

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

Автореферат диссертации на соискание учёной степени
кандидата медицинских наук

Новосибирск – 2022

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный университет»

Научный руководитель:

доктор медицинских наук, профессор

Цинзерлинг Всеволод Александрович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук

Петренко Татьяна Игоревна

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры фтизиопульмонологии)

доктор медицинских наук, доцент

Пурлик Игорь Леонидович

(Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, профессор кафедры патологической анатомии)

Ведущая организация: Государственное бюджетное учреждение здравоохранения города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом департамента здравоохранения города Москвы»

Защита диссертации состоится «_____» _____ 2022 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 21.2.046.05, созданного на базе федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Новосибирского государственного медицинского университета (630091, г. Новосибирск, ул. Залесского, д. 4; тел. 8 (383) 222-68-35; <http://ngmu.ru/dissertation/516>)

Автореферат разослан «_____» _____ 2022 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

С. В. Залавина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность избранной темы. 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. 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.

Важнейшим принципом морфологического изучения любых инфекционных заболеваний является обнаружение возбудителя в тканях с использованием гистологических методов исследования (Цинзерлинг В. А., Лобзин Ю. В., Карев В. Е., 2012). 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 (Mukhopadhyay S., Gal A. A., 2010).

При поверхностном изучении вопроса может показаться, что морфологическая диагностика туберкулёза в современных условиях всесторонне описана и не вызывает затруднений. На практике выясняется, что даже в крупных современных международных изданиях, претендующих на фундаментальный статус (Proctor G. W., Pritt B. S., 2015), 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 аурамино-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 аурамин-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 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.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Туберкулёзное поражение лёгких при сочетании с ВИЧ-инфекцией характеризуется преобладанием альтеративного компонента над гранулематозным, а также значительным разнообразием клинко-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 в ходе участия в научных форумах: на 5-м конгрессе Евро-Азиатского общества по инфекционным болезням (Новосибирск, 2018), на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы противотуберкулёзной помощи в РФ: консолидация усилий по борьбе с туберкулёзом» (Москва, 2018), on the 31st European Congress of Pathology (Nice, 2019), на 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 Санкт-Петербургского государственного университета.

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 журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные 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 диссертации. 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.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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 %-ом 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.І. 42 510) производства Panreac, Испания), аурамином-родамином (приготовленным по классической прописи Купера с использованием Аурамина О (С.І. 41 000) и Родамина В (С.І. 45 170) производства Merck, Германия) с последующим исследованием с помощью флюоресцентного микроскопа Nikon Eclipse 50i. Также производилось иммуногистохимическое исследование с использованием поликлональных антител РА1-7231 к антигену РАВ (Protein antigen В), 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 (Ариэль Б. М., Ковальский Г. Б., Блюм Н. М., Беллендир Э. Н., 2009) (5 степеней воспаления: от 1-й, минимальной (затихший туберкулёз), до 5-й, максимальной (остро прогрессирующий туберкулёз), 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 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.

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 $(61,25 \pm 11,62)$ года. 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 исследования 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.

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. Средний возраст составил $(38,25 \pm 1,9)$ года. 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 года до 3 лет, данных о полноценной противотуберкулёзной терапии и её результатах анамнестически не получено), и 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.

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.

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 ($49,67 \pm 5,77$) года. Во всех наблюдениях имело место длительное течение заболевания и продолжительное лечение в профильных стационарах. 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).

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.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты исследования пациентов с впервые выявленным 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.

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 эпителиоидклеточной трансформацией и тенденцией к слиянию с формированием единичных гигантских многоядерных клеток Ланганса типичного строения с примесью единичных нейтрофильных гранулоцитов.

При окраске карболовым фуксином по Цилю – Нильсену 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, также встречались кокковидные формы, в среднем $(3 \pm 0,61) \%$ (1–4 %), на прочие морфологические формы, вместе взятые, приходилось менее 1 % наблюдаемых микобактерий.

При окраске аурамино-родамино и последующем исследовании во флюоресцентном микроскопе 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 также 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.

При ИГХ-исследовании 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 %).

В результате общее число выявленных микобактерий при окраске аурамино-родамино 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 аурамино-родамино.

Доля типичных палочек, выявленных посредством классической окраски по Цилю – Нильсену, значимо ($t_{\text{набл}} = 6,2$; $t_{\text{Кр}}(0,05) = 2,07$), но незначительно, больше таковой, выявленной при окраске аурамино-родамино, 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.

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 от 31 года до 40 лет, 27 (31,4%) пациентов – от 41 года до 50 лет, 6 (7,0%) – от 21 года до 30 лет, 1 (1,2%) – от 51 года до 60 лет. Среди пациентов преобладали мужчины (61 мужчина или 71%; 25 женщин или 29%). 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 туберкулёза 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).

При окраске гематоксилином и эозином во всех наблюдениях выявлена крайне разнообразная и неоднородная картина, значительно отличающаяся от «классического» гранулематозного воспаления при туберкулёзе (Рисунок 1). 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.

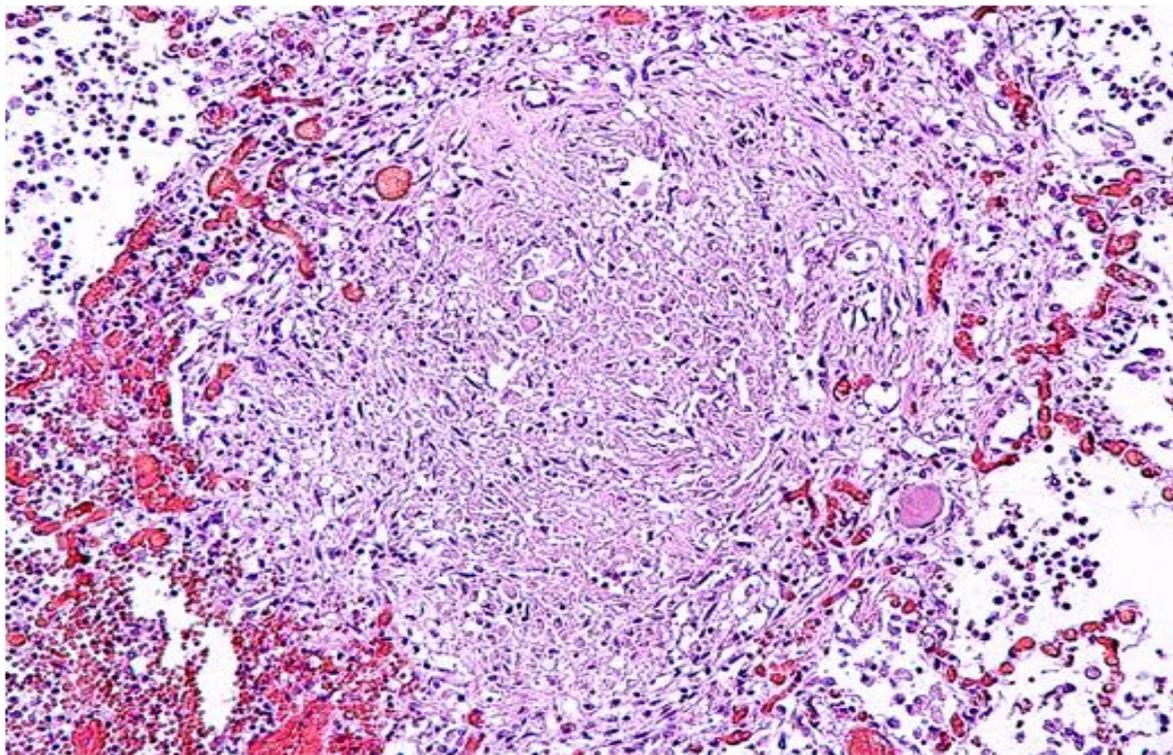


Рисунок 1 – Туберкулёз в сочетании с ВИЧ-инфекцией. Скучный клеточный компонент туберкулёзной гранулёмы. Окраска гематоксилином и эозином. $\times 100$

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.

При окраске карболовым фуксином по Цилю – Нильсену 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, также встречались кокковидные формы ($5,39 \pm 2$ %) (2–9 %), на прочие морфологические формы, вместе взятые, приходилось менее 3 % наблюдаемых микобактерий.

При окраске аурамино-родамином и последующем исследовании во флюоресцентном микроскопе 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.

При ИГХ-исследовании 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 %).

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 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 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 аурамино-родамином и иммуногистохимическом исследовании. Так же, 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 аурамино-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-родамином.

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-родамином, 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.

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.

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, плазмочитами и, в большей степени, макрофагами с эпителиоидоклеточной трансформацией и тенденцией к слиянию с формированием единичных гигантских многоядерных клеток Ланганса типичного строения (с ориентацией ядер по периферии) с примесью единичных нейтрофильных гранулоцитов. 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 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, также встречались кокковидные

формы ($9,33 \pm 1,17$) % (5–13 %), на прочие морфологические формы, вместе взятые, приходилось менее 3 % наблюдаемых микобактерий (Рисунок 2).

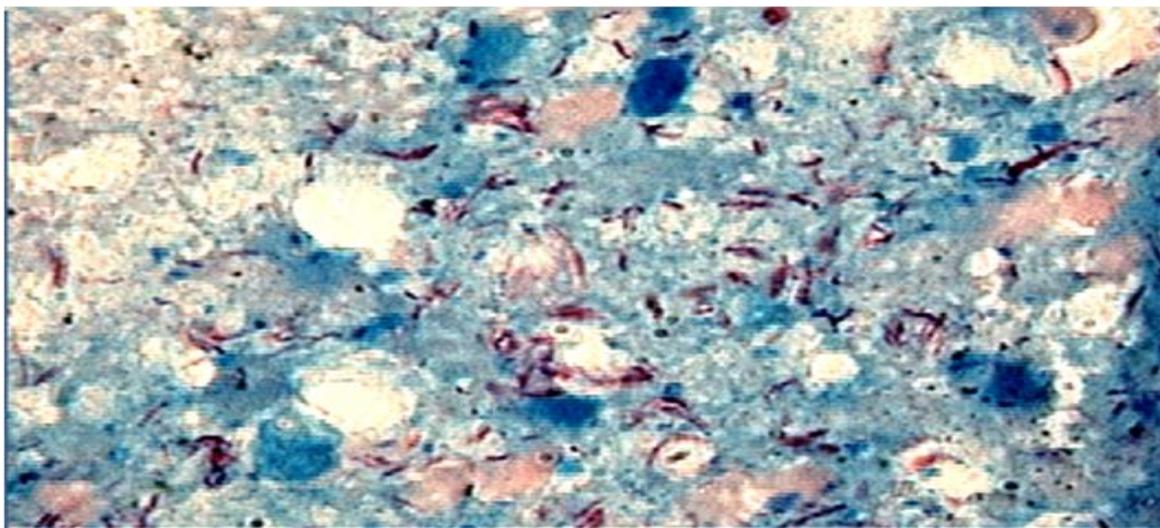


Рисунок 2 – Кислотоустойчивые палочки. Окраска карболовым фуксином по Цилю – Нильсену. $\times 1000$

При окраске аурамин-родамином и последующем исследовании во флюоресцентном микроскопе 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 3).

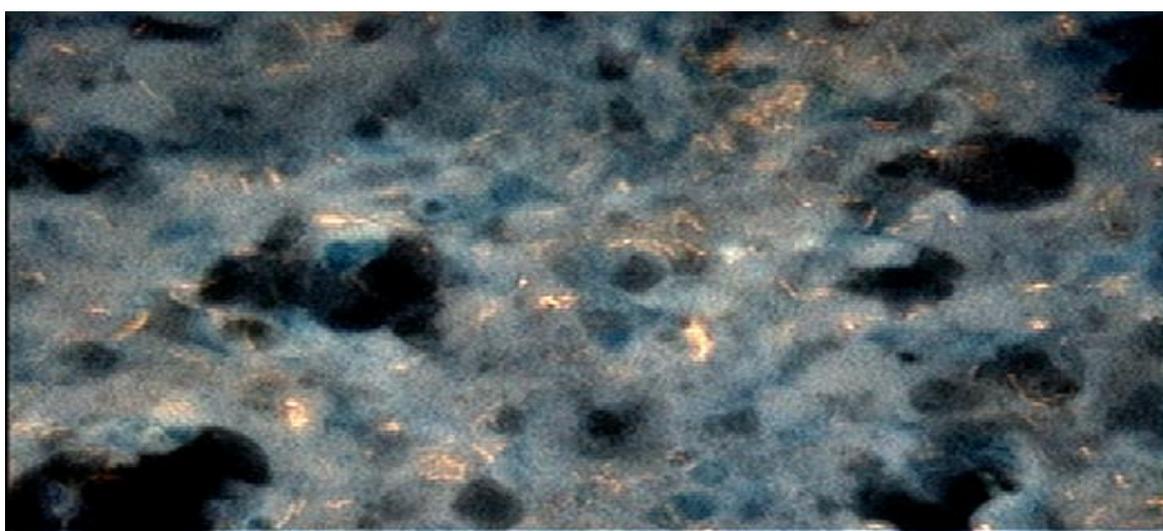


Рисунок 3 – Палочковидные и атипичные формы микобактерий. Окраска аурамин-родамином. Флюоресцентная микроскопия. $\times 1000$

При ИГХ-исследовании 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 4).

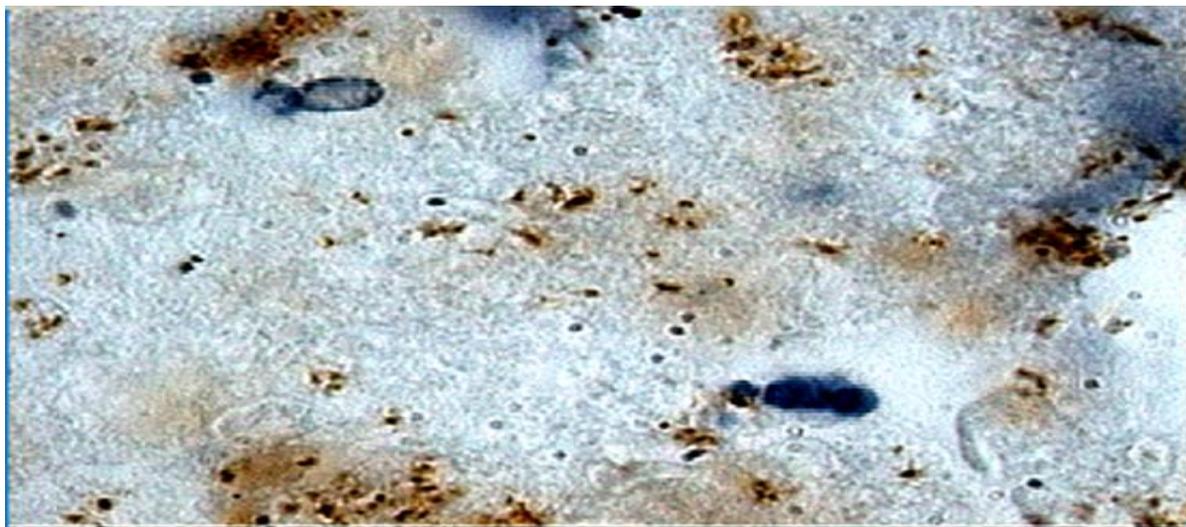


Рисунок 4 – Атипичные морфологические формы микобактерий. ИГХ. $\times 1000$

В результате общее число выявленных микобактерий при окраске аурамино-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 аурамино-родамином.

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 аурамино-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.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У всех исследованных групп пациентов при использовании окраски аурамино-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.

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. 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.

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 альтернативного 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Цинзерлинг, В. А. Современные подходы к морфологической диагностике туберкулёза / В. А. Цинзерлинг, **М. М. Агапов** // **Туберкулёз и болезни лёгких**. – 2017. – № 2. – С. 7–12.

2. Цинзерлинг, В. А. Информативность различных методов идентификации кислотоустойчивых микобактерий в зависимости от степени активности туберкулёзного процесса / В. А. Цинзерлинг, **М. М. Агапов**, А. Н. Орлов // **Архив патологии**. – 2018. – № 3. – С. 40–45.

3. Патологическая анатомия туберкулёза на фоне инфекции, вызванной вирусом иммунодефицита человека / **М. М. Агапов**, В. А. Цинзерлинг, Н. Ю. Семенова [и др.] // **Архив патологии**. – 2020. – № 2. – С. 12–19.

4. **Агапов. М. М.** Дискуссионные вопросы патогенеза туберкулёза / **М. М. Агапов**, В. А. Цинзерлинг // **Клиническая патофизиология**. – 2018. – № 1. – С. 94–99.

5. Zinserling, V. Histobacterioscopy studies in tuberculosis / V. Zinserling, **М. Агапов**, N. Semenova // *Virchows Arch.* – 2019. – V. 475, S. 1. – P. 121–122.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

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