-based clinical practice guidelines. 2nd edition // Chest. 2007;132:131S–48.

[26] Tsuboi E., Ikeda S., Tajima M., Shimosato Y., Ishikawa S. Transbronchial biopsy smear for diagnosis of peripheral pulmonary carcinomas // Cancer. 1967 May;20(5):687-98.

[27] Rial M., Delgado M., Sanmartin A., et al. Multivariate study of predictive factors for clearly deﬁned lesions without visible endobronchial lesions in transbronchial biopsies // Surg Endosc. 2010;24: 3031–6.

[28] Bilaceroglu S, Perim K, Gunel O, Cagirici U, Buyuksirin M. Combining transbronchial aspiration with endobronchial and transbronchial biopsy in sarcoidosis // Monaldi Arch Chest Dis. 1999;54:217–23.

[29] DeWit D, Steyn L, Shoemaker S, Sogin M. Direct detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical specimens by DNA amplification. J Clin Microbiol 1990;28:2437-2441.

[30] [Abe Y](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Abe%20Y%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11201138), [Fujino T](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Fujino%20T%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11201138), [Hashizume T](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hashizume%20T%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11201138), [Suzuki K](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Suzuki%20K%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11201138), [Kikuchi K](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kikuchi%20K%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=11201138).A case of pulmonary tuberculosis diagnosed by DNA amplification methods from transbronchiallung biopsy materials. [Kekkaku.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11201138) 2000 Dec;75(12):705-9.

[31] [Yamada M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Yamada%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Furuse K](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Furuse%20K%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Kawahara M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kawahara%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Ogawara M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ogawara%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Atagi S](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Atagi%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Okada T](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Okada%20T%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Kawaguchi Y](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kawaguchi%20Y%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Kamimori T](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Kamimori%20T%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Nakao M](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Nakao%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753), [Ueda E](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ueda%20E%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=7807753).Detection of Mycobacterium tuberculosis in transbronchial biopsy specimens by polymerase chain reaction. [Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7807753) 1994 Aug;32(8):747-51.

[32] Perosio, P. M., & Frank, T. S. (1993). Detection and Species Identification of Mycobacteria in Paraffin Sections of Lung Biopsy Specimens by the Polymerase Chain Reaction. American Journal of Clinical Pathology, 100(6), 643–647. doi:10.1093/ajcp/100.6.643

[33] Генодиагностика во фтизиатрии. Бочкарев Е.Г., Денисова Т.С., Генерозов Э.В., Говорун В.М., Никитченко Е.Ю., Черноусова Л.Н., Кузнецов П.В., Москва 2000

[34] World Health Organization. Policy statement: automated real-time nucleic acid amplification technology for rapid and simultaneous detection of tuberculosis and rifampicin resistance. Xpert MTB/RIF. Policy statement. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2011.