

Изобретение относится к области медицины и может найти применение во фтизиатрии и пульмонологии для дифференциальной диагностики диссеминированного туберкулеза и саркоидоза легких.

Известен способ дифференциальной диагностики туберкулеза и саркоидоза, заключающийся в проведении реакции бластной трансформации лимфоцитов (РБТЛ). Сущность РБТЛ состоит в том, что к гепаринизированной крови, разведенной питательной средой добавляют фитогемагглютинин и инкубируют в термостате при 37°C 3 суток/ Затем центрифугируют в течение 10мин при 3000 - 4000об/мин. Надосадочную жидкость собирают, а клетки тщательно ресуспендируют в оставшейся капле среды и заливают фиксатор. После фиксации взвесь клеток центрифугируют 10мин при 1000об/мин, фиксатор удаляют, а клетки высушивают и окрашивают. Учет реакции производят мкм-роскопированием, подсчитывая количество бластов, бластоподобных переходных форм и лимфоцитов [56].

Однако данному способу присущи следующие недостатки:

недостаточная точность дифференциальной диагностики туберкулеза и саркоидоза легких;

длительность постановки реакции - 96 часов;

технологическая сложность осуществления методики.

Данный способ является наиболее близким по технической сущности заявляемому изобретению и принят в качестве прототипа.

В основу изобретения поставлена задача усовершенствования способа дифференциальной диагностики диссеминированного туберкулеза и саркоидоза легких, в котором путем определения интенсивности люминолзависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) нейтрофильных гранулоцитов (НГ) обеспечивается повышение точности и сокращение времени дифференциальной диагностики указанных заболеваний.

Поставленная задача решается тем, что в способе дифференциальной диагностики диссеминированного туберкулеза и саркоидоза легких, заключающемся в определении функциональной активности лейкоцитов крови больного, согласно изобретению, во взвеси НГ в течение часа определяют интенсивность ЛЗХЛ и при увеличении максимального уровня интенсивности ЛЗХЛ в 5 раз и более по сравнению с исходным уровнем диагностируют диссеминированный туберкулез легких, а при увеличении этого показателя в 2 - 4 раза по сравнению с исходным - саркоидоз легких.

Способ осуществляется следующим образом,

У исследуемого больного забирают 2мл крови из вены и вносят в пробирку с 0,1мл 200ЕД гепарина. Гепаринизированную кровь наслаивают на раствор фиколл-верографина с градиентом плотности 1,090г/см³ и отстаивают 45 - 60мин при комнатной температуре. Плазму разводят в соотношении 1 : 1 раствором Хенкса без фенолового красного, наслаивают на раствор фиколл-верографина с градиентом плотности 1,078г/см³, центрифугируют 30мин при 1500об/мин при +4°C. Надосадочную жидкость снимают, а оставшиеся на дне пробирки НГ ресуспендируют в 10мл раствора Хенкса (без фенолового красного) и центрифугируют 10мин при 1500об/мин при +4°C. Подсчитывают количество НГ в камере Горяева в 5 группах больших квадратов по диагонали и доводят количество клеток в суспензии до $2 \cdot 10^5$ в 1мл. В счетные флаконы вносят 0,6мл раствора Хенкса (без фенолового красного), 0,5мл суспензии НГ и 0,05мл 2,8Ммоль раствора люминола. Определение интенсивности ЛЗХЛ осуществляют на "Бета-2" сцинтилляционном счетчике. Далее измеряют интенсивность ЛЗХЛ в течение 1 часа, инкубируя пробу в термостате при 37°C. На протяжении этого времени наблюдают максимальную активность НГ, и при увеличении максимального уровня интенсивности ЛЗХЛ в 5 раз и более по сравнению с исходным уровнем диагностируют диссеминированный туберкулез легких, а при увеличении этого показателя в 2 - 4 раза по сравнению с исходным - саркоидоз легких.

Ниже приведены конкретные примеры осуществления способа.

Пример 1. Больная Б., 32 лет, история болезни №232, поступила в клинику УкрНИИФиП с диссеминированным процессом в легких 6.05.92г. Изменения в легких выявлены при рентгенобследовании.

Данные обследования при поступлении: общий анализ крови: лейкоциты - $4 - 5 \cdot 10^9$ /л, э - 3, п - 7, с - 54, лимфоциты - 33, м - 3, СОЭ - 6мм/час. Общий анализ мочи без особенностей. Проба Манту - отрицательная. Рентгенография - билатерально, на протяжении всех легочных полей определяется средне-узелковая диссеминация, корни легких расширены за счет увеличения лимфоузлов.

Иммунологическое обследование выполнено согласно предлагаемому способу: максимальный уровень интенсивности ЛЗХЛ по сравнению с исходным возрос в 3,1 раза, что является диагностическим признаком саркоидоза легких.

Пример 2. Больной Ч., история болезни №94. Поступил в клинику УкрНИИФиП с диссеминированным процессом в легких 10.03.92г. Изменения в легких выявлены при профосмотре. Данные обследования при поступлении: общий анализ крови - лейкоциты - $4,2 \cdot 10^9$ /л, э - 1, ю - 1, п - 6, с - 59, лимфоциты - 23, м - 10, СОЭ - 36мм/час. Общий анализ мочи без особенностей. Проба Манту - отрицательная. Рентгенография - в обоих легких - массивная очаговая диссеминация с образованием небольших фокусов инфильтрации.

Иммунологическое обследование выполнено согласно предлагаемому способу: максимальный уровень интенсивности ЛЗХЛ по сравнению с исходным возрос в 7,0 раз.

Поскольку показатель реакции более 5, - это позволило диагностировать диссеминированный туберкулез легких.

Всего обследовано 12 больных диссеминированным туберкулезом и 13 больных саркоидозом.

Приведем таблицу, которая дает сопоставительную характеристику метода прототипа и заявляемого изобретения.

Из данных таблицы следует:

1. РБТЛ не отличается у больных диссеминированным туберкулезом и саркоидозом, поэтому не может служить дифференциально-диагностическим тестом.

2. Увеличение максимального уровня интенсивности ЛЗХЛ в 5 раз и более по сравнению с исходным уровнем служит диагностическим признаком туберкулеза.

3. Увеличение максимального уровня интенсивности ЛЗХЛ в 2 - 4 раза по сравнению с исходным уровнем служит диагностическим признаком саркоидоза.

Способ дифференциальной диагностики диссеминированного туберкулеза и саркоидоза легких находит применение у лиц с характерной клинико-рентгенологической картиной, отрицательными туберкулиновыми пробами и отсутствием бактериовыделения, когда не известно, с какой патологией мы имеем дело, какой терапевтический подход нужен данному пациенту.

Данный способ позволяет повысить точность (отсутствует субъективность визуальной оценки учета результатов реакции) и сократить время дифференциальной диагностики (с 4 суток до 3 часов). Учитывая объективность, высокую информативность и чувствительность метода, а также его относительную простоту, способ дифференциальной диагностики туберкулеза и саркоидоза легких может найти применение в практическом здравоохранении. Его использование возможно в иммунологических лабораториях учреждений фтизиопульмонологического профиля.

Таблица

Группы обследуемых	n	РБТЛ (% лимфоцитов)	ЛЗХЛ (показатель отношения максимального уровня интенсивности ЛЗХЛ к исходному)
Диссеминированный туберкулез	12	68.2±3.7	7.2±1.4
Саркоидоз	13	65.3±3.3	3.4±0.4*

* - $p < 0.5$