

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

На правах рукописи

Агапов Михаил Михайлович

**ПАТОЛОГОАНАТОМИЧЕСКАЯ И КОМПЛЕКСНАЯ  
ГИСТОБАКТЕРИОСКОПИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛЬНЫХ  
ФОРМ ТУБЕРКУЛЁЗА, В ТОМ ЧИСЛЕ В СОЧЕТАНИИ  
С ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ**

3.3.2. Патологическая анатомия

Диссертация на соискание учёной степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук, профессор  
Цинзерлинг Всеволод Александрович

Санкт-Петербург – 2022

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ. . . . .	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. . . . .	11
1.1 Эпидемиологическая характеристика микобактерий. . . . .	11
1.2 Микробиологическая характеристика микобактерий. . . . .	12
1.2.1 Общие свойства микобактерий. . . . .	14
1.2.2 Размножение микобактерий. . . . .	16
1.2.3 Клеточная стенка и метаболизм микобактерий. . . . .	17
1.2.4 Резистентность микобактерий. . . . .	19
1.3 Вирулентность и генетика микобактерий. . . . .	21
1.4 Полиморфизм микобактерий. . . . .	26
1.5 Морфогенез туберкулёза. . . . .	30
1.6 Цитологическая характеристика формирования гранулёмы. . . . .	33
1.7 Морфологическая диагностика туберкулёза. . . . .	35
ГЛАВА 2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ. . . . .	43
2.1 Материал и методы. . . . .	43
2.1.1 Пациенты с впервые выявленным посмертно туберкулёзом. . . . .	44
2.1.2 Пациенты с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции. . . . .	45
2.1.3 Пациенты с фиброзно-кавернозным туберкулёзом. . . . .	47
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ. . . . .	50
3.1 Результаты исследования пациентов с впервые выявленным посмертно туберкулёзом. . . . .	50
3.2 Результаты исследования пациентов с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции. . . . .	61
3.3 Результаты исследования пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулёзом без сочетания с ВИЧ-инфекцией. . . . .	79
ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ. . . . .	100
4.1 Морфологическая характеристика туберкулёзного поражения при сочетании с ВИЧ-инфекцией. . . . .	101

4.2 Сравнение морфологии тканевых форм туберкулёзных микобактерий в лёгких у пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулёзом и в сочетании с ВИЧ-инфекцией. ....	102
4.3 Оценка окраски <i>M. tuberculosis</i> в тканях карболовым фуксином по Цилю – Нильсену, аурамино-родамином (с использованием флюоресцентной микроскопии) и иммуногистохимического исследования в тканях. ....	104
ВЫВОДЫ. ....	108
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ. ....	110
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ. ....	111
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ. ....	112
СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА. ....	128
ПРИЛОЖЕНИЕ А (обязательное) Дизайн исследования. ....	133
ПРИЛОЖЕНИЕ Б (обязательное) Эпикризы и таблицы. ....	135

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность избранной темы**

Задача улучшения ситуации с заболеваемостью и смертностью от туберкулёза в равной степени лежит как на лечебно-профилактическом, так и на диагностическом звеньях системы здравоохранения. Морфологической диагностике туберкулёза в последнее время уделяется меньше внимания. В приказе Минздрава России № 951 от 29.12.2014 и в международных рекомендациях в качестве методов диагностики туберкулёза значатся только микробиологические и иммунологические [23].

В практике большинства стационаров, даже имеющих доступ к высокотехнологичным методам выявления микобактерий, морфологическая диагностика была, остаётся и будет одной из основных составляющих дифференциального диагноза очаговых и инфильтративных процессов в лёгких, внутригрудных лимфатических узлах и других локализациях. Далеко не исчерпан и перечень тем, требующих комплексного научного анализа во фтизиатрии с обязательным учётом структурных изменений. Так, в дальнейшем изучении нуждается морфогенез заболевания, различные аспекты жизненного цикла возбудителя, формирования лекарственной устойчивости, лечебного патоморфоза, репарации тканей, сочетания туберкулёза с ВИЧ и другими инфекциями, включая нетуберкулёзные микобактериозы. Важность посмертной морфологической диагностики подчёркивается тем бесспорным фактом, что при формальном совпадении патологоанатомического и клинического диагнозов, последний во многих наблюдениях значительно дополняется и уточняется [2].

Важнейшим принципом морфологического изучения любых инфекционных заболеваний является обнаружение возбудителя в тканях с использованием гистологических методов исследования [35, 36]. Это положение, безусловно, распространяется и на туберкулёз. В мировой клинической и морфологической литературе постоянно подчёркивается диагностическая значимость выявления кислотоустойчивых палочек при окраске по Цилю – Нильсену, но при этом

отмечается, что они обнаруживаются непостоянно [93, 106]. Специальных исследований, посвящённых выявлению микобактерий в тканях при использовании комбинации различных методов, в современной литературе нет.

При поверхностном изучении вопроса может показаться, что морфологическая диагностика туберкулёза в современных условиях всесторонне описана и не вызывает затруднений. На практике, однако, выясняется, что даже в крупных современных международных изданиях, претендующих на фундаментальный статус [125], при внимательном изучении обнаруживается, к примеру, недостаток убедительных микрофотографий кислотоустойчивых туберкулёзных микобактерий, окрашенных по Цилю – Нильсену, а в текстовой части чрезвычайно кратко описаны такие важные с практической точки зрения явления, как полиморфизм микобактерий и их локализация, а также вариабельность строения туберкулёзной гранулёмы (особенно на фоне иммуносупрессии). Альтернативные методы выявления микобактерий (в частности, флюоресцентный) фактически лишь перечислены и не сопровождаются иллюстративным материалом.

Исследование атипичных, резистентных к терапии микобактерий, становится особенно важным с учётом растущего объёма современных данных об изменчивости возбудителя под влиянием факторов патогенности, особенностях его генома и протеома.

### **Степень разработанности темы диссертации**

Несмотря на подробные описания морфологии туберкулёза, сделанные в прошлом и позапрошлом столетиях, информация о некоторых важнейших её аспектах почти не представлена в литературе. Очень немногочисленны работы, подробно освещающие выявление микобактерий туберкулёза в тканях, в том числе при ВИЧ-инфекции и на фоне длительной терапии. Не проведен анализ частоты выявления различных тканевых форм и локализации возбудителя при использовании различных окрасок: карболовым фуксином по Цилю – Нильсену, аурамино-родамином и иммуногистохимии.

### **Цель исследования**

Изучить патоморфологические особенности туберкулеза при сочетании его с ВИЧ-инфекцией при длительно протекающем фиброзно-кавернозном туберкулёзе и впервые выявленном туберкулёзе с развёрнутой характеристикой морфологических вариантов, количества и локализации возбудителя.

### **Задачи исследования**

1. Уточнение патоморфологической характеристики туберкулёзного процесса при сочетании с ВИЧ-инфекцией.
2. Сравнительное изучение морфологии тканевых форм туберкулёзных микобактерий в лёгких у пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулёзом и в сочетании с ВИЧ-инфекцией.
3. Сравнительная оценка окраски *M. tuberculosis* в тканях карболовым фуксином по Цилю – Нильсену, аурамино-родамином (с использованием флюоресцентной микроскопии) и иммуногистохимического исследования в тканях.

### **Научная новизна**

1. Во всех изученных случаях сочетания туберкулёза и ВИЧ-инфекции выявлено преобладание альтеративного компонента над гранулематозным с одновременным сочетанием нескольких морфологических форм и локализаций туберкулёзного поражения.
2. В результате детального гистобактериоскопического исследования, направленного на выявление туберкулёзных микобактерий в тканях у разных категорий пациентов с верифицированным туберкулёзом, впервые при тщательном морфометрическом анализе установлено, что микобактерии имеют разную форму, их морфометрические характеристики различаются при туберкулёзе, сопровождавшемся длительной терапией (на кокковидные формы приходилось до 45 %, на гранулы – до 13 %, на булавовидные – до 7 %, на ветвящиеся – до 3 % микобактерий) и при туберкулёзе, протекавшем без

специфического лечения (большинство (от 79 % до 96 %) микобактерий имели типичную палочковидную морфологию).

3. Впервые выполненное сравнение эффективности использования различных методов выявления туберкулёзных микобактерий в тканях с оценкой числа возбудителей, их морфологических форм и локализации продемонстрировало большую чувствительность флюоресцентного исследования с окраской аурамином-родамином и иммуногистохимического исследования по сравнению с традиционной окраской по Цилю – Нильсену.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

1. Включение в спектр морфологических методов флюоресцентной микроскопии при окраске аурамином-родамином позволяет существенно улучшить выявление микобактерий в тканях.

2. Благодаря расширению знаний о тинкториальных свойствах и особенностях морфологии туберкулёзных микобактерий в тканях при различных формах заболевания появилась возможность усовершенствовать алгоритм морфологической диагностики туберкулёза и избежать случаи гипо- и гипердиагностики заболевания.

3. Выявление кокковидных и других атипичных форм туберкулёзных микобактерий позволяет косвенно судить об эффективности противотуберкулёзной терапии.

### **Методология и методы диссертационного исследования**

Методология научной работы включает в себя как широко распространённые, так и перспективные методы световой и флюоресцентной микроскопии с использованием обзорных, гистохимических и иммуногистохимических методов гистологического исследования и гистобактериоскопии, основанные на современных данных о морфогенезе туберкулёза. Диссертация на первом этапе включала в себя формирование групп пациентов в соответствии с критериями и подбор наиболее репрезентативного

гистологического материала для дальнейшего изготовления микропрепаратов. Впоследствии все микропрепараты были подвергнуты исследованию с описанием морфологической картины и подсчётом числа микобактерий, а также их форм. На заключительном этапе была выполнена статистическая обработка полученных результатов и их оценка, сформулированы выводы и практические рекомендации.

### **Положения, выносимые на защиту**

1. Туберкулёзное поражение лёгких при сочетании с ВИЧ-инфекцией характеризуется преобладанием альтеративного компонента над гранулематозным, а также значительным разнообразием клиничко-морфологических форм туберкулеза и генерализованным поражением органов.

2. Длительная противотуберкулёзная терапия с формированием лекарственной устойчивости характеризуется атипичной морфологией возбудителя, а в условиях отсутствия специфической противотуберкулёзной терапии *M. tuberculosis* имеет преимущественно типичную морфологию.

3. Для выявления туберкулёзных микобактерий в тканях наиболее эффективна комбинация классической окраски по Цилю – Нильсену, флюоресцентного и иммуногистохимического методов.

### **Степень достоверности**

Достоверность работы обеспечивается достаточным числом исследованных случаев, строго соответствующих критериям отбора, высоким техническим качеством выполненных гистохимических окрасок и иммуногистохимических реакций, позволившим осуществить чрезвычайно подробное описание каждого исследованного случая, а также полноценной статистической обработкой результатов.

### **Апробация работы**

Материалы исследования доложены и обсуждены на: 5-м конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Новосибирск, 2018); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы противотуберкулёзной помощи в РФ: консолидация усилий по борьбе с туберкулёзом» (Москва, 2018); 31 European Congress of Pathology (Nice, 2019); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Россия на пути ликвидации туберкулёза: реалии и перспективы», посвященной памяти академика РАМН М. И. Перельмана (Москва, 2019).

Диссертационная работа апробирована на заседании экспертной группы, сформированной распоряжением директора Центра экспертиз федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет» (Санкт-Петербург, 2022).

### **Внедрение результатов исследования**

Данные о полиморфизме туберкулёзных микобактерий и особенностях их тинкториальных свойств в различных условиях внедрены в учебную практику медицинского факультета ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет».

Данные об особенностях выявления туберкулёзных микобактерий с помощью флюоресцентной микроскопии и иммуногистохимического исследования внедрены в практику патологоанатомического отделения СПб ГБУЗ «Больница Боткина».

### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 5 научных работ, в том числе 3 статьи в научных журналах и изданиях, которые включены в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 3 статьи в журналах, входящих в

международную реферативную базу данных и систем цитирования (Scopus).

### **Объем и структура работы**

Диссертация изложена на 147 страницах машинописного текста и состоит из введения, 4 глав, выводов, практических рекомендаций, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы, списка иллюстративного материала и приложений. Список литературы представлен 145 источниками, из которых 106 в зарубежных изданиях. Полученные результаты иллюстрированы с помощью 14 таблиц и 49 рисунков.

### **Личный вклад автора**

Автор самостоятельно разработал дизайн исследования, сформулировал цели и задачи, проанализировал отечественные и иностранные литературные источники, лично занимался отбором случаев на базе медицинских учреждений Санкт-Петербурга и в дальнейшем выполнил микроскопическое исследование всего представленного материала с развёрнутым описанием каждого случая. На основе полученных данных автор лично выполнил статистическую обработку результатов, их оценку и трактовку с последующими выводами и практическими рекомендациями.

## ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 Эпидемиологическая характеристика микобактерий

По данным информационного бюллетеня Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) за 2021 год, туберкулёзом в 2020 году в мире заболели около 5,8 миллионов человек (при этом около 150 тысяч случаев характеризуются лекарственной устойчивостью), умерли – 1,5 миллиона (в т. ч. свыше 200 тысяч пациентов с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции) [83]. Заболевание входит в число 10 наиболее распространённых причин смерти в мире. Россия наряду с другими странами бывшего СССР пока опережает страны Западной Европы и Северной Америки по показателям заболеваемости и смертности от туберкулёза, однако имеет место стойкая положительная тенденция по сравнению с временами наибольшего социально-экономического неблагополучия, когда на нашу страну приходился каждый третий случай вновь выявленного туберкулёза в Европе [17]. За последние 10 лет в России ежегодно заболеваемость снижалась на 6 %, что привело к исключению по этому показателю из числа стран с высоким бременем туберкулеза [83].

Туберкулёз наряду с заболеваниями сердечно-сосудистой системы, ВИЧ-инфекцией и злокачественными новообразованиями выступает отдельным пунктом в утверждённой в 2014 году Государственной программе развития здравоохранения в Российской Федерации, на реализацию которой из бюджетов всех уровней выделено более 33 миллиардов рублей. Плановыми показателями в соответствии с программой является снижение к 2020 году смертности от туберкулёза до 11,2 (на 100 тысяч населения), а заболеваемости – до 35 (на 100 тысяч населения) [22]. По состоянию на 2019 год смертность от туберкулёза составляла 5,2 (на 100 тысяч населения), заболеваемость – 41,2 (на 100 тысяч населения). По федеральным округам показатели распределены неравномерно, в частности в Центральном ФО смертность составила 2,6 (на 100 тысяч), а в Сибирском – 12,6 (на 100 тысяч).

Туберкулёз по праву относится к социально значимым болезням и зависит от уровня жизни населения, объёмов и структуры трудовой миграции, состояния пенитенциарной системы, он также тесно связан с ВИЧ-инфекцией. Ещё одним грозным явлением, представляющим опасность для разных категорий населения, является множественная и широкая лекарственная устойчивость, нередко регистрируемая даже у пациентов с впервые выявленным заболеванием [17].

## 1.2 Микробиологическая характеристика микобактерий

Туберкулёзная микобактерия относится к семейству *Mycobacteriaceae*, представленному единственным родом *Mycobacterium*. За последние десятилетия было открыто несколько десятков видов, относящихся к этому роду, общее же их число уже превысило 100. Микобактерии – сапрофиты, в природе распространены чрезвычайно широко, преимущественно в почве.

Патогенными являются туберкулёзные микобактерии, представленные [84]:

- собственно *M. tuberculosis*,
- *M. bovis* (более актуальная для развивающихся стран, где недостаточно распространена пастеризация молока),
- *M. africanum* (встречается в Западной Африке почти исключительно среди ВИЧ-инфицированных) [108],
- *M. microti* (чрезвычайно редко поражает иммунокомпетентных пациентов, природным резервуаром являются полёвки и другие мелкие грызуны) [110],
- *M. canettii* (крайне малоизученный вид, выделение которого вызывает значительные трудности) [65],

А также нетуберкулёзные возбудители микобактериозов, основными представителями которых являются:

- *M. avium* (включающий помимо самого вида *M. avium* также *M. intracellulare* и *M. scrofulaceum*), *M. Kansasii*, *M. xenopi* (проявляющиеся в виде диссеминированных процессов в лёгких и лимфаденопатий преимущественно на

фоне иммуносупрессии) [70],

- *M. fortuitum*, *M. terrae* (характеризуется поражением кожи и костно-суставной системы, может выступать в качестве нозокомиальной инфекции у больных хирургического профиля) [64, 111],

- *M. marinum* (трудно культивируемый возбудитель, вызывающий гранулематозное поражение кожи у пациентов, работающих с рыбой или аквариумами) [109].

Нетуберкулёзные микобактерии в соответствии с классификацией Раньона [128] разделены на четыре группы в зависимости от хромогенеза на свету.

К первой группе относятся фотохромогенные, «желтые» или канзасские микобактерии, впервые выделенные в США. Представителями этой группы являются *M. kansasii*, *M. marinum* и др. При длительном выращивании с доступом света культуры могут становиться оранжевыми или кирпично-красными. Культуры дают рост при 37 °С через 7–12 дней, а при комнатной температуре через 3–4 недели [70, 109].

Ко второй группе отнесены скотохромогенные микобактерии, имеющие оранжево-желтую окраску, независимо от того – выращивались они на свету или в темноте. К этой группе относятся *M. scrofulaceum*, *M. gordonae*, *M. flavescens*, *M. aquae*. При 22 °С растут с образованием в темноте желто-оранжево-красного пигмента.

К третьей группе относятся нефотохромогенные, непигментированные микобактерии или имеющие желто-розовую окраску. К этой группе отнесены *M. avium*, *M. intracellulare* (*M. batley*), *M. gastri*, *M. triviale*, *M. terrae*, *M. xenofri* и др. Микобактерии этой группы могут расти на простых питательных средах как при комнатной температуре, так и при 45 °С [64, 70].

Четвертую группу атипичных микобактерий, так называемых быстрорастущих непигментированных сапрофитов, составляют *M. phlei*, *M. fortuitum* (*M. minettii*, *M. giae*), *M. smegmatis*, *M. vaccae*, *M. chelonae* и др. [111].

Микобактерии этой группы дают рост при 20 °С в течение 3–5 дней,

кислотоустойчивы. Среди микобактерий этой группы имеются как пигментообразующие, так и не имеющие такого свойства.

Отдельно необходимо выделить *M. leprae* – возбудитель проказы, и пока малоизученный *M. ulcerans* – возбудитель язвы Бурули, встречающейся на африканском континенте и характеризующейся обширными язвенными поражениями кожных покровов различных локализаций, зачастую устойчивых к медикаментозному лечению и требующих хирургического иссечения патологического очага [52].

### **1.2.1 Общие свойства микобактерий**

Морфологически туберкулёзные микобактерии представлены в виде тонких (0,2–0,7 мкм) длинных (1–10 мкм) палочек, грамположительны, кислотоустойчивы, аэробны (в неблагоприятных условиях – микроаэрофильны, либо вовсе анаэробны), мезофильны (оптимальная температура 30–42 °С), неподвижны, не образуют спор и капсул [14].

Цитоплазматическая мембрана туберкулёзных микобактерий путём инвагинации в цитоплазму формирует внутрицитоплазматическую мембранную систему, или мезосому [89]. Мезосомы полифункциональны. С ними связана локализация многих ферментных систем, они участвуют в синтезе материала клеточной стенки, выполняют роль посредника между ядром и цитоплазмой. Отмечено слабое развитие или отсутствие мезосом у авирулентных штаммов туберкулёзных микобактерий. Цитоплазма туберкулёзных микобактерий состоит из гранул и вакуолей различной величины. Основная часть мелкогранулярных включений представлена рибосомами, на которых синтезируются специфические белки [86].

Носителем генетической информации бактерий являются не только хромосомы, но и нехромосомные элементы – плазмиды. Плазмиды благодаря малому размеру хорошо приспособлены к переносу из клетки в клетку [94].

Все виды туберкулёзных микобактерий культивируются на одних и тех же

питательных средах, включающих глицерин и аминокислоты. Растут на картофельно-глицериновых, яично-глицериновых (среда Левенштейна – Йенсена) и синтетических средах, вызывая их помутнение. На жидких средах через 2–3 нед. дают рост в виде плёнки: сначала нежной, сухой, со временем утолщающейся, становящейся бугристо-морщинистой с желтоватым оттенком [69]. На плотных питательных средах образуются характерные колонии: морщинистые, сухие, с неровными краями. Во все среды необходимо добавлять вещества, которые ингибируют рост контаминирующей флоры. Разработаны ускоренные методы выделения культур туберкулёзных микобактерий – Прайса и Школьниковой. Сущность этих методов заключается в том, что исследуемый материал наносят на предметное стекло, обрабатывают серной кислотой, промывают изотоническим раствором хлорида натрия и помещают в питательную среду с цитратной кровью. Через 5–7 дней стекло вынимают [69].

Туберкулёзные микобактерии дают положительный результат при ниациновом тесте, редуцируют нитраты, разлагают мочевины, никотинамид, пиразинамид [69].

В настоящее время всё большее распространение приобретает использование для выделения микобактерий автоматизированной системы Bactec, основанной на ускоренном бульонном культивировании возбудителя и непрерывном компьютерном мониторинге динамики роста колонии при помощи флюоресцентного индикатора роста. Кроме того, последним приказом узаконена для диагностики и ПЦР [50].

Антигенная структура микобактерий сложная. Антигены связаны с клеточной стенкой, рибосомами, цитоплазмой, имеют белковую и липополисахаридную природу, участвуют в реакциях ГЗТ и ГНТ [86].

Микобактерии долго сохраняют жизнеспособность вне организма человека или животного. В высохшей мокроте они живут до 10 мес., в пыли сохраняются 10 дней, на книгах – до 3 мес., в воде – до 5 мес., масле – до 10 мес., сыре – до 8 мес. Выдерживают температуру 70 °С в течение 20 мин, кипячение – 5 мин; в 5 % растворе карболовой кислоты и растворе сулемы 1 : 1 000 погибают через

сутки, в 2 % растворе лизола – через час. Из дезинфицирующих средств наиболее чувствительны к хлорной извести и хлорамину [3].

### **1.2.2 Размножение микобактерий**

Микобактерии размножаются делением, перешнуровыванием и почкованием. Наиболее часто встречается деление. В клетках, достигших определённой величины, образуются поперечные перегородки, и клетки распадаются пополам, разламываясь как бы от сильного толчка. Перелом клеток происходит очень быстро. После перелома дочерние клетки располагаются под углом друг к другу или параллельно [130].

При размножении клетки перешнуровыванием сначала появляется едва заметная перетяжка, которая постепенно углубляется, становится всё более заметной, и клетка перетягивается пополам. Иногда клетка перешнуровывается одновременно в нескольких местах [129].

Почкование у микобактерий встречается довольно часто. Почки образуются чаще на конце клетки или на боковой поверхности. Сначала появляется маленький бугорок, который увеличивается, округляется, затем отваливается или, оставаясь соединённым с материнской клеткой, развивается дальше. Почки, часто вытягиваясь в длину, превращаются в палочковидные ветки. Трудно в таких случаях установить, что считать почкой, а что – веткой, так как и почкование, и ветвление представляют, в сущности, один и тот же процесс. Различие заключается лишь в том, что при настоящем ветвлении ветки не отделяются и не могут существовать самостоятельно. В дальнейшем бугорок увеличивается в размерах и отпочковывается от материнской клетки в виде образования кокковидной формы. Внутри этих форм происходит ряд превращений, в результате которых в них постепенно формируются обычные кислотоустойчивые палочки. Весь цикл размножения и воспроизводства *in vitro* продолжается примерно 7–9 суток [106].

Вновь появившиеся молодые палочки до окончательного формирования

могут приобретать ветвящуюся форму, напоминающую мицелий плесневых грибов [129].

В культурах микобактерий более старого возраста (2–3-суточных) клетки укорачиваются и принимают кокковидную форму. Кокковидные клетки имеют такой же диаметр, как и палочки, или несколько больший; одиночные, или соединены в пары, или короткие кривые цепочки, или механически сцеплены в кучи. На этой стадии развития микобактерий легко можно принять за микрококки. Кокковидные клетки некоторое время продолжают размножаться, а затем переходят в состояние покоя. Таким образом, микобактерии в своем развитии проходят цикл превращений из палочковидных форм в кокковидные [69].

### **1.2.3 Клеточная стенка и метаболизм микобактерий**

Главной особенностью микобактерий является строение их клеточной стенки, содержащей несколько слоёв, часть из которых при этом имеют нестабильный химический состав и характеризуются изменчивостью. Выраженная гидрофобность клеточной стенки существенно затрудняет диффузию веществ, в том числе питательных, что объясняет медленное размножение микобактерий. Основой клеточной стенки являются имеющие перекрёстные связи – пептидогликаны, этот слой стенки называют также электронноплотным. Следующим идёт слой арабиногалактанов – полисахаридная строма клеточной стенки [48]. К строме крепятся миколовые кислоты – сульфолипиды и корд-фактор, являющиеся одной из мишеней для этиотропной терапии. Высокомолекулярные (до 84 атомов углерода в цепи) миколовые кислоты обладают низкой реакционной способностью, обеспечивая химическую устойчивость клеточной стенки микобактерий. Среди предшественников миколовых кислот выделяют специфические – туберкулостеариновую и туберкулопальмитиновую кислоты. Далее следует подобный микрокапсуле слой микозидов – гликолипидов, аналогичных таковым в составе наружного слоя

клеточной стенки грамотрицательных бактерий, обладающих токсичностью и, наряду с миколовыми кислотами, обуславливающих специфические свойства микобактерий, в частности – образование гранулём [143]. Микозиды видоспецифичны, от их типа зависят антигенные свойства микобактерий. От плазматической мембраны до поверхности клеточной стенки проходит липоарабиноманнан, подобный липотейхоевым кислотам грамположительных бактерий, либо липополисахаридному O-антигену грамотрицательных. Липоарабиноманнан является гетерогенной смесью высокомолекулярных липополисахаридов – разветвлённых полимеров арабинозы и маннозы с диацилглицериновыми производными пальмитиновой и туберкулостеариновой кислот. Маннозные радикалы липоарабиноманнана обеспечивают неспецифическое подавление активации Т-лимфоцитов [48].

Помимо клеточной стенки уникальным свойством микобактерий является также их ферментативная система, позволяющая осуществлять синтез чрезвычайно сложных органических соединений посредством более 100 видов реакций, использующих параллельные метаболические пути в зависимости от доступности субстрата, содержания кислорода и углекислого газа и прочих внешних условий. К числу уникальных реакций, свойственных микобактериям, относят глиоксилатный путь окисления глюкозы, существующий наравне с пентозофосфатным, позволяющий для получения энергии вовлекать в цикл трикарбоновых кислот свободные жирные кислоты, накапливающиеся в процессе роста. Не исключено, что это один из механизмов, обеспечивающих персистенцию возбудителя [122].

Основным компонентом клеточной стенки микобактерий являются липиды, составляющие до 60 % сухой массы клетки. Выделено 7 групп липидов: 1) жирные производные углеводов – трегалозы (корд-фактор), 2) маннозиды фосфатидилмиоинозита, 3) жирнокислотные производные пептидов, 4) гликозиды N-ацилпептидов (микозиды С), 5) жирнокислотные эфиры фтиоцеролов, 6) микозиды (А, В, G), 7) миколаты глицерина. Группы 4–6 имеются только у микобактерий. Количественный и качественный состав липидов клеточной стенки

в течение жизненного цикла меняется и зависит от окружающих условий и возраста микобактерии: молодые клетки синтезируют липополисахариды с более короткими алифатическими цепями, что делает их менее резистентными, но по мере наращивания клеточной стенки с формированием высокомолекулярных липидов устойчивость – в том числе к иммунному ответу – возрастает [45].

#### **1.2.4 Резистентность микобактерий**

Чрезвычайно высокая (одна из самых выдающихся в царстве прокариот) резистентность к различным вариантам неблагоприятного воздействия является отличительным свойством микобактерий, определяющим, в том числе, их эпидемиологические свойства (связанные с большим распространением данных микроорганизмов во всех климатических зонах), клинические проявления туберкулёза и морфологию инфекционного процесса. Помимо описанной выше мощной клеточной стенки, резистентность микобактериям обеспечивает сложный метаболизм, благодаря которому осуществляется инактивация токсичных веществ, а также морфологическая пластичность с образованием L-форм [47].

Микобактерии устойчивы к перекисям, альдегидам, спиртам, кетонам, органическим и неорганическим кислотам, щелочам, средствам на основе четвертичного аммония и рассеянному солнечному свету. В высушенном состоянии туберкулёзные микобактерии сохраняют жизнедеятельность до трёх лет, при нагревании выдерживают температуру свыше 80 °С, находясь в мокроте остаются вирулентными при кипячении в течение пяти минут. В составе агломератов с пылевыми частицами возрастает устойчивость микобактерий к ультрафиолетовому излучению [143].

Важную роль в обеспечении перечисленных механизмов защиты микобактерии играют компоненты её клеточной стенки [41]. В частности, благодаря подвижным алифатическим цепям, находящимся в её составе, затрудняется процесс распознавания поверхностных структур возбудителя с дальнейшей выработкой антител и, как следствие, активация гуморального

иммунитета при попадании туберкулёзной микобактерии в организм [120]. Выраженная гидрофобность клеточной стенки снижает вероятность контакта с рецепторами макрофага, распознаванию поддаются лишь микозидные и липоарабиноманнанные комплексы, обладающие слишком слабым активирующим действием, вследствие чего фагоцитоз не сопровождается выделением свободнорадикальных форм азота и кислорода. В распознавании микобактерий принимают участие CD14-рецепторы макрофагов и рецепторы C3-компонента комплемента (CR1-CR3) [41, 60].

Препятствование образованию фаголизосомы внутри макрофага происходит за счёт выработки аммония, блокирующего активность лизосомальных ферментов посредством защелачивания среды, и сульфолипидов, нейтрализующих мембранотропные катионные белки, формируя на поверхности фагосомы отрицательный заряд. Даже в случае образования фаголизосомы мощная клеточная стенка микобактерии способна выдерживать свободнорадикальные реакции, вызываемые бактерицидными веществами макрофагов [136]. В дополнение к этому микобактерии способны посредством собственных высокоактивных ферментов с каталазной и пероксидазной активностью конкурировать с пероксидазными системами макрофагов и инактивировать гидропероксидазы лизосом, повышая свою устойчивость к оксидантному стрессу [132]. Другим механизмом адаптации микобактерий является использование в ходе собственного метаболизма железосодержащих соединений, прежде всего ферритина, в значительном количестве находящегося в макрофагах, прежде всего – альвеолярных [49].

К эндотоксинам относят миколовые арабинолипиды, которые угнетают дыхание митохондрий. К неспецифическим токсинам относят продукты синтеза липидной части клетки микобактерии – фтиеновые и фтиононовые кислоты, которые вызывают разобщение окислительного фосфорилирования. Усиление метаболических процессов в этих условиях не сопровождается должным синтезом АТФ. Клетки хозяина начинают испытывать энергетический голод, что приводит к угнетению их жизнедеятельности, а в дальнейшем к цитолизу и апоптозу [136].

### 1.3 Вирулентность и генетика микобактерий

Среди важнейших микробиологических свойств микобактерий принято рассматривать и их вирулентность, которая зависит от скорости размножения, степени устойчивости к неблагоприятным факторам окружающей среды и иммунитету макроорганизма, что, в свою очередь, может быть детерминировано генетически [88, 144].

Возбудитель туберкулёза обладает консервативным геномом. Микобактерии туберкулёзного комплекса обладают гомологией ДНК на уровне 85–100 %, в то время как ДНК других видов микобактерий гомологичны им лишь на 4–26 % [17].

Нуклеотидная последовательность хромосомы штамма H37Rv протяжённостью 4 411 529 пар оснований была опубликована в 1998 г. Хромосома туберкулёзной микобактерии представляет собой кольцевую структуру, в составе которой определено около 4 000 генов, кодирующих белки, а также 60, кодирующих функциональные компоненты РНК: уникальный рибосомальный РНК-оперон, 10Sa РНК, участвующий в деградации белков с нетипичной матричной РНК, 45 транспортных РНК (тРНК), более 90 липопротеинов [66].

Более 20 % генома занимают гены метаболизма жирных кислот клеточной стенки, в том числе миколовых кислот, богатых глицином кислых полипептидов (семейства PE и PPE), кодируемых полиморфными участками генома PGRS (Polymorphic GC-rich repetitive sequence) и MPTR (Major polymorphic tandem repeat), соответственно (пятое и четвертое кольца геномной хромосомной карты). Вариабельность этих участков генома обеспечивает различия антигенов и способность ингибировать иммунный ответ [140]. В геноме туберкулёзных микобактерий широко представлены гены, контролирующие факторы вирулентности [102, 144].

Туберкулёзные микобактерии синтезируют все необходимые для обмена компоненты: незаменимые аминокислоты, витамины, ферменты и кофакторы. По

сравнению с другими видами микобактерий, у *M. tuberculosis* повышена активность ферментов липогенеза. Два гена кодируют гемоглобинподобные белки, играющие роль антиокислительных протекторов или ловушек избытка клеточного кислорода. Эти особенности способствуют быстрой адаптации возбудителя к резким изменениям условий окружающей среды [67].

Особенность генома микобактерий туберкулёзного комплекса – большое число повторяющихся последовательностей ДНК. Так, в хромосоме H37Rv насчитывают до 56 копий IS-элементов (insertion sequences – встраивающихся последовательностей), которые обеспечивают ДНК-полиморфизм возбудителя. Большинство из них, за исключением элемента IS6110, неизменны. В составе хромосомы различных штаммов туберкулёзных микобактерий, как правило, присутствует от 5 до 20 копий IS6110, однако встречаются штаммы, не имеющие данного элемента. Наряду с IS-элементами геном содержит несколько типов коротких повторов нуклеотидов (PGRS и MPTR), а также прямые повторы DR (Direct Repeat), находящиеся в DR-области и разделенные переменными последовательностями – спейсерами (шестое кольцо на карте хромосомы). Различия в количестве копий и локализации на хромосоме этих генетических элементов используют для дифференциации штаммов возбудителя в молекулярной эпидемиологии [43]. Наиболее совершенные схемы генотипирования микобактерий основаны на выявлении геномного полиморфизма, обусловленного элементом IS6110, а также DR и их спейсерами. Характерно, что дивергенция вида *M. tuberculosis* происходит, как правило, за счёт рекомбинаций между копиями элемента IS6110, которые фланкируют различные гены [127].

Изучение полиморфизма генов, кодирующих каталазу, пероксидазу и А-субъединицу ДНК-гиразы, у микобактерий туберкулёзного комплекса были выделены три генотипические группы. Наиболее древняя (с точки зрения эволюции) I группа: *M. africanum*, *M. bovis*, *M. tuberculosis* и *M. microti*. II и III группы включают различные штаммы возбудителя, получившие распространение в некоторых географических регионах. Клональное поведение характерно для I и

II групп, а штаммы III группы крайне редко вызывают массовые заболевания. В различных регионах мира распространены генетические семейства, получившие наименования Haarlem, Africa, Filipino [130].

Отдельного упоминания требует возбудитель семейства Beijing, впервые выявленного в образцах лёгочной ткани больных, умерших в 1956–1990 гг. в предместьях Пекина. Эта группа характеризуется повышенной частотой множественной лекарственной устойчивости по сравнению с представителями других семейств. На сегодняшний день штаммы этого семейства обнаружены в государствах Азии, Южной Африки, странах Карибского бассейна, США. Распространение данного генотипа на различных территориях определяется этническими характеристиками коренного населения и мигрантов [63].

Недавно получены данные о распространении штаммов генотипа SI/Beijing на северо-западе европейской части России (Санкт-Петербург) и в регионах Сибири.

Несмотря на полное описание генома туберкулёзных микобактерии, 30 % кодонов имеют отношение к белкам с неизвестными свойствами [118].

Основными факторами вирулентности микобактерий туберкулёзного комплекса являются адгезия, инвазия, адаптация к условиям макроорганизма и продукция различных ферментов (протеазы, коагулазы, фибринолизина, лецитиназы и других) [13, 142].

Один из основных генетических локусов вирулентности – RD1 (Region of Difference 1) – играет ключевую роль в патогенности микобактерии. Делеция этого локуса приводит к аттенуации возбудителя [72], а внедрение его в геном БЦЖ повышает вирулентность вакцинного штамма [98]. Хорошо известно значение липидов клеточной стенки в вирулентности туберкулёзных микобактерий, в частности «корд-фактор», благодаря которому микроколонии выглядят в виде жгутов и кос. Некоторые компоненты клеточной оболочки возбудителя – липоарабиноманнан (LAM), фенольные гликолипиды, сульфатиды, подавляют продукцию кислородных радикалов или синтез IFN $\gamma$ , посредством которого инициируется кислородный взрыв; LAM, кроме того, останавливает

слияние фаго- и лизосомы и пролиферацию Т-клеток, ингибируя тем самым бактерицидную активность макрофагов [45, 127, 135].

Ряд ферментов микобактерий имеют непосредственное значение для их вирулентности. Одним из таких ферментов является липидная фосфатаза SapM, которая предотвращает слияние фагосомы и поздней эндосомы, что препятствует образованию фаголизосомы и приводит к неспособности макрофага к элиминации возбудителя [101]. Существенным отличием микобактерий туберкулёзного комплекса является наличие гомологов гена Rv0394c, кодирующего белок со свойствами гиалуронидазы и хондросульфатазы, которые отсутствуют у непатогенных микобактерий [62].

Еще один способ выживания внутри макроорганизма – это синтез веществ, влияющих на пролиферацию и дифференцировку иммунокомпетентных клеток хозяина. В настоящее время происходящие при этом процессы изучены и поняты не до конца [95, 105].

Одним из механизмов, используемых для избегания факторов иммунной защиты макроорганизма, является также снижение темпа размножения. Ген MT2175 (Rv2115c) и ген, кодирующий белок SecA2, связаны со скоростью роста возбудителя, их делеция приводит к её уменьшению [71, 133].

Важную роль в переходе микобактерий в покоящееся состояние в иммунокомпетентном макроорганизме играет регулон DosR (Dormancy survival regulon). Белок, кодируемый геном hspX уменьшает скорость размножения *in vivo* [73]. Следует отметить, что у туберкулёзных микобактерий существует система сенсорных киназ, в частности, DosS и DosT, которые распознают гипоксию, активные радикалы азота и кислорода, а также CO, индуцируемые клеткой иммунокомпетентного макроорганизма, и активируют регулон DosR, переводящий возбудителя в латентное состояние [113].

Следовательно, микобактерии туберкулёзного комплекса способны изменять темп размножения внутри макроорганизма в зависимости от сложившихся условий. Они также отличаются от других возбудителей тем, что у них выделен дополнительный тип секреции, известный как ESX-система [141],

[59]. Особый интерес представляют секретируемые этой системой небольшие белковые факторы вирулентности, в частности ESAT-6, который считается главным белковым фактором вирулентности туберкулёзных микобактерий [20] и связанный с ним SFP-10. Кодируют систему секреции этих двух иммуногенных белков гены Rv3875 и Rv3874, находящиеся в локусе RD1. Эти белки обладают разнообразными свойствами: они способны инактивировать макрофаги и дендритные клетки [116] и предупреждать слияние фаго- и лизосомы [135]. Секреция ESAT-6 микобактериями приводит к дестабилизации и распаду липосомы [77]. Результат разрушения гена ESAT-6 – потеря возбудителем способности лизировать как эритроциты, так и макрофаги [78]. Следует отметить, что на основе микобактериального белка ESAT-6 разработана известная диагностическая проба «Диаскинтест». Однако необходимо указать, что в последние годы появились сообщения, что блокирование *in vitro* ESAT-6 и SFP-10 не всегда коррелирует с ослаблением вирулентности микобактерий туберкулёзного комплекса [60, 124].

Таким образом, обладая целым спектром генов вирулентности, возбудитель экспрессирует разные гены в разные фазы инфекции. Одни гены «включаются» в ранние фазы и важны для преодоления иммунной защиты и распространения патогена в организме хозяина, другие – для выживания в латентной фазе [4].

Для проявления вирулентных свойств наибольшее значение имеют два феномена: адаптация возбудителя к условиям макроорганизма и вызываемые микобактериями повреждения на молекулярном, клеточном, органном и организменном уровнях [138]. Эволюционная стратегия паразитизма туберкулёзных микобактерий – это сочетание медленно текущей инфекции (сохранение жизни каждой отдельной бактериальной популяции) и неизбежная реактивация некоторой небольшой доли латентных популяций, обеспечивающая горизонтальную передачу инфекции [6].

В различных исследованиях имеются упоминания о примерно сотне уже изученных факторов патогенности туберкулёзных микобактерий, затрагивающих метаболизм жиров, жирных кислот, миколовых кислот, сульфоллипидов,

липопротеинов, белков клеточной мембраны и клеточной стенки, ингибицию протеаз, фагоцитоза и апоптоза, а также множество других факторов [53, 54, 57, 67, 88, 102, 129, 130, 143].

Важно отметить, что не все эти факторы вирулентности строго специфичны для микобактерий туберкулёзного комплекса: например, фтиоцерол димикоцерозат вырабатывает *M. leprae*. Также обращает на себя внимание тот факт, что большинство факторов патогенности исследованы на мышах, морских свинках, кроликах или культурах клеток, следовательно, их актуальность в клинической практике может сильно варьировать.

#### **1.4 Полиморфизм микобактерий**

Явление изменчивости туберкулёзных микобактерий было обнаружено вскоре после их открытия. Уже в 1888 г. И. И. Мечников сообщил, что в культурах, кроме типичных палочек Коха, встречаются полиморфные формы этих микроорганизмов в виде коротких, соединенных попарно звеньев и гигантских образований с колбовидными разветвлениями. Первое сообщение о возможности существования у туберкулёзных микобактерий фильтрующихся форм относится к 1910 г. (A. Fontes). При химиотерапии экспериментального деструктивного туберкулёза, а также после ее прекращения в гомогенатах из стенки каверны, пропускаемых через бактериальные фильтры с размером пор 0,2 мкм, были обнаружены очень мелкие, с упрощенной структурой формы возбудителя туберкулёза. Затем было показано, что эти формы путем многократных биологических пассажей способны реверсировать в классическую палочковидную форму.

Предполагается, что в таких случаях может иметь место полная или частичная утрата микобактериями своей клеточной стенки, либо её компонентов с образованием L-форм в ответ на неблагоприятные для возбудителя условия, создаваемые иммунной системой или вследствие химиотерапии (L-трансформирующее действие было обнаружено у большинства используемых

в клинике противотуберкулёзных препаратов). Принципиально важной особенностью таких форм является их способность к реверсии в исходные бактериальные формы с полным восстановлением вирулентности. Также необходимо отметить сохраняющуюся у них способность к размножению [5]. Иными словами, несмотря на клинически благоприятную динамику, в случае ослабления резистентности макроорганизма или на фоне прекращения химиотерапии имеется риск мощной эндогенной реинфекции за счёт персистировавших микроорганизмов [53, 55].

Феномен присутствия в туберкулёзном очаге атипичных форм микобактерий достаточно распространён, но скудно освещён в научной литературе. Наряду с классическими палочками Коха, могут встречаться кокковидные (от 20 до 90 % всех микобактерий), ветвящиеся (от 1 до 10 %) и различные другие формы (удлинённые, булавовидные и пр.), на которые так же может приходиться до 10 % микобактерий, обнаруживаемых с помощью ИГХ, флюоресцентных методов или окраски по Цилю – Нильсену [61].

Существует несколько объяснений происхождения атипичных микобактерий [79]:

- 1) Попадание в организм извне сапрофитов, родственных туберкулёзным микобактериям, имеющих с ними схожие тинкториальные и антигенные свойства.
- 2) Атипичные формы микобактерий могут быть переходными этапами между обычными микобактериями и их L-формами.
- 3) При активном размножении микобактерий, особенно почкованием, молодые микроорганизмы первоначально приобретают именно атипичную форму: почки образуются чаще на конце клетки или на боковой поверхности, сначала появляется маленький бугорок, который увеличивается, округляется, затем отваливается или, оставаясь соединённым с материнской клеткой, развивается дальше. Почки, часто вытягиваясь в длину, превращаются в палочковидные ветки. Трудно в таких случаях установить, что считать почкой, а что – веткой, так как и почкование, и ветвление представляют, в сущности, один и тот же процесс. Различие заключается лишь в том, что при настоящем ветвлении

ветки не отделяются и не могут существовать самостоятельно. В дальнейшем бугорок увеличивается в размерах и отпочковывается от материнской клетки в виде образования кокковидной формы. Весь цикл размножения и воспроизводства продолжается примерно 7–9 суток. Вновь появившиеся молодые палочки до окончательного формирования могут приобретать ветвящуюся форму, напоминающую мицелий плесневых грибов.

4) Возможен обратный процесс: превращение обычных форм в кокковидные в конце жизненного цикла, когда клетки укорачиваются и принимают кокковидную форму. Кокковидные клетки имеют такой же диаметр, как и палочки, или несколько больший; одиночные, или соединены в пары, или короткие кривые цепочки, или механически сцеплены в кучи. Кокковидные клетки некоторое время продолжают размножаться, а затем переходят в состояние покоя. Таким образом, микобактерии в своем развитии проходят цикл превращений из палочковидных форм в кокковидные. Как результат изменчивости появляются некислоустойчивые формы, среди которых часто встречаются так называемые зёрна Муха.

Наряду с морфологической изменчивостью туберкулёзным микобактериям свойственна широкая изменчивость и других признаков, в частности кислотоустойчивости. Последняя проявляется способностью сохранять окраску даже при интенсивном обесцвечивании кислым спиртом и является характерной особенностью всех видов микобактерий, обусловленной высоким содержанием в них миколовой кислоты и липидов. Частичная или полная утрата кислотоустойчивости ведёт к образованию смешанной, состоящей из кислотоустойчивых и некислоустойчивых особей, или полностью некислоустойчивой популяции [81].

В зависимости от степени утраты клеточной стенки принято выделять протопласты и сферопласты. Протопласты полностью лишены клеточной стенки подобно микоплазмам. Сферопласты находятся в промежуточном положении ввиду неполной утраты клеточной стенки, следовательно, их физиологические и тинкториальные свойства имеют черты как обычных кислотоустойчивых, так и

некислотоустойчивых микобактерий.

Ведущим элементом процесса исчезновения бактериальной клеточной стенки с дальнейшей утратой формы клетки (ввиду отсутствия жёсткого каркаса) является потеря пептидогликанов, несущих опорную функцию, угнетение биосинтеза которых является одним из основных направлений действия противотуберкулёзных препаратов [47].

В различных источниках атипичные формы микобактерий имеют различные названия: «микококки», «амёбоподобные клетки», «почкующиеся дрожжеподобные структуры», «элементарные тельца», «нитчатые структуры», «эндоспоры», «овоидные клетки».

Это в очередной раз подтверждает высокую степень полиморфизма, вызванного различными сочетаниями таких процессов, как неравномерное деление, почкование, протрузия-экструзия элементарных телец и гранул, внутриклеточная фрагментация цитоплазмы и т. д. Также описаны т. н. «материнские клетки» – своеобразные симпласты, при своём распаде дающие множество гранулярных структур.

Непосредственные механизмы утраты клеточной стенки ещё предстоит изучить. В частности, существует вариант, при котором синтез компонентов клеточной стенки не прекращается и они продолжают через мембранные поры выходить на наружную поверхность клетки, однако в дальнейшем не соединяются в единую структуру.

С образованием атипичных форм связывают и феномен дормантности – перехода микобактерий в покоящееся состояние в виде «цистоподобных» или «спороподобных» форм (в том числе внутри макрофагов при незавершённом фагоцитозе), позволяющее избегать взаимодействия с иммунной системой макроорганизма, но значительно снижающее потенциал к росту и делению (либо полностью исключаящее эту возможность). Одним из примеров длительного существования микобактерий в дормантном виде на фоне сниженного иммунного статуса является прививка БЦЖ у пациентов с ВИЧ-инфекцией, у которых даже через много лет после вакцинации находят персистирующие микобактерии

именно того штамма, который использовался во введённом препарате [39].

В отсутствие мощной клеточной стенки, затрудняющей обмен веществами с окружающей средой, атипичные формы микобактерий демонстрируют способность к ускоренному, а по сравнению с обычным медленным метаболизмом микобактерий – крайне активному росту на любых стандартных средах, особенно в виде кокковидных и вегетирующих форм. Об активном метаболизме таких микроорганизмов так же свидетельствуют увеличенные в размерах митохондрии и эндоплазматическая сеть [90].

### **1.5 Морфогенез туберкулёза**

Наиболее характерной для туберкулёза структурой является гранулёма. Туберкулёзная гранулёма представляет собой очаг пролиферативного воспаления, имеющий вид плотного узелка с фокусом казеозного некроза в центре, в воспалительном инфильтрате вокруг которого преобладают производные моноцитов: макрофаги, эпителиоидные и гигантские многоядерные клетки, формирующие компактные скопления с участием лимфоцитов, плазмоцитов, нейтрофилов и фибробластов. Причина формирования гранулёмы – невозможность полной и быстрой элиминации туберкулёзных микобактерий.

Использовавшийся прежде термин «специфическое воспаление» в настоящее время не актуален, т. к. ни один из составляющих его элементов не уникален и регулярно встречается при других инфекционных (хламидиоз, микозы и многие другие) и неинфекционных (саркоидоз, бериллиоз и т. д.) заболеваниях [1].

Иммунологической основой для формирования гранулёмы при туберкулёзе считается гиперчувствительность замедленного типа (ГЗТ). На ранних этапах формирования гранулёмы в область поражения мигрируют нейтрофилы и макрофаги, чья фагоцитарная активность призвана сдерживать размножение бактерий. Позже начинается трансформация макрофагов в эпителиоидные клетки, располагающиеся частоколом вокруг очага. На периферии гранулёмы находятся Т- и В-лимфоциты, а так же фибробласты. Кровеносные и лимфатические сосуды

в гранулёме отсутствуют [117].

Проявлением ГЗТ можно считать и дальнейшее формирование казеозного некроза, когда под влиянием лизосомальных ферментов иммунокомпетентных клеток происходит разрушение окружающих тканей, при этом немногочисленные уцелевшие компоненты (например, эластические волокна) уплотняют очаг некроза, придавая ему характерный творожистый вид. Важно отметить, что более точные механизмы формирования казеозного некроза (в т. ч. участие в его формировании элементов ГНТ) нуждаются в дальнейшем изучении [80].

А. И. Струков сформулировал морфологическую классификацию микро- и макроскопических проявлений туберкулёза, отметив разные варианты соотношения между элементами туберкулёзной гранулёмы [27].

При этом необходимо отметить, что ни в одной из работ А. И. Струкова, как и большинства других авторов, не имеется точных данных о локализации микобактерий *in vivo*, что делает этот аспект крайне важным для изучения [21, 25].

Таким образом, изучая очаг туберкулёзного поражения, имеющий в своём составе, как старые рубцовые изменения, так и свежие признаки экссудации, можно проследить эволюцию инфекционного процесса. Исходя из этого, можно сказать, что даже при изучении первичного туберкулёза существуют сложности с определением хронологии процесса [26].

Обобщая сведения о различных вариантах туберкулёзного процесса, можно выделить несколько морфологических вариантов поражения, встречающихся в различных сочетаниях и имеющих различную выраженность в зависимости от реактивности макроорганизма, а возможно и свойств возбудителя [81]:

1) Туберкулёзные бугорки (гранулёмы) – наименьший по размеру элемент, представленный ограниченными тканевыми образованиями. При этом одна из фаз воспаления (включая альтеративную) может преобладать. Экссудативный компонент служит показателем аллергической реакции либо токсического воздействия, а пролиферативный – клеточного иммунитета.

2) Туберкулёзные очаги – более крупные образования, возникающие

контактным, лимфогенным, гематогенным и бронхогенным путём. Размер их варьирует от ацинозного до лобулярного. Возможны волнообразные изменения со сменяющимися друг друга пролиферативными и экссудативными явлениями, характеризующимися увеличением объёма казеозных масс и их последующей инкапсуляцией. В дальнейшем очаги подвергаются фиброзу, обызвествлению, либо оссификации, при этом могут послужить источником эндогенной реактивации туберкулеза [104].

3) Туберкулезная пневмония – результат прогрессирования процесса, в зависимости от преобладающей фазы воспаления и выраженности некротического компонента может быть три варианта:

- инфильтративный (преимущественно гранулематозное воспаление),
- инфильтративно-казеозный (сочетание гранулематозного воспаления с некротическим компонентом),
- казеозный (преобладание экссудативно-альтеративного воспаления).

Могут одновременно встречаться фокусы (размеры – вплоть до долевого и тотального) казеозной пневмонии на разных этапах своей эволюции [12].

4) Туберкулёзные язвы (в полых органах) и полости (каверны) – формируются в исходе некротического поражения как результат распада ткани, в зависимости от течения разделяют на острые, подострые и хронические. Стенка острой каверны имеет два слоя: гнойно-некротический, представленный казеозными массами и лейкоцитами, и наружный, представленный тканью поражённого органа с экссудативными явлениями [56]. В стенке хронической каверны слоёв три: помимо гнойно-некротического имеется средний слой, содержащий грануляции и эпителиоидные гранулёмы, а также наружный слой – фиброзная капсула. В зависимости от активности туберкулёзного процесса соотношение между слоями может быть различным. Подострая каверна – промежуточный вариант, предполагающий незавершённый наружный слой [91].

## 1.6 Цитологическая характеристика формирования гранулёмы

В зависимости от реактивности макроорганизма, его иммунитета и свойств конкретного штамма микобактерии, тканевые реакции могут быть представлены как выраженными экссудативно-некротическими изменениями, так и параспецифическими реакциями.

Как и любой инфекционный процесс, туберкулёз характеризуется повышением интенсивности обменных процессов, влияющих на функциональное состояние клеток [139].

На начальной фазе воспалительного процесса при туберкулёзе на фоне пролиферации и трансформации клеточных элементов происходит увеличение числа функционально активных клеток – альвеолоцитов и макрофагов – в межальвеолярных перегородках и в просвете альвеол. В дальнейшем, при появлении очагов казеозного некроза, интенсивность обмена в макрофагах, эпителиоидных и гигантских клетках продолжает нарастать. То же самое наблюдается и в лимфоидных элементах. При наличии тенденции к отграничению повышается активность ферментов также и в фибробластах. Метаболизм клеток интактной лёгочной ткани нестабилен, отличается мозаичностью [8].

Первоначально в очаге поражения происходит инфильтрация межальвеолярных перегородок, перибронхиальной и периваскулярной соединительной ткани моноцитами [121]. Затем начинается формирование небольших лимфоидно-макрофагальных узелков, число и размер которых постепенно увеличивается. Позже появляется периваскулярная и перибронхиальная лимфо-плазмоцитарная инфильтрация, формируются туберкулёзные бугорки, в состав которых входят эпителиоидные клетки. Позже в центре гранулём определяется казеозный некроз. Постепенно фокусы инфильтрации и некроза сливаются между собой с формированием полостей распада [119].

В начале воспалительной реакции лейкоциты скапливаются на внутренней поверхности капиллярной стенки, фиксируясь на эндотелиоцитах – т. н. краевое

стояние. Затем эндотелиоциты сокращаются, после чего в образовавшуюся щель проникает псевдоподия лейкоцита, отслаивая эндотелиоцит от базальной мембраны, которую посредством т. н. феномена тикситропии (уменьшения вязкости в ответ на механическое воздействие) в зоне соприкосновения переводит из состояния геля в золь. После преодоления лейкоцитом золь базальная мембрана восстанавливается в плотный гель [28].

Важную роль во всех этих реакциях играют эндотелиоциты, выделяющие в ответ на действие цитокинов и эндотоксинов адгезивные молекулы (селектины, интегрины и пр.), метаболиты арахидоновой кислоты, факторы роста и другие вещества, обеспечивающие взаимодействие с лейкоцитами и другими клеточными элементами [37].

Схожие изменения, связанные с повышением клеточной проницаемости, наблюдаются и в альвеолоцитах. Со временем отёчность стенки альвеолы нарастает [139].

Перечисленные изменения пагубно сказываются на выработке сурфактанта, который с течением времени будет ещё больше угнетаться вследствие дальнейшего повреждения альвеолоцитов, нарушения процесса удаления сурфактанта с альвеолярной поверхности, выхода в альвеолы экссудата, богатого белком, выпадения фибрина и т. д. [8].

Интерстиций межальвеолярных перегородок расширен, инфильтрирован моноцитами, в гистиоцитах наблюдается усиление синтетических процессов и функциональной активности.

Со временем формируется картина, при которой одни капилляры вследствие набухания эндотелия выглядят спавшимися, а другие вследствие уплощения выстилки выглядят расширенными с нейтрофилами, лимфоцитами, тромбоцитами и моноцитами в просвете. В дальнейшем проницаемость сосудов и интерстициальный отёк будут только нарастать.

Сочетание отёка, инфильтрации, клеточной пролиферации и фибриллогенеза приводит к деформации стенки альвеолы, сдавлению капилляров и нарушению газообмена с последующим формированием дис- и ателектазов [139].

При злокачественном, остро прогрессирующем течении туберкулёза, сопровождающимся экссудативно-альтеративной тканевой реакцией и быстрым наступлением казеозного распада с формированием каверн, наблюдается не только глубокое нарушение респираторного отдела лёгких и микроциркуляторного русла, но и подавление рецепторной, фагоцитарной и переваривающей активности нейтрофилов и макрофагов, а также выраженная Т-клеточная иммуносупрессия, выражающаяся в нарушении морфофункционального состояния лимфоцитов в стенке каверны и за её пределами [82].

На фоне эффективного лечения туберкулёза наблюдаются компенсаторно-восстановительные процессы, преобладающие над дистрофическими, в эндотелии капилляров и альвеолоцитах, выражающиеся в уменьшении отёка, усилении макрофагальной активности [114]. Наряду с дистрофическими изменениями альвеолоцитов 2-го типа могут встречаться и гипертрофические, как проявление компенсаторно-приспособительных реакций. Важную роль в восстановлении эпителия играет базальная мембрана, которая служит микроскелетом альвеол [8].

### **1.7 Морфологическая диагностика туберкулёза**

Хотя большинство методов диагностики туберкулёза стали рутинными и их суть прекрасно ясна врачам любого профиля, практикующие специалисты в современных условиях регулярно сталкиваются с рядом сложностей, влияющих на достоверность и своевременность постановки диагноза. Одной из основных проблем является изменчивость морфологии туберкулёза, которая со временем будет становиться всё более актуальной. Данное явление, наблюдаемое отнюдь не только в сочетании с ВИЧ-инфекцией, но и у иммунокомпетентных пациентов, представлено атипичными морфологическими и тинкториальными свойствами микобактерий.

Наибольшее распространение получило выявление кислотоустойчивых

бактерий по методу Циля – Нильсена, используемому в разных модификациях в большинстве патологоанатомических лабораторий. Суть данного метода состоит в том, что толстая клеточная стенка микобактерий, имеющая в своём составе гетерогенную смесь высокомолекулярных липополисахаридов и обеспечивающая возбудителю непревзойдённую резистентность по отношению к разнообразным неблагоприятным факторам окружающей среды, будучи окрашенной, сохраняет краситель после обработки кислотами, благодаря чему микобактерии хорошо визуализируются на обесцвеченном фоне и тем самым отличаются от не обладающих кислотоустойчивостью микроорганизмов, из которых краситель вымывается.

Данный принцип был первоначально предложен немцем Паулем Эрлихом, затем его соотечественник Франц Циль (Franz Ziehl, 1857–1926) в 1882 году предложил использовать карболовую кислоту для облегчения проникновения красителя через клеточную стенку микобактерии, и, наконец, в 1884 году уроженец Дании Фридрих Нильсен (Friedrich Neelsen, 1854–1898) улучшил методику за счёт замены метилового фиолетового на основной фуксин. В итоговом виде классическая пропись карболового фуксина по Цилю – Нильсену выглядела следующим образом: 1 г основного фуксина, 5 г фенола (карболовой кислоты), 10 мл 96 % этилового спирта [85].

Впоследствии множество авторов предлагали свои изменения данного состава в стремлении усилить окрашивающую способность раствора или, наоборот, сделать окраску более избирательной [96]. В частности, количество основного фуксина варьирует от 0,5 г (Goodpasture) до 10 г (Davalos), а фенола – от 3,75 г (Huntoon), до 25 г (Verhoeff). Встречаются также варианты с увеличенным количеством спирта (Albrecht, Muller, Pottenger), а также включающие в состав глицерин. Отдельно нужно сказать о методах, использующих для окраски исключительно новый фуксин (New fuchsin, C.I. 42 520) вместо классического основного фуксина (C.I. 42510), представляющего собой смесь нового фуксина с менее метилированными розанилином, парарозанилином и маджентой II и, таким образом, производится окраска по

Файту (Fite), которая также характеризуется использованием вместо этанола метанола [126].

В некоторых источниках так же упоминается окраска по Брауну – Хоппсу (Brown-Hopps) [51], представляющей из себя модификацию окраски по Граму, где на заключительных этапах в протокол включён пикроацетон – раствор пикриновой кислоты в ацетоне, обеспечивающий дополнительную дифференцировку и контр-окрашивание фона микропрепарата в жёлтый цвет, а так же, в зависимости от конкретного источника, иногда фигурирует дифференцирующий раствор Галлего, включающий в себя формальдегид и уксусную кислоту. В целом, данный метод окрашивания не демонстрирует более высокой чувствительности по сравнению с классической окраской по Граму, особенно если учесть технические сложности при выполнении данного протокола, связанные с высокой способностью ацетона к быстрому обесцвечиванию микропрепарата даже при минимальном превышении времени экспозиции. Специфичность метода, с учётом слабых грамположительных свойств туберкулёзных микобактерий, также далека от идеала.

Более чувствительным методом по сравнению с классическими, использующим феномен кислотоустойчивости микобактерий, является флюоресцентное окрашивание с использованием в соотношении 2 : 1 Аурамина О (С.І. 41 000), относящегося к классу диарилметанов, и Родамина В (С.І. 45 170) из класса родаминов. Данная окраска, предложенная Купером и Мэем (Kuper & May) в середине XX века [68], благодаря высокой контрастности позволяет выявлять не только классические палочки Коха с полностью сохранённой клеточной стенкой, но и атипичные формы микобактерий, потерявших часть компонентов клеточной стенки и демонстрирующие очень слабую кислотоустойчивость при окраске по Цилю – Нильсену. Для улучшения проникновения красителя внутрь микобактерий используется тот же комплекс мер, что и при окраске карболовым фуксином, а именно нагревание и включение в состав красящего раствора карболовой кислоты [99]. С учётом того, что некоторые компоненты клеток (каротиноиды, коллаген, эластин и пр.) способны к аутофлюоресценции,

производится обесцвечивание фона с использованием перманганата калия [75]. Естественным недостатком данного метода является необходимость использования флюоресцентного микроскопа.

Большие надежды связывались с иммуногистохимической диагностикой туберкулёза [103], однако на данный момент широкого распространения эта методика пока не имеет [9]. Антитела к туберкулёзным микобактериям представлены на рынке в ограниченном количестве и не всегда демонстрируют оптимальную специфичность [87]. Проблемой является перекрёстная чувствительность ряда антител как к микобактериями туберкулёзного комплекса (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. microti*), так и к нетуберкулёзным микобактериям, что, с учётом распространённости последних, вызывает трудности в диагностике [134]. Необходимо отметить, что ни одна из имеющихся в настоящее время на рынке иммуногистохимических систем официально не допущена для диагностики туберкулёза, поэтому применение данного метода пока возможно в научных целях, но не в клинической практике.

В использовании для диагностики туберкулёза такого чувствительного метода, как ПЦР, наблюдается два направления: первое связано с получением экстракта ДНК из выбранных для исследования участков парафинового блока/среза посредством удаления парафина ксилолом с дальнейшим центрифугированием, извлечением из ткани ДНК и придания ей пригодного для исследования физического и химического состояния [19].

Второе направление предполагает использование в диагностике туберкулёза ПЦР *in situ*, предполагающего в качестве объекта исследования непосредственно гистологические срезы с парафиновых блоков, прошедших спиртовую проводку и фиксацию формалином. Данный метод способен демонстрировать значительную эффективность за счёт высокой специфичности, но сопряжён с целым рядом технологических нюансов, т. к. при взаимодействии с формалином происходит необратимая потеря нуклеиновых кислот (свыше 90 % РНК и не менее 75 % ДНК), что сопровождается разрывом их цепей, ограничивающим размер пригодных к исследованию последовательностей и появлением артефициальных

мутаций, при этом отмечается большая склонность к повреждению краевых последовательностей, чем центральной части молекулы.

Данный процесс в той или иной мере выражен и после заливки в парафин, вследствие чего блоки, находившиеся в архиве больше года, хуже поддаются исследованию, чем свежие. В целом, пригодными для исследования считаются фрагменты нуклеиновых кислот, насчитывающие не менее 100 пар нуклеотидов. С целью увеличения размера амплифицируемых фрагментов нуклеиновых кислот используются различные приёмы, такие как инкубация с *taq*-полимеразами и *K*-протеиназами, замена формалина на жидкость Карнуа, использование щадящих по отношению к ткани протоколов проводки и депарафинизации и т. д. При этом, например, *K*-протеиназу после примерно получасовой обработки необходимо в обязательном порядке инактивировать, как и эндогенную щелочную фосфатазу. Используемые для выявления туберкулёзных микобактерий праймеры IS6110 имеют последовательности (5'-CCT GCG AGC GTA GGC GTC GG-3') и (5'-CTC GTC CAG CGC CGC TTC GG-3'). После осуществляемых аппаратно в амплификаторе денатурации, отжига и элонгации в течение примерно 35 циклов, продукты ПЦР выявляются посредством овечьих антител к антидигоксигенину, сопряжённых с щелочной фосфатазой в разведении 1/500. В качестве хромогена используется 5-бromo-4-хлоро-3-3-индолилфосфат толуидиновой соли тетразолиевого нитроголубого, а в качестве контркрасителя – ядерный прочный красный. Правильно проведённая ПЦР зачастую демонстрирует весьма интересные результаты, не только выявляя микобактерии в малом количестве там, где иные методы оказывались бессильны (например, в случаях, трактованных как болезнь Крона), но и демонстрируя локализацию возбудителя внеклеточно за пределами гранулёмы [92].

Перспективным также видится использование конфокальной лазерной сканирующей микроскопии, когда оптическая система формирует светящееся пятно на заданной глубине микрообъекта, что даёт возможность путём сканирования получать послойное изображение препарата с контрастированием внутренних структур. Программное обеспечение КЛСМ обеспечивает

визуализацию изображения, трёхмерную реконструкцию объекта, различные виды анализа внутриклеточных структур. В конфокальном микроскопе путём послойного просматривания препарата достигнута возможность исследования фрагментов цитоскелета, изучения адгезии и межклеточных взаимодействий, возможность концентрационных измерений в компартментах клетки, измерений проницаемости цитоплазматических и митохондриальных мембран, внутриклеточного pH и потенциалов на клеточных мембранах, возможность осуществления тонких процедур получения трёхмерной реконструкции клетки [10].

Хотя большинство классических методов диагностики туберкулёза стали рутинными, практикующие специалисты в современных условиях регулярно сталкиваются с рядом сложностей, влияющих на достоверность и своевременность постановки диагноза. Одной из основных проблем является изменчивость морфологии туберкулёза. Прежде всего, источником трудностей является постоянно увеличивающееся число случаев сочетания туберкулёза и ВИЧ-инфекции, что не только приводит к увеличению тяжести и распространённости туберкулёзного поражения, но и накладывает отпечаток на морфологическую картину заболевания [2, 7, 16, 33, 115].

Особенностью протекания туберкулёза на фоне ВИЧ-инфекции является нестандартное строение туберкулёзной гранулёмы и вообще угнетение гранулематозной реакции тканей на возбудителя с преобладанием альтеративно-экссудативных изменений [18]. При этом наблюдаются большие объёмы казеозных масс, сниженное присутствие эпителиоидных клеток и лимфоцитов, а гигантские клетки Лангганса могут не обнаруживаться вовсе или быть атипичными. Всё перечисленное является закономерным результатом угнетения клеточного звена иммунитета [32, 44].

Тем не менее, было бы несправедливым жёстко увязывать нетипичную морфологическую картину туберкулёзного воспаления исключительно с иммуносупрессией [131]. Накопленный опыт и современные данные свидетельствуют о том, что и без сопутствующей патологии выраженные,

достоверные признаки классической туберкулёзной гранулёмы встречаются далеко не всегда, ставя под вопрос сам термин «специфическое воспаление», а отчасти сходная с туберкулёзом морфологическая картина может определяться и при патологических процессах иной этиологии, что требует ещё большей настороженности в случае обнаружения морфологических признаков гранулематозного поражения [11, 58].

Следующий аспект состоит в возможности одновременного сочетания ВИЧ-инфекции не только с туберкулёзом, но и с рядом других инфекций, способных наслаиваться на морфологическую картину туберкулёза [137]. Такими инфекциями являются аспергиллёз, криптококкоз, пневмоцистоз и микоплазмоз. Помимо этого, возможно сочетание туберкулёзных микобактерий с нетуберкулёзными [89].

Ещё одно явление, опять же наблюдаемое как в сочетании с ВИЧ-инфекцией, так и у иммунокомпетентных пациентов, представлено атипичными морфологическими и тинкториальными свойствами микобактерий [100]. Феномен, при котором микобактерии не окрашиваются по Цилю – Нильсену, либо окрашиваются крайне слабо, известен многим, но по-прежнему не имеет достоверного объяснения [34].

Отдельного упоминания требует вопрос локализации микобактерий в ткани. В большинстве источников таковой «по умолчанию» считается внутриклеточная, этот феномен лежит в основе доминирующих взглядов на патогенез туберкулёза. Однако, его полной характеристики *in vivo* с выявлением его частоты при использовании различных методов в доступной литературе нам обнаружить не удалось. Практика показывает большую значимость внеклеточного расположения возбудителя, что позволяет вывести на новый уровень дискуссию о морфологии туберкулёза, т. к. в данном случае может иметь место образование возбудителем биоплёнок, особенно актуальный в связи с формированием лекарственной устойчивости. Микробные биопленки при туберкулёзе затрагиваются вскользь лишь в единичных публикациях, однако и в них подчёркивается внеклеточное расположение возбудителя [24, 76, 123].

Исходя из вышесказанного ясно, что в прямой зависимости от состояния клеточной стенки микобактерий находятся и их тинкториальные свойства, особенно на примере классической окраски по Цилю – Нильсену. Приходится констатировать, что надежных методов выявления атипичных форм туберкулёзных микобактерий в тканях морфологическими методами в настоящее время не существует, что закреплено консенсусом круглого стола конгресса НАФ [15].

## ГЛАВА 2 СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Материал и методы

Исследовано три группы: 1 – контрольная группа, представленная пациентами с впервые выявленным посмертно туберкулёзом (на базе городского бюро судебно-медицинской экспертизы), 2 – пациенты с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции (на базе СПб ГБУЗ «Больница Боткина»), 3 – пациенты с длительно протекавшим фиброзно-кавернозным туберкулёзом (на базе СПб ГБУЗ «Туберкулёзная больница № 8»).

Кусочки лёгких для гистологического исследования фиксировались в 10 % нейтральном формалине с последующей проводкой в спиртах (аппарат Thermo Fisher Scientific STP 120) и заливкой в парафин (аппарат Thermo Fisher Scientific EC 350) по общепринятым методикам. Срезы вручную окрашивались гематоксилином-эозином, карболовым фуксином по Цилю – Нильсену (приготовленным по классической прописи Циля с использованием основного фуксина (С.И. 42 510) производства Panreac, Испания), аурамино-родамином (приготовленным по классической прописи Купера с использованием Аурамина О (С.И. 41 000) и Родамина В (С.И. 45 170) производства Merck, Германия) с последующим исследованием с помощью флюоресцентного микроскопа Nikon Eclipse 50i. Так же производилось иммуногистохимическое исследование с использованием поликлональных антител PA1-7231 к антигену PAB (Protein antigen B) производства Thermo, (США) в разведении 1 к 250.

Исследование включало в себя оценку выраженности морфологических изменений в области каверн и активности туберкулёзного процесса по классификации Б.М. Ариэля [29] (5 степеней воспаления: от 1-й, минимальной (затихший туберкулёз), до 5-й, максимальной (остро прогрессирующий туберкулёз), подсчёт количества микобактерий на площади 1 см<sup>2</sup> при увеличении × 400 (диаметр поля зрения 0,50 мм) и количества полей зрения, в которых они визуализируются, соотношения между различными морфологическими формами

возбудителя (палочковидными, кокковидными, булавовидными и ветвящимися), а также их локализации (внутриклеточно, внеклеточно, либо в виде адгезированных на поверхности фагоцитов).

Статистическая обработка выполнена в программах Statistica 6.0 (StatSoft, США) и Microsoft Excel 2010. Она включала в себя оценку нормальности распределения и значимости различий.

Оценка нормальности выборки выполнялась посредством вычисления критерия согласия Пирсона. Наблюдаемое значение критерия Пирсона сравнивалось с критической областью и, в случае если  $K_{\text{набл}} < K_{\text{кр}}$ , считалось справедливым предположение о том, что данные выборки имеют нормальное распределение.

После доказательства нормального характера распределения и оценки соотношения различных морфологических форм микобактерий подсчитывалось среднее значение и вычислялось стандартное отклонение. Значимость различий между методами исследования оценивалась путём вычисления критерия Стьюдента. Полученный результат сравнивался с критическими значениями с доверительной вероятностью  $d = 0,95$ . В случае, если  $t_{\text{набл}} > t_{\text{кр}}$ , различия признавались значимыми.

### **2.1.1 Пациенты с впервые выявленным посмертно туберкулёзом**

В качестве контрольной группы выбраны пациенты с впервые выявленным посмертно туберкулёзом.

Критерии включения: туберкулёз в качестве первоначальной причины смерти, отсутствие пациента на учёте в противотуберкулёзном диспансере, отсутствие ранее проведённого специфического лечения.

Критерии исключения: наличие ВИЧ-инфекции или иных иммуносупрессивных состояний, инфицирование *M. Avium* или *M. Bovis*.

На базе городского бюро судебно-медицинской экспертизы было изучено 12 (9 мужчин и 3 женщины) аутопсийных наблюдений. Средний возраст составил

(61,25 ± 11,62) лет (Рисунок 1). У всех пациентов туберкулёз был впервые выявлен посмертно, на учёте в противотуберкулёзном диспансере ни один не состоял, следовательно не получал противотуберкулёзную терапию. Отсутствие сочетания с ВИЧ-инфекцией во всех исследованных случаях было установлено в ходе проходившего параллельно исследованию случаев посмертной диагностики ВИЧ-инфекции. Иных заболеваний или состояний, сопровождающихся иммуносупрессией, в частности сахарного диабета либо терапии глюкокортикостероидами, ни в одном из наблюдений при анализе поликлинических статкарт отмечено не было. На вскрытии во всех случаях были обнаружены каверны, однако в четырёх наблюдениях картина фиброзно-кавернозного туберкулёза дополнялась признаками генерализации процесса, проявившимися в виде поражения внутригрудных лимфоузлов, почек и селезёнки.

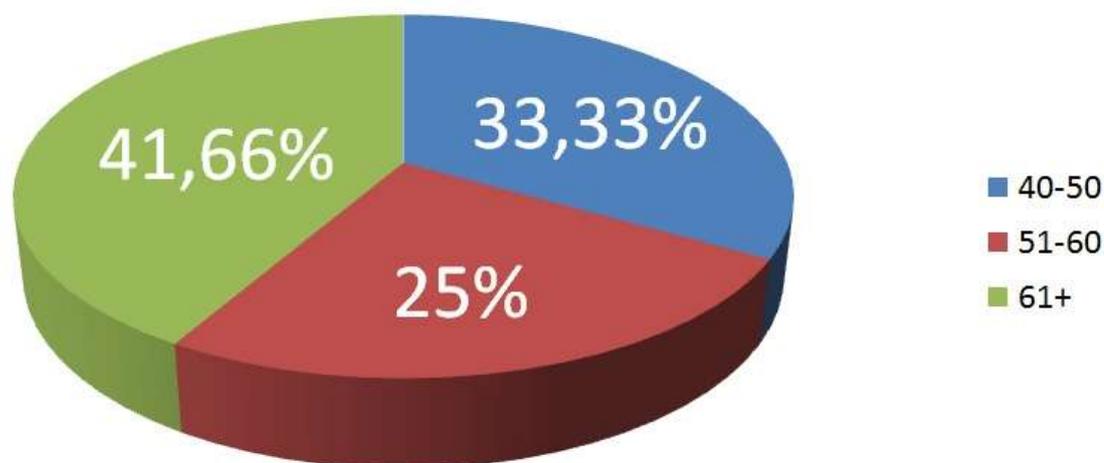


Рисунок 1 – Пациенты с впервые выявленным туберкулезом.

Возраст, годы

### 2.1.2 Пациенты с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции

На базе СПб ГБУЗ «Больница Боткина» проведён анализ аутопсийного материала за 2018 год (736 вскрытий): анамнез, клинические данные, результаты

прижизненных и посмертных исследований.

Критерии включения: верифицированный туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией в стадии 4В.

Критерии исключения: наличие иных иммуносупрессивных состояний, кроме ВИЧ, инфицирование *M. Avium* или *M. Bovis*.

Подробно изучено 8 (5 мужчин и 3 женщины) аутопсийных наблюдений с сочетанием туберкулёза (наличие *M. Avium* и *M. Bovis* исключено) и ВИЧ-инфекции (Приложение Б, Таблица 1). Средний возраст составил  $(38,25 \pm 1,94)$  лет (Рисунок 2). У всех пациентов была верифицирована ВИЧ-инфекция в стадии 4В с прогрессированием, сопровождавшаяся кахексией и орофарингеальным кандидозом. В трёх случаях имелся хронический вирусный гепатит С, в остальных пяти – сочетание вирусных гепатитов В и С. В половине случаев АРВТ не проводилась (–), в половине – была начата (+/–), но самовольно прекращена пациентом, в связи с чем влияния на картину заболевания не оказала. Во всех случаях в анамнезе имела место наркотическая зависимость от опиатов. В 4 случаях туберкулёз был выявлен ранее (давность составляла от 1 до 3 лет, данных о полноценной противотуберкулёзной терапии и её результатах анамнестически не получено) в 4 случаях туберкулёз был выявлен впервые в данную госпитализацию.

У всех пациентов был клинически, рентгенологически и лабораторно верифицированный генерализованный туберкулёз в фазе прогрессирования, указанный во всех случаях в качестве непосредственной причины смерти. Морфологические формы туберкулёза значительно различались, в различных сочетаниях встречался инфильтративный и фиброзно-очаговый туберкулёз лёгких, туберкулёзный плеврит, туберкулёз внутригрудных, надключичных, подмышечных, забрюшинных и мезентериальных лимфатических узлов, туберкулёзный спондилит и сакроилеит, туберкулёз почек, надпочечников, печени, селезёнки, тонкой и слепой кишки.

В числе осложнений, как правило, встречалась анемия, гидроторакс, отёк лёгких, отёк головного мозга, почечная и печёночная недостаточность. В качестве

сопутствующих заболеваний часто встречались хронический панкреатит и начальные стадии атеросклероза аорты. Иных заболеваний или состояний, сопровождающихся иммуносупрессией, в частности сахарного диабета либо терапии глюкокортикостероидами, ни в одном из наблюдений отмечено не было.

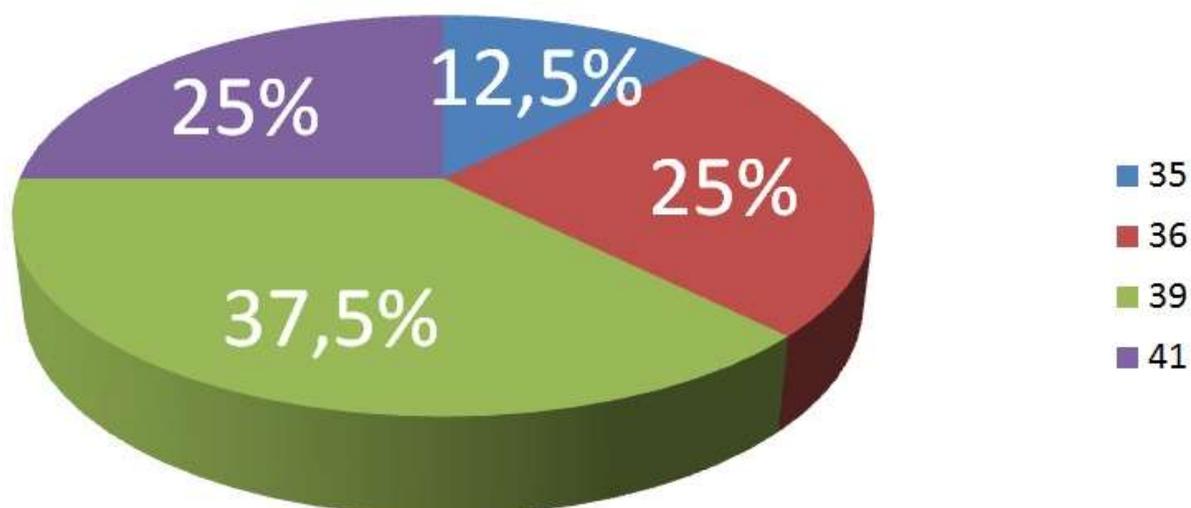


Рисунок 2 – Пациенты с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции.

Возраст, годы

### 2.1.3 Пациенты с фиброзно-кавернозным туберкулёзом.

Было изучено 24 аутопсийных случая клинически, рентгенологически и микробиологически (наличие *M. Avium* и *M. Bovis* исключено) верифицированного фиброзно-кавернозного туберкулёза лёгких (Приложение Б, Таблица 2).

Критерии включения: фиброзно-кавернозный туберкулёз в качестве первоначальной причины смерти, проведение специфического лечения в стационаре.

Критерии исключения: наличие ВИЧ-инфекции, или иных иммуносупрессивных состояний, инфицирование *M. Avium* или *M. Bovis*.

Большинство (22) пациентов – мужчины, средний возраст ( $49,67 \pm 5,77$ ) лет

(Рисунок 3). Во всех наблюдениях имело место длительное течение заболевания и продолжительное лечение в профильных стационарах (Рисунок 4). У большей части пациентов была зафиксирована широкая (14 случаев ШЛУ МБТ) либо множественная (5 случаев МЛУ МБТ) лекарственная устойчивость (т. е. невосприимчивость заболевания, соответственно, к четырём противотуберкулёзным препаратам первой линии (изониазиду, рифампицину, фторхинолонам и аминогликозидам) или двум первым (Рисунок 5).

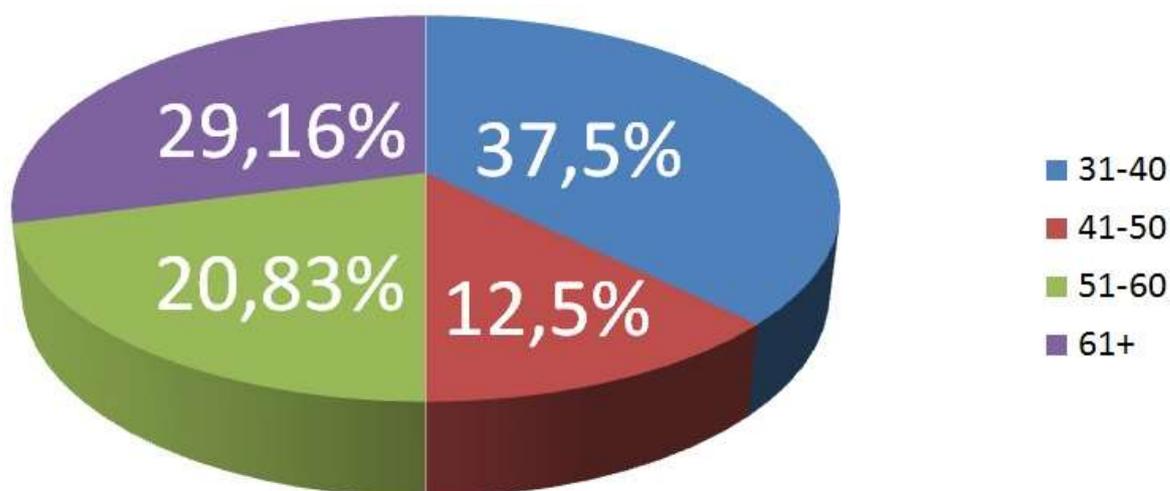


Рисунок 3 – Пациенты с фиброзно-кавернозным туберкулёзом. Возраст, годы

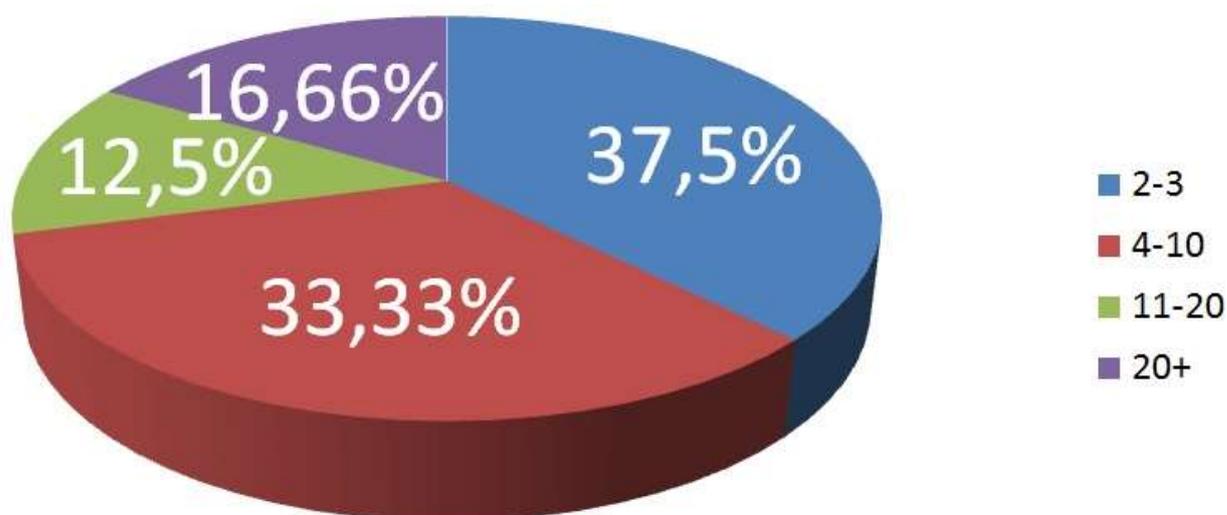


Рисунок 4 – Пациенты с фиброзно-кавернозным туберкулёзом. Давность заболевания, годы

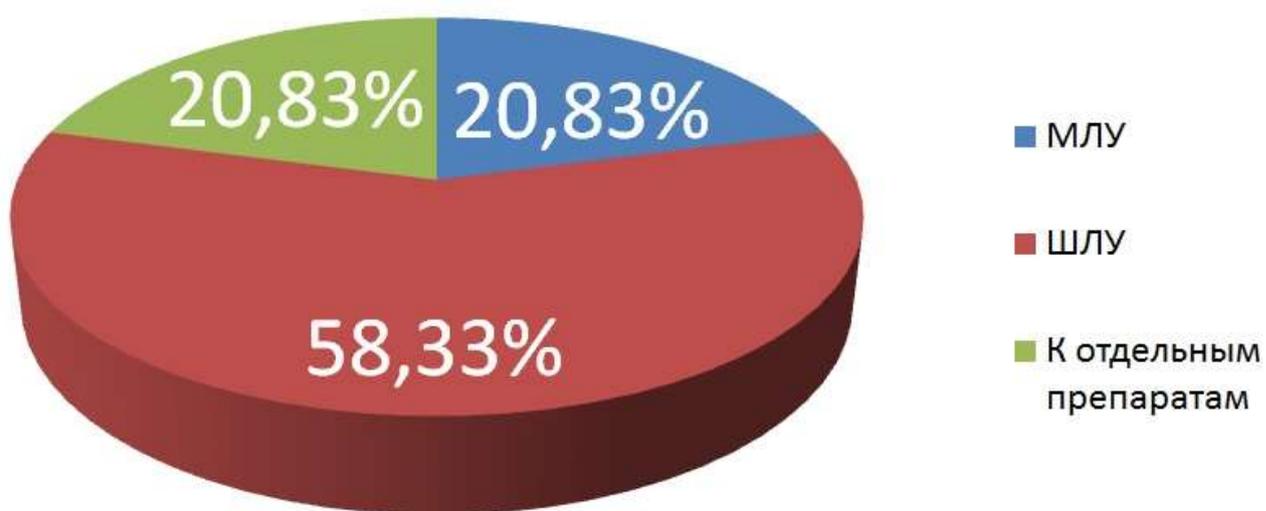


Рисунок 5 – Пациенты с фиброзно-кавернозным туберкулёзом. Лекарственная устойчивость, случаи

Ни в одном из случаев не имелось сочетания туберкулёза с ВИЧ-инфекцией (в условиях стационара все пациенты в обязательном порядке проходили исследование на ВИЧ-инфекцию). Также не было отмечено иных заболеваний или состояний, сопровождающихся иммуносупрессией, в частности сахарного диабета, либо терапии глюкокортикостероидами.

Непосредственной причиной смерти большинства пациентов стала интоксикация вследствие прогрессирования инфекционного процесса, также были зафиксированы случаи смерти от лёгочного кровотечения, тромбоэмболии лёгочной артерии и сердечно-лёгочной недостаточности. На вскрытии диагноз фиброзно-кавернозного туберкулёза во всех случаях подтверждён.

## ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 3.1 Результаты исследования пациентов с впервые выявленным посмертно туберкулёзом

Все случаи туберкулёза, впервые выявленного посмертно, характеризовались признаками фиброзно-кавернозного туберкулёза (в четырёх случаях – с явлениями генерализации). У всех пациентов туберкулёз был впервые выявлен посмертно, следовательно ни один из них не получал противотуберкулёзную терапию. На вскрытии во всех случаях были обнаружены каверны, однако в четырёх наблюдениях картина фиброзно-кавернозного туберкулёза дополнялась признаками генерализации процесса, проявившимися в виде поражения внутригрудных лимфоузлов, почек и селезёнки.

Для иллюстрации данной категории пациентов кратко приведён клиничко-патологоанатомический эпикриз одного наблюдения (Приложение Б, Эпикриз № 1).

При окраске гематоксилином и эозином во всех наблюдениях выявлены характерные для туберкулёза изменения, соответствующие прогрессированию инфекционного процесса (активность IV–V степени по классификации Б. М. Ариэля): крупные каверны с широкой фиброзной капсулой, в стенках каверн и в окружающей лёгочной ткани определялись гранулёмы и более крупные очаги отсева, представленные округлыми эозинофильными фокусами казеозного некроза с мелкими фрагментами клеточного детрита различного размера, окружёнными клеточным валом, представленным лимфоцитами, плазмоцитами и, в большей степени, макрофагами с эпителиоидоклеточной трансформацией и тенденцией к слиянию с формированием единичных гигантских многоядерных клеток Лангганса типичного строения с примесью единичных нейтрофильных гранулоцитов (Рисунки 10 и 11).

При окраске карболовым фуксином по Цилю – Нильсену (Рисунки 12 и 13) в патологических очагах обнаружены единичные скопления внеклеточно

расположенных кислотоустойчивых бактерий в среднем менее чем в 10 полях зрения общим числом  $608,33 \pm 78,79$  (от 400 до 800). Подавляющее большинство, в среднем  $(96,42 \pm 0,88) \%$  (95–99 %) возбудителей имело палочковидную форму, так же встречались кокковидные формы, в среднем  $(3 \pm 0,61) \%$  (1–4 %), на прочие морфологические формы, вместе взятые, приходилось менее 1 % наблюдаемых микобактерий (Рисунок 7).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 2,93$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 1,17$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

При окраске аурамин-родамином и последующем исследовании во флюоресцентном микроскопе (Рисунки 14 и 15) обнаружены очаговые скопления внеклеточно расположенных микобактерий в 10–50 полях зрения, общим числом  $3\ 208,33 \pm 478,13$  (от 2 000 до 4 500), преимущественно палочковидных, в среднем  $(92,58 \pm 1,07) \%$  (90–95 %), а так же кокковидных  $(5,25 \pm 0,55) \%$  (4–7 %), гранул  $(1,58 \pm 0,33) \%$  (1–2 %) и булавовидных  $(0,58 \pm 0,33) \%$  (0–1 %) форм микобактерий (Рисунок 8).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 2,44$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 0,37$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

При ИГХ-исследовании (Рисунок 16) обнаружены множественные скопления внеклеточно расположенных микобактерий более чем в 50 полях зрения общим числом  $6\,916,67 \pm 632,96$  (от 6 000 до 9 000), характеризовавшихся чуть большим разнообразием форм: на палочки приходилось в среднем  $(84,58 \pm 2,04) \%$  (77–88 %), на кокковидные  $(9,17 \pm 1,21) \%$  (7–14 %), на гранулы  $(2,83 \pm 0,53) \%$  (2–4 %), на булавовидные  $(1,83 \pm 0,37) \%$  (1–3 %) и на ветвящиеся  $(1,58 \pm 0,33) \%$  (1–2 %) (Рисунок 9).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 2,75$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 2,11$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

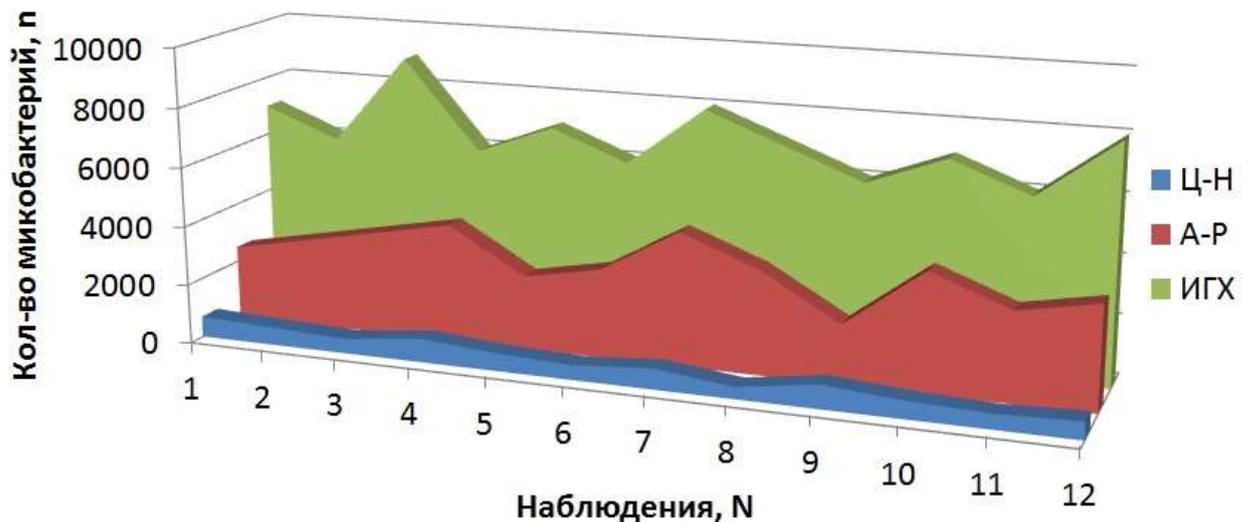


Рисунок 6 – Общее число обнаруженных микобактерий (впервые выявленный туберкулёз)

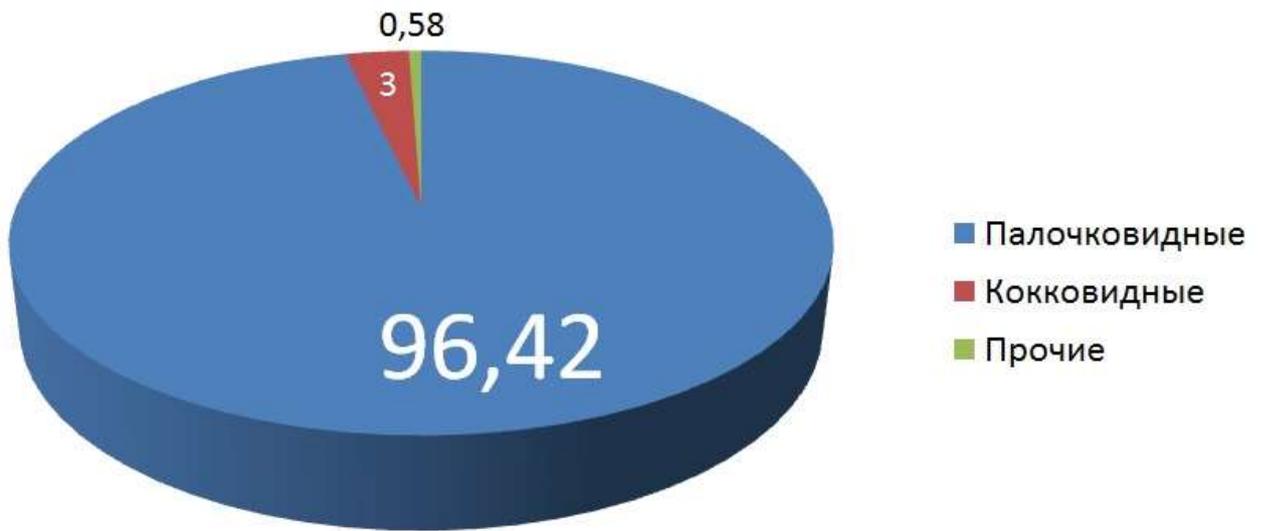


Рисунок 7 – Пациенты с впервые выявленным туберкулёзом.

Окраска по Цилю – Нильсену, %

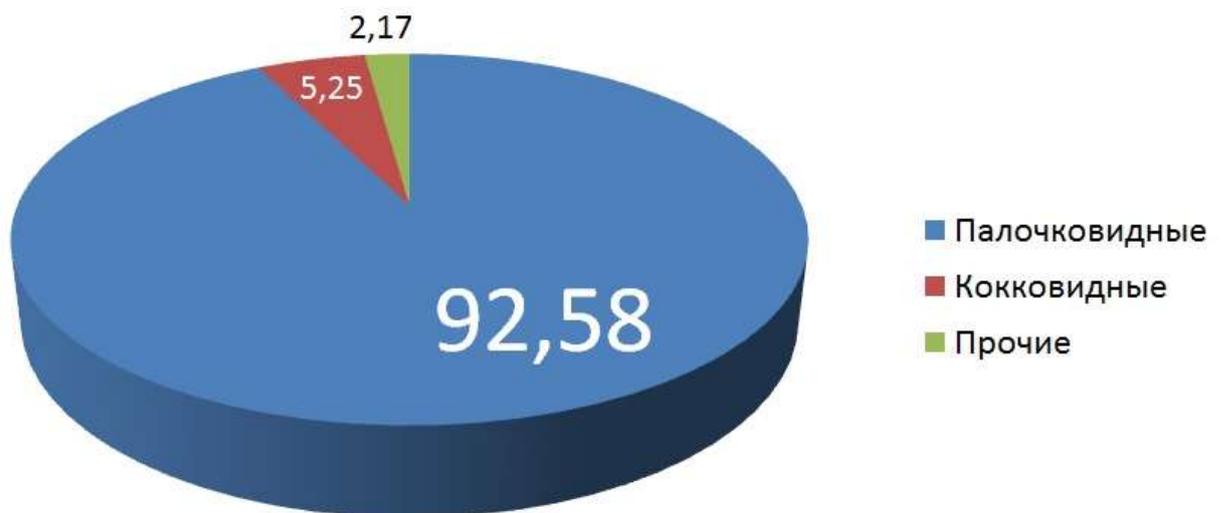


Рисунок 8 – Пациенты с впервые выявленным туберкулёзом.

Окраска аурамино-родамино, %



Рисунок 9 – Пациенты с впервые выявленным туберкулёзом. ИГХ, %

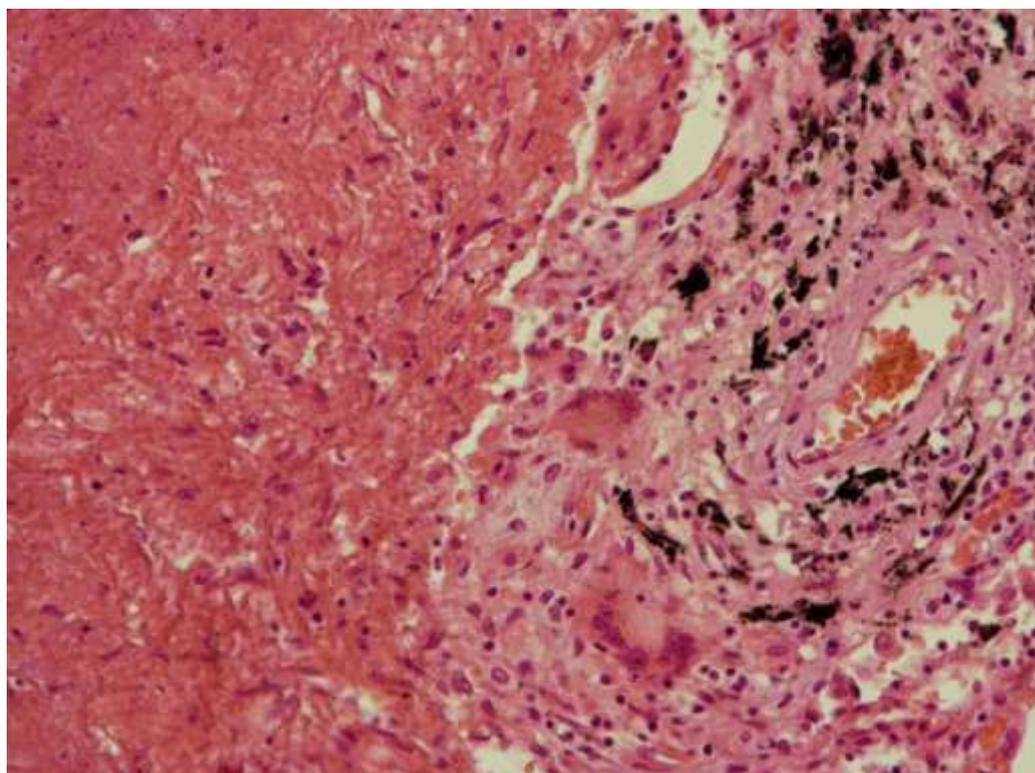


Рисунок 10 – Впервые выявленный туберкулёз. Картина гранулематозного воспаления в сочетании с фиброзом, антракозом, дистелектазами.

Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

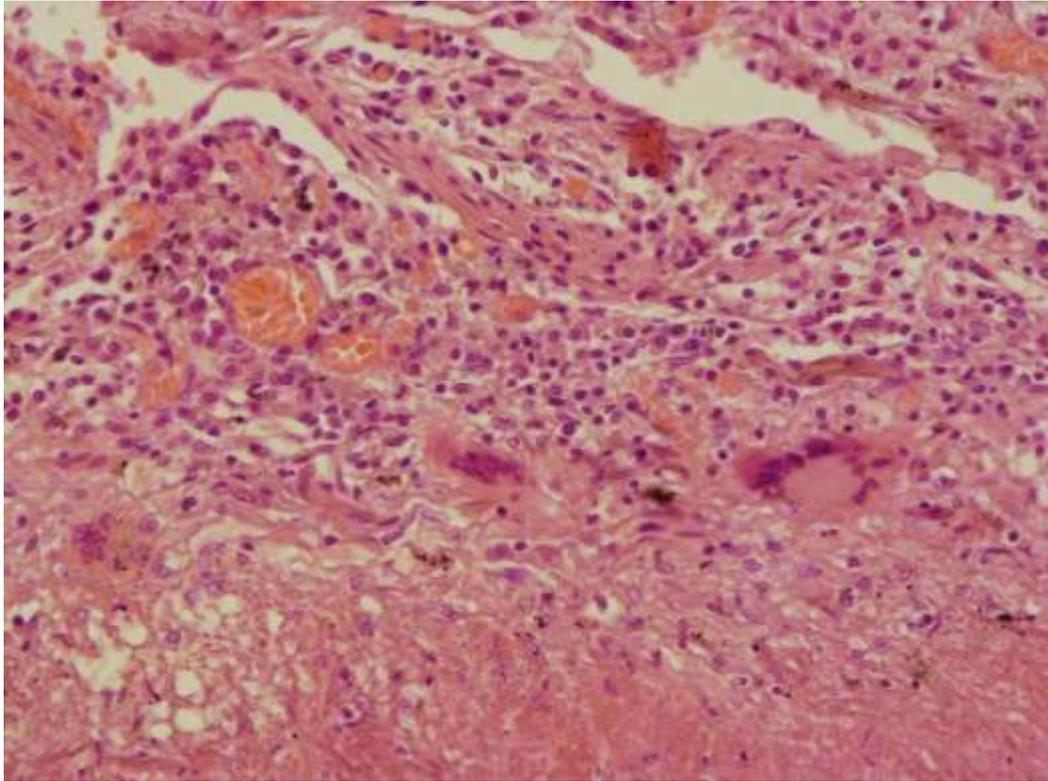


Рисунок 11 – Впервые выявленный туберкулёз. Картина гранулематозного воспаления в сочетании с фиброзом, паретическим полнокровием, кровоизлияниями. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

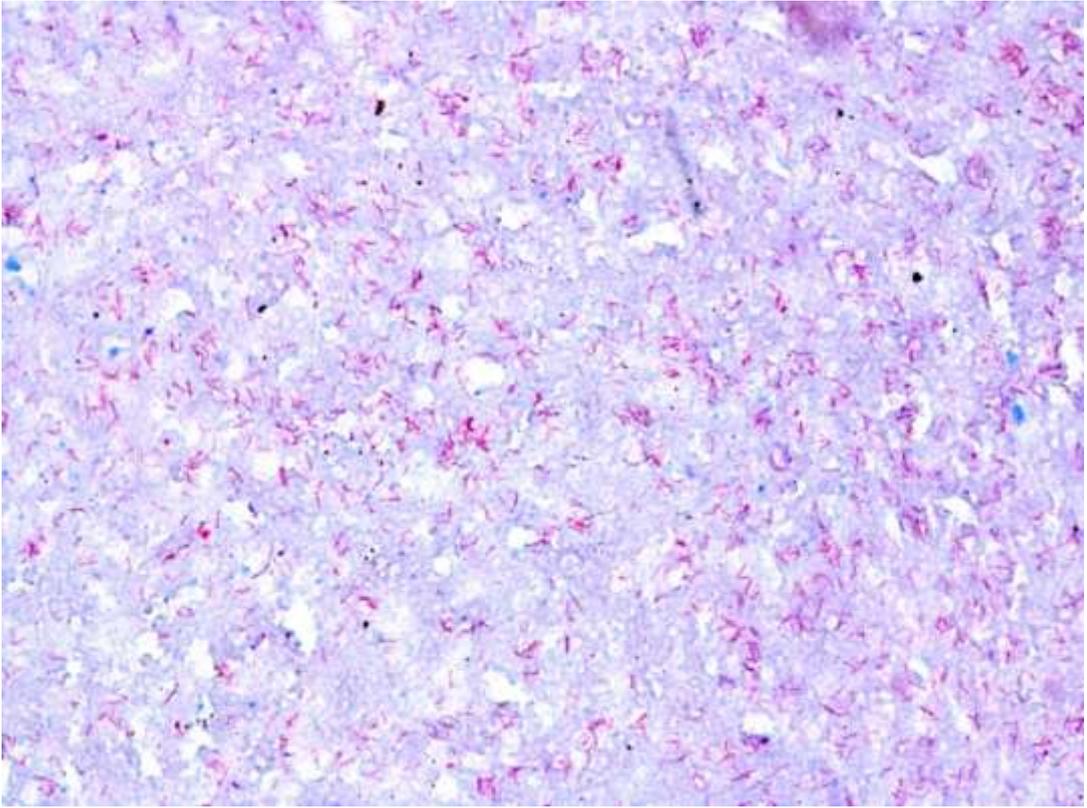


Рисунок 12 – Впервые выявленный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки.  
Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 400

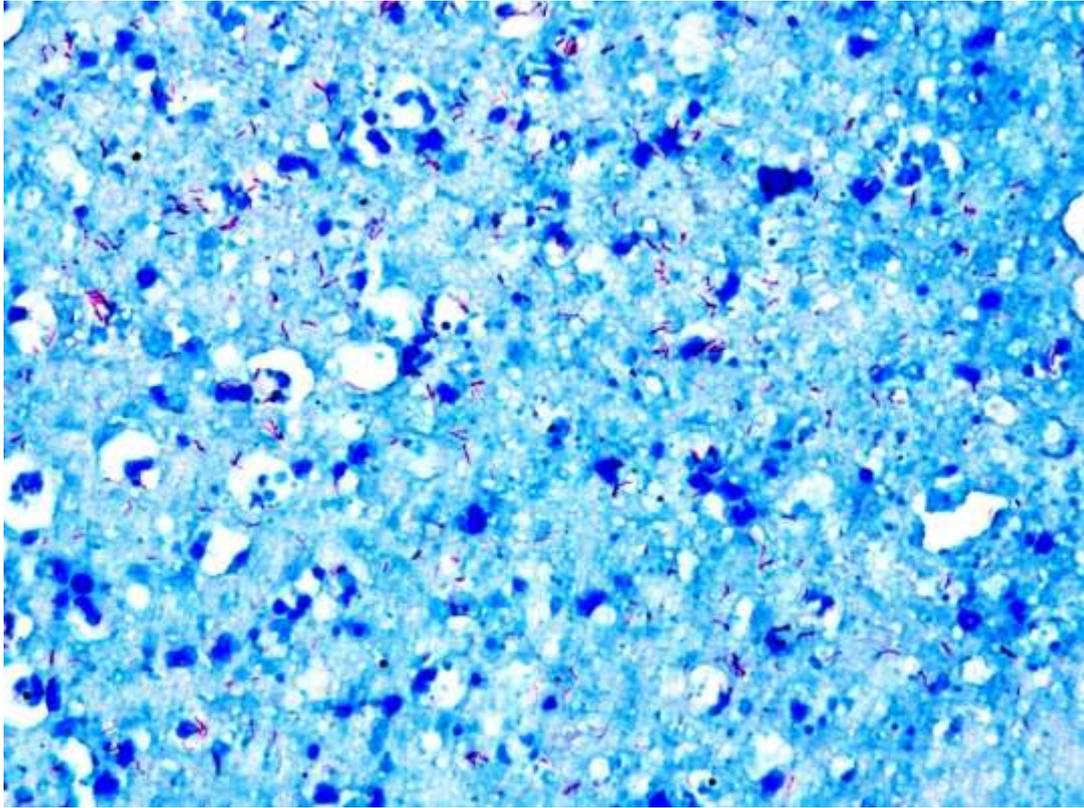


Рисунок 13 – Впервые выявленный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки.  
Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 400

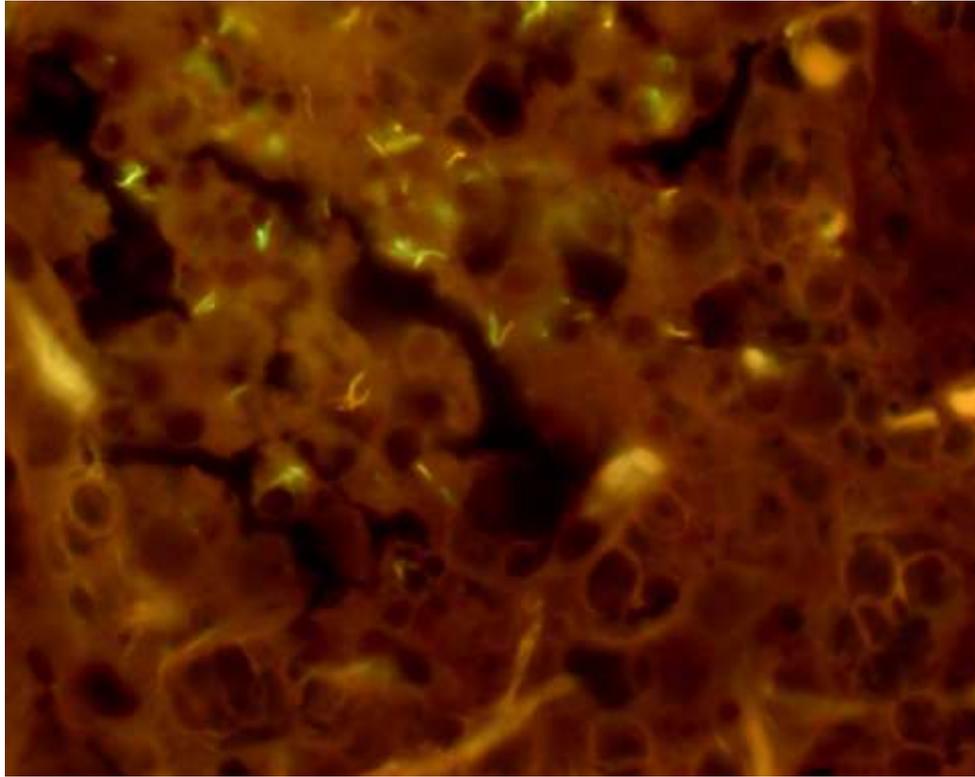


Рисунок 14 – Впервые выявленный туберкулёз. Слабо полиморфные микобактерии. Окраска аурамин-родамином. Флюоресцентная микроскопия.

× 1 000

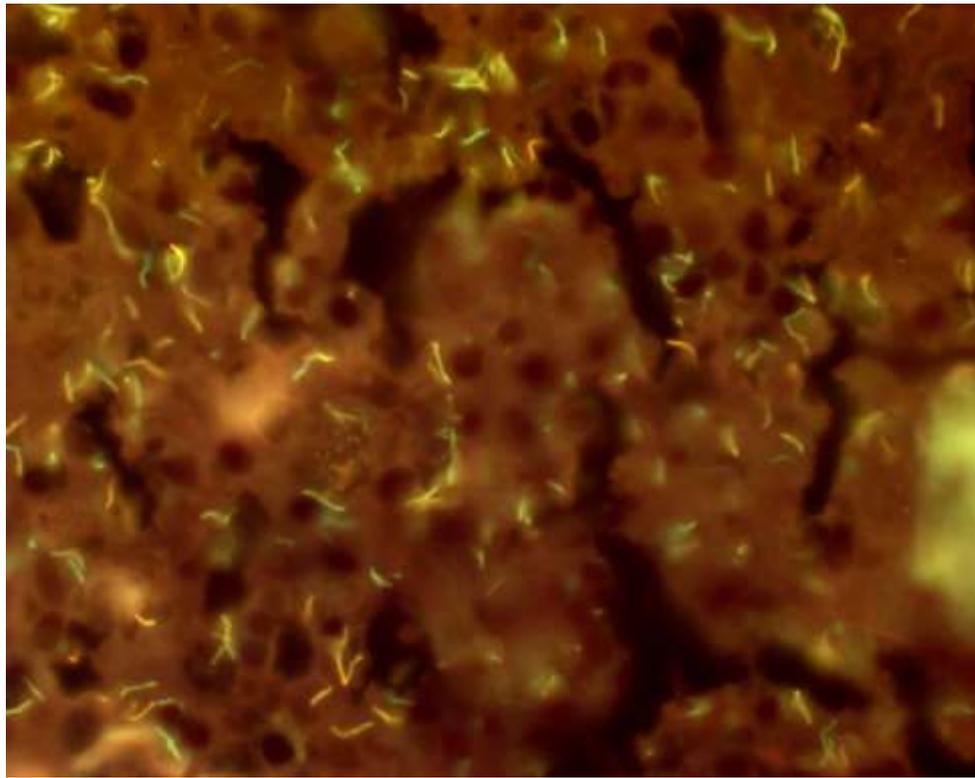


Рисунок 15 – Впервые выявленный туберкулёз. Слабо полиморфные микобактерии. Окраска аурамин-родамином. Флюоресцентная микроскопия.  $\times 1\ 000$

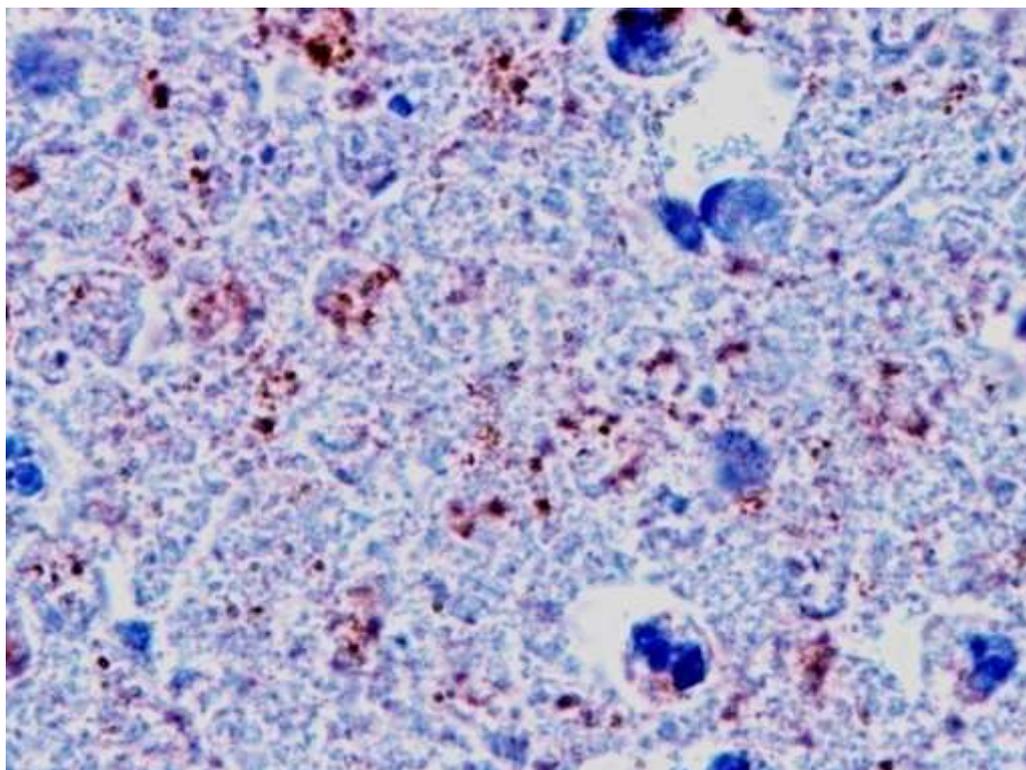


Рисунок 16 – Впервые выявленный туберкулёз. Атипичные микобактерии. ИГХ.  
× 1 000

В результате общее число выявленных микобактерий при окраске аурамином-родамином значимо ( $t_{\text{набл}} = 12,5$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,07$ ) больше, чем при окраске по Цилю – Нильсену. Общее число выявленных микобактерий при помощи ИГХ значимо ( $t_{\text{набл}} = 21,8$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,07$ ) больше, чем при окраске по Цилю – Нильсену и значимо ( $t_{\text{набл}} = 10,3$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,07$ ) больше, чем при окраске аурамином-родамином (Приложение Б, Таблица 1).

Доля типичных палочек, выявленных посредством классической окраски по Цилю – Нильсену, значимо ( $t_{\text{набл}} = 6,2$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,07$ ), но не намного, больше таковой, выявленной при окраске аурамином-родамином, и значимо ( $t_{\text{набл}} = 11,8$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,07$ ) больше, чем при проведении ИГХ. Показатели для атипичных морфологических форм микобактерий при сравнении методов разнятся незначительно (Приложение Б, Таблица 2).

Таблица 1 – Общее число обнаруженных микобактерий (впервые выявленный туберкулёз)

Циль – Нильсен	Аурамин – Родамин	ИГХ
608,33 ± 78,79	3 208,33 ± 478,13	6 916,67 ± 632,96

Таблица 2 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий (впервые выявленный туберкулёз)

Показатель	Циль – Нильсен					Аурамин – Родамин					ИГХ				
	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В
Ср	96,42	3	0,58	0	0	92,58	5,25	1,58	0,58	0	84,58	9,17	2,83	1,83	1,58
+/-	0,88	0,61	0,42	0	0	1,07	0,55	0,33	0,33	0	2,04	1,21	0,53	0,37	0,33
Примечания: П – палочковидные; К – кокковидные; Г – гранулы; Б – булавовидные; В – ветвящиеся.															

### 3.2 Результаты исследования пациентов с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции

Проанализированы результаты 736 вскрытий, проведённых в патологоанатомическом отделении СПб ГБУЗ «Больница Боткина» за 2018 г. Наиболее часто (357 наблюдений) в качестве основного заболевания рассматривали ВИЧ-инфекцию. Ведущим было сочетание ВИЧ-инфекции и туберкулёза, установленное в 86 (24,1 %) случаях. Среди других вторичных заболеваний наиболее частыми были случаи пневмоцистоза лёгких (51 или 14,3 %), лимфом (31 или 8,7 %, в том числе головного мозга 9 или 2,5 %), токсоплазмоза головного мозга (36 или 10,1 %) и пневмонии различной смешанной этиологии (36 или 10,1 %), менингоэнцефалитов и энцефалитов различной этиологии (30 или 8,4 %), прогрессирующей мультифокальной лейкоэнцефалопатии (25 или 7,0 %), нетуберкулёзного микобактериоза и криптококкоза (по 17 или 4,8 %).

Большинство пациентов, умерших при сочетанных поражениях

ВИЧ + туберкулёз (52 или 60,4 %), были в возрасте 31–40 лет, 27 (31,4 %) пациентов – 41–50 лет, 6 (7,0 %) – 21–30 лет, 1 (1,2 %) – 51–60 лет. Среди пациентов преобладали мужчины (61 или 71 % мужчин; 25 или 29 % женщин). Пациенты (55 или 64 %) провели в стационаре более 7 койко-дней, причём длительность госпитализации некоторых превышала 2–3 месяца (два наибольших показателя – 143 и 288 койко-дней), 14 (16,3 %) пациентов провели от 1 до 3 суток, 12 (14,0 %) – от 4 до 7 суток, 4 пациента умерли, находясь в стационаре менее суток.

У всех пациентов на момент летального исхода стадия ВИЧ-инфекции расценивалась как 4В. В 64 (74,4 %) случаях в анамнезе имелась зависимость от наркотиков, однако при анализе оставшихся 22 случаев обращали на себя внимание часто встречавшиеся косвенные признаки длительного приема инъекционных опиатов, которые по объективным или субъективным причинам не трактовались лечащими врачами как достаточный повод для постановки диагноза наркомании.

Давность диагностики ВИЧ-инфекции сильно варьировала: наряду с 19 (22,1 %) случаями заболевания, впервые выявленного при последней госпитализации, имелись 33 (38,4 %) случая, когда диагностированное заболевание длилось в течение 10–19 лет. Полноценная АРВТ проведена лишь 10 (11,6 %) пациентам, 29 (33,7 %) пациентов лечились не систематически, оставшиеся 47 (54,7 %) лечения не получали. Уровень CD4+ Т-лимфоцитов у 42 (48,8 %) пациентов составлял менее 50 кл/мл, у 26 (30,2 %) – менее 100 кл/мл (у прочих данный показатель неизвестен).

Туберкулёз в 62 (72,1 %) случаях был выявлен впервые при данной госпитализации, причём в 16 из них лишь при патологоанатомическом исследовании, как правило, при кратковременном пребывании пациента в стационаре. Из оставшихся 24 случаев только в 16 имеется упоминание о противотуберкулёзной терапии (длительность от 1 года до 17 лет), но без уточнения её полноценности и систематичности. В 4 случаях известно о формировании множественной лекарственной устойчивости и в 1 – о широкой

лекарственной устойчивости возбудителя.

Помимо лёгких, внутригрудных лимфатических узлов и плевры, наиболее часто отмечалось туберкулёзное поражение селезёнки (57 или 66,3 %), почек (47 или 54,7 %), оболочек и вещества головного мозга (26 или 30,2 %), печени (25 или 29,1 %), тонкой и толстой кишки, особенно в области илеоцекального угла (20 или 23,3 %, как правило, с развитием перитонита). Реже встречался туберкулёзный эпинефрит, спондилит, ретинит, аднексит, перикардит. Во всех наблюдениях выявлено прогрессирование туберкулёзного процесса, при этом характер воспалительных изменений представлен альтеративным и гранулематозным компонентами с преобладанием альтерации. В 14 случаях (16,3 %) гранулематозная реакция была практически не выражена.

У 44 (51,2 %) пациентов имелось сочетание с хроническими вирусными гепатитами (ХВГ) В и С, у 30 – ХВГ С, у 4 – ХВГ В. Во всех случаях были описаны умеренные структурные изменения печени, при этом ни в одном из них ХВГ не сыграл существенную роль в танатогенезе. Среди вторичных заболеваний наиболее часто (66 или 76,7 %) выявлялся кандидоз (локализация варьировала от орофарингеального поражения и эзофагита до тотального энтероколита). Реже встречались псевдомембранозный колит (3 или 3,5 %), цитомегаловирусная инфекция (3 или 3,5 %), сальмонеллёз (2 или 2,3 %) и аспергиллёз (1 или 1,2 %).

Из сопутствующих заболеваний наиболее часто регистрировался хронический панкреатит (33 случая), вероятно, связанный с алкогольной зависимостью многих умерших. В старших возрастных группах изредка имелись умеренно выраженные признаки гипертонической и ишемической болезни сердца, желчнокаменной болезни и хронического пиелонефрита. Описан один случай неходжкинской лимфомы.

В одном наблюдении смерть женщины, связанная с прогрессированием туберкулёза легких, плевры, внутригрудных лимфатических узлов и селезёнки на фоне ВИЧ-инфекции 4В стадии, произошла вскоре после самопроизвольного выкидыша на 17-й неделе гестации.

Проведено более подробное комплексное морфологическое

исследование 8 аутопсийных наблюдений (5 мужчин и 3 женщины) с сочетанием туберкулеза и ВИЧ-инфекции.

Во всех случаях протекания туберкулёза в сочетании с ВИЧ-инфекцией в стадии 4В была выявлена генерализация туберкулёзного процесса при значительном разнообразии его морфологических форм (инфильтративный и фиброзно-очаговый туберкулёз лёгких, туберкулёзный плеврит, туберкулёз внутригрудных, надключичных, подмышечных, забрюшинных и мезентериальных лимфатических узлов, туберкулёзный спондилит и сакроилеит, туберкулёз почек, надпочечников, печени, селезёнки, тонкой и слепой кишки). Для иллюстрации данной категории пациентов кратко приведён клинико-патологоанатомический эпикриз (Приложение Б, Эпикриз № 2).



Рисунок 17 – Генерализованный туберкулёз в фазе прогрессирования.  
Милиарная диссеминация в лёгком. Макропрепарат



Рисунок 18 – Генерализованный туберкулёз в фазе прогрессирования.  
Мелкоочаговый туберкулёз селезёнки. Макропрепарат

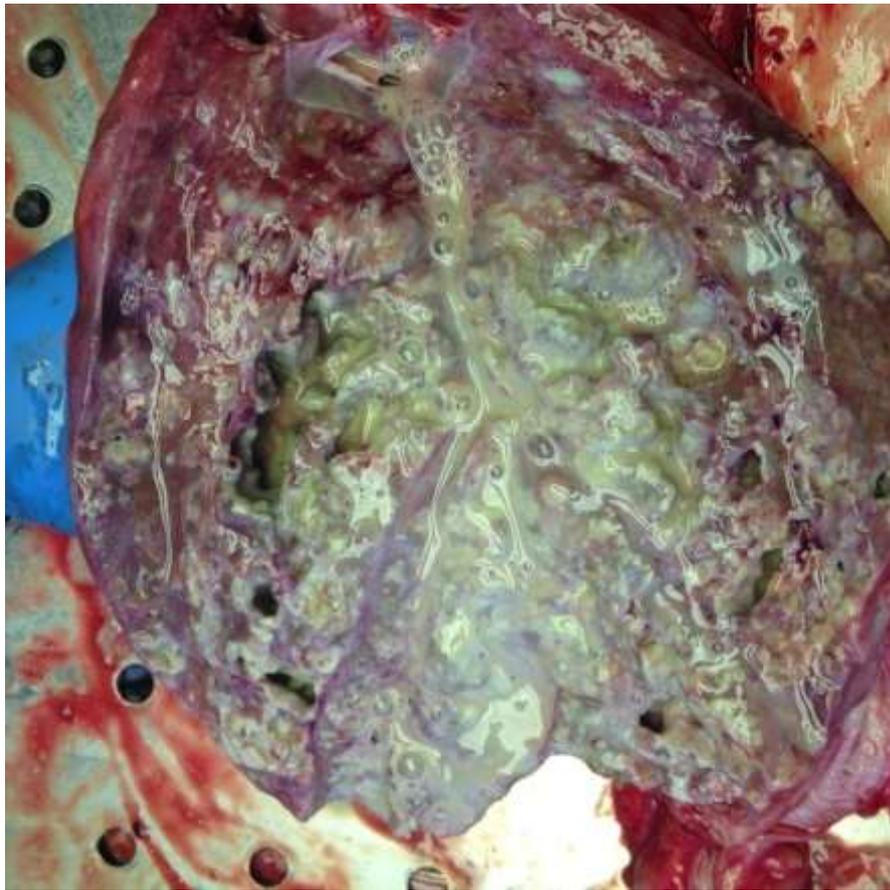


Рисунок 19 – Генерализованный туберкулёз в фазе прогрессирования.  
Острая каверна в лёгком. Макропрепарат

При окраске гематоксилином и эозином во всех наблюдениях выявлена крайне разнообразная и неоднородная картина, значительно отличающаяся от «классического» гранулематозного воспаления при туберкулёзе (Рисунки 20, 21 и 22). Эозинофильные фокусы казеозного некроза различной формы (округлой либо неправильной) и размера (от мелких до субтотально замещающих ткань лёгкого на микропрепарате) в различном количестве зачастую сочетались с очагами гнойного расплавления ткани, вызванного, наиболее вероятно, сочетанной микробиотой. В одном случае были обнаружены фрагменты мицелия грибов (предположительно – рода *Candida*), не вовлечённые в вызванное основным возбудителем воспаление.

По периферии очагов казеозного некроза обнаруживался порой крайне скудный клеточный вал, представленный немногочисленными эпителиоидными

клетками и единичными лимфоцитами, а также значительным количеством нейтрофильных гранулоцитов. Выраженность гранулематозной реакции не коррелировала с объёмом некроза и даже в пределах одного микропрепарата колебалась от едва заметной до умеренно выраженной, изредка – с формированием одной-двух гигантских многоядерных клеток Ланганса, многие из которых были сравнительно небольших размеров.

Значимого фиброза в области очагов туберкулёзного поражения не выявлено, что не позволило достоверно судить о длительности течения процесса.

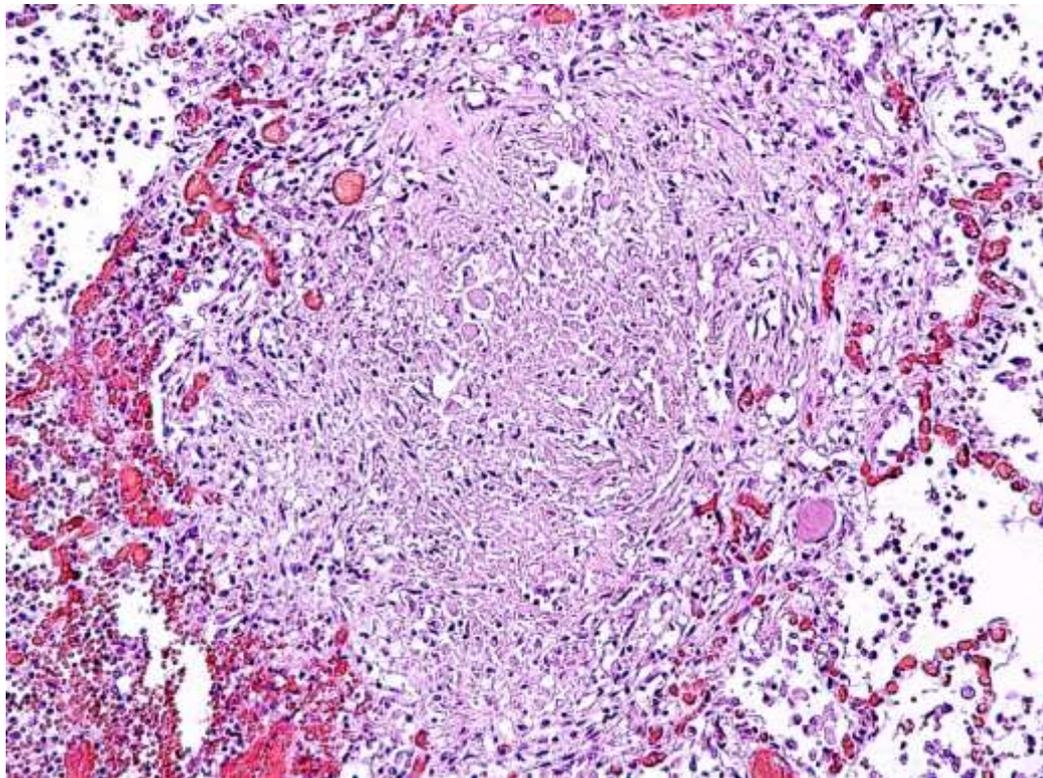


Рисунок 20 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Скудный клеточный компонент туберкулёзной гранулёмы. Окраска гематоксилином и эозином. × 100

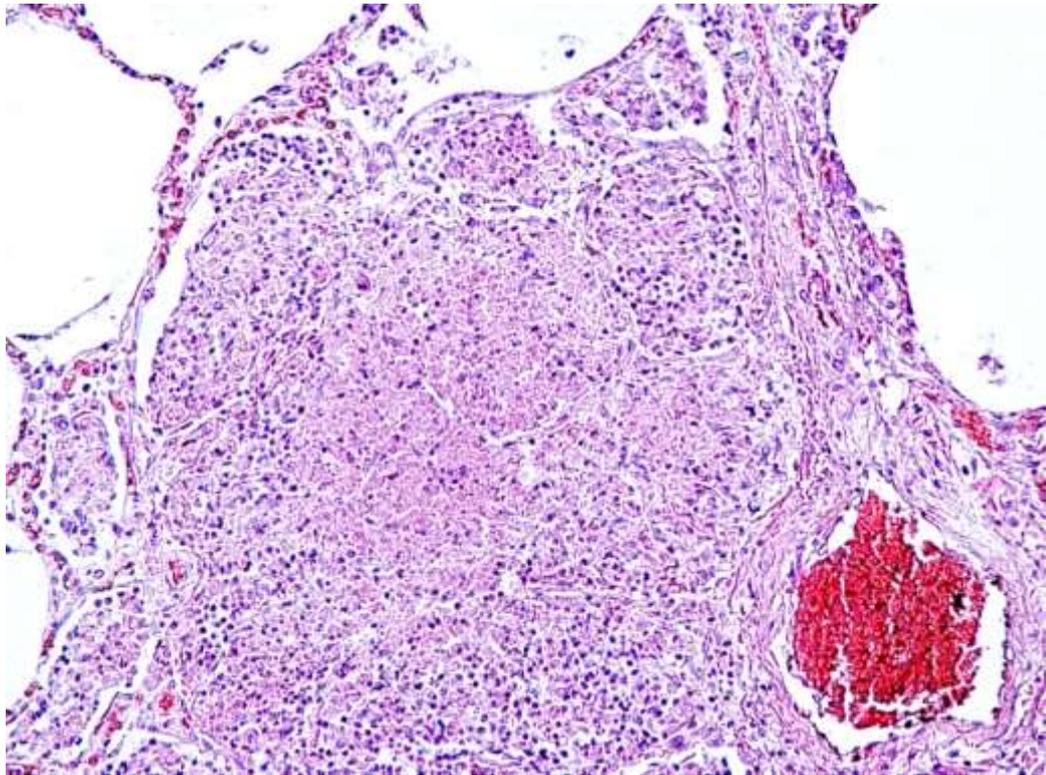


Рисунок 21 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Скудный клеточный компонент туберкулёзной гранулёмы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

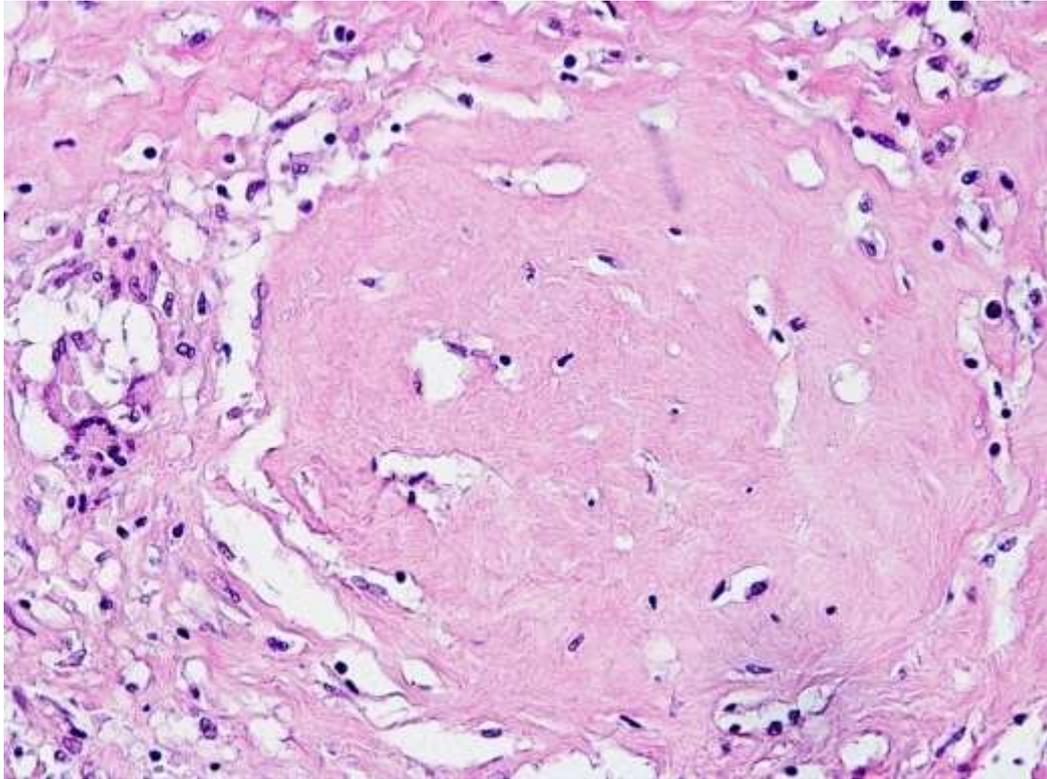


Рисунок 22 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Минимально выраженная гранулематозная реакция по периферии казеозного некроза.

Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$

При окраске карболовым фуксином по Цилю – Нильсену (Рисунок 27) в патологических очагах обнаружены единичные скопления внеклеточно расположенных кислотоустойчивых бактерий в среднем менее чем в 10 полях зрения общим числом в среднем  $475 \pm 139,54$  (от 300 до 800). Подавляющее большинство,  $(93,13 \pm 2,16) \%$  (90–95 %) возбудителей имело палочковидную форму, так же встречались кокковидные формы  $(5,39 \pm 2) \%$  (2–9 %), на прочие морфологические формы, вместе взятые, приходилось менее 3 % наблюдаемых микобактерий (Рисунок 24).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 2,03$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 3,63$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

При окраске аурамин-родамином и последующем исследовании во флюоресцентном микроскопе (Рисунки 28, 29 и 30) обнаружены очаговые скопления внеклеточно расположенных микобактерий в 10–20 полях зрения, общим числом в среднем  $1\,462,5 \pm 189,26$  (от 1 100 до 1 800), преимущественно палочковидных ( $86,75 \pm 2,4$ ) % (83–89 %), а также кокковидных ( $8,13 \pm 2,34$ ) % (5–12 %), гранул ( $2,88 \pm 0,7$ ) % (2–4 %), булавовидных ( $1,63 \pm 0,43$ ) % (1–2 %) и ветвящихся (до 1 %) форм микобактерий (Рисунок 25).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 11,52$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 3,01$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

При ИГХ-исследовании (Рисунок 31) обнаружены скопления внеклеточно расположенных микобактерий более чем в 10–30 полях зрения, общим числом в среднем  $2\,487,5 \pm 121,87$  (от 2 300 до 2 700), характеризовавшиеся чуть большим разнообразием форм: на палочки приходилось ( $79 \pm 2,64$ ) % (75–83 %), на кокковидные ( $12,75 \pm 2,13$ ) % (10–16 %), на гранулы ( $4,13 \pm 0,7$ ) % (3–5 %), на булавовидные ( $2,75 \pm 0,39$ ) % (2–3 %) и на ветвящиеся ( $1,38 \pm 0,43$ ) % (1–2 %) (Рисунок 26).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 10,23$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 2,01$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

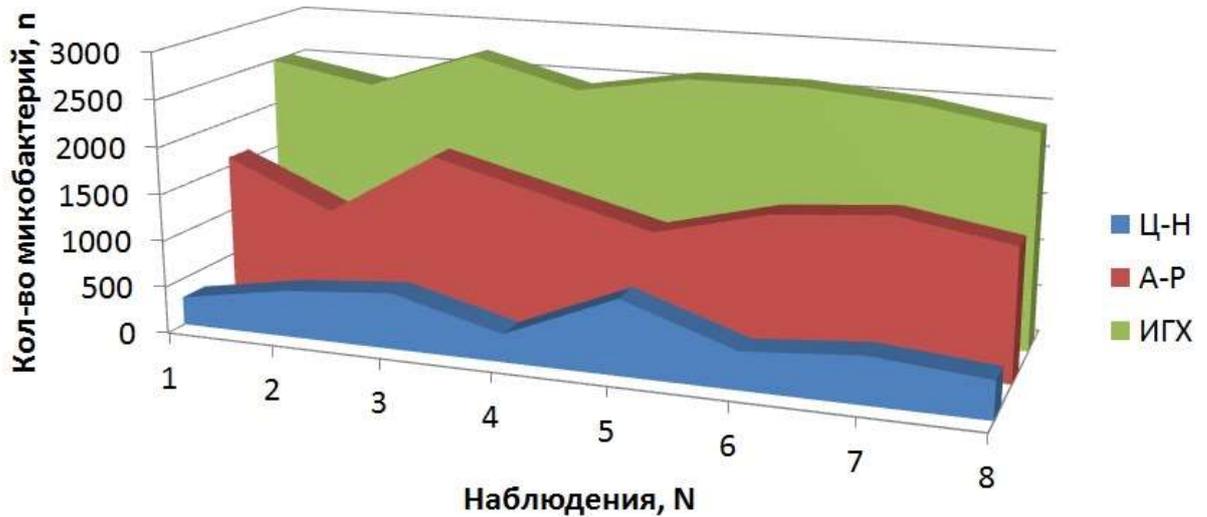


Рисунок 23 – Общее число обнаруженных микробактерий (сочетание с ВИЧ-инфекцией)



Рисунок 24 – Пациенты с ВИЧ-инфекцией. Окраска по Цилю – Нильсену, %



Рисунок 25 – Пациенты с ВИЧ-инфекцией. Окраска ауромином-родамином, %

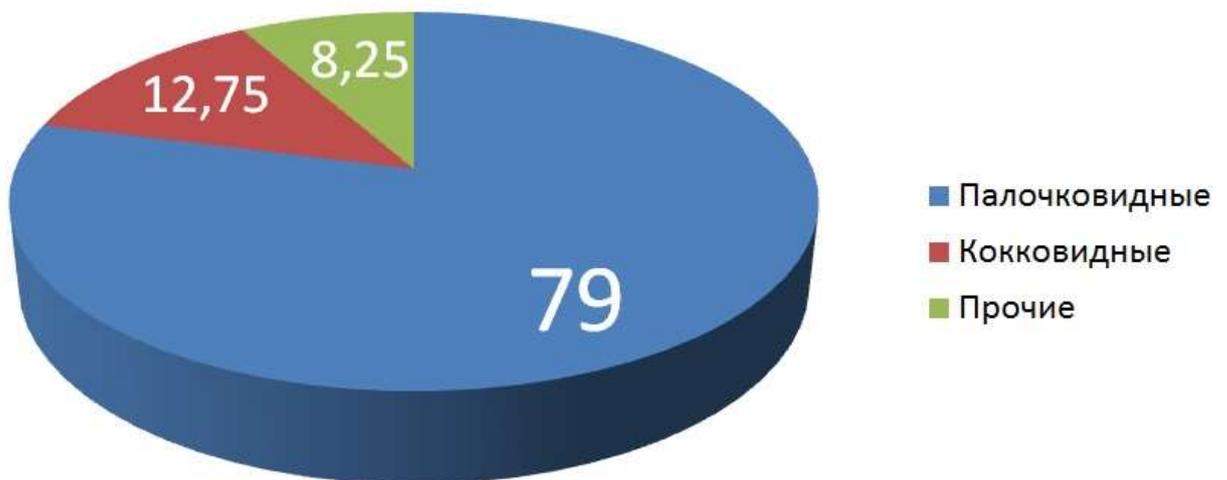


Рисунок 26 – Пациенты с ВИЧ-инфекцией. ИГХ, %

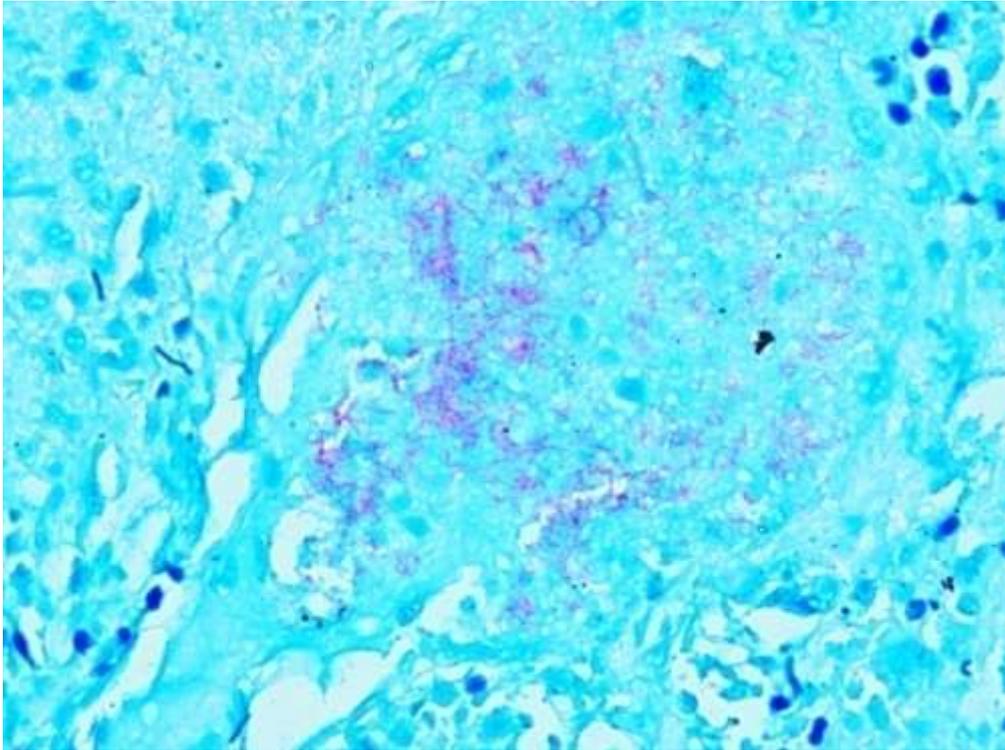


Рисунок 27 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Кислотоустойчивые палочки. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену.  $\times 400$

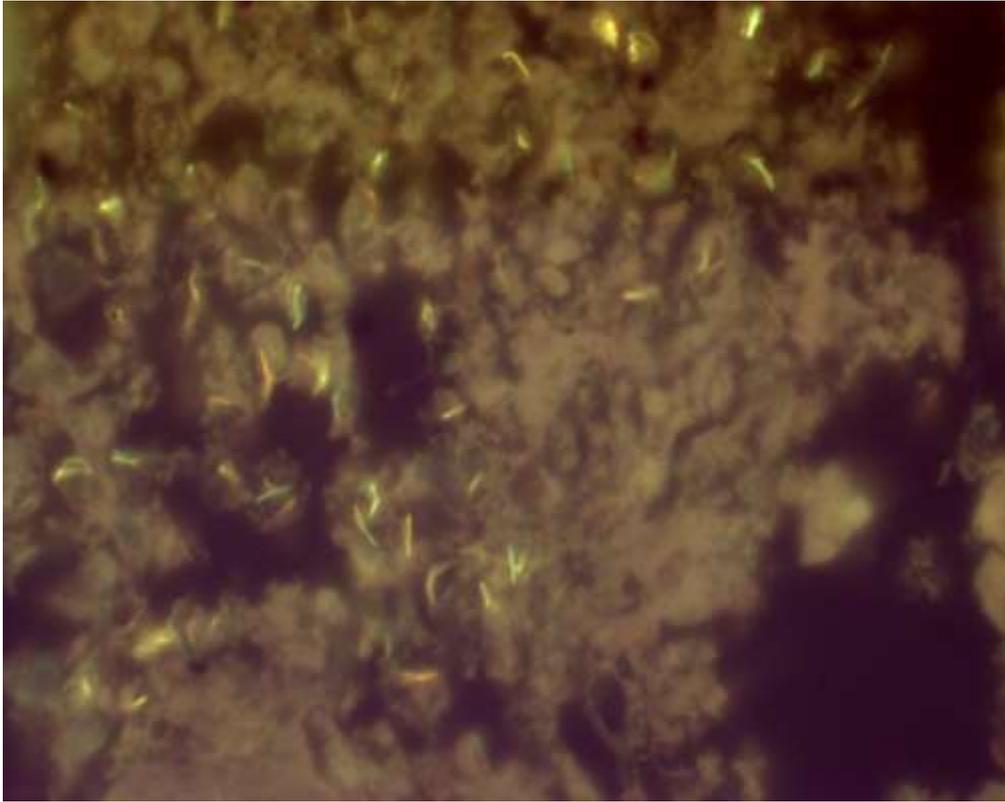


Рисунок 28 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Палочковидные микобактерии. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия.

× 1 000

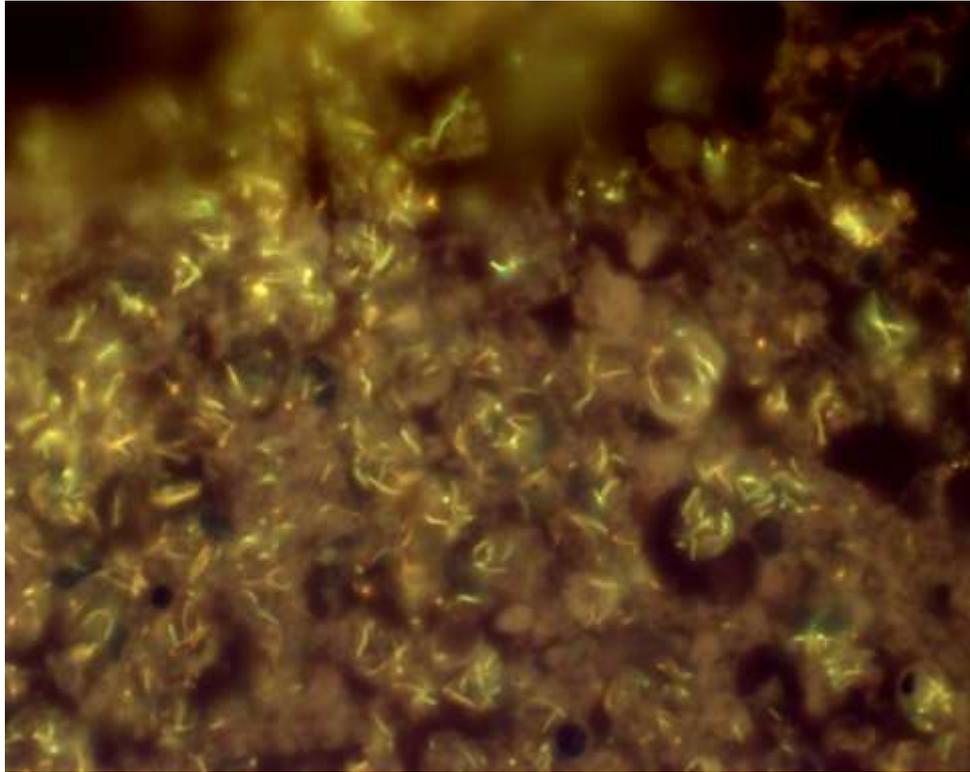


Рисунок 29 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Палочковидные микобактерии. Окраска аурамино-родамино. Флюоресцентная микроскопия.  
× 1 000

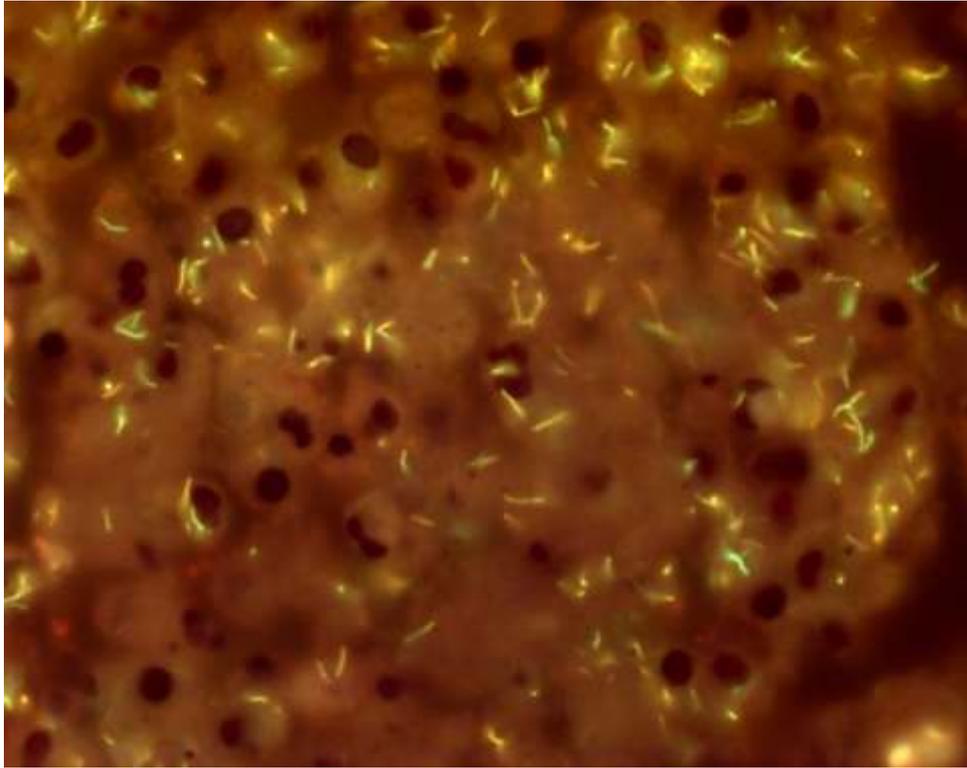


Рисунок 30 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Полиморфные микобактерии. Окраска аурамин-родамином. Флюоресцентная микроскопия.  
× 1 000

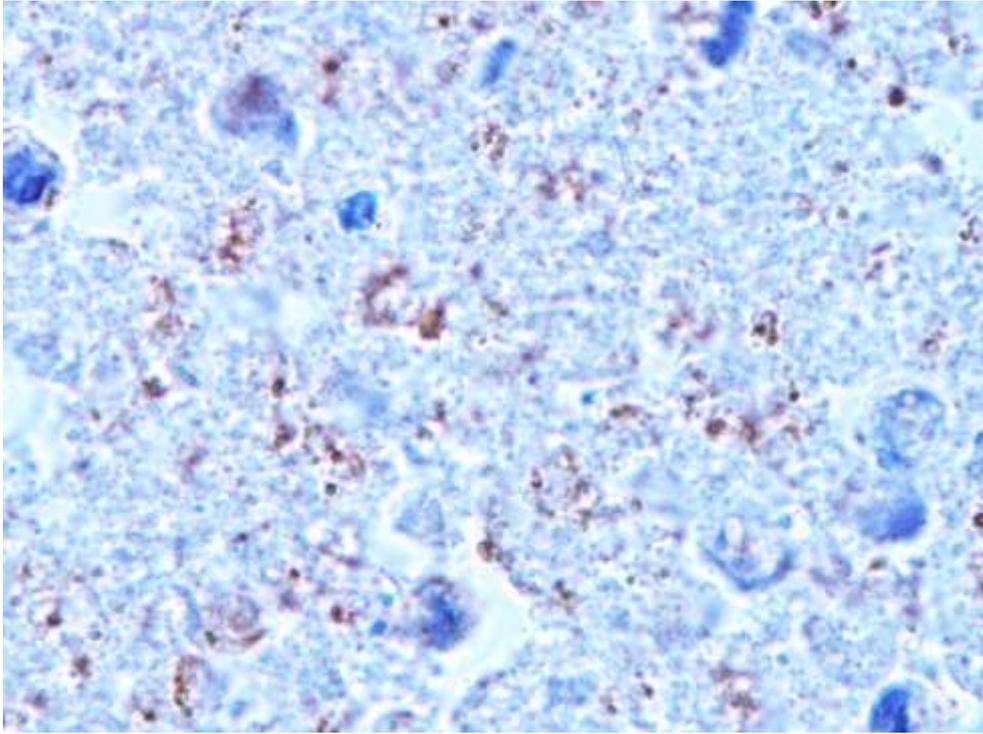


Рисунок 31 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Атипичные микобактерии. ИГХ.  $\times 1\ 000$

Важно отметить, что морфологическая картина туберкулёза, протекающего на фоне ВИЧ-инфекции, зафиксированная во всех наблюдениях, характеризовалась как выраженной альтерацией (вплоть до субтотальной казеозной трансформации тканей), так и значительным разнообразием морфологических форм.

Фактически в каждом исследованном случае было зафиксировано сочетание двух и более традиционно описываемых форм. Наиболее часто отмечалось соседство фокусов поражения по типу очагового туберкулёза с относительно чётко очерченными контурами (когда по периферии имелись элементы эпителиоидоклеточной гранулёмы) и фокусов казеозной пневмонии, когда сливающиеся очаги некроза практически ничем не были отграничены от окружающих тканей.

Дополнительно к этому обнаружены инкапсулированные очаги казеозного некроза, подпадающие под характеристику туберкулёмы, а также образовавшиеся

в результате распада ткани полости, по сути представляющие из себя каверны. Все перечисленные элементы дополнялись отмеченными во всех наблюдениях поражениями внутригрудных лимфатических узлов и плевры.

Столь полиморфная картина туберкулёзного поражения, при которой имеется сочетание инфильтративной, очаговой, кавернозной, диссеминированной форм заболевания, казеозной пневмонии, туберкулём, лимфаденита и плеврита, демонстрирует несовершенство используемой классификации туберкулёза, предполагающей чёткое разграничение и стадийность морфологических форм.

При стандартной гистобактериоскопии число кислотоустойчивых палочек оказалось сравнительно небольшим, несмотря на очевидные морфологические признаки чрезвычайно высокой активности туберкулёзного процесса. При этом количество обнаруженных микобактерий при использовании альтернативных методов превышало таковое при классической окраске по Цилю – Нильсену.

Тем не менее, в отличие от ранее исследованных случаев длительно протекавшего фиброзно-кавернозного туберкулёза, сопровождавшегося многолетней терапией (с формированием лекарственной устойчивости различной степени выраженности), у пациентов с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции, практически не имевших в анамнезе специфической терапии, разнообразие морфологических форм возбудителя было сравнительно небольшим, хотя и имелась тенденция к увеличению доли атипичных форм микобактерий при окраске аурамин-родамином и иммуногистохимическом исследовании. Также как и в ходе исследования пациентов с длительно протекавшим фиброзно-кавернозным туберкулёзом, не удалось достоверно зафиксировать внутриклеточного расположения микобактерий при всех использованных нами методах.

В результате общее число выявленных микобактерий при окраске аурамин-родамином значимо ( $t_{\text{набл}} = 9,9$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,14$ ) больше, чем при окраске по Цилю – Нильсену. Общее число выявленных микобактерий при помощи ИГХ значимо ( $t_{\text{набл}} = 25,7$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,14$ ) больше, чем при окраске по Цилю – Нильсену и значимо ( $t_{\text{набл}} = 10,8$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,14$ ) больше, чем при окраске

аурамино-родамино (Приложение Б, Таблица 3).

Доля типичных палочек, выявленных посредством классической окраски по Цилю – Нильсену, значимо ( $t_{\text{набл}} = 4,7$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,14$ ), но ненамного больше таковой, выявленной при окраске аурамино-родамино и значимо ( $t_{\text{набл}} = 9,8$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,14$ ) больше, чем при проведении ИГХ. Показатели для атипичных морфологических форм микобактерий при сравнении методов разнятся незначительно (Приложение Б, Таблица 4).

Таблица 3 – Общее число обнаруженных микобактерий (сочетание туберкулёза и ВИЧ)

Циль – Нильсен	Аурамин – Родамин	ИГХ
475 ± 139,54	1 462,5 ± 189,26	2 487,5 ± 121,87

Таблица 4 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий (сочетание туберкулёза и ВИЧ)

Показатель	Циль – Нильсен					Аурамин – Родамин					ИГХ				
	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В
Ср	93,13	5,38	1,13	0,38	0	86,75	8,13	2,88	1,63	0,63	79	12,75	4,13	2,75	1,38
+/-	2,16	2,00	0,54	0,43	0	2,40	2,34	0,70	0,43	0,43	2,64	2,13	0,70	0,39	0,43
Примечания: П – палочковидные; К – кокковидные; Г – гранулы; Б – булавовидные; В – ветвящиеся.															

### 3.3 Результаты исследования пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулёзом без сочетания с ВИЧ-инфекцией

Во всех изученных наблюдениях в качестве основного заболевания был подтверждён фиброзно-кавернозный туберкулёз лёгких, при этом анамнез, возраст, длительность заболевания, клинико-морфологические особенности протекания заболевания у пациентов существенно варьировали.

Одни пациенты на момент поступления относились к категории лиц без определённого места жительства (6 наблюдений), в то время как другие были в той или иной степени социально адаптированы, официально трудоустроены и т. д. В дополнение к вопросу о социальных аспектах заболевания необходимо отметить, что ряд пациентов имел в анамнезе нахождение в местах лишения свободы.

Сильно разнились осложнения основного заболевания: в одних случаях они развивались лишь в терминальной стадии непосредственно перед летальным исходом, в других же, напротив, имелась развёрнутая картина хронической дыхательной недостаточности II-III степени с формированием хронического лёгочного сердца, кахексия, энцефалопатия и кардиомиопатия вследствие выраженной длительной интоксикации, амилоидоз почек.

Неоднородной была и рентгенологическая картина заболевания у разных пациентов: варьировали размер, количество и локализация каверн, наличие и выраженность фокусов перикавитарной, ацинарной и лобулярной инфильтрации, степень периваскулярного, перибронхиального и диффузного пневмосклероза (с наличием или отсутствием межплевральных спаек), выраженность внутригрудной лимфаденопатии (преимущественно паратрахеальных, бифуркационных и бронхопульмональных лимфатических узлов).

В качестве сопутствующих заболеваний чаще всего встречался атеросклеротический кардиосклероз (у пациентов старческого возраста), хронический индуративный панкреатит (у асоциальных, злоупотребляющих алкоголем пациентов) и различные формы хронической обструктивной болезни лёгких.

На вскрытии во всех случаях инфекционный процесс был неоднородным: классическая картина фиброзно-кавернозного туберкулёза дополнялась другими изменениями в самых различных сочетаниях. Описывались одиночные и сливающиеся очаги инфильтрации, обширные поля некроза по типу казеозной пневмонии, мелкие милиарные фокусы диссеминации, старые щелевидные полости, кальцификаты.

Таким образом, можно сделать вывод, что встречающиеся в практике случаи часто не укладываются в привычную классификацию, предполагающую строгое деление вторичного туберкулёза на определённые формы.

Для иллюстрации гетерогенности выборки и, в то же время, сходства морфологических проявлений заболевания, кратко приведены два клинико-патологоанатомических эпикриза, где имеется существенная разница в возрасте пациентов, социальном статусе, анамнезе, длительности лечения, наличии лекарственной устойчивости, но крайне сходная картина заболевания (Приложение Б, Эпикриз № 3 и Эпикриз № 4).

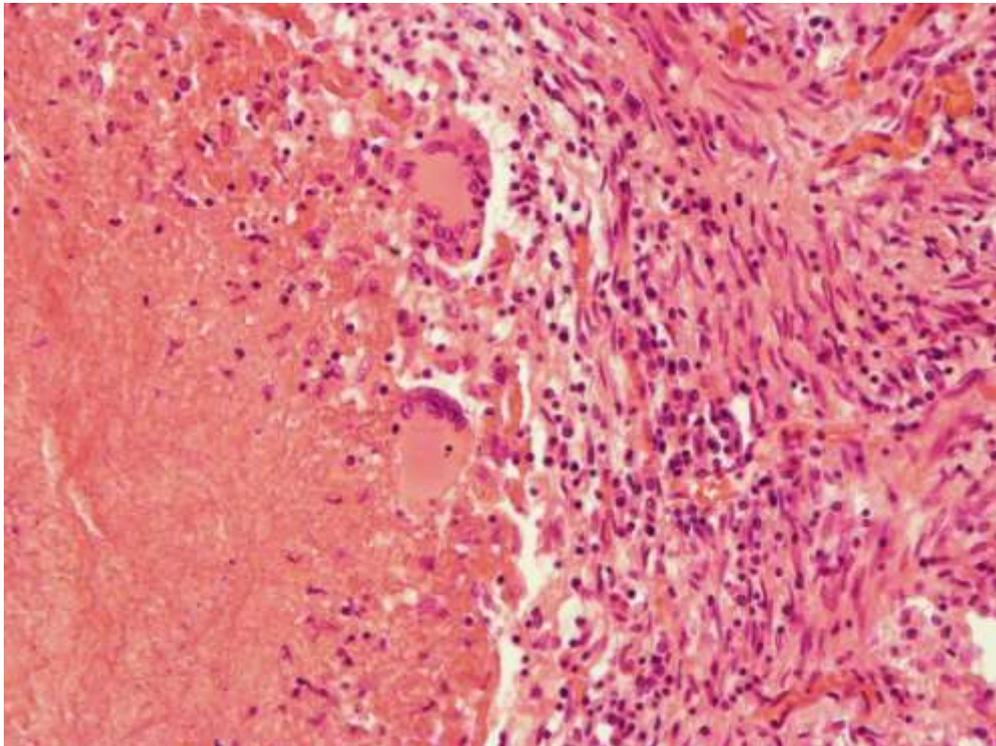


Рисунок 32 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Стенка каверны с выраженным фиброзом и многочисленными гигантскими многоядерными клетками Лангганса.

Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$



Рисунок 33 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Картина выраженного гранулематозного воспаления с обширным казеозным некрозом и формированием гигантских многоядерных клеток Лангганса. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$

При окраске гематоксилином и эозином во всех наблюдениях выявлены характерные для туберкулёза изменения, соответствующие прогрессированию инфекционного процесса (активность IV-V степени по классификации Б. М. Ариэля): крупные каверны с широкой фиброзной капсулой, в стенках каверн и в окружающей лёгочной ткани определялись гранулёмы и более крупные очаги отсева, представленные округлыми эозинофильными фокусами казеозного некроза с мелкими фрагментами клеточного детрита различного размера, окружёнными клеточным валом, представленным лимфоцитами, плазмócитами и, в большей степени, макрофагами с эпителиоидоклеточной трансформацией и тенденцией к слиянию с формированием единичных гигантских многоядерных клеток Лангганса типичного строения (с ориентацией ядер по периферии) с примесью единичных нейтрофильных гранулоцитов (Рисунки 32 и 33). В других полях зрения отмечалось утолщение межальвеолярных перегородок за счёт

фиброза, дистелектазы, очаговый антракоз, умеренный интерстициальный и альвеолярный отёк, паретическое полнокровие сосудов, очаговые диапедезные кровоизлияния. Бронхи малого и среднего размера характеризовались лимфоцитарной инфильтрацией, склерозом, гипертрофией мышечного слоя, очаговой атрофией мерцательного эпителия.

При окраске карболовым фуксином по Цилю – Нильсену (Рисунки 38, 39, 40 и 41) в патологических очагах обнаружены единичные скопления внеклеточно расположенных кислотоустойчивых бактерий в среднем менее чем в 10 полях зрения общим числом в среднем  $558,33 \pm 62,16$  (от 300 до 800). Подавляющее большинство,  $(88,13 \pm 2,14) \%$  (85–95 %) возбудителей имело палочковидную форму, так же встречались кокковидные формы  $(9,33 \pm 1,17) \%$  (5–13 %), на прочие морфологические формы, вместе взятые, приходилось менее 3 % наблюдаемых микобактерий (Рисунок 35).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 1,83$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 2,13$ ) не попадает в критическую область ( $K_{\text{кр}}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

При окраске аурамин-родамином и последующем исследовании во флюоресцентном микроскопе (Рисунки 42, 43, 44 и 45) обнаружены очаговые скопления внеклеточно расположенных микобактерий в 10–50 полях зрения, общим числом в среднем  $5\ 583,33 \pm 796,5$  (от 3 000 до 9 000), преимущественно палочковидных, в среднем  $(64,38 \pm 4,24) \%$  (50–85 %), а также кокковидных  $(27,29 \pm 3,84) \%$  (10–45 %), гранул  $(6 \pm 1,09) \%$  (2–10 %), булавовидных  $(1,96 \pm 0,6) \%$  (1–5 %) и ветвящихся (до 1 %) форм микобактерий (Рисунок 36).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{\text{набл}} = 9,85$ ) не

попадает в критическую область ( $K_{кр}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{набл} = 5,57$ ) не попадает в критическую область ( $K_{кр}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

При ИГХ-исследовании (Рисунки 46, 47, 48 и 49) обнаружены множественные скопления внеклеточно расположенных микобактерий более чем в 50 полях зрения общим числом в среднем  $12\,916,67 \pm 834,52$  (от 10 000 до 16 000), характеризовавшиеся большим разнообразием форм: на палочки приходилось в среднем  $(57,29 \pm 2,78) \%$  (50–70 %), на кокковидные  $(28,71 \pm 2,31) \%$  (20–39 %), на гранулы  $(9,04 \pm 1,04) \%$  (5–13 %), на булавовидные  $(3,71 \pm 0,64) \%$  (1–7 %) и на ветвящиеся  $(1,25 \pm 0,47) \%$  (1–3 %) (Рисунок 37).

Выполнена оценка нормальности распределения морфологических форм микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{набл} = 6,59$ ) не попадает в критическую область ( $K_{кр}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

Выполнена оценка нормальности распределения общего числа микобактерий. Наблюдаемое значение критерия Пирсона ( $K_{набл} = 7,32$ ) не попадает в критическую область ( $K_{кр}(0,05) = 14,06714$ ), следовательно, данные выборки имеют нормальное распределение.

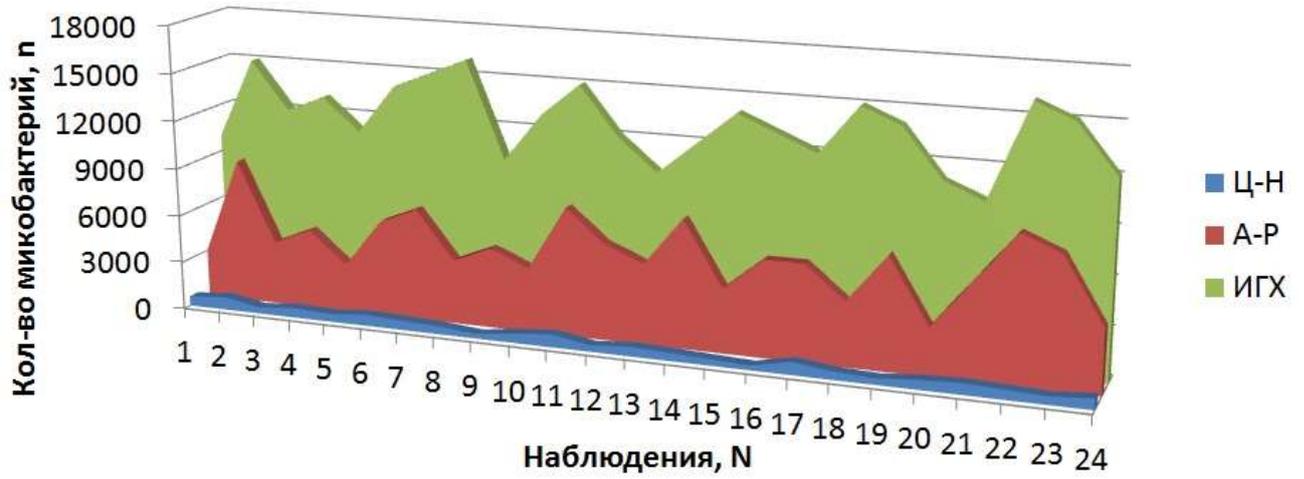


Рисунок 34 – Общее число обнаруженных микробактерий (фиброзно-кавернозный туберкулёз)

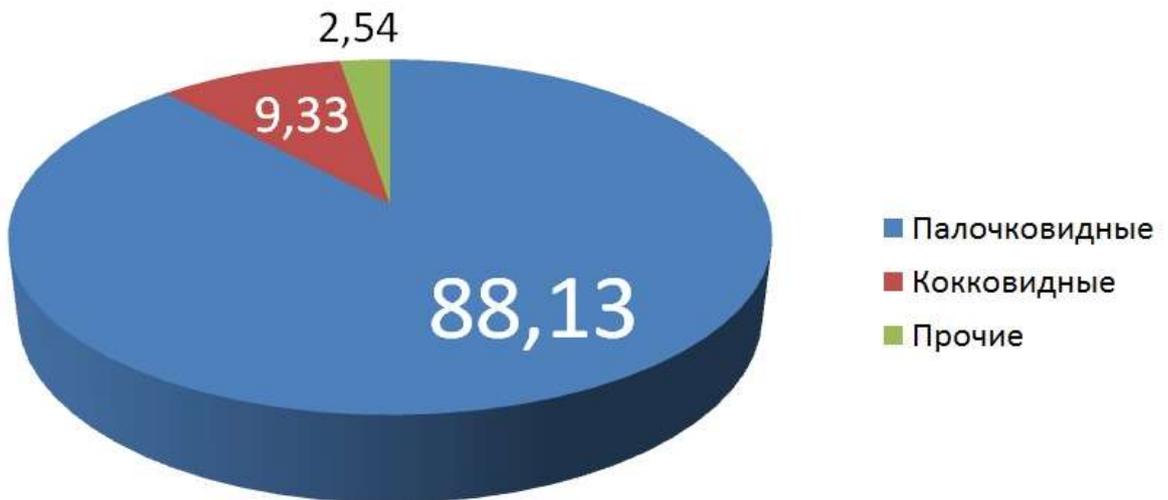


Рисунок 35 – Пациенты с ФКТ. Окраска по Цилю – Нильсену, %



Рисунок 36 – Пациенты с ФКТ. Окраска аураминем-родаминем, %



Рисунок 37 – Пациенты с ФКТ. ИГХ, %

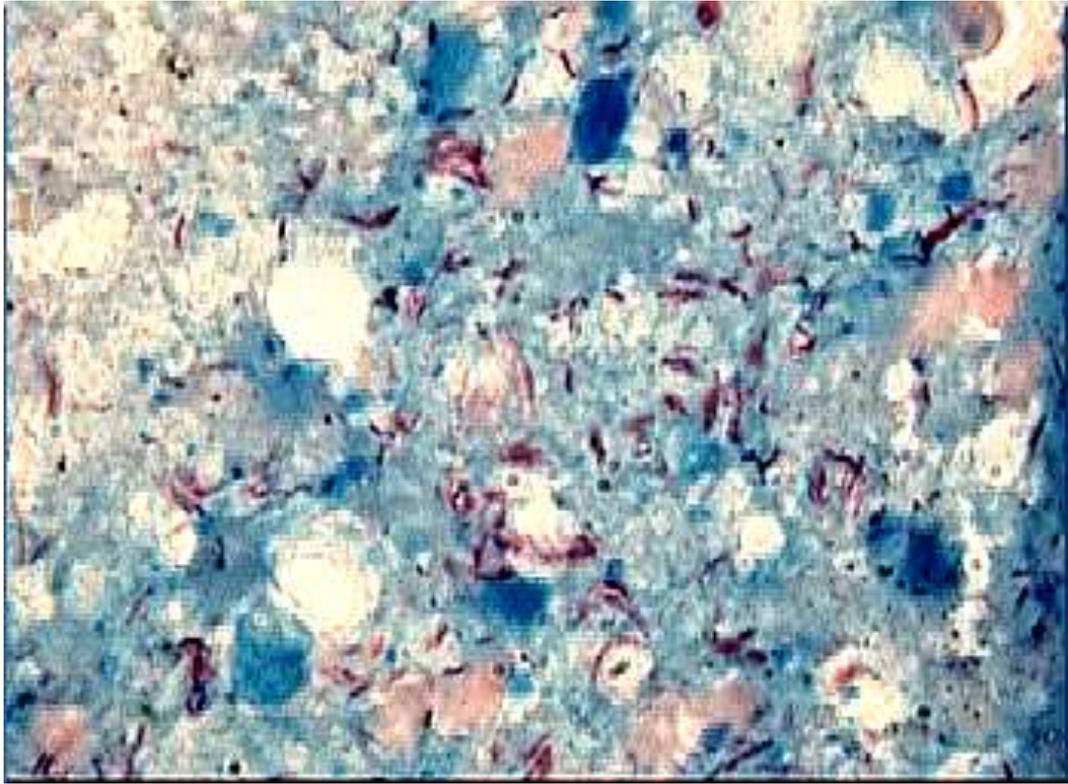


Рисунок 38 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки.  
Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену.  $\times 1\ 000$

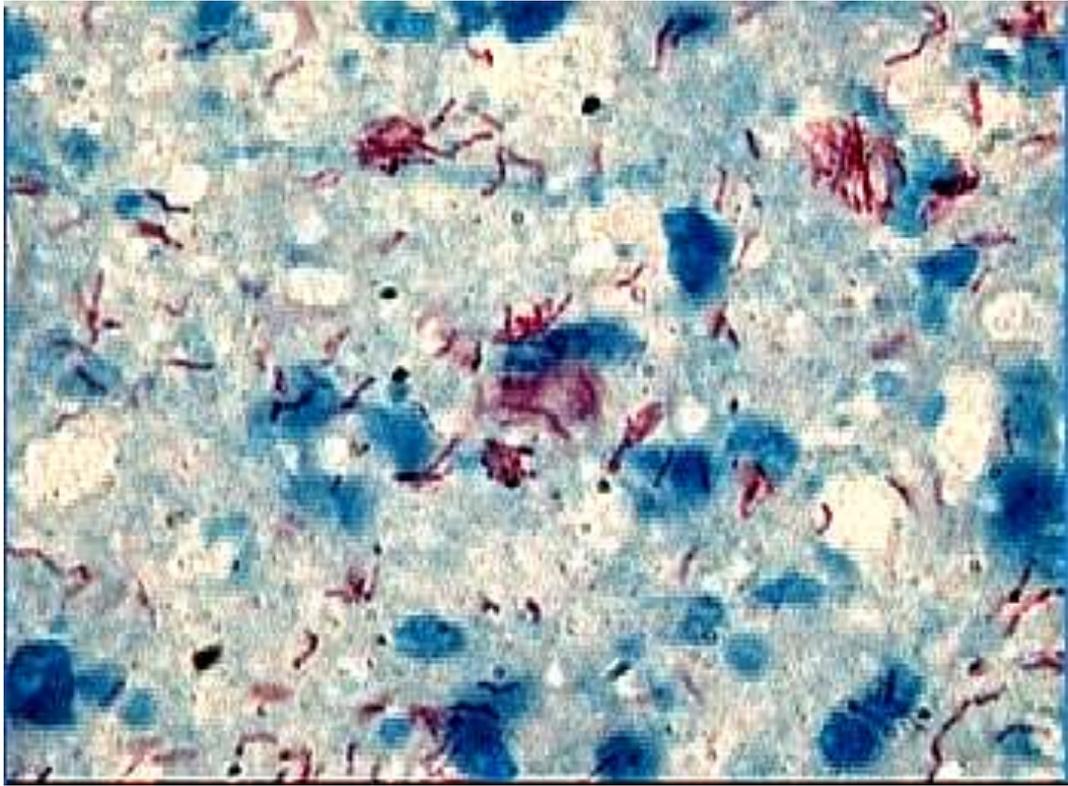


Рисунок 39 – Фибринозно-кавернозный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки с очаговой тенденцией к формированию одиночных скоплений. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену.  $\times 1\ 000$

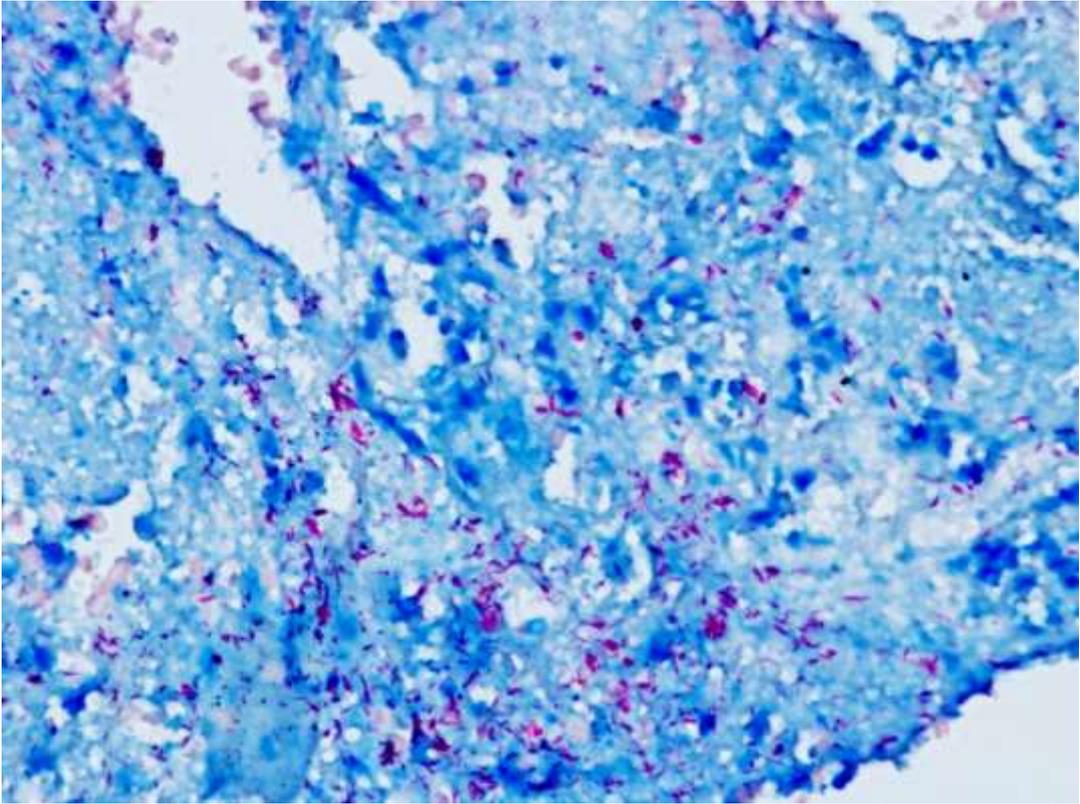


Рисунок 40 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки и атипичные формы. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 400

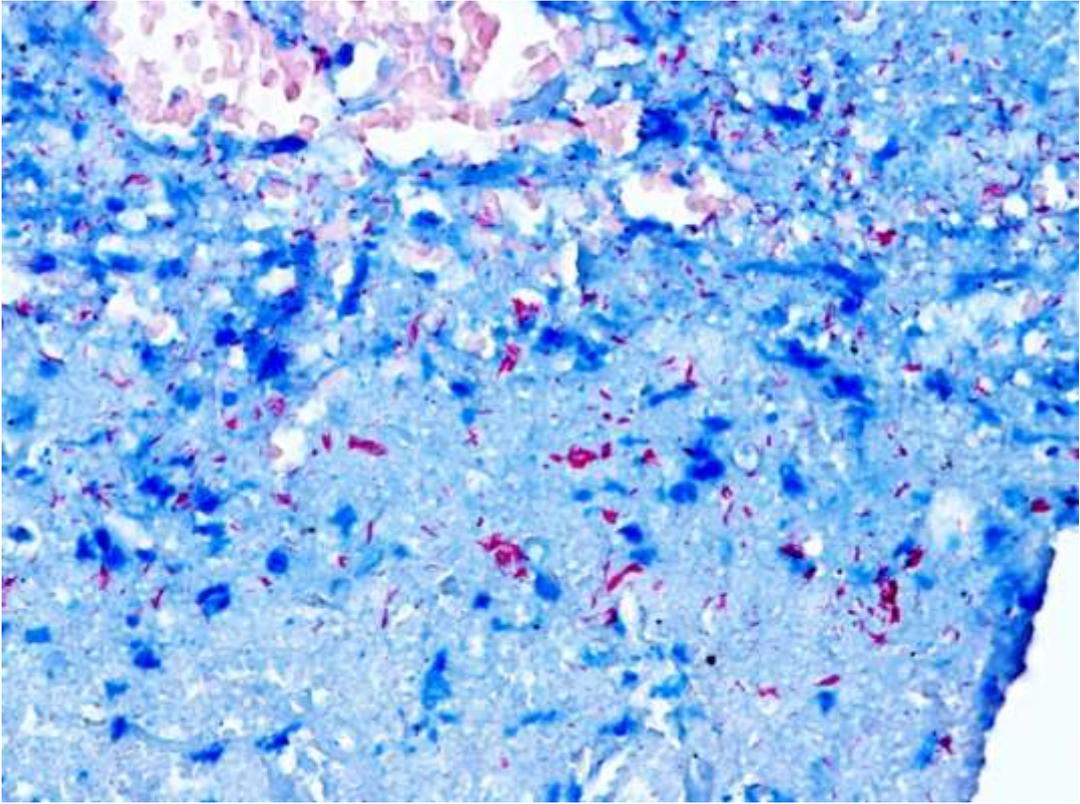


Рисунок 41 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки.  
Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 400

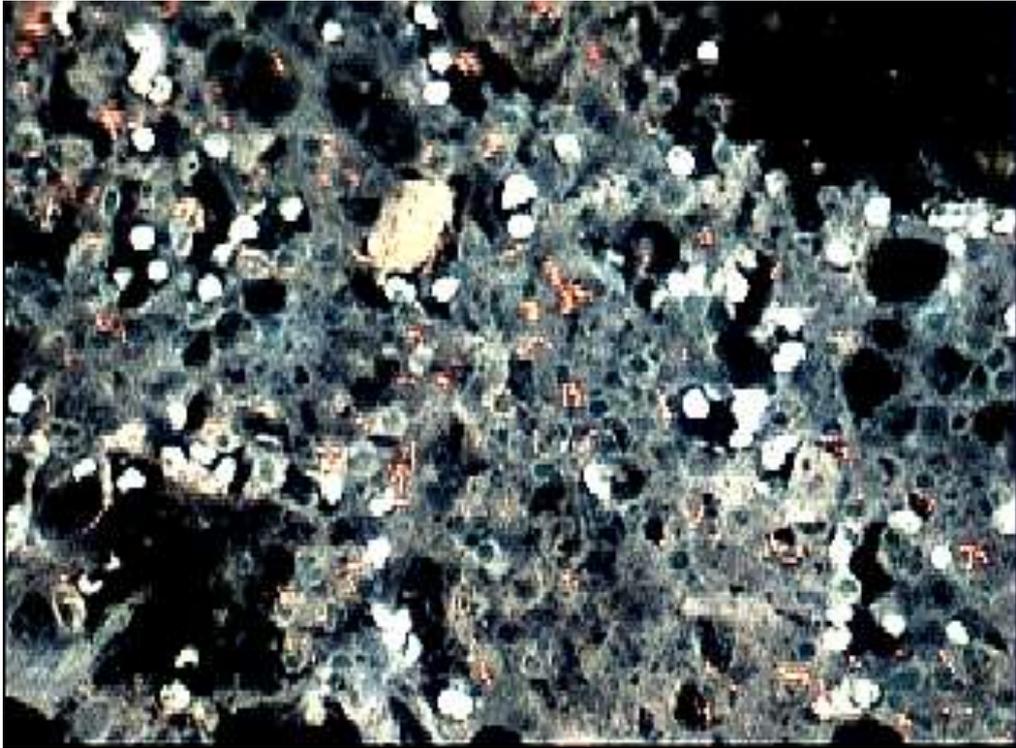


Рисунок 42 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Одиночные микобактерии и их скопления. Преимущественно палочковидные, однако присутствуют булавовидные, кокковидные и гранулы. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия.  $\times 400$



Рисунок 43 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Палочковидные и атипичные (кокковидные и гранулы) формы микобактерий. Окраска аурамином-родамином. Флюоресцентная микроскопия.  $\times 1\ 000$

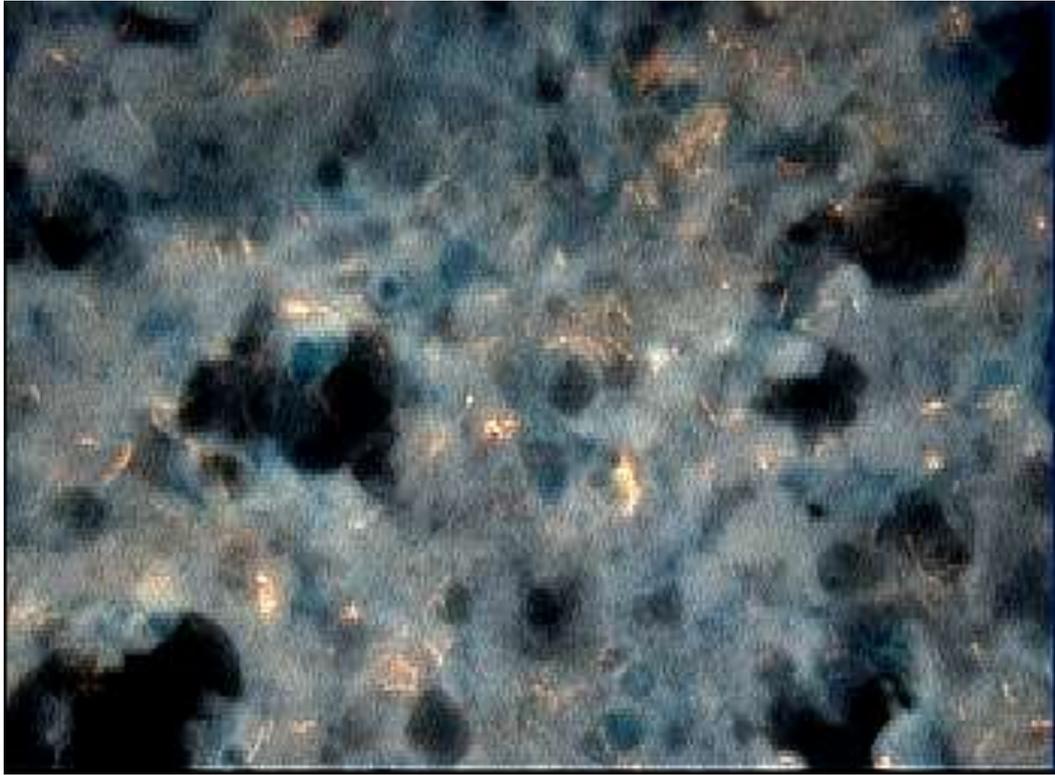


Рисунок 44 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Одиночные микобактерии и их скопления. Присутствуют булавовидные и кокковидные формы. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия.  $\times 1\ 000$

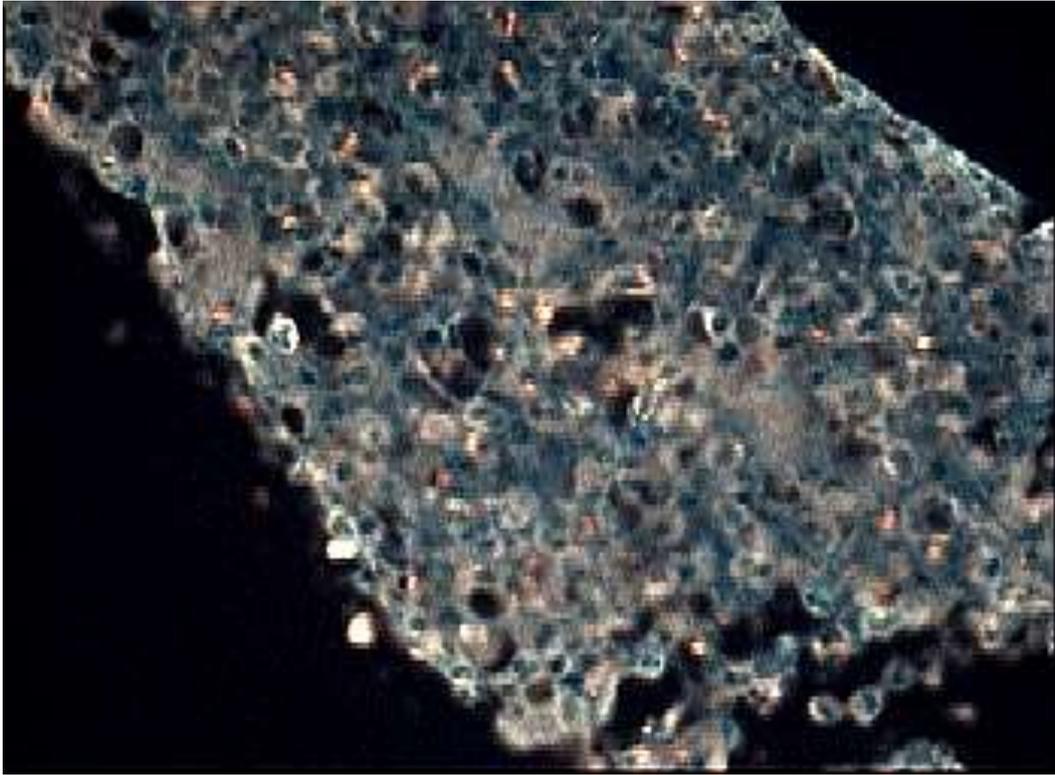


Рисунок 45 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Палочковидные и атипичные (гранулы, булавовидные и кокковидные) формы микобактерий. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия.  $\times 400$



Рисунок 46 – Фибринозно-кавернозный туберкулёз. Скопления атипичных (преимущественно кокковидных) микобактерий. ИГХ.  $\times 400$

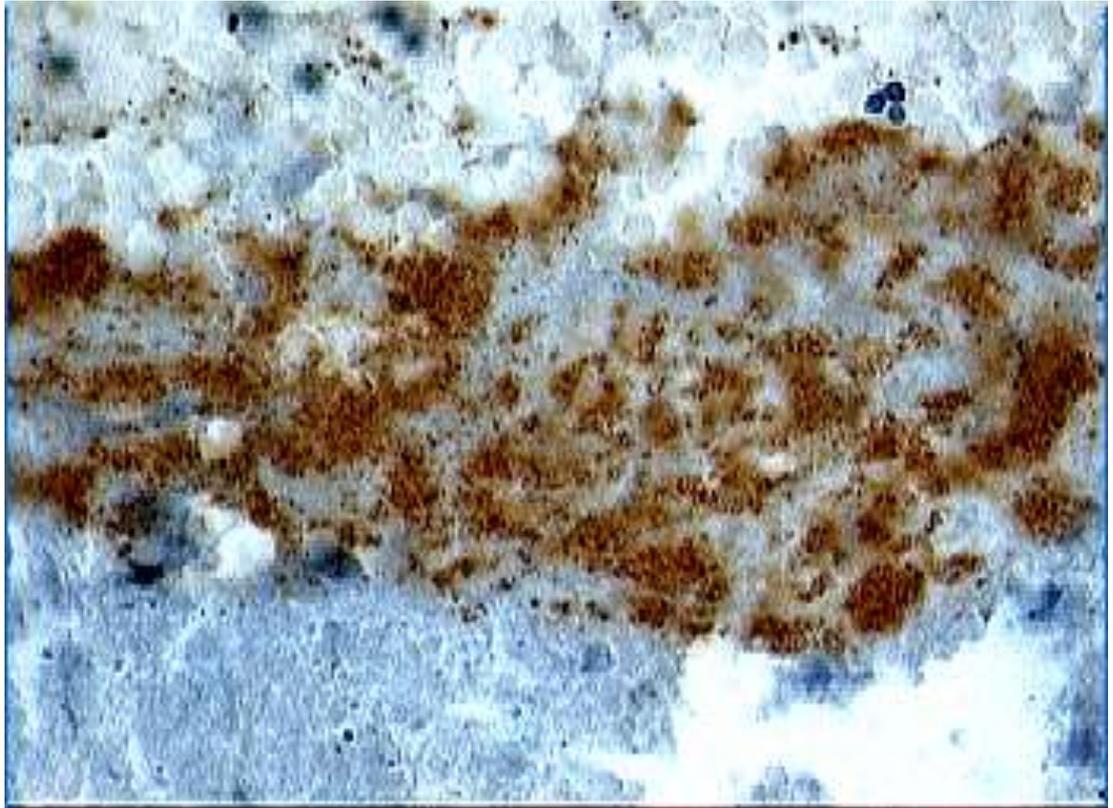


Рисунок 47 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз.  
Скопления атипичных микобактерий. ИГХ. × 400

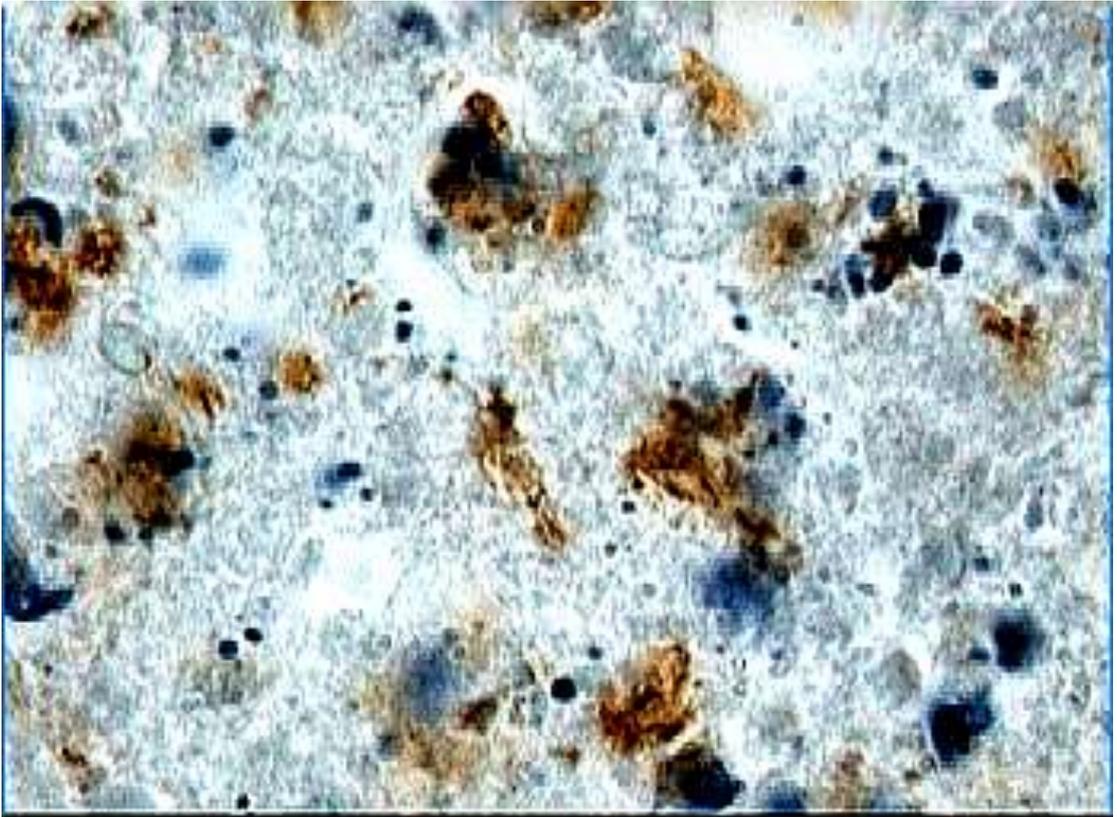


Рисунок 48 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Скопления атипичных (булавовидных и кокковидных) микобактерий. ИГХ.  $\times 1\ 000$

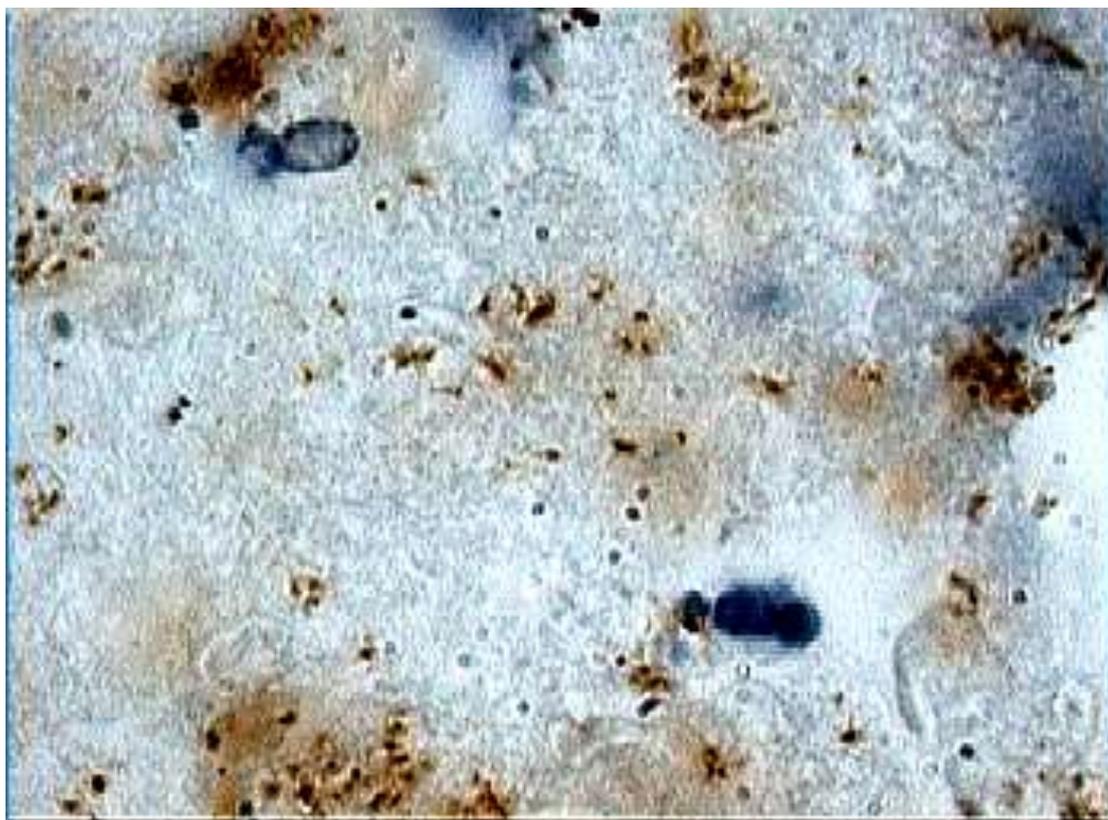


Рисунок 49 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Атипичные морфологические формы микобактерий (гранулы и кокковидные). ИГХ.  $\times 1\ 000$

В результате общее число выявленных микобактерий при окраске аурамин-родамином значимо ( $t_{\text{набл}} = 13$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,01$ ) больше, чем при окраске по Цилю – Нильсену. Общее число выявленных микобактерий при помощи ИГХ значимо ( $t_{\text{набл}} = 30,6$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,01$ ) больше, чем при окраске по Цилю – Нильсену и значимо ( $t_{\text{набл}} = 13,2$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,01$ ) больше, чем при окраске аурамин-родамином (Приложение Б, Таблица 5).

Доля типичных палочек, выявленных посредством классической окраски по Цилю – Нильсену, значимо ( $t_{\text{набл}} = 10,4$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,01$ ) больше таковой, выявленной при окраске аурамин-родамином и значимо ( $t_{\text{набл}} = 18,2$ ,  $t_{\text{кр}}(0,05) = 2,01$ ) больше, чем при проведении ИГХ. Столь же сильно разнятся показатели для атипичных морфологических форм микобактерий, выявляемых при окраске по Цилю – Нильсену в минимальном количестве, и обнаруживаемых

в большом количестве при флюоресцентном исследовании и ИГХ-исследовании (Приложение Б, Таблица 6).

Таблица 5 – Общее число обнаруженных микобактерий (фиброзно-кавернозный туберкулёз)

Циль – Нильсен	Аурамин – Родамин	ИГХ
558,33 ± 62,16	5 583,33 ± 796,5	12 916,67 ± 834,52

Таблица 6 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий (фиброзно-кавернозный туберкулёз)

Показатель	Циль – Нильсен					Аурамин – Родамин					ИГХ				
	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В
Ср	88,13	9,33	1,75	0,67	0,13	64,38	27,29	6	1,96	0,38	57,29	28,71	9,04	3,71	1,38
+/-	2,14	1,17	0,77	0,49	0,14	4,24	3,84	1,09	0,6	0,21	2,78	2,31	1,04	0,64	0,43
Примечания: П – палочковидные; К – кокковидные; Г – гранулы; Б – булавовидные; В – ветвящиеся.															

## ГЛАВА 4 ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проблема морфологической диагностики туберкулёза продолжает оставаться актуальной во всём мире. На сегодняшний день очевидно, что основывать её только на характерных структурных изменениях при т.н. «специфическом» воспалении неверно. В соответствии с требованиями мирового фтизиатрического сообщества необходимо доказывать нахождение в пораженных участках туберкулёзных микобактерий [17]. Во многих случаях это требование успешно решается при сопоставлении морфологических данных с микробиологическими и молекулярно-генетическими, но нередко они отсутствуют.

На протяжении уже длительного времени в практике патологов всего мира широко используется гистобактериоскопическая окраска по методу Циля – Нильсена, которая хотя и не является строго специфичной, однако, при выявлении типичных кислотоустойчивых палочек, позволяет верифицировать диагноз туберкулёза. Практически во всех морфологических исследованиях указывается, что в значительном проценте случаев при бесспорно верифицированном туберкулёзе выявить кислотоустойчивые палочки не удаётся, либо они выявляются в минимальном количестве [34, 46, 61, 103, 123]. Чаще всего это явление связывают с техническими погрешностями при окраске, следствием этого существует значительное количество модификаций этого метода, ни одна из которых не является оптимальной [85, 96, 126].

Микробиологические свойства туберкулёзных микобактерий изучены хорошо. Показано, что они проходят довольно сложный путь развития, во время которого имеют и разную форму, и разную степень выраженности клеточной стенки, что не может не отражаться на результатах гистобактериоскопии. Вместе с тем, морфологических работ, посвященных детальному анализу этого феномена в литературе обнаружить не удалось.

Современные микробиологические данные свидетельствуют, что туберкулёзные микобактерии являются достаточно сложно организованными

микроорганизмами, способными существовать и размножаться как во внешней среде, так и в организме человека. Кроме того, у микобактерий выявлены десятки факторов патогенности. Хотя этот вопрос никем специально не изучался, можно предположить, что некоторые из них принципиально способны привести к казеозному некрозу. В сравнительно немногочисленных работах, как прежних лет, так и современных, показана значительная вариабельность штаммов туберкулёзных микобактерий по вирулентности [4, 47, 54, 67]. В настоящее время показано, что в условиях России наиболее вирулентными оказываются микобактерии, относящиеся к Пекинскому генотипу.

#### **4.1 Морфологическая характеристика туберкулёзного поражения при сочетании с ВИЧ-инфекцией**

Во второй исследованной группе туберкулёз явился ведущим вторичным заболеванием при ВИЧ-инфекции. Практически во всех случаях клинически диагностированный туберкулёз был значительно более точно охарактеризован при посмертном исследовании, прежде всего за счет уточнения топографии поражений.

Все умершие были с доказанной наркозависимостью, систематическое антиретровирусное и противотуберкулёзное лечение они не получали.

Важно отметить, что во всех наблюдениях морфологическая картина туберкулёза, протекающего при ВИЧ-инфекции, характеризовалась как выраженной альтерацией (вплоть до субтотальной казеозной трансформации тканей), так и значительным разнообразием морфологических форм.

Фактически в каждом исследованном случае было зафиксировано сочетание двух и более традиционно описываемых морфологических вариантов. Наиболее часто отмечалось соседство фокусов поражения по типу очагового туберкулёза с относительно чётко очерченными контурами (когда по периферии имелись элементы эпителиоидноклеточной гранулёмы) и фокусов казеозной пневмонии,

когда сливающиеся очаги некроза практически ничем не были отграничены от окружающих тканей.

Дополнительно к этому обнаружены инкапсулированные очаги казеозного некроза, подпадающие под характеристику туберкулёмы, а также образовавшиеся в результате распада ткани полости, по сути представляющие из себя каверны. Все перечисленные элементы дополнялись отмеченными во всех наблюдениях поражениями внутригрудных лимфатических узлов и плевры.

Столь полиморфная картина туберкулёзного поражения, при которой имеется сочетание инфильтративного, очагового, кавернозного, диссеминированного вариантов заболевания, казеозной пневмонии, туберкулём, лимфаденита и плеврита, демонстрирует некоторое несовершенство используемой классификации туберкулёза. При формулировке диагноза следует, указывая все варианты выявленных структурных изменений, констатировать наличие наиболее тяжелой формы. При наличии внелегочных поражений принято использовать термин генерализованный туберкулёз.

#### **4.2 Сравнение морфологии тканевых форм туберкулёзных микобактерий в лёгких у пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулёзом и в сочетании с ВИЧ-инфекцией**

При стандартной гистобактериоскопии число кислотоустойчивых палочек оказалось сравнительно небольшим, несмотря на очевидные морфологические признаки чрезвычайно высокой активности туберкулёзного процесса.

При этом, как и в контрольной группе настоящего исследования, количество обнаруженных микобактерий при использовании альтернативных методов превышало таковое при классической окраске по Цилю – Нильсену.

Тем не менее, в отличие от исследованных случаев длительно протекавшего фиброзно-кавернозного туберкулёза, сопровождавшегося многолетней терапией (с формированием лекарственной устойчивости различной степени выраженности), у пациентов с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции,

практически не имевших в анамнезе специфической терапии, разнообразие морфологических форм возбудителя было сравнительно небольшим, хотя и имелась тенденция к увеличению доли атипичных форм микобактерий при окраске аурамино-родамином и иммуногистохимическом исследовании.

Для более достоверного изучения гистобактериоскопических особенностей при «естественном» течении заболевания была подобрана группа умерших, у которых туберкулёз был диагностирован только посмертно в бюро судебно-медицинской экспертизы при отсутствии ВИЧ-инфекции. Отсутствие клинических, рентгенологических данных и нередко слишком краткие макроскопические описания не позволяют дать полную клинико-морфологическую оценку этих наблюдений. Однако, микроскопический анализ позволил говорить о прогрессирующем течении туберкулёзного воспаления. Проведённый гистобактериоскопический анализ выявил, что распределение микобактерий по форме и тинкториальным свойствам обладают определённым сходством с данными полученными при сочетании туберкулёза с ВИЧ-инфекцией в стадии СПИД.

В третьем разделе нашего исследования, несмотря на типичную картину активного туберкулёзного поражения с большим объёмом казеозных масс, окраска по Цилю – Нильсену не выявила многочисленных кислотоустойчивых бактерий, подтвердив встречаемый в практике феномен. Принципиально важным при этом является выбор для исследования именно пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулёзом, чей анамнез предполагал длительное волнообразное течение заболевания и продолжительную терапию, корректировавшуюся в ходе лечения с учётом её неэффективности вследствие устойчивости микобактерий к противотуберкулёзным препаратам.

Такие случаи можно считать самыми сложными для классического бактериоскопического выявления туберкулёзных микобактерий ввиду предшествовавшего длительного процесса адаптации возбудителя, что сопровождалось периодами активации и угнетения размножения, а также изменением структуры клеточной стенки с сохранением вирулентности. Именно

особенностями жизненного цикла можно объяснить присутствие в большом количестве атипичных форм микобактерий, наиболее убедительно выявленных при флюоресцентном и иммуногистохимическом исследованиях.

Необходимо заметить, что в исследованной группе пациентов имелась определённая гетерогенность, связанная с возрастом пациентов, варьировавшим в пределах от 31 до 84 лет, и длительностью заболевания (от 2 до 33 лет), однако морфологическая картина туберкулёза и характеристика микобактерий были практически идентичны у всех пациентов вне зависимости от возраста и давности заболевания.

Принципиальным моментом также явилось расположение в ряде случаев скоплений туберкулёзных микобактерий по периферии очагов казеозного некроза на границе с прилегающим к зоне некроза валом эпителиоидных клеток и на границе с фиброзной стенкой каверны. Данная локализация микобактерий может натолкнуть на мысль о формировании ими биоплёнок, что может быть одним из объяснений формирования лекарственной устойчивости, хотя этот вопрос и требует специального изучения.

#### **4.3 Оценка окраски *M. tuberculosis* в тканях карболовым фуксином по Цилю – Нильсену, аурамин-родамином (с использованием флюоресцентной микроскопии) и иммуногистохимического исследования в тканях**

У всех исследованных групп пациентов при использовании окраски аурамин-родамином и иммуногистохимическом исследовании количество обнаруженных микобактерий превышало таковое при классической окраске по Цилю – Нильсену.

В отличие от вошедших в третью группу случаев туберкулёза, сопровождавшегося многолетней терапией (с формированием лекарственной устойчивости различной степени выраженности), у пациентов с впервые выявленным туберкулёзом и сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции, не

имевших в анамнезе специфической терапии, разнообразие морфологических форм возбудителя было сравнительно небольшим.

Атипичное строение микроорганизмов и их нестандартные тинкториальные свойства наиболее вероятно являются следствием активации целого каскада генетически детерминированных факторов вирулентности, которые за счёт модификации метаболизма, клеточной стенки и жизненного цикла туберкулёзных микобактерий позволяют им демонстрировать резистентность к лекарственным препаратам и другим неблагоприятным факторам.

В ходе ИГХ исследования, как и в случае с окраской по Цилю – Нильсену и аурамино-родамино, не было выявлено достоверных признаков присутствия возбудителя внутри фагоцитов, что идёт вразрез с традиционными взглядами на локализацию микобактерий в туберкулёзном очаге, сформированными на основе экспериментальных моделей заболевания у грызунов [38, 107, 145]. В ряде наблюдений была зафиксирована адгезия единичных микобактерий на поверхности макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов. Вероятно, подобное расположение способно симулировать внутриклеточную локализацию.

Иммуногистохимическое исследование следует считать наиболее информативным, т. к. если следовать теории, что явление дормантности возбудителя сопровождается полной или частичной потерей им клеточной стенки для последующей внутриклеточной персистенции, то отсутствие окрашивания внутриклеточно расположенных микобактерий карболовым фуксином по Цилю – Нильсену можно было бы объяснить именно структурными изменениями клеточной стенки [54, 57, 61, 79]. Однако ИГХ-исследование не зависит от состояния и компонентов клеточной стенки, следовательно, обеспечивает выявление микобактерий, находящихся на любом этапе жизненного цикла, в т. ч. с изменением своих тинкториальных свойств.

В большинстве мировых учебников и руководств сообщается о преимущественном расположении туберкулёзных микобактерий в цитоплазме макрофагов и гигантских клеток Ланганса, что позволяет обосновать представления о ведущем значении в патогенезе туберкулёза

гиперчувствительности замедленного типа. Действительно, существуют работы, в которых на уровне клеточных культур доказан фагоцитоз туберкулёзных микобактерий макрофагами [30, 31, 40, 42, 74, 97, 112]. Ряд исследователей указывают, что микобактерии наблюдаются в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов, но не дают этому феномену теоретической оценки [7, 16]. О возможной роли биоплёнок при туберкулёзе есть только единичные исследования [24, 76, 123].

Всеми авторами без исключения указывается на возможность выявления микобактерий внеклеточно в зоне казеозного некроза. В исследованиях старых авторов этот феномен объяснялся освобождением микобактерий из макрофагов при их гибели в связи с феноменом гиперчувствительности немедленного типа [21, 25, 27].

Отсутствие микобактерий внутри фагоцитов, наблюдаемое *in vivo*, укладывается в современные представления об адаптации возбудителя к защитным механизмам макроорганизма, которая в наибольшей степени определяет вирулентность того или иного штамма. Блокировка фагоцитоза является одним из основных факторов патогенности, обеспечивающим выживаемость микобактерий.

Анализ как классической, так и современной литературы, а также практический опыт свидетельствуют, что вопрос о локализации возбудителя у человека *in vivo* изучен недостаточно. Научные работы, подтверждающие классические представления о внутриклеточной локализации, крайне немногочисленны и либо опираются на результаты, полученные на лабораторных животных [97], либо на культурах клеток [42], либо на пациентах с иммуносупрессией, страдающих смешанной инфекцией с участием *M. avium/intracellulare* [74], либо в цитологических мазках, где, судя по микрофотографиям, затруднительно дифференцировать истинное внутриклеточное расположение микобактерий и их адгезию на поверхности клеток [40].

У отечественных авторов внутриклеточная локализация микобактерий так же описана либо для культур альвеолярных макрофагов человека [112], либо для клеток костного мозга, селезёнки и перитонеальных макрофагов мышей [30, 31].

Таким образом, можно констатировать, что вопрос внеклеточной локализации туберкулёзных микобактерий требует уточнения, в частности – с использованием дополнительных методов исследования (конфокальная и электронная микроскопия).

Для оптимизации прижизненной и посмертной морфологической диагностики туберкулёза наряду с использованием более высококачественного оборудования и расходных материалов целесообразно также помимо классической окраски по Цилю – Нильсену внедрять флюоресцентную микроскопию, желательна в сочетании с ПЦР, для которой с успехом может быть использован фиксированный в формалине и залитый в парафин материал. Существующие сыворотки для иммуногистохимического исследования в настоящее время могут быть рекомендованы для изучения патогенеза заболевания, но не для диагностических целей.

Многие вопросы патогенеза и морфогенеза туберкулёза нуждаются в комплексном мультидисциплинарном изучении с использованием современных методов.

## ВЫВОДЫ

1. Во всех случаях сочетания туберкулёза и ВИЧ-инфекции в стадии 4В зафиксирована тенденция к значительному преобладанию альтеративного компонента над гранулематозным, хотя и без полной утраты способности к формированию гранулём. В каждом исследованном случае было зафиксировано сочетание двух и более традиционно описываемых морфологических форм заболевания. Наиболее часто отмечалось соседство фокусов поражения, где по периферии имелись элементы эпителиоидноклеточной гранулёмы и фокусов казеозной пневмонии, когда сливающиеся очаги некроза практически ничем не были отграничены от окружающих тканей. В 16,3 % случаев гранулематозная реакция практически отсутствовала. Помимо поражения внутригрудных лимфатических узлов и плевры в различных сочетаниях встречалось поражение селезёнки (66,3 % случаев), почек (54,7 % случаев), печени (29,1 % случаев), толстой и тонкой кишки (23,3 % случаев), реже – вещества и оболочек головного мозга, надпочечников, позвоночника.

2. Во всех случаях, когда заболевание протекало на фоне многолетней противотуберкулёзной терапии с формированием лекарственной устойчивости, отмечена атипичная морфология возбудителя: в зависимости от конкретного метода исследования на кокковидные формы приходилось до 45 %, на гранулы – до 13 %, на булавовидные – до 7 %, на ветвящиеся – до 3 % микобактерий.

3. Во всех случаях впервые выявленного туберкулёза и сочетания туберкулёза и ВИЧ-инфекции в условиях отсутствия специфической противотуберкулёзной терапии морфология возбудителя не претерпевала значительных изменений, в связи с чем большинство (от 79 % до 96 %) микобактерий имели типичную палочковидную морфологию.

4. Туберкулёзные микобактерии могут иметь различную морфологию, при этом наибольшая доля атипичных форм микобактерий обнаруживается при флюоресцентном (от 7,42 % при впервые выявленном до 35,62 % при длительно протекающем фиброзно-кавернозном туберкулёзе) и иммуногистохимическом (от

15,42 % при впервые выявленном до 42,71 % при длительно протекающем фиброзно-кавернозном туберкулёзе) исследованиях.

5. Результаты исследования демонстрируют более высокую чувствительность люминесцентной микроскопии и иммуногистохимической реакции по сравнению с окраской по Цилю – Нильсену.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Встречающийся в практике отрицательный или слабоположительный результат окраски по Цилю – Нильсену при одновременном наличии других явных морфологических признаков туберкулёза не может расцениваться как повод поставить под сомнение диагноз заболевания.

2. Использование флюоресцентного и иммуногистохимического методов позволяет с большей долей вероятности выявлять туберкулёзные микобактерии в тканях, особенно если речь идёт об атипичных формах микроорганизмов.

3. Полученные результаты, демонстрирующие атипичную морфологию возбудителя в тканях у пациентов с многолетней противотуберкулёзной терапией и формированием лекарственной устойчивости, могут быть использованы для прижизненной диагностики на операционном материале (лоб-, билоб-, пульмонэктомия) с перспективой возможности оценки эффективности лечения.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ**

ВИЧ	вирус иммунодефицита человека
ВОЗ	Всемирная организация здравоохранения
ГЗТ	гиперчувствительность замедленного типа
ИГХ	иммуногистохимия
МЛУ	множественная лекарственная устойчивость
ПЦР	полимеразная цепная реакция
СПИД	синдром приобретённого иммунодефицита
ФКТ	фиброзно-кавернозный туберкулёз
ШЛУ	широкая лекарственная устойчивость

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Актуальные вопросы патологии и патоморфоза микобактериальных инфекций / Л. М. Гринберг, Е. Ю. Баранова, А. О. Вибе [и др.] // Уральский медицинский журнал. – 2005. – С. 44–48.
2. Актуальные проблемы морфологической диагностики и патоморфоз ВИЧ-инфекции / В. А. Цинзерлинг, Д. В. Комарова, А. Г. Рахманова [и др.] // Архив патологии. – 2010. – № 2. – С. 26–30.
3. Борисов, Л. Б. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология / Л. Б. Борисов. – МИА, 2005. – С. 154–156.
4. Вишневский, Б. И. Вирулентность *Mycobacterium tuberculosis* / Б. И. Вишневский, О. А. Маничева, П. К. Яблонский // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4, № 4. – С. 319–330.
5. Выявление L-форм микобактерий туберкулёза как прогностический критерий рецидивов и обострений туберкулёза у больных с большими остаточными туберкулёзными изменениями в легких / И. Р. Дорожкова, М. А. Карачунский, Э. Т. Абдуллаева [и др.] // Проблемы туберкулеза. – 1989. – № 3. – С. 14–17.
6. Генетический контроль латентной туберкулёзной инфекции / Т. К. Кондратьева, Т. Л. Ажикина, М. О. Шлеева [и др.] // Туберкулёз и социально значимые заболевания. – 2013. – № 2. – С. 61–66.
7. Диагностика сочетания туберкулёза и микобактериоза при ВИЧ-инфекции / М. В. Альварес Фигероа, Ю. Р. Зюзя, А. В. Прокопенко [и др.] // Туберкулёз и социально значимые заболевания. – 2015. – № 4. – С. 50–57.
8. Ерохин, В. В. Клеточная биология лёгких в норме и при патологии / В. В. Ерохин, Л. К. Романова. – М. : Медицина, 2000. – 496 с.
9. Иммуногистохимический метод в диагностике туберкулёза / В. Н. Эллиниди, Б. М. Ариэль, И. А. Самусенко, Л. В. Туголукова // Архив патологии. – 2007. – № 5. – С. 36–37.

10. Иммуногистохимическое выявление *Mycobacterium tuberculosis* в ткани лёгких у больных туберкулёзом с использованием лазерной сканирующей микроскопии / М. В. Ерохина, Л. П. Незлин, В. Г. Авдиенко [и др.] // Известия РАН. Серия биологическая. – 2016. – № 1. – С. 1–5.
11. К вопросу об этиологии макрофагальных гранул в органах дыхания и лимфатических узлах: наблюдения из практики / В. А. Цинзерлинг, В. Е. Карев, А. О. Аветисян [и др.] // Журнал инфектологии. – 2013. – № 5 (3). – С. 67–70.
12. Казеозная пневмония / В. В. Ерохин, В. Ю. Мишин, В. И. Чуканов, Д. Б. Гиллер. – М. : изд-во Медицина, 2008. – 192 с.
13. Клиническая микробиология // Руководство по легочному и внелегочному туберкулёзу/ Б. И. Вишневский, Т. Ф. Оттен, О. В. Нарвская, Е. Б. Вишневская ; под ред. Ю. Н. Левашева, Ю. М. Репина. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2006. – С. 95–114.
14. Маянский, А. Н. Микобактерии: туберкулёз и микобактериозы / А. Н. Маянский. – Н. Новгород : изд-во Нижегородской государственной медицинской академии, 2000. – 74 с.
15. Морфологическое исследование в дифференциальной диагностике туберкулёза и саркоидоза / И. В. Двораковская, М. Ю. Майская, Р. А. Насыров [и др.] // Архив патологии. – 2014. – № 76 (1). – С. 27–31.
16. Пархоменко, Ю. Г. Морфологические аспекты ВИЧ-инфекции / Ю. Г. Пархоменко, Ю. Р. Зюзя, А. И. Мазус. – М. : Литерра, 2016. – 168 с.
17. Перельман, М. И. Национальное руководство. Фтизиатрия / М. И. Перельман. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 512 с.
18. Попова, А. А. Изменения системы иммунитета у больных ВИЧ-инфекцией и туберкулёзом / А. А. Попова, А. В. Кравченко, Л. В. Серебровская // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – № 4. – С. 54.
19. Применение полимеразной цепной реакции для ранней диагностики туберкулёза у больных на поздних стадиях ВИЧ-инфекции / Е. А. Долгова, М. В. Альварес Фигероа, В. И. Шахгильдян [и др.] // Инфекционные болезни. – 2014. – № 4. – С. 11–17.

20. Прозоров, А. А. Микобактерии туберкулёзного комплекса: геномика, молекулярная эпидемиология, пути эволюции / А. А. Прозоров, В. Н. Даниленко // Успехи современной биологии. – 2011. – Т. 131, № 3. – С. 227–243.

21. Пузик, В. И. Патоморфология начальных форм первичного туберкулёза у человека / В. И. Пузик. – М., 1958. – 123 с.

22. Российская Федерация. Постановление Правительства РФ от 28 декабря 2011 г. № 1181 О финансовом обеспечении за счет бюджетных ассигнований федерального бюджета мероприятий, направленных на обследование населения с целью выявления туберкулеза, лечения больных туберкулезом, а также профилактических мероприятий : текст с изм. и доп. вступ. в силу с 28.12.2011 : [утв. постановлением Правительства РФ от 28 декабря 2011 года]. – Москва, 2011. – Доступ из справочно-правовой системы КонсультантПлюс.

23. Российская Федерация. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 29 декабря 2014 г. № 951 Об утверждении методических рекомендаций по совершенствованию диагностики и лечения туберкулёза органов дыхания : вступ. в силу с 27.03.2015 : [утвержден приказом Министерства здравоохранения РФ от 29 декабря 2014 года]. – Москва, 2015. – Доступ из справочно-правовой системы КонсультантПлюс.

24. Совместное образования биофильма *M. tuberculosis* и *Bacillus spp.* как модель микробиоты на поздних стадиях туберкулёза / О. Б. Огарков, М. В. Бадлеева, Н. Л. Белькова [и др.] // Медицинский академический журнал. – 2017. – № 4. – С. 67–69.

25. Струков, А. И. Морфология туберкулёза в современных условиях / А. И. Струков, И. И. Соловьёва. – 2-е изд., перераб. и доп. – Москва : Медицина, 1986. – 224 с.

26. Струков, А. И. О маскированных проявлениях туберкулёза / А. И. Струков // Клиническая медицина. – Москва, 1956.

27. Струков, А. И. Патологическая анатомия туберкулёза. Руководство по туберкулёзу / А. И. Струков. – Москва, 1960.

28. Сурфактантная система при туберкулёзе лёгких / В. В. Ерохин, Л. Н. Лепеха, М. В. Ерохина, О. В. Ловачева. – М. : ФГБУ ЦНИИТ РАМН, 2013. – 265 с.
29. Туберкулёз (рабочие стандарты патологоанатомического исследования) / Б. М. Ариэль, Г. Б. Ковальский, Н. М. Блюм, Э. Н. Беллендир // Библиотека патологоанатома. – СПб. ГУЗ «ГПАБ», 2009. – 61 с.
30. Уфимцева, Е. Г. Клетки с микобактериями в гранулематозных образованиях мышей на латентной стадии туберкулезной инфекции в культуре *ex vivo* / Е. Г. Уфимцева // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т. 3, № 3. – С. 229–234.
31. Уфимцева, Е. Г. Различная динамика зараженности микобактериями клеток в гранулематозных образованиях мышей с латентной туберкулезной инфекцией и в инфицированных вакциной БЦЖ *in vitro* культурах костного мозга и перитонеальных макрофагов мышей / Е. Г. Уфимцева // Инфекция и иммунитет. – 2014. – Т. 4, № 3. – С. 213–220.
32. Цинзерлинг, В. А. Важнейшие проблемы морфологической диагностики при ВИЧ-инфекции / А. В. Цинзерлинг // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессии. – 2009. – № 2. – С. 31–37.
33. Цинзерлинг, В. А. ВИЧ-инфекция и туберкулёз. Проблемы клинко-морфологических сопоставлений / А. В. Цинзерлинг // Медицинский академический журнал. – 2013. – № 13 (4). – С. 87–91.
34. Цинзерлинг, В. А. Морфологическая диагностика туберкулёза в современных условиях / В. А. Цинзерлинг, В. В. Свистунов, В. Е. Карев // Архив патологии: Научно-теоретический журнал. – 2015. – Т. 77, № 3. – С. 3–9.
35. Цинзерлинг, В. А. Роль прижизненных и посмертных морфологических исследований в практике врача-инфекциониста / В. А. Цинзерлинг, Ю. В. Лобзин, В. Е. Карев // Журнал инфектологии. – 2012. – Т. 4, № 1. – С. 23–28.
36. Цинзерлинг, В. А. Школа инфекционной патологии / А. В. Цинзерлинга: достижения и перспективы // Архив патологии. – 2014. – Т. 76, № 1. – С. 3–9.

37. Чурилов, Л. П. Общая патофизиология с основами иммунопатологии / Л. П. Чурилов. – 5-е изд. – СПб. : ЭЛБИ-СПб, 2015. – 655 с.
38. Шкурупий, В. А. Туберкулёзный гранулематоз. Цитофизиология и адресная терапия / В. А. Шкурупий. – Москва : изд-во РАМН, 2007. – 536 с.
39. Шлеева, М. О. Покоящиеся формы микобактерий: обзор / М. О. Шлеева, Е. Г. Салина, А. С. Капрельянц // Микробиология. – 2010. – Т. 79, № 1. – С. 3–15.
40. A highly efficient Ziehl-Neelsen stain: identifying de novo intracellular *Mycobacterium tuberculosis* and improving detection of extracellular *M tuberculosis* in cerebrospinal fluid / P. Chen, M. Shi, G. D. Feng [et al.] // *J Clin Microbiol.* – 2012. – Vol. 50. – P. 1166–1170.
41. A multi-cohort study of the immune factors associated with *M. tuberculosis* infection outcomes / R. Roy. Chowdhury, F. Vallania, Q. Yang [et al.] // *Nature.* – 2018. – Vol. 560 (7720). – P. 644–648. DOI: 10.1038/s41586-018-0439-x.
42. A novel in vitro multiple stress dormancy model for *Mycobacterium tuberculosis* generates a lipid loaded, drug tolerant, dormant pathogen / C. Deb, C. M. Lee, V. S. Dubey [et al.] // *PLoS One.* – 2009. – Vol. 4 (6). – P. 6077.
43. Adaptation of *Mycobacterium tuberculosis* to Impaired Host Immunity in HIV-Infected Patients / N. D. Walter, B. C. de Jong, B. J. Garcia [et al.] // *J Infect Dis.* – 2016. – Vol. 214 (8). – P. 1205–1211. DOI: 10.1093/infdis/jiw364.
44. Advances in the understanding of *Mycobacterium tuberculosis* transmission in HIV-endemic settings / J. S. Peters, J. R. Andrews, M. Hatherill [et al.] // *Lancet Infect Dis.* – 2019. – Vol. 19 (3). – P. e65–e76. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30477-8.
45. Arabinogalactan and lipoarabinomannan biosynthesis: structure, biogenesis and their potential as drug targets / M. Jankute, S. Grover, A. H. Rana, G. S. Besra // *Future Microbiol.* – 2012. – Vol. 7, № 1. – P. 129–147.
46. Aubry, M. C. Necrotizing granulomatous inflammation: what does it mean if your special stains are negative? / M. C. Aubry // *Mod Pathol.* – 2012. – Vol. 25 (S.1). – P. 31–38.

47. Barry, C. E. 3rd Interpreting cell wall 'virulence factors' of *Mycobacterium tuberculosis* / C. E. Barry // *Trends Microbiol.* – 2001. – Vol. 9. – P. 237–241.
48. Bhamidi, S. *Mycobacterial Cell Wall Arabinogalactan* / S. Bhamidi // *Bacterial Polysaccharides: Current Innovations and Future Trends.* – Caister Academic Press, 2009.
49. Bhatt, K. Host innate immune response to *Mycobacterium tuberculosis* / K. Bhatt // *J. Clin. Immunol.* – 2007. – № 27. – P. 347–362.
50. Boisson-Dupuis, S. The monogenic basis of human tuberculosis / S. Boisson-Dupuis // *Hum Genet.* – 2020. – Vol. 139 (6-7). – P. 1001–1009. DOI: 10.1007/s00439-020-02126-6.
51. Brown, J. H., Brenn, L, 1931. A method for the differential staining of Gram positive and Gram negative bacteria in tissue sections / J. H. Brown, L. Brenn // *Bull. John Hopkins Hosp.* – 1931. – Vol. 48. – P. 69.
52. Buruli ulcer (*Mycobacterium ulcerans* infection) / World Health Organization // *Fact Sheet.* – July 2014. – №°199.
53. Carbon metabolism of intracellular bacterial pathogens and possible links to virulence / W. Eisenreich, T. Dandekar, J. Heesemann, W. Goebel // *Nat Rev Microbiol.* – 2010. – Vol. 8. – P. 401–412.
54. Cardona, P. On the nature of *Mycobacterium tuberculosis*-latent bacilli / P. Cardona, J. Ruiz-Manzano // *Eur Respir J.* – 2004. – Vol. 24. – P. 1044–1051.
55. Cardona, P. A dynamic reinfection hypothesis of latent tuberculosis infection / P. A. Cardona // *Infection.* – 2009. – Vol. 37, № 2. – P. 80–86.
56. Cavitory tuberculosis: the gateway of disease transmission / M. E. Urbanowski, A. A. Ordonez, C. A. Ruiz-Bedoya [et al.] // *Lancet Infect Dis.* – 2020. – Vol. 20 (6). – P. e117–e128. DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30148-1.
57. Cell wall deficient forms of mycobacteria: a review / V. Beran, M. Havelkova, J. Kaustova [et al.] // *Veterinarni Medicina.* – 2006. – № 7 (51). – P. 365–389.
58. Cellular Architecture of Spinal Granulomas and the Immunological Response in Tuberculosis Patients Coinfected with HIV / D. Bhattacharya, S. Danaviah,

D. M. Muema [et al.] // *Front Immunol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1120. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01120.

59. Champion, P. A. Disconnecting in vitro ESX-1 secretion from mycobacteria virulence / P. A. Champion // *J. Bacteriol.* – 2013. – Vol. 195, № 24. – P. 5418–5420.

60. Champion, P. A. Protein secretion systems in mycobacteria / P. A. Champion, J. S. Cox // *Cell. Microbiol.* – 2007. – Vol. 9, № 6. – P. 1376–1384.

61. Chandrasekhar, S. Studies on cell-wall deficient non-acid fast variants of *Mycobacterium tuberculosis* / S. Chandrasekhar, S. Ratnam // *Tubercle and Lung Diseases.* – 1992. – Vol. 73, № 5. – P. 273–279.

62. Characterization of Rv0394c gene encoding hyaluronidase and chondrosulfatase from *Mycobacterium tuberculosis* / X. Yuan, L. Chen, X. Deng [et al.] // *Tuberculosis.* – 2013. – Vol. 93, № 3. – P. 296–300.

63. Circulation of *M. tuberculosis* Beijing genotype in Latin America and the Caribbean / M. I. Cerezo-Cortés, J. G. Rodríguez-Castillo, R. Hernández-Pando, M. I. Murcia // *Pathog Glob Health.* – 2019. – Vol. 113 (8). – P. 336–351. DOI: 10.1080/20477724.2019.1710066.

64. Clinical and laboratory aspects of the diagnosis and management of cutaneous and subcutaneous infections caused by rapidly growing mycobacteria / R. J. Kothavade, R. S. Dhurat, S. N. Mishra, U. R. Kothavade // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* – 2013. – Vol. 32 (2). – P. 161–188.

65. Clinical characteristics of the smooth tubercle bacilli *Mycobacterium canettii* infection suggest the existence of an environmental reservoir / J.-L. Koeck, M. Fabre, F. Simon [et al.] // *Clinical Microbiology and Infection.* – 2011. – Vol. 17 (7). – P. 1013–1019.

66. Cole, S. T. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence / S. T. Cole, R. Brosch, B. G. Barrell // *Nature* volume. – 1998. – Vol. 393. – P. 537–544.

67. Collins, D. M. Virulence factors of *Mycobacterium bovis* / D. M. Collins // *Tuberculosis (Edinb).* – 2001. – Vol. 81. – P. 97–102.

68. Culling, C. F. A. 1985. Cellular Pathology Technique / C. F. A. Culling, R. T. Alison, W. T. Barr. – 4th ed. – London : Butterworths, 1985. – 642 p.
69. Current and Past Strategies for Bacterial Culture in Clinical Microbiology / J.-C. Lagier, S. Edouard, I. Pagnier [et al.] // Clinical Microbiology Reviews. – 2015. – Vol. 28 (1). – P. 208–236.
70. Davidson, P. T. The diagnosis and management of disease caused by *M. avium* complex, *M. kansasii*, and other mycobacteria / P. T. Davidson // Clin. chest. Med. – 1989. – Vol. 10, № 3. – C. 431–443.
71. Deletion of a Mycobacterium tuberculosis proteasomal ATPase homologue gene produces a slow-growing strain that persists in host tissues / G. Lamichhane, T. R. Raghunand, N. E. Morrison [et al.] // J. Infect. Dis. – 2006. – Vol. 194. – № 9. – P. 1233–1240.
72. Deletion of RD1 from Mycobacterium tuberculosis mimics bacilli Calmette-Guérin attenuation / K. N. Lewis, R. Liao, K. M. Guinn [et al.] // J. Infect. Dis. – 2003. – Vol. 187. – P. 117–123.
73. Deletion of the Mycobacterium tuberculosis  $\alpha$ -crystallin-like hspX Gene causes increased bacterial growth in vivo / Y. Hu, F. Movahedzadeh, N. G. Stoker, A. R. Coates // Infect. Immun. – 2006. – Vol. 74, № 2. – P. 861–868.
74. Dragomir, A. Superinfection with Mycobacterium tuberculosis in a patient with pulmonary alveolar proteinosis / A. Dragomir, M. Ciontu, M. Martius // Maedica J. Clin. Med. – 2008. – Vol. 3. – P. 59–63.
75. Drury, R. A. B. Carleton's histological technique / R. A. B. Drury, E. A. Wallington. – ed. 5 th. – Oxford ; New York : Oxford University Press, 1980. – 520 p.
76. Effect of common and experimental anti-tuberculosis treatments on Mycobacterium tuberculosis growing as biofilms / J. P. Dalton, B. Uy, N. Phummarin [et al.] // Peer J. – 2016. – Vol. 22. – P. 4.
77. ESAT-6 from Mycobacterium tuberculosis dissociates from its putative chaperone CFP-10 under acidic conditions and exhibits membrane-lysing activity /

M. I. De Jonge, G. Pehau-Arnaudet, M. Fretz [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2007. – Vol. 189. – № 16. – P. 6028–6034.

78. Evidence for pore formation in host cell membranes by ESX-1-secreted ESAT-6 and its role in *Mycobacterium marinum* escape from the vacuole / J. Smith, J. Manoranjan, M. Pan [et al.] // *Infect. Immun.* – 2008. – Vol. 76. – P. 5478–5487.

79. Exhibition of persistent and drug-tolerant L-form habit of *Mycobacterium tuberculosis* during infection in rats / N. Markova, L. Michailova, M. Jourdanova [et al.] // *Central European Journal of Biology.* – 2008. – Vol. 3, № 4. – P. 407–416.

80. FitzGerald, E. S. Competitive Cell Death Interactions in Pulmonary Infection: Host Modulation Versus Pathogen Manipulation / E. S. FitzGerald, N. F. Luz, A. M. Jamieson // *Front. Immunol.* – 2020. – Vol. 11/ – P. 814. – DOI: 10.3389/fimmu.2020.00814.

81. Flynn, J. Tuberculosis: latency and reactivation / J. Flynn, J. Chan // *Infection and Immunity.* – 2001. – Vol. 69, № 7. – P. 4195–4201.

82. Garg, A. Analysis of Antimicrobial Activity of Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells in Infection with *Mycobacterium tuberculosis* and Human Immunodeficiency Virus / A. Garg // *Methods Mol Biol.* – 2021. – Vol. 2236. – P. 115–127. DOI: 10.1007/978-1-0716-1060-2\_11.

83. Global Tuberculosis report 2021 : [сайт WHO]. – World Health Organization, 2021. – 57 p. – URL: <https://www.aidsdatahub.org/sites/default/files/resource/who-global-tb-report-2021.pdf> – Текст : электронный.

84. Grange, J. M. Guidelines for speciation within the *Mycobacterium tuberculosis* complex. Second edition / John M. Grange, D. Yates Malcolm, I. N. de Kantor. – 2nd ed. – World Health Organization, 1996. – 18 p.

85. Gray, P. *The Microtomist's Formulary and Guide* / P. Gray. – Medicine, 1954.

86. Gupta, S. *Mycobacterial extracellular vesicles and host pathogen interactions* / S. Gupta, G. M. Rodriguez // *Pathog Dis.* – 2018. – Vol. 76 (4). – P. fty031. DOI: 10.1093/femspd/fty031.

87. Histopathological findings in immunohistological staining of the granulomatous tissue reaction associated with tuberculosis / S. Karimi, M. Shamaei, M. Pourabdollah [et al.] // *Tuberculosis Res. Treat.* – 2014. – № 5. – P. 6.
88. Hotter, G. S. Mycobacterium bovis lipids: virulence and vaccines / G. S. Hotter, D. M. Collins // *Vet Microbiol.* – 2011. – Vol. 151. – P. 91–98.
89. Hwang, S. M. Simultaneous detection of Mycobacterium tuberculosis complex and nontuberculous mycobacteria in respiratory specimens / S. M. Hwang, M. S. Lim, Y. J. Hong // *Tuberculosis (Edinb).* – 2013. – Vol. 93, № 6. – P. 642–646.
90. Identification of Mycobacterium tuberculosis Peptides in Serum Extracellular Vesicles from Persons with Latent Tuberculosis Infection / C. Mehaffy, N. A. Kruh-Garcia, B. Graham [et al.] // *J Clin Microbiol.* – 2020. – Vol. 58 (6). – P. e00393-20. DOI: 10.1128/JCM.00393-20.
91. Ihms, E. A. Diverse Cavity Types and Evidence that Mechanical Action on the Necrotic Granuloma Drives Tuberculous Cavitation / E. A. Ihms, M. E. Urbanowski, W. R. Bishai // *Am J Pathol.* – 2018. – Vol. 188 (7). – P. 1666–1675. DOI: 10.1016/j.ajpath.2018.04.006.
92. In Situ PCR for Mycobacterium tuberculosis in Endoscopic Mucosal Biopsy Specimens of Intestinal Tuberculosis and Crohn Disease / A. Pulimood, P. Shajan, G. Rook, H. Donoghue // *Am J Clin Pathol.* – 2008. – № 129. – P. 846–851.
93. Incidence and aetiologies of pulmonary granulomatous inflammation: a decade of experience / A. Nazarullah, R. Nilson, D. J. Maselli, J. Jagirdar // *Respirology.* – 2015. – Vol. 20 (1). – P. 115–121.
94. Interaction between host genes and Mycobacterium tuberculosis lineage can affect tuberculosis severity: Evidence for coevolution? / M. L. McHenry, J. Bartlett, R. P. Jr Igo [et al.] // *PLoS Genet.* – 2020. – Vol. 16 (4). – P. e1008728. DOI: 10.1371/journal.pgen.1008728.
95. Jayachandran, R. Analyzing the interaction of pathogens with the host immune system / R. Jayachandran, N. Scherr, J. Pieters // *Immunol. Lett.* – 2009. – Vol. 122, № 2. – P. 112–114.

96. Lillie, R. D. *Histopathologic Technic and Practical Histochemistry* / R. D. Lillie // New York : Blakiston, 1954. – 501 p.
97. Location of intra- and extracellular *M. tuberculosis* populations in lungs of mice and guinea pigs during disease progression and after drug treatment / D. R. Hoff, G. J. Ryan, E. R. Driver [et al.] // *PLoS ONE*. – 2010. – Vol. 6. – P. e17550. DOI: 10.1371/journal.pone.0017550.
98. Loss of RD1 contributed to the attenuation of the live tuberculosis vaccines *Mycobacterium bovis* BCG and *Mycobacterium microti* / A. S. Pym, P. Brodin, R. Brosch [et al.] // *Mol. Microbiol.* – 2002. – Vol. 46. – P. 709–717.
99. MacGilvary, N. J. Fluorescent *Mycobacterium tuberculosis* reporters: illuminating host-pathogen interactions / N. J. MacGilvary, S. Tan // *Pathog Dis.* – 2018. – Vol. 76 (3). – P. fty017. DOI: 10.1093/femspd/fty017.
100. Management of active tuberculosis in adults with HIV / G. Meintjes, J. C. M. Brust, J. Nuttall, G. Maartens // *Lancet HIV*. – 2019. – Vol. 6 (7). – P. e463–e474. DOI: 10.1016/S2352-3018(19)30154-7.
101. Mechanism of phagolysosome biogenesis block by viable *Mycobacterium tuberculosis* / I. Vergne, J. Chua, H.-H. Lee [et al.] // *PNAS*. – 2005. – Vol. 102, № 11. – P. 4033–4038.
102. Mehrotra, J. Regulation of virulence genes in *Mycobacterium tuberculosis* / J. Mehrotra, W. R. Bishai // *Int J Med Microbiol.* – 2001. – Vol. 291. – P. 171–182.
103. Modified immunohistological staining allows detection of Ziehl-Neelsen negative *Mycobacterium tuberculosis* organisms and their precise localization in human tissue / T. Ulrichs, M. Lefmann, M. Reich [et al.] // *J. Pathol.* – 2005. – Vol. 205. – P. 633–640.
104. Moule, M. G. *Mycobacterium tuberculosis* Dissemination Plays a Critical Role in Pathogenesis / M. G. Moule, J. D. Cirillo // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2020. – Vol. 10. – P. 65. DOI: 10.3389/fcimb.2020.00065.
105. Mueller, P. Modulation of macrophage antimicrobial mechanisms by pathogenic mycobacteria / P. Mueller, J. Pieters // *Immunobiology.* – 2006. – Vol. 211, № 6-8. – P. 549–556.

106. Mukhopadhyay, S. Granulomatous lung disease: an approach to the differential diagnosis / S. Mukhopadhyay, A. A. Gal // Arch Pathol Lab Med. – 2010. – Vol. 134 (5). – P. 667–690.

107. Mycobacterial escape from macrophage phagosomes to the cytoplasm represents an alternate adaptation mechanism / S. V. Jamwal, P. Mehrotra, A. Singh [et al.] // Sci. Rep. – 2016. – Vol. 6. – P. 23089. DOI: 10.1038/srep23089.

108. Mycobacterium africanum: a new opportunistic pathogen in HIV infection? / B. De Jong, P. Hill, R. Brookes [et al.] // AIDS. – 2005. – Vol. 19 (15). – P. 1714–1715.

109. Mycobacterium marinum infections of the hand / L. C. Hurst, P. C. Amadio, M. A. Badalamente [et al.] // J Hand Surg Am. – 1987. – Vol. 12 (3). – P. 428–435.

110. Mycobacterium microti infection (vole tuberculosis) in wild rodent populations / R. Cavanagh, M. Begon, M. Bennett [et al.] // J Clin Microbiol. – 2002. – Vol. 40. – P. 3281–3285.

111. Mycobacterium terrae: Case Reports, Literature Review, and in vitro Antibiotic Susceptibility Testing / D. S. Smith, P. Lindholm-Levy, G. A. Huitt [et al.] // Clinical Infectious Diseases. Oxford University Press. – 2000. – Vol. 30 (3). – P. 444–453.

112. Mycobacterium tuberculosis cording in alveolar macrophages of patients with pulmonary tuberculosis is likely associated with increased mycobacterial virulence / E. G. Ufimtseva, N. I. Eremeeva, E. M. Petrunina [et al.] // Tuberculosis. – 2018. – Vol. 112. – P. 1–10.

113. Mycobacterium tuberculosis DosS is a redox sensor and DosT is a hypoxia sensor / A. Kumar, J. C. Toledo, R. P. Patel [et al.] // PNAS. – 2007. – Vol. 104. – № 28. – P. 11568–11573.

114. Mycobacterium tuberculosis Load in Host Cells and the Antibacterial Activity of Alveolar Macrophages Are Linked and Differentially Regulated in Various Lung Lesions of Patients with Pulmonary Tuberculosis / E. G. Ufimtseva, N. I. Eremeeva, T. V. Umpeleva [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22. – P. 3452. DOI: 10.3390/ijms22073452.

115. Mycobacterium tuberculosis reactivates latent HIV-1 in T cells in vitro / E. C. Larson, C. L. Novis, L. J. Martins [et al.] // PLoS One. – 2017. – Vol. 12 (9). – P. e0185162. DOI: 10.1371/journal.pone.0185162.

116. Mycobacterium tuberculosis secretory proteins CFP-10, ESAT-6 and the CFP10:ESAT6 complex inhibit lipopolysaccharide-induced NF-kappaB transactivation by downregulation of reactive oxidative species (ROS) production / N. Ganguly, P. H. Giang, C. Gupta [et al.] // Immunol. Cell Biol. – 2008. – Vol. 86, № 1. – P. 98–106.

117. Mycobacterium tuberculosis-specific CD4+ and CD8+ T cells differ in their capacity to recognize infected macrophages / J. D. Yang, D. Mott, R. Sutiwisesak [et al.] // PLoS Pathog. – 2018. – Vol. 14 (5). – P. e1007060. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007060.

118. Mycobacterium: Genomics and Molecular Biology / ed. T. Parish, A. Brown. – Norfolk, UK : Caister Academic Press, 2009. – 213 p.

119. Necrosis of lung epithelial cells during infection with Mycobacterium tuberculosis is preceded by cell permeation Infect / K. M. Dobos, E. A. Spotts, F. D. Quinn, C. H. King // Immun. – 2000. – Vol. 68. – P. 6300–6310.

120. Neutrophils: Innate Effectors of TB Resistance? / E. E. Kroon, A. K. Coussens, C. Kinnear [et al.] // Front Immunol. – 2018. – Vol. 9. – P. 2637. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02637.

121. Norris, B. A. Mononuclear cell dynamics in M. tuberculosis infection provide opportunities for therapeutic intervention / B. A. Norris, J. D. Ernst // PLoS Pathog. – 2018. – Vol. 14 (10). – P. e1007154. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007154.

122. Olive, A. J. Tolerating the Unwelcome Guest; How the Host Withstands Persistent Mycobacterium tuberculosis / A. J. Olive, C. M. Sasseti // Front Immunol. – 2018. – Vol. 9. – P. 2094. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02094.

123. Orme, I. M. A new unifying theory of the pathogenesis of tuberculosis / I. M. Orme // Tuberculosis. – 2014. – № 94. – P. 8–14.

124. Phenotypic profiling of M. tuberculosis EsPa point mutants reveals that blockade of ESAT-6 and CFP-10 secretion in vitro does not always correlate with

attenuation of virulence / J. M. Chen, M. Zhang, J. Rybniker [et al.] // *J. Bacteriol.* – 2013. – Vol. 195, № 24. – P. 5421–5430.

125. Procop, G. W. *Pathology of infectious diseases* / G. W. Procop, B. S. Pritt. – Elsevier, 2015. – 728 p.

126. Putt, F. A. *Manual of histopathological staining methods* / F. A. Putt. – New York, NY, USA, 1972. – 335 p.

127. Rajni, Rao N. Biosynthesis and virulent behavior of lipids produced by *Mycobacterium tuberculosis*: LAM and cord factor: an overview / Rao N. Rajni, L. S. Meena // *Biotechnol. Res. Int.* – 2011. – Vol. 2011. – P. 274693. DOI: 10.4061/2011/274693.

128. Runyon, E. H. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease / E. H. Runyon // *The Medical clinics of North America.* – 1959. – Vol. 43 (1). – P. 273–290.

129. *Sherris Medical Microbiology* / K. J. Ryan, C. G. Ray, N. Ahmad ; ed. K. J. Ryan, C. G. Ray. – 5th ed. – McGraw Hill, 2009. – 979 p.

130. Smith, I. *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence / I. Smith // *Clinic. Microbiol. Reviews.* – 2003. – Vol. 16, № 3. – P. 463–496.

131. The Influence of HIV on the Evolution of *Mycobacterium tuberculosis* / A. S. Koch, D. Brites, D. Stucki [et al.] // *Mol Biol Evol.* – 2017. – Vol. 34 (7). – P. 1654–1668. DOI: 10.1093/molbev/msx107.

132. The Phagocyte Oxidase Controls Tolerance to *Mycobacterium tuberculosis* Infection / A. J. Olive, C. M. Smith, M. C. Kiritsy, C. M. Sasseti // *J Immunol.* – 2018. – Vol. 201 (6). – P. 1705–1716. DOI: 10.4049/jimmunol.1800202.

133. The SecA2 secretion factor of *Mycobacterium tuberculosis* promotes growth in macrophages and inhibits the host immune response / S. Kurtz, K. P. McKinnon, M. S. Runge [et al.] // *Infect. Immun.* – 2006. – Vol. 74. – № 12. – P. 6855–6864.

134. The sigma factors of *Mycobacterium tuberculosis*: regulation of the regulators / P. Sachdeva, R. Misra, A. K. Tyagi, Y. Singh // *FEBS J.* – 2010. – Vol. 277. – P. 605–626.

135. The T-6/CFP-10 secretion system of *Mycobacterium marinum* modulates phagosome maturation / T. Tan, W. L. Lee, D. C. Alexander [et al.] // *Cell. Microbiol.* – 2006. – Vol. 8, № 9. – P. 1417–1429.

136. TNF Induces Pathogenic Programmed Macrophage Necrosis in Tuberculosis through a Mitochondrial-Lysosomal-Endoplasmic Reticulum Circuit / F. J. Roca, L. J. Whitworth, S. Redmond [et al.] // *Cell.* – 2019. – Vol. 178 (6). – P. 1344–1361. DOI: 10.1016/j.cell.2019.08.004.

137. Transmission of drug-resistant tuberculosis in HIV-endemic settings / P. Y. Khan, T. A. Yates, M. Osman [et al.] // *Lancet Infect Dis.* – 2019. – Vol. 19 (3). – P. e77–e88. DOI: 10.1016/S1473-3099(18)30537-1.

138. Transmission phenotype of *Mycobacterium tuberculosis* strains is mechanistically linked to induction of distinct pulmonary pathology / S. Verma, K. Bhatt, A. Lovey [et al.] // *PLoS Pathog.* – 2019. – Vol. 15 (3). – P. e1007613. DOI: 10.1371/journal.ppat.1007613.

139. Tuberculosis and lung damage: from epidemiology to pathophysiology / S. Ravimohan, H. Kornfeld, D. Weissman, G. P. Bisson // *Eur Respir Rev.* – 2018. – Vol. 27 (147). – P. 170077. DOI: 10.1183/16000617.0077-2017.

140. Tuberculosis Infectiousness and Host Susceptibility / R. D. Turner, C. Chiu, G. J. Churchyard [et al.] // *J Infect Dis.* – 2017. – Vol. 216 (suppl. 1-6). – P. S636–S643. DOI: 10.1093/infdis/jix361.

141. Type VII secretion – mycobacteria show the way / A. M. Abdallah, N. C. Gey van Pittius, P. A. Champion [et al.] // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2007. – Vol. 5, № 11. – P. 883–891.

142. Vinnard, C. Endocrine and Metabolic Aspects of Tuberculosis / C. Vinnard, E. A. Blumberg // *Microbiol Spectr.* – 2017. – Vol. 5 (1). – P. :10. DOI: 10.1128/microbiolspec.TNMI7-0035-2016.

143. Virulence factors of the *Mycobacterium tuberculosis* complex / M. A. Forrellad, L. I. Klepp, A. Gioffré [et al.] // *Virulence*. – 2013. – Vol. 1, № 4 (1). – P. 3–66.

144. Visualizing the dynamics of tuberculosis pathology using molecular imaging / A. A. Ordonez, E. W. Tucker, C. J. Anderson [et al.] // *J Clin Invest*. – 2021. – Vol. 131 (5). – P. e145107. DOI: 10.1172/JCI145107.

145. Welin, A. Inside or outside the phagosome? The controversy of the intracellular localization of *Mycobacterium tuberculosis* / A. Welin, M. Lerm // *Tuberculosis (Edinb)*. – 2012. – № 2. – P. 113–120.

## СПИСОК ИЛЛЮСТРАТИВНОГО МАТЕРИАЛА

1. Рисунок 1 – Пациенты с впервые выявленным туберкулезом.  
Возраст, годы. . . . . С. 45
2. Рисунок 2 – Пациенты с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции.  
Возраст, годы. . . . . С. 47
3. Рисунок 3 – Пациенты с фиброзно-кавернозным туберкулёзом.  
Возраст, годы. . . . . С. 48
4. Рисунок 4 – Пациенты с фиброзно-кавернозным туберкулёзом.  
Давность заболевания, годы. . . . . С. 48
5. Рисунок 5 – Пациенты с фиброзно-кавернозным туберкулёзом.  
Лекарственная устойчивость, случаи. . . . . С. 49
6. Рисунок 6 – Общее число обнаруженных микробактерий (впервые выявленный туберкулёз). . . . . С. 52
7. Рисунок 7 – Пациенты с впервые выявленным туберкулёзом.  
Окраска по Цилю – Нильсену, %. . . . . С. 53
8. Рисунок 8 – Пациенты с впервые выявленным туберкулёзом.  
Окраска аурамино-родамином, %. . . . . С. 53
9. Рисунок 9 – Пациенты с впервые выявленным туберкулёзом. ИГХ,  
%. . . . . С. 54
10. Рисунок 10 – Впервые выявленный туберкулёз. Картина  
гранулематозного воспаления в сочетании с фиброзом, антракозом,  
дистелектазами. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$ . . . . . С. 54
11. Рисунок 11 – Впервые выявленный туберкулёз. Картина  
гранулематозного воспаления в сочетании с фиброзом,  
паретическим полнокровием, кровоизлияниями. Окраска  
гематоксилином и эозином.  $\times 100$ . . . . . С. 55
12. Рисунок 12 – Впервые выявленный туберкулёз.  
Кислотоустойчивые палочки. Окраска карболовым фуксином по  
Цилю – Нильсену.  $\times 400$ . . . . . С. 56

13. Рисунок 13 – Впервые выявленный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену.  $\times 400$ . . . . . С. 57
14. Рисунок 14 – Впервые выявленный туберкулёз. Слабо полиморфные микобактерии. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия.  $\times 1\ 000$ . . . . . С. 58
15. Рисунок 15 – Впервые выявленный туберкулёз. Слабо полиморфные микобактерии. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия.  $\times 1\ 000$ . . . . . С. 59
16. Рисунок 16 – Впервые выявленный туберкулёз. Атипичные микобактерии. ИГХ.  $\times 1\ 000$ . . . . . С. 60
17. Рисунок 17 – Генерализованный туберкулёз в фазе прогрессирования. Милиарная диссеминация в лёгком. Макропрепарат. . . . . С. 64
18. Рисунок 18 – Генерализованный туберкулёз в фазе прогрессирования. Мелкоочаговый туберкулёз селезёнки. Макропрепарат. . . . . С. 65
19. Рисунок 19 – Генерализованный туберкулёз в фазе прогрессирования. Острая каверна в лёгком. Макропрепарат. . . . . С. 66
20. Рисунок 20 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Скудный клеточный компонент туберкулёзной гранулёмы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$ . . . . . С. 67
21. Рисунок 21 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Скудный клеточный компонент туберкулёзной гранулёмы. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 100$ . . . . . С. 68
22. Рисунок 22 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Минимально выраженная гранулематозная реакция по периферии казеозного некроза. Окраска гематоксилином и эозином.  $\times 200$ . . . . . С. 69
23. Рисунок 23 – Общее число обнаруженных микробактерий (сочетание с ВИЧ-инфекцией). . . . . С. 71

24. Рисунок 24 – Пациенты с ВИЧ-инфекцией. Окраска по Цилю – Нильсену, %. . . . . С. 71
25. Рисунок 25 – Пациенты с ВИЧ-инфекцией. Окраска аурамином-родамином, %. . . . . С. 72
26. Рисунок 26 – Пациенты с ВИЧ-инфекцией. ИГХ, %. . . . . С. 72
27. Рисунок 27 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Кислотоустойчивые палочки. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 400. . . . . С. 73
28. Рисунок 28 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Палочковидные микобактерии. Окраска аурамином-родамином. Флюоресцентная микроскопия. × 1 000. . . . . С. 74
29. Рисунок 29 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Палочковидные микобактерии. Окраска аурамином-родамином. Флюоресцентная микроскопия. × 1 000. . . . . С. 75
30. Рисунок 30 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Полиморфные микобактерии. Окраска аурамином-родамином. Флюоресцентная микроскопия. × 1 000. . . . . С. 76
31. Рисунок 31 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Атипичные микобактерии. ИГХ. × 1 000. . . . . С. 77
32. Рисунок 32 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Стенка каверны с выраженным фиброзом и многочисленными гигантскими многоядерными клетками Лангганса. Окраска гематоксилином и эозином. × 100. . . . . С. 81
33. Рисунок 33 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Картина выраженного гранулематозного воспаления с обширным казеозным некрозом и формированием гигантских многоядерных клеток Лангганса. Окраска гематоксилином и эозином. × 100. . . . . С. 82
34. Рисунок 34 – Общее число обнаруженных микробактерий (фиброзно-кавернозный туберкулёз). . . . . С. 85
35. Рисунок 35 – Пациенты с ФКТ. Окраска по Цилю – Нильсену, %. . . С. 85

36. Рисунок 36 – Пациенты с ФКТ. Окраска аурамино-родамином, %. С. 86
37. Рисунок 37 – Пациенты с ФКТ. ИГХ, %..... С. 86
38. Рисунок 38 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 1 000. .... С. 87
39. Рисунок 39 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки с очаговой тенденцией к формированию одиночных скоплений. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 1 000. .... С. 88
40. Рисунок 40 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки и атипичные формы. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 400. .... С. 89
41. Рисунок 41 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Кислотоустойчивые палочки. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. × 400. .... С. 90
42. Рисунок 42 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Одиночные микобактерии и их скопления. Преимущественно палочковидные, однако присутствуют булавовидные, кокковидные и гранулы. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия. × 400. .... С. 91
43. Рисунок 43 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Палочковидные и атипичные (кокковидные и гранулы) формы микобактерий. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия. × 1 000. .... С. 92
44. Рисунок 44 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Одиночные микобактерии и их скопления. Присутствуют булавовидные и кокковидные формы. Окраска аурамино-родамином. Флюоресцентная микроскопия. × 1 000. .... С. 93
45. Рисунок 45 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Палочковидные и атипичные (гранулы, булавовидные и кокковидные) формы

	микобактерий. Окраска аурамином-родамином. Флюоресцентная микроскопия. × 400. ....	C. 94
46.	Рисунок 46 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Скопления атипичных (преимущественно кокковидных) микобактерий. ИГХ. × 400. ....	C. 95
47.	Рисунок 47 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Скопления атипичных микобактерий. ИГХ. × 400. ....	C. 96
48.	Рисунок 48 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Скопления атипичных (булавовидных и кокковидных) микобактерий. ИГХ. × 1 000. ....	C. 97
49.	Рисунок 49 – Фиброзно-кавернозный туберкулёз. Атипичные морфологические формы микобактерий (гранулы и кокковидные). ИГХ. × 1 000. ....	C. 98
50.	Таблица 1 – Общее число обнаруженных микобактерий (впервые выявленный туберкулёз). ....	C. 61
51.	Таблица 2 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий (впервые выявленный туберкулёз). ....	C. 61
52.	Таблица 3 – Общее число обнаруженных микобактерий (сочетание туберкулёза и ВИЧ). ....	C. 79
53.	Таблица 4 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий (сочетание туберкулёза и ВИЧ). ....	C. 79
54.	Таблица 5 – Общее число обнаруженных микобактерий (фиброзно-кавернозный туберкулёз). ....	C. 99
55.	Таблица 6 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий (фиброзно-кавернозный туберкулёз). ....	C. 99

**ПРИЛОЖЕНИЕ А**

(обязательное)

**Дизайн исследования**

## 1. Определение задач исследования.

- Уточнение патоморфологической характеристики туберкулёзного процесса при сочетании с ВИЧ-инфекцией.

- Сравнительное изучение морфологии тканевых форм туберкулёзных микобактерий в лёгких у пациентов с фиброзно-кавернозным туберкулёзом и в сочетании с ВИЧ-инфекцией.

- Сравнительная оценка окраски *M. tuberculosis* в тканях карболовым фуксином по Цилю – Нильсену, аурамино-родамином (с использованием флюоресцентной микроскопии) и иммуногистохимического исследования в тканях.

## 2. Формирование групп.

- Пациенты с впервые выявленным посмертно туберкулёзом.

Критерии включения: туберкулёз в качестве первоначальной причины смерти, отсутствие пациента на учёте в противотуберкулёжном диспансере, отсутствие ранее проведённого специфического лечения.

Критерии исключения: наличие ВИЧ-инфекции, или иных иммуносупрессивных состояний, инфицирование *M. Avium* или *M. Bovis*.

- Пациенты с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции.

Критерии включения: верифицированный туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией в стадии 4В.

Критерии исключения: наличие иных иммуносупрессивных состояний, кроме ВИЧ, инфицирование *M. Avium* или *M. Bovis*.

- Пациенты с длительно протекавшим фиброзно-кавернозным туберкулёзом.

Критерии включения: фиброзно-кавернозный туберкулёз в качестве первоначальной причины смерти, проведение специфического лечения в стационаре.

Критерии исключения: наличие ВИЧ-инфекции, или иных иммуносупрессивных состояний, инфицирование *M. Avium* или *M. Bovis*.

### 3. Выбор методов исследования.

- Обзорная окраска гематоксилином-эозином с оценкой выраженности туберкулёзного процесса и особенностей морфологии гранулематозного воспаления.

- Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену.

- Окраска Аурамин-Родамином с исследованием на флюоресцентном микроскопе.

- Иммуногистохимическое исследование с использованием поликлональных антител PA1-7231.

Все три гистобактериоскопических метода окраски предполагали последующий подсчёт количества микобактерий на площади 1 кв. см при увеличении  $\times 400$  (диаметр поля зрения 0,50 мм) и количества полей зрения, в которых они визуализируются, соотношения между различными морфологическими формами возбудителя (палочковидными, кокковидными, булавовидными и ветвящимися), а так же их локализации (внутриклеточно, внеклеточно, либо в виде адгезированных на поверхности фагоцитов).

### 4. Оценка и статистическая обработка.

После доказательства нормального характера распределения и оценки соотношения различных морфологических форм микобактерий подсчитывалось среднее значение и вычислялось стандартное отклонение. Оценивалась статистическая значимость различий между методами исследования.

5. Трактовка результатов, формулировка выводов, составление практических рекомендаций.

**ПРИЛОЖЕНИЕ Б**

(обязательное)

**Эпикризы и таблицы**

1) Клинико-патологоанатомический эпикриз пациента с впервые выявленным посмертно туберкулёзом:

---

Неизвестный мужчина, госпитализирован в тяжёлом состоянии. При поступлении – АД 100/70, ЧСС 78, ЧД 14, в анализе крови Эр 4,1, Нв 99, Р-логически «...значительное количество жидкости в правой плевральной полости, метастатическое поражение легких...», по данным УЗИ-диффузное изменение печени, поджелудочной железы, патологически измененные лимфоузлы брюшной полости, жидкость в плевральной полости с включениями фибрина. Смерть – через 3 дня от момента госпитализации. На вскрытии – генерализованный туберкулёз с поражением лёгких, лимфоузлов средостения, почек, дистрофия миокарда, почек. Причиной смерти больного послужила интоксикация, обусловленная прогрессированием туберкулёза.

Патологоанатомический диагноз (протокол судебно-медицинского вскрытия № 88, 2016 г.):

Основное заболевание:

Генерализованный туберкулёз с поражением лёгких (множественные рассеянные по всем лёгочным полям ацинарные и милиарные очаги казеозного некроза, эмпиема плевры правого лёгкого), почек (множественные милиарные очаги казеозного некроза в коре почек). Туберкулёз лимфоузлов бифуркации трахеи. Дренирование правой плевральной полости 08.01.16.

Осложнения основного заболевания:

Истощение. Паренхиматозная дистрофия миокарда, почек. Отёк лёгких.

Сопутствующие заболевания:

Атеросклероз аорты, почечных, подвздошных, бедренных артерий, артерий сердца – III стадии, 3 степени выраженности, лёгкая степень сужения артерий сердца. Диффузный кардиосклероз.

---

2) Клинико-патологоанатомический эпикриз пациента с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции:

---

Б.В.А., 39 лет, неработающий, поступил переводом из Николаевской больницы в Больницу Боткина с диагнозом «В-23 ассоциированная внебольничная пневмония в средней и нижней доле правого лёгкого, тяж. течение, ДН 2 ст». При поступлении состояние тяжёлое, жалобы на кашель, слабость, одышку (ЧД 23-25, дыхание ослаблено, проводные хрипы), кахектичен. Со слов болен 3 недели. Анамнез достоверно неизвестен, в Николаевской больнице находился с 15.05.18 по 30.05.18, там же была выявлена ВИЧ-инфекция. Известно, что пациент находился в МЛС, употреблял наркотики (со слов около 15 лет). Был осмотрен фтизиатром, заподозрен инфильтративный туберкулёз в фазе распада и обсеменения. В связи с тяжестью состояния был помещён в ОРИТ, интубирован. Несмотря на все лечебные мероприятия 03.06.18 констатирована биологическая смерть пациента. При патологоанатомическом исследовании выявлена морфологическая картина ВИЧ-ассоциированного прогрессирующего генерализованного туберкулёза с поражением лимфатических узлов, лёгких, почек, селезёнки, развитием правостороннего туберкулёзного плеврита. Непосредственной причиной смерти явилось прогрессирование ВИЧ-ассоциированного генерализованного туберкулёза.

Патологоанатомический диагноз (протокол патологоанатомического вскрытия № 318, 2018 г.):

Основное заболевание:

ВИЧ-инфекция (ИФА, ИБ+ от 22.05.18), 4В стадия, прогрессирование вне АРВТ (CD4 3,21 %, 0,89 кл/мл, ИРИ 0,06 от 31.05.18). Кахексия: толщина жировой клетчатки на разрезе на уровне пупка 0,8 см.

Вторичные заболевания: 1) Генерализованный туберкулёз в фазе прогрессирования: туберкулёз надключичных, внутригрудных лимфатических узлов, инфильтративный туберкулёз нижней доли правого лёгкого с распадом и милиарной диссеминацией во всех долях обоих лёгких, правосторонний туберкулёзный плеврит (400 мл), множественные спайки в правой плевральной полости, мелкоочаговый туберкулёз почек, селезёнки. 2) Орофарингеальный кандидоз.

Осложнения основного заболевания:

Панцитопения: эритроциты 2,6, тромбоциты 29,0, лейкоциты 2,5. Анемия тяжёлой степени: гемоглобин 73. Левосторонний гидроторакс (200 мл). Выраженная паренхиматозная дистрофия внутренних органов. Отёк лёгких. Отёк головного мозга. Катетеризация подключичной вены справа от 31.05.18.

Сопутствующие заболевания:

Хронический вирусный гепатит В+С. Хронический панкреатит.

---

3) Клинико-патологоанатомический эпикриз пациента с фиброзно-кавернозным туберкулёзом:

---

Ш.М.Д., 56 лет, переведен из ГПТД для продолжения специфической терапии, в анамнезе – в местах лишения свободы 3 раза (1980–1982 гг.), последний раз 2001–2002 гг., туберкулёз легких выявлен в 1990 г в местах лишения свободы, перед освобождением взят на учёт в областной туберкулёзный диспансер, но от лечения отказывался, клинически – прогрессирование процесса. Неоднократно – стационарное лечение в туберкулёзных больницах, выписывался за нарушение режима (алкоголизация), вёл асоциальный образ жизни (БОМЖ). Последняя госпитализация – ГПТД (с 19.06.2013 по 19.03.2014), переведён в туб

больницу № 8 для продолжения лечения. Диагноз направления – фиброзно-кавернозный туберкулёз лёгких в фазе инфильтрации и обсеменения, МБТ(+), МЛУ. С 14.10.2013 – устойчивость МБТ к S,H,R,K. При поступлении – состояние средней степени тяжести, ЧСС – 85, АД – 120/90, ЧД – 28, Рентгенологически – гигантские каверны верхних долей лёгких, пневмосклероз, группы очагов различной величины и очерченности на всём протяжении. По клинко-рентгенологическим данным диагноз направления подтверждён. Смерть больного через 305 дней на фоне клинической картины нарастающей лёгочно-сердечной недостаточности. На вскрытии диагностировано, что причиной смерти больного, страдавшего фиброзно-кавернозным туберкулёзом с массивным поражением лёгочной ткани, послужила интоксикация, обусловленная прогрессированием туберкулёзного процесса в сочетании с лёгочно-сердечной недостаточностью.

Патологоанатомический диагноз (протокол патологоанатомического вскрытия № 3, 2015 г.):

Основное заболевание:

Фиброзно-кавернозный туберкулёз лёгких в фазе прогрессирования: гигантские каверны верхних долей лёгких, система хронических средних каверн в базальных отделах правого лёгкого, множественные рассеянные ацинарные и сливающиеся лобулярные очаги инфильтрации, казеозного некроза по всем лёгочным полям. Гиперплазия бифуркационных лимфоузлов. Диффузный, периваскулярный и перибронхиальный пневмосклероз с деформацией ткани лёгких. Множественные межплевральные спайки. Буллёзная эмфизема правого лёгкого. МБТ(+) по данным прижизненной микроскопии. Множественная лекарственная устойчивость (S,H,R,K,Pa,Cm) по клиническим данным.

Осложнения основного заболевания:

Лёгочно-сердечная недостаточность: гипертрофия миокарда правого желудочка сердца (0,6 см) с дилатацией его полости, застойное полнокровие почек, селезенки, кишечника. Кахексия. Паренхиматозная дистрофия миокарда.

Сопутствующие заболевания:

Жировая дистрофия печени. Склероз, атрофия поджелудочной железы. Хронический атрофический гастрит.

---

4) Клинико-патологоанатомический эпикриз пациента с фиброзно-кавернозным туберкулёзом:

---

К.С.А., 37 лет, госпитализирован по направлению ПТД-11 с диагнозом: Диссеминированный туберкулёз лёгких в фазе распада и инфильтрации, МБТ(+). В анамнезе туберкулёзный контакт не установлен, ранее туберкулёзом не болел, ФЛГ не проводилось в течение 4 лет, ухудшение состояния в течение 6 месяцев – снижение массы тела на 20 кг, кашель с мокротой, одышка. В июне 2015 г. – обратился за медицинской помощью, направлен в ПТД, при обследовании диагностирован диссеминированный туберкулёз лёгких в фазе инфильтрации и распада. При поступлении - состояние тяжёлое, истощён, АД – 90/70, ЧСС – 120, ЧД – 22, Рентгенологически - картина, соответствующая фиброзно-кавернозному туберкулёзу лёгких в фазе инфильтрации и обсеменения, двусторонний плеврит. Смерть через 10 дней от момента госпитализации при явлениях нарастающей дыхательной недостаточности. На вскрытии диагностировано, что причиной смерти больного, страдавшего двусторонним фиброзно-кавернозным туберкулёзом с массивным поражением лёгочной ткани, послужила интоксикация, обусловленная прогрессированием туберкулёзного процесса.

Патологоанатомический диагноз (протокол патологоанатомического вскрытия № 23, 2015 г.):

Основное заболевание:

Двусторонний фиброзно-кавернозный туберкулёз лёгких в фазе прогрессирования: гигантские хронические каверны верхних долей легких, средние хронические каверны базальных отделов верхних долей легких, множественные ацинарные и лобулярные очаги казеозного некроза по всем лёгочным полям, рассеянные милиарные очаги казеозного некроза в нижней доле

левого лёгкого, сливающиеся перикавитарные очаги инфильтрации лёгочной ткани. Гиперплазия паратрахеальных, бифуркационных и бронхопульмональных лимфоузлов. МБТ(+) по данным прижизненной микроскопии мокроты.

Осложнения основного заболевания:

Двусторонний фибринозный плеврит. Кахексия. Паренхиматозная дистрофия миокарда, почек.

Сопутствующие заболевания:

Жировая дистрофия печени.

Таблица 1 – Характеристика исследованных умерших с сочетанием туберкулёза и ВИЧ-инфекции

пол	Возраст, годы	Наркозависимость	CD4+, кл/мл	АРВТ	Поражённые органы, кроме лёгких
М	39	+	89	–	L, P, S, N
М	39	+	40	+	L, P, N, H, Epi, Spon
Ж	39	+	34	–	L, S, Typh
М	41	+	27	–	L, S, N
Ж	41	+	65	+	L, P, S, H
Ж	35	+	32	+	L, P, M-E
М	36	+	17	+	L, S, N, H
М	36	+	28	–	L, P, S, N, H, Enter

Примечания:

L – внутригрудные лимфатические узлы;  
P – Плевра;  
S – Селезёнка;  
N – Почки;  
H – Печень;  
M-E – Вещество и оболочки головного мозга;  
Epi – Надпочечники;  
Spon – Позвоночник и крестцово-подвздошное сочленение;  
Typh – Слепая кишка (с внутрибрюшными лимфоузлами);  
Enter – Тонкая кишка (с внутрибрюшными лимфоузлами).

Таблица 2 – Характеристика исследованных умерших с фиброзно-кавернозным туберкулёзом

Пол	Возраст, годы	Давность заболевания, годы	МЛУ	ШЛУ
М	56	25	+	–
М	37	8	–	+
М	31	6	–	+
М	66	14	–	+
М	34	15	–	+
М	41	19	–	–
М	37	4	–	–
М	56	2	–	+
Ж	63	10	–	–
М	52	2	–	+
М	84	2	–	–
М	46	25	–	+
М	65	24	–	+
М	56	2	–	+
М	40	6	+	–
М	53	5	+	–
М	61	2	–	+
М	36	3	–	+
М	37	3	–	+
Ж	38	7	+	–
М	43	2	–	–
М	63	3	–	+
М	35	6	–	+
М	64	33	+	–

Таблица 3 – Общее число обнаруженных микобактерий (впервые выявленный туберкулёз)

№	Циль – Нильсен	Аурамин – Родамин	ИГХ
1	700	2 500	7 000
2	600	3 000	6 000
3	500	3 500	9 000
4	800	4 000	6 000
5	600	2 500	7 000
6	500	3 000	6 000
7	700	4 500	8 000
8	400	3 500	7 000
9	800	2 000	6 000
10	600	4 000	7 000
11	500	3 000	6 000
12	600	3 500	8 000
Ср	608,33	3 208,33	6 916,67
+/-	78,79	478,13	632,96
КС	2,201	2,201	2,201

Таблица 4 – Общее число обнаруженных микобактерий (сочетание туберкулёза и ВИЧ)

№	Циль – Нильсен	Аурамин – Родамин	ИГХ
1	300	1 600	2 500
2	500	1 100	2 300
3	600	1 800	2 700
4	300	1 500	2 400
5	800	1 200	2 600
6	400	1 500	2 600
7	500	1 600	2 500
8	400	1 400	2 300
Ср	475	1 462,5	2 487,5
+/-	139,54	189,26	121,87
КС	2,365	2,365	2,365

Таблица 5 – Общее число обнаруженных микобактерий (фиброзно-кавернозный туберкулёз)

№	Циль – Нильсен	Аурамин – Родамин	ИГХ
1	600	3 000	10 000
2	800	9 000	15 000
3	400	4 000	12 000
4	600	5 000	13 000
5	500	3 000	11 000
6	700	6 000	14 000
7	600	7 000	15 000
8	500	4 000	16 000
9	300	5 000	10 000
10	600	4 000	13 000
11	800	8 000	15 000
12	400	6 000	12 000
13	600	5 000	10 000
14	500	8 000	12 000
15	400	4 000	14 000
16	300	6 000	13 000
17	800	6 000	12 000
18	500	4 000	15 000
19	400	7 000	14 000
20	600	3 000	11 000
21	700	6 000	10 000
22	600	9 000	16 000
23	500	8 000	15 000
24	700	4 000	12 000
Ср	558,33	5 583,33	12 916,67
+/-	62,16	796,5	834,52
КС	2,069	2,069	2,069

Таблица 6 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий

№	Циль – Нильсен					Аурамин – Родамин					ИГХ				
	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В
1	98	2	0	0	0	94	5	1	0	0	88	8	2	1	1
2	96	3	1	0	0	91	6	2	1	0	83	10	3	2	2
3	95	4	1	0	0	92	5	2	1	0	82	10	4	2	2
4	99	1	0	0	0	95	4	1	0	0	87	7	2	2	2
5	95	4	1	0	0	91	6	2	1	0	84	9	4	2	1
6	97	3	0	0	0	93	5	2	0	0	85	8	3	2	2
7	95	3	2	0	0	90	7	2	1	0	77	14	4	3	2
8	98	2	0	0	0	95	4	1	0	0	86	10	2	1	1
9	95	4	1	0	0	92	5	2	1	0	84	9	3	2	2
10	97	3	0	0	0	94	5	1	0	0	88	8	2	1	1
11	96	4	0	0	0	91	6	2	1	0	83	10	3	2	2
12	96	3	1	0	0	93	5	1	1	0	88	7	2	2	1
Ср	96,42	3	0,58	0	0	92,58	5,25	1,58	0,58	0	84,58	9,17	2,83	1,83	1,58
+/-	0,88	0,61	0,42	0	0	1,07	0,55	0,33	0,33	0	2,04	1,21	0,53	0,37	0,33

Примечание:

П – палочковидные;

К – кокковидные;

Г – гранулы;

Б – булавовидные;

В – ветвящиеся.

Таблица 7 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий (сочетание туберкулёза и ВИЧ)

№	Циль – Нильсен					Аурамин – Родамин					ИГХ				
	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В
1	95	4	1	0	0	89	7	3	1	0	79	12	5	3	1
2	90	8	1	1	0	83	12	2	2	1	76	16	3	3	2
3	95	4	1	0	0	89	6	3	1	1	83	10	4	2	1
4	90	7	2	1	0	83	10	4	2	1	75	15	5	3	2
5	90	9	1	0	0	84	12	2	2	0	76	16	4	3	1
6	95	4	1	0	0	89	6	3	1	1	83	10	3	2	2
7	95	5	0	0	0	89	7	2	2	0	81	11	4	3	1
8	95	2	2	1	0	88	5	4	2	1	79	12	5	3	1
Ср	93,13	5,38	1,13	0,38	0	86,75	8,13	2,88	1,63	0,63	79	12,75	4,13	2,75	1,38
+/-	2,16	2,00	0,54	0,43	0	2,40	2,34	0,70	0,43	0,43	2,64	2,13	0,70	0,39	0,43

Примечание:

П – палочковидные;

К – кокковидные;

Г – гранулы;

Б – булавовидные;

В – ветвящиеся.

Таблица 8 – Количественное соотношение различных морфологических форм микобактерий (фиброзно-кавернозный туберкулёз)

№	Циль – Нильсен					Аурамин – Родамин					ИГХ				
	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В
1	95	5	0	0	0	85	10	3	2	0	70	20	5	3	2
2	90	10	0	0	0	70	20	5	4	1	65	24	6	3	2
3	85	12	3	0	0	65	20	10	5	0	50	30	11	6	3
4	90	10	0	0	0	70	20	8	1	1	60	25	10	4	1
5	85	14	1	0	0	80	15	4	1	0	70	19	8	3	0
6	95	5	0	0	0	60	30	7	2	1	60	28	6	4	2
7	90	10	0	0	0	65	30	3	2	0	55	33	9	2	1
8	80	13	5	2	0	50	40	6	3	1	50	36	8	3	3
9	85	11	3	1	0	75	20	4	1	0	60	31	6	2	1
10	90	9	1	0	0	60	30	7	3	0	50	35	10	4	1
11	85	11	3	1	0	65	30	2	2	1	60	22	12	3	3
12	90	8	2	0	0	60	30	9	1	0	60	27	7	6	0
13	95	5	0	0	0	70	20	10	0	0	55	29	11	5	0
14	90	9	1	0	0	70	25	3	1	1	65	26	6	2	1
15	80	12	4	3	1	60	25	10	4	1	55	30	9	4	2
16	90	7	2	1	0	50	45	5	0	0	50	35	12	3	0
17	95	5	0	0	0	65	30	4	1	0	60	21	13	4	2
18	85	10	4	1	0	50	40	8	2	0	50	39	9	2	0
19	90	10	0	0	0	70	20	7	3	0	60	30	7	3	0

Продолжение таблицы 8

№	Циль – Нильсен					Аурамин – Родамин					ИГХ				
	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В	П	К	Г	Б	В
20	80	10	5	4	1	50	35	10	4	1	50	32	11	4	3
21	95	5	0	0	0	80	15	3	2	0	65	22	7	5	1
22	85	13	2	0	0	60	35	5	0	0	50	31	13	6	0
23	80	11	5	3	1	50	40	6	3	1	50	29	12	7	2
24	90	9	1	0	0	65	30	5	0	0	55	35	9	1	0
Ср	88,13	9,33	1,75	0,67	0,13	64,38	27,29	6	1,96	0,38	57,29	28,71	9,04	3,71	1,25
+/-	2,14	1,17	0,77	0,49	0,14	4,24	3,84	1,09	0,6	0,21	2,78	2,31	1,04	0,64	0,47

Примечание:

П – палочковидные;

К – кокковидные;

Г – гранулы;

Б – булавовидные;

В – ветвящиеся.

