



УКРАЇНА

(19) UA (11) 59048 (13) U  
(51) МПК  
G01N 33/48 (2006.01)МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ПАТЕНТУ  
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ДІАГНОСТИКИ СЕПСИСУ ПРИ ДЕСТРУКТИВНИХ ГНІЙНИХ ЗАХВОРЮВАННЯХ ЛЕГЕНІВ

1

2

(21) u201103070

(22) 16.03.2011

(24) 26.04.2011

(46) 26.04.2011, Бюл.№ 8, 2011 р.

(72) ПРИТУЛО ЛЕОНІД ФЕДОРОВИЧ, ФІЛОНЕН-  
КО ТЕТЯНА ГРИГОРІВНА

(73) ПРИТУЛО ЛЕОНІД ФЕДОРОВИЧ

(57) Спосіб діагностики сепсису при деструктивних гнійних захворюваннях легень, який включає проведення гістологічного дослідження з використанням рутинного забарвлення матеріалу гематоксилін-еозином, визначення наявності альвеолярних макрофагів та їх локалізацію, який **відрізняється** тим, що додатково проводять імуногістохімічне дослідження тканини легень після пневмонекомії або лобектомії з моноклональними антитілами до

клітин макрофагальної генерації CD68, обчислюють індекс експресії CD68+ макрофагів, визначають локалізацію експресії та при значенні індексу експресії CD68+ макрофагів в просвіті альвеол від 5 % до 10 %, індексу експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні від 30 % до 40 % судять про наявність адекватної макрофагальної, фагоцитарної активності і системної запальної відповіді, а при значенні індексу експресії CD68+ в просвіті альвеол від 0 % до 4 %, індексу експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні від 0 % до 10 % судять про наявність зниженої макрофагальної, фагоцитарної активності і неадекватності системної запальної відповіді, та діагностують початкову ознаку розвитку септичного процесу.

Корисна модель стосується медицини, а саме хірургії і може бути використана для морфологічної діагностики стадійності сепсису при деструктивних гнійних захворюваннях легень у післяопераційному матеріалі тканини легень.

В якості прототипу вибраний спосіб діагностики сепсису при деструктивних гнійних захворюваннях легень [Bone R. C. Balk R. A, Cerra FB. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis: the ACCP/SCCM consensus conference committee Chest 1992; № 101 - P. 1644-55], який включає проведення морфологічних досліджень з використанням гістологічного забарвлення гематоксилін-еозином, визначення наявності альвеолярних макрофагів в осередку запалення. Ознаками, які співпадають із суттєвими ознаками запропонованого способу, є: проведення гістологічного дослідження з використанням рутинного забарвлення матеріалу гематоксилін-еозином, визначення наявності альвеолярних макрофагів в осередку запалення.

Причинами, що перешкоджають досягненню очікуваного технічного результату (підвищення точності діагностики сепсису при деструктивних гнійних захворюваннях легень), є: неможливо провести підрахунок альвеолярних макрофагів

для встановлення фагоцитарної активності та оцінити порогові значення неадекватної системної запальної відповіді, а у зв'язку з відсутністю інформації щодо кількості макрофагів в осередку запалення - невисока точність діагностики, а це може призводити до постановки помилкового діагнозу та проведення неадекватного лікування, оскільки при гістологічному дослідженні тканини легень з використанням забарвлення гематоксилін-еозином неможливо визначити кількісний та якісний вміст альвеолярних макрофагів, а тому частіше за все достовірно патоморфолог не може діагностувати макрофагальну недостатність, яка є ознакою адекватності системної запальної відповіді, а також не вдається визначити ранню стадію септичного процесу, у зв'язку з чим великий відсоток ранніх стадій сепсису не виявляється, а отже, пацієнт не отримує адекватної патогенетичної терапії.

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення способу-прототипу шляхом додаткового проведення імуногістохімічного дослідження з подальшим визначенням кількості функціонально-активних альвеолярних макрофагів та їх локалізації в запальному осередку легень, що дозволяє судити про наявність макрофагальної активності залежно від стадії септичного процесу, а отже підвищити точність діагностики та призначати

(13) U  
(11) 59048  
(19) UA

відповідний курс терапевтичних заходів, що сприяє зменшенню ускладнень.

Поставлена задача рішається тим, що в собі діагностики сепсису при деструктивних гнійних захворюваннях легенів, який включає проведення гістологічного дослідження з використанням рутинного забарвлення матеріалу гематоксилін-еозином, визначення наявності альвеолярних макрофагів та їх локалізацію, згідно корисної моделі, додатково проводять імуногістохімічне дослідження тканини легенів після пневмопектомії або лобектомії з моноклональними антитілами до клітин макрофагальної генерації CD68, обчислюють індекс експресії CD68+ макрофагів, визначають локалізацію експресії та при значенні індексу експресії CD68+ макрофагів в просвіті альвеол від 5 % до 10 %, індексу експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні від 30 % до 40 % судять про наявність адекватної макрофагальної, фагоцитарної активності і системної запальної відповіді, а при значенні індексу експресії CD68+ в просвіті альвеол від 0 % до 4 %, індексу експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні від 0 до 10 % судять про наявність зниженої макрофагальної, фагоцитарної активності і неадекватності системної запальної відповіді, та діагностують початкову ознаку розвитку септичного процесу.

Між сукупністю суттєвих ознак заявляемого способу і технічним результатом, який може бути досягнутий, проявляється наступний причинно-наслідковий зв'язок: додаткове проведення імуногістохімічного дослідження легеневої тканини з моноклональними антитілами та визначення індексу експресії CD68+ макрофагів дозволяє при певних її значеннях судити про наявність неадекватності системної запальної відповіді залежно від стадії патологічного процесу, що в свою чергу дозволяє значно покращити морфологічну діагностику раннього сепсису, що сприяє розробці адекватних принципів патогенетичної терапії, профілактиці ускладнень, а також оцінки ефективності лікування.

Спосіб діагностики сепсису при деструктивних гнійних захворюваннях легенів полягає в наступному.

Хворому з гострою гнійною деструктивною пневмонією проводять резекцію сегмента, частки легень. Далі проводять гістологічне дослідження за допомогою світлової мікроскопії за стандартною методикою із забарвленням матеріалу гематоксиліном і еозином. При цьому можуть бути виявлені кілька типів патологічних процесів, які мають специфічну морфологічну картину.

Потім проводять імуногістохімічне дослідження тканини легенів за стандартною методикою з використанням парафінових блоків і реактивів компанії DAKO з моноклональними антитілами до CD68 (Clone KP1) і системи візуалізації LSAB2/EnVision на аутостейнері фірми DAKO. Фотографування здійснюють цифровою камерою OLYMPUS C 5050Z, установленою на мікроскопі OLYMPUS CX 41.

Оцінку рівня експресії CD68+ макрофагів проводять з урахуванням інтенсивності забарвлення і

розподілу моноклональних антитіл у процентному еквіваленті.

Обчислюють індекси експресії CD68+ макрофагів та за їх величиною судять про наявність альвеолярних макрофагів в тканині легень.

На підставі одержаних результатів диференціюють і діагностують стадію септичного процесу і призначають відповідну терапію.

При значенні індексів експресії CD68+ макрофагів в просвіті альвеол від 5 % до 10 %, індексів експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні від 30 % до 40 % судять про наявність адекватної макрофагальної, фагоцитарної активності і системної запальної відповіді.

При величині індексу експресії CD68+ макрофагів в просвіті альвеол від 0 % до 4 %, індексу експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні від 0 до 10 % судять про наявність зниженої макрофагальної і фагоцитарної активності та неадекватності системної запальної відповіді, що є початковою ознакою розвитку септичного процесу.

Застосування даного способу діагностики дозволяє здійснювати належну оцінку морфологічного та фенотипового стану тканини легенів та скоректувати патогенетичну терапію залежно від одержаних результатів.

Даний спосіб був використаний у 20 пацієнтів.

У 5 пацієнтів було діагностовано гостру гнійну деструктивну пневмонію з адекватною системною запальною відповіддю та високим рівнем макрофагальної і фагоцитарної активності.

Індекс експресії CD68+ макрофагів в просвіті альвеол був у межах 5 % - 10 %, індекс експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні був у межах 30 % до 40 %.

У 15 хворих було діагностовано гостру гнійну деструктивну пневмонію з неадекватною системною запальною відповіддю та низьким рівнем макрофагальної і фагоцитарної активності, що свідчить про наявність ранніх ознак септичного процесу.

Індекс експресії CD68+ макрофагів в просвіті альвеол був у межах 0 % - 4 %, індекс експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні був у межах 0-10 %.

Пацієнтам залежно від одержаних результатів була призначена відповідна терапія.

Віддалені результати свідчать про ефективність проводимої діагностики.

Грунтуючись на певних особливостях патогенезу і причинах септичних ускладнень гострої гнійної деструктивної пневмонії, у лікарській тактиці слід базуватися на своєчасній діагностиці зниженої неадекватної макрофагальної і фагоцитарної активності, що свідчить про ранню стадію септичного процесу та проведенні необхідної терапії. Це дозволить, коли процес ще оборотний, уникнути виникнення ускладнень.

Заявлений спосіб діагностики сепсису при деструктивних гнійних захворюваннях легенів підтверджується наступними прикладами.

Приклад 1.

Хворий В., вік 12 років, знаходився на стаціонарному лікуванні в дитячому хірургічному відді-

ленні з діагнозом: Гостра правостороння деструктивна пневмонія. Легенево-плевральна форма. Правосторонній піопневмоторакс. Сепсис. Під час надходження пред'являв скарги на задишку, підвищення температури до 38-39 °С, слабкість, нездужання. Хворому проведено дренування плевральної порожнини. При цьому отримано до 200 мл гнійного ексудату. Незважаючи на дренування розпрямлення легені не відмічалось. Застосований метод пошукової бронхооклюзії, що не дало бажаного ефекту. Виконано оперативне втручання з метою закриття бронхо-плевральної нориці, яке закінчилось резекцією верхньої частки. Після проведення лобектомії проведена діагностика по запропонованому способу. Були одержані наступні результати.

Результати гістологічного дослідження із забарвленням гематоксиліном і еозином: фрагменти тканини легень з наявними ознаками некрозу, дифузної лейкоцитарної інфільтрації, лейкостазів, виражених розладів кровообігу, що проявлялось повнокрів'ям, стазом, сладжем, крововиливами.

Результат імуногістохімічного дослідження: індекс експресії CD68+ макрофагів в просвіті альвеол – 2 %, індекс експресії CD68+ фіксованих макрофагів на альвеолярній поверхні від 10 %.

Заключення: гістологічні та імуногістохімічні ознаки відповідають гострій гнійній деструктивній пневмонії з наявністю неадекватної макрофагальної та фагоцитарної активності, що є ознакою неадекватної системної запальної відповіді і проявами початкових проявів сепсису та ризиком генералізації септичного процесу.

З урахуванням одержаних даних пацієнту була призначена терапія з урахуванням профілактики розвитку важких септичних ускладнень - базова терапія із застосуванням внутрішньовенного введення плазми з високим титром антитіл до ліпополісахаридів.

Після проведеного лікування клінічні симптоми деструктивної пневмонії відсутні у 95 % пацієнтів.

Застосування запропонованого способу дозволяє покращити діагностику початкових стадій сепсису та сприяє розробці адекватних принципів терапії, а також профілактиці ускладнень даної патології.

Запропонований спосіб простий у застосуванні, є ефективним та не має побічної дії, він може використовуватися для діагностики початкових проявів сепсису, дозволяє рекомендувати його до широкого поширення і використання в клінічній і патоморфологічній практиці.