

И.В. Лискина
Л.М. Загаба
С.Д. Кузовкова
О.А. Мельник

ГУ «Национальный институт
фтизиатрии и пульмонологии
им. Ф.Г. Яновского НАМН
Украины»,
Киев, Украина

Надійшла: 04.09.2020

Прийнята: 18.10.2020

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.36-44>

УДК: 616.24-002.5:576.858:612.017.1:616-076.5

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ МЕТОДЫ В МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗА ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ ПАЦИЕН- ТОВ

Liskina I.V.  ✉, Zagaba L.M. , Kuzovkova S.D., Melnik O.A. Fluorescent methods in morphological diagnostics of respiratory tuberculosis in HIV-infected patients.

SO «National institute of phthisiology and pulmonology named after F. G. Yanovsky NAMS of Ukraine», Kyiv, Ukraine.

ABSTRACT. Background. Among the spectrum of respiratory diseases in HIV-infected patients, the leading place is taken by tuberculosis (TB). First of all, difficulties in the morphological diagnostics of TB are associated with the smooth over of its typical histological signs under condition of severe immunodeficiency. To objectify the histological conclusion about the presence of tuberculosis lesion in a morphology a number of specific histochemical and fluorescent methods have been developed, which are based on the direct or indirect detection of M. tuberculosis (MBT) in the affected tissues. **Objective** – to determine the advisability and effectiveness of using of fluorescent methods in the morphological diagnostics of respiratory tuberculosis in HIV-infected patients. **Methods.** The morphological study included 37 cases. Two methods were used: the traditional fluorescent method (FM) and immunohistochemical study with a polyclonal antibody to M. Tuberculosis with a fluorescent label (FITC). In the study group, the histological conclusions were compared with the final clinical diagnosis and the results of microbiological investigations. The sensitivity, specificity and effectiveness have been established for each of the methods. **Results.** At hospitalization only in one third of cases, based on the results of clinical and radiological data and laboratory tests, various forms of respiratory TB were suspected. In 26 cases (70,3 %), with traditional staining of tissue samples with hematoxylin and eosin, a histological diagnosis of tuberculosis infection was established. When performing FM, the largest number of positive results was obtained (16 cases, 84,2 %), whereas with FITC, the MBT was detected only in 11 cases (57,9 %). The specificity of the FITC method was 90,5 %, and FM – 84,6 %. The overall efficiency of the parallel application of 2 fluorescent methods was 69,1 %. The coincidence of the results of both methods was noted in 22 cases of 31 (70,9 %). In total, of the using of morphological fluorescent methods, mycobacterium infection in HIV-infected patients was diagnosed in 29 cases (78,4 %), and in 4 cases (10,8 %) mycobacterium infection was established as a background pathology. **Conclusion.** At the time of hospitalization, in more than half of patients with HIV infection (59,5 %), the results of clinical laboratory and radiological data do not allow determining the true nature of the pathological process. The traditional study of histological samples stained with hematoxylin and eosin made it possible to diagnose mycobacterial infection in 70,3 % of cases. The use of fluorescent methods increased the efficiency of morphological diagnosis of mycobacterial infection by 10,8 %. The fluorescence method showed a high sensitivity (88,0 %), while indicator of specificity was higher with the immunofluorescence method (90,5 %). The overall efficiency of using fluorescent methods for the histological detection of M. tuberculosis was 69,1 %, which indicates the advisability of using these methods in cases of diagnostics mycobacterial infection.

Key words: HIV-infection, tuberculosis, morphological diagnostics, fluorescent methods.

Citation:

Liskina IV, Zagaba LM, Kuzovkova SD, Melnik OA. [Fluorescent methods in morphological diagnostics of respiratory tuberculosis in HIV-infected patients]. Morphologia. 2020;14(3):36-44. Russian.

DOI: <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2020.3.36-44>

 Liskina I.V. 0000-0001-8879-2345

 Zagaba L.M. 0000-0002-2593-8893

✉ liskina@ifp.kiev.ua

© SI «Dnipropetrovsk Medical Academy of the Ministry of Health of Ukraine», «Morphologia»

Введение

По оценке Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ)/UNAIDS, Украина остается регионом с высоким уровнем распространения ВИЧ-инфекции среди стран Центральной Европы и Восточной Азии. Так, на начало 2018 г. в стране проживало 244 000 ВИЧ-позитивных людей. Каждый сотый гражданин Украины в возрасте от 15 до 49 лет инфицирован ВИЧ, что является одним из самых высоких показателей среди стран данного региона. За январь-июнь 2020 года в Украине официально зарегистрировано 7831 новых случаев ВИЧ-инфекции, 2171 случай СПИДа и 1105 смертей, обусловленных СПИДом.

Иммуносупрессия у ВИЧ-инфицированных больных сопровождается активацией инфекционных агентов с развитием вторичных ВИЧ-ассоциированных (оппортунистических) заболеваний с преимущественным поражением легких (до 80 % случаев), причем их доля в структуре вторичных заболеваний достигает 90 % [1, 2, 3, 4].

Известно, что группу заболеваний системы органов дыхания составляют самые разнообразные по происхождению и по клинической картине патологические процессы, являющиеся в большинстве случаев непосредственной причиной смерти больных с ВИЧ-инфекцией. Среди вторичных заболеваний, регистрируемых при ВИЧ-инфекции, ведущее место принадлежит туберкулезу (ТБ). Частота данной патологии среди госпитализированных больных составляет более 65,5 % [5], причем данное заболевание может возникнуть на любой стадии ВИЧ-инфекции и при любом количестве CD4+ лимфоцитов [6]. За последние 15 лет число больных активным ТБ, сочетанным с ВИЧ-инфекцией, возросло в 50 раз, а инфицирование микобактериями туберкулеза среди пациентов с коинфекцией составляет до 90 % [7, 8, 9].

Сложности морфологической диагностики ТБ могут возникать из-за того, что при специфическом процессе в условиях глубокой иммуносупрессии не формируется типичного гранулематозного воспаления. При рутинной окраске гематоксилином и эозином могут наблюдаться гнойно-некротические периваскулярные очаги, которые практически идентичны фокусам воспаления при бактериальной пневмонии с микроабсцедированием. Также наблюдается слабая выраженность гигантоклеточной трансформации в эпителиоидно-клеточных гранулемах. Отмечается преобладание альтеративного компонента воспаления над продуктивным [10, 11].

Несмотря на высокую эффективность микробиологических, иммунологических, молекулярно-генетических методов диагностики ТБ, актуальность морфологической диагностики в клинической практике сохраняет свое значение

[12, 13]. Особую проблему в этой ситуации представляет дифференциальная диагностика различных по этиологии гранулематозных заболеваний (туберкулез, саркоидоз, микозы, лепра, гранулематоз Вегенера, ревматические болезни и др.), так как они имеют не только схожую клиническую симптоматику, рентгенологическую картину, функциональные нарушения, но и некоторые общие патофизиологические механизмы, а также сходную морфологическую картину. При морфологическом исследовании, даже с использованием широкого спектра современных гистологических методов, далеко не всегда удастся установить правильный диагноз.

Морфологическая диагностика ТБ, прежде всего, основывается на ряде специфических гистологических признаков, которые возможно выявить при традиционном исследовании гистопрепаратов, окрашенных гематоксилином и эозином. К ним относят, прежде всего, наличие специфических гранул, а также образований типа туберкуломы, каверны. Туберкулёзная гранулёма представляет собой очаг продуктивно-некротического воспаления, имеющий вид плотного узелка с фокусом казеозного некроза в центре. В клеточном воспалительном инфильтрате вблизи некроза преобладают производные моноцитов: макрофаги, эпителиоидные и гигантские многоядерные клетки, формирующие компактные скопления с участием лимфоцитов, плазмочитов, нейтрофилов и фибробластов. По периферии формируется ободок из лимфоцитов. С целью объективизации гистологического вывода о наличии туберкулезного поражения, в морфологии разработан ряд специфических гистохимических и флуоресцентных методов, которые основаны на прямом или опосредованном обнаружении *M. tuberculosis* (МБТ) в пораженных тканях. К ним относят метод Циль-Нильсена (ЦН), флуоресцентный метод (ФМ) и иммуногистохимическое исследование (ИГХ) без и с применением флуоресцентной метки (FITC). По данным литературы, ФМ является более чувствительным по сравнению с методом ЦН, благодаря высокой контрастности препаратов, что позволяет выявлять не только классические формы МБТ с полностью сохраненной клеточной стенкой, но и атипичные формы микобактерий. Преимущества ФМ метода: относительно легкое обнаружение большого количества МБТ в одном поле зрения, что связано с ярким желтого или оранжевого цвета свечением возбудителя на темном фоне при рабочем увеличении микроскопа x400; возможность выявления морфологических проявлений вирулентности возбудителя (корд-фактора). Недостатком ФМ можно считать скрытость архитектоники пораженных тканей при контрастировании препаратов [14, 15]. Одним из современных гистологических методов выявления МБТ является иммунофлуоресцентный метод. К

преимуществам данного метода относится относительно легкое обнаружение в биоматериале не только целостных структур МБТ, но и их антигенных фрагментов. Основными ограничениями метода является необходимость наличия микроскопа с флуоресцентной приставкой с диапазоном волн 461–532 нм, а также набор дорогостоящих расходных материалов. Нужно отметить и техническую сложность процедуры получения срезов с соответствующей обработкой антителом, недолговечность хранения полученных готовых образцов.

Стоит также отметить, что морфологическое исследование позволяет обнаруживать микобактерии в пораженных тканях, однако уточнение вида бактерий остается прерогативой микробиологического исследования.

Цель исследования – определить целесообразность и эффективность применения флуоресцентных методов в морфологической диагностике туберкулеза органов дыхания у ВИЧ-инфицированных пациентов.

Материалы и методы

Морфологическое исследование включало 37 случаев биопсийного, операционного и аутопсийного материала фрагментов легких, лимфатических узлов и париетальной плевры ВИЧ-инфицированных пациентов клиники ГУ «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины». На момент госпитализации ВИЧ-инфекция была установлена в 24 случаях (64,8 %) с количественным определением CD4+ клеток. В 13 случаях (35,2 %) ВИЧ-инфекция была выявлена в условиях стационара, без определения количества CD4+ клеток.

В 35 случаях (94,6 %) материалом для гистологического исследования служила легочная ткань, и по 1-му случаю (по 2,7 % соответственно) – ткань лимфатических узлов и париетальной плевры.

Биопсии и резектаты легких были получены при различных видах мини-инвазивных процедур и оперативных вмешательствах у пациентов с поражением органов грудной полости. В 8 случаях (21,6 %) морфологическое исследование выполнялось на аутопсийном материале.

Кусочки тканей фиксировали в 10 % нейтральном формалине с последующей их проводкой в батарее спиртов восходящей концентрации и заливкой в парафин по общепринятому протоколу. Из парафиновых блоков получали 3 серийных среза толщиной 4–5 микрон. Один окрашивали гематоксилином и эозином (37 случаев), второй – использовали при традиционном ФМ (36 случаев) [16], третий – в ИГХ исследовании с применением флуоресцентной метки (32 случая) (FITC). Оба флуоресцентных метода параллельно применялись в 31 случае (83,8 %). Разное количество гистологических исследований было связано, прежде всего, с видом забора биологического материала, и соответственно, с количеством и репрезентативностью ткани в отдельных случаях. Иммунофлуоресцентное исследование проводили с применением поликлонального антитела к *M. Tuberculosis* с флуоресцентной меткой (PA1-73134), рабочее разведение 1:25, производства Thermo Fisher Scientific (США). Микроскопическое исследование проводили на микроскопах OLYMPUS CX21 и OLYMPUS BX51. Рабочие увеличения микроскопа – х400 и х1000. Использовали рабочую шкалу для полуколичественной оценки МБТ в препаратах: мало (1–2 бактерии в тканевом срезе), умеренное количество (6–15 бактерий) и много (более 15 бактерий). Препараты исследовали на люминесцентном микроскопе Olympus BX51 в свете люминесценции с применением синего светофильтра, при увеличении х400.

Рассчитаны чувствительность, специфичность и эффективность каждого из методов [17], с учетом заключительного клинического диагноза и результатов микробиологического выявления МБТ.

Статистическая обработка данных проводилась с помощью лицензионных программных продуктов, которые входят в пакет Microsoft Office Professional 2000 (Excel).

Результаты и их обсуждение

На момент госпитализации у пациентов были установлены следующие предварительные клинические диагнозы, данные представлены в табл. 1.

Таблица 1

Предварительные клинические диагнозы госпитализированных пациентов с ВИЧ инфекцией

Предварительный диагноз	абс	%
Подозрение на различные формы туберкулеза органов грудной полости	13	35,1
Диссеминированный процесс в легких неустановленной этиологии	10	27,1
Образование в легком неясной природы	7	18,9
Очаговые изменения в легких неясной этиологии	2	5,4
Подозрение на грибковое поражение органов дыхания	2	5,4
Дифференциальная диагностика неопластического и неспецифического воспалительного процесса в легком	3	8,1
Всего	37	100,0

Как видно из табл. 1, в 22 случаях (59,5 %) результаты клинико-лабораторных и рентгенологических данных, без гистологического исследования, не позволяли определить характер патологического процесса. В 13 случаях (35,1 %) по результатам клинико-рентгенологических данных и лабораторных исследований был заподозрен туберкулезный процесс.

В 16 случаях (43,3 %) во время стационар-

ного лечения были получены положительные результаты микробиологического исследования по обнаружению МБТ, причем в 5 из них (13,5 %) – ранее выявлены устойчивые формы МБТ.

При традиционном гистологическом исследовании препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином, были установлены следующие гистологические диагнозы, результаты представлены в табл. 2.

Таблица 2
Патогистологические заключения при рутинной окраске ткани гематоксилином и эозином, абс, %

Патогистологическое заключение	абс	%
Различные формы туберкулеза органов дыхания	19	51,4
Продуктивно-некротический воспалительный процесс инфекционной природы	9	24,3
Сочетанные оппортунистические инфекции (неспецифической, туберкулезной и грибковой этиологии)	4	10,8
Доброкачественное (гамартохондрома) и злокачественное (аденокарцинома) образование в легком в ассоциации с микобактериальной инфекцией	2	5,4
Хронический неспецифический воспалительный процесс в легком	1	2,7
Аспирационная пневмония наркомана в ассоциации с микобактериальной инфекцией	1	2,7
Саркоидоз органов дыхания	1	2,7
Всего	37	100,0

Согласно результатам табл. 2, более чем в половине случаев (51,4 %) при традиционном окрашивании препаратов гематоксилином и эозином установлены различные формы туберкулезного поражения. В этих случаях были диагностированы следующие формы туберкулеза легких: туберкулома-казеома и диссеминированный туберкулез – по 5 случаев (по 26,3 % соответственно), инфильтративный туберкулез – 4 случая (21,1 %), генерализованный лимфогематогенный туберкулез – 3 случая (15,8 %), по 1-му случаю (по 5,3 % соответственно) фиброзно-очаговый и фиброзно-кавернозный туберкулез легких. В 3-х случаях были диагностированы доброкачественное образование (гамартохондрома), злокачественная опухоль (аденокарцинома) легкого и гигантоклеточная пневмония на экзогенные вещества в сочетании с микобактериальной инфекцией. Еще в 1-м случае установлен диагноз саркоидоза органов дыхания. В 4 случаях аутопсии были диагностированы различные сочетанные оппортунистические инфекции. В этих случаях при гистологическом исследовании были выявлены морфологические признаки различных вариантов сочетаний грибковой, вирусной, неспецифической и микобактериальной инфекций.

В целом, в 26 случаях (70,3 %) у ВИЧ-инфицированных пациентов при рутинном гистологическом исследовании была диагностирована микобактериальная инфекция.

Следующим этапом морфологического ис-

следования было применение 2-х флуоресцентных методов для уточнения природы инфекционного агента, результаты приведены в табл. 3.

В 26 из 36 случаев (72,3 %) при ФМ получен положительный результат (наличие микобактерий), в 10 случаях (27,8 %) микобактерии не были обнаружены. Положительный результат при FITC методе получен в 21 случае из 32 (65,6 %), в 11 случаях (34,4 %) обработка FITC продемонстрировала отрицательный результат. Совпадение результатов по обоим флуоресцентным методам было в 22 случаях из 31 (70,9 %).

Как видно по данным табл. 3, при различных формах ТБ органов дыхания обычным флуоресцентным методом получено наибольшее количество положительных результатов выявления микобактерий (16 случаев, 84,2 %), тогда как при FITC методе МБТ были выявлены только в 11 случаях (57,9 %). В 9 случаях патогистологического заключения «продуктивно-некротический воспалительный процесс инфекционной природы» оба метода продемонстрировали приблизительно равное количество положительных результатов. Следует отметить, что в данной группе наблюдений в 4-х случаях (10,8 %), пациентам была выполнена прямая биопсия стенки бронха при фибробронхоскопии (ФБС). Из них в 2-х случаях результаты дополнительных флуоресцентных методов оказались не информативными, что связано, в первую очередь, с небольшим количеством биоматериала и, возможно, неудачным местом забора биопсии.

Таблица 3

Частота положительных результатов флуоресцентных методов среди гистологических заключений при традиционном исследовании, абс.

Патогистологическое заключение при традиционном окрашивании гематоксилином и эозином	Количество случаев	Методы исследования	
		Флуоресцентный (n=36)	Иммунофлуоресцентный (n=32)
Различные формы туберкулеза органов дыхания	19	16	11
Продуктивно-некротический воспалительный процесс инфекционной природы	9	5	4
Сочетанные оппортунистические инфекции (неспецифической, микобактериальной и грибковой этиологии)	4	2	2
Другая патология органов дыхания, в том числе, в сочетании с микобактериальной инфекцией	5	3	4
Всего	37	26	21

Проведен анализ относительного количества бактерий в исследуемых образцах, результаты представлены в табл. 4.

Таблица 4

Относительное количество бактерий в пораженной ткани ВИЧ-инфицированных пациентов при флуоресцентных методах, абс, %

Относительное количество бактерий	Методы исследования			
	Флуоресцентный		Иммунофлуоресцентный	
	абс.	%	абс.	%
Мало	19	52,8	11	34,4
Умеренное количество	3	8,3	1	3,1
Много	4	11,1	9	28,1
Не выявлено	10	27,8	11	34,4
Всего	36	100,0	32	100,0

По данным табл. 4, преобладали случаи выявления бактерий с градацией «мало» и в меньшей степени – «много». Приблизительно в одинаковом количестве случаев применения обоих методов бактерии не были обнаружены. Это можно объяснить, в первую очередь, небольшим количеством исследуемого материала, полученного при ФБС, и/или отсутствием микобактерий в исследуемых образцах. Следует отметить, что в 4 случаях исследования аутопсийного материала

оба флуоресцентных метода продемонстрировали большое количество бактерий, что характерно при прогрессировании патологического процесса.

Для каждого метода рассчитаны чувствительность, специфичность и эффективность, основываясь на результатах микробиологического исследования биоматериала и заключительном клиническом диагнозе в каждом случае, данные представлены в табл. 5.

Таблица 5

Диагностические параметры флуоресцентных методов окрашивания гистологических образцов, %

Метод окраски	Диагностические параметры		
	Чувствительность	Специфичность	Эффективность (результативность)
Флуоресцентный	88,0	84,6	69,5
Иммунофлуоресцентный	61,1	90,5	68,7
Общая эффективность	–	–	69,1

Как видно по результатам табл. 5, наибольшая чувствительность определена для ФМ метода – 88,0 %, против 61,1 % при FITC. По результатам нашего исследования именно FITC метод продемонстрировал более высокий показатель специфичности (90,5 %), тогда как специфичность ФМ составила 84,6 %. Эффективность каждого из методов была приблизительно одинаковой.

Общая эффективность параллельного при-

менения 2-х флуоресцентных методов гистологического исследования по выявлению МБТ составила 69,1 %.

В результате комплексного морфологического исследования, с дополнительным использованием 2-х флуоресцентных методов, были установлены следующие виды заболеваний органов дыхания, результаты представлены в табл. 6.

Таблица 6
Заключительный клинический диагноз с учетом комплексного морфологического исследования, абс, %

Нозология	абс	%
Туберкулез органов дыхания, всего:	22	75,8
• инфильтративный	5	17,3
• диссеминированный	6	20,7
• туберкулема легкого	6	20,7
• генерализованный лимфо-гематогенный туберкулез, в т. ч. милиарный	4	13,8
• фиброзно-кавернозный туберкулез	1	3,5
Сочетанные оппортунистические инфекции, всего:	4	13,8
• микобактериальная инфекция в ассоциации с герпесвирусной инфекцией и саркомой Капоши	1	3,5
• генерализованный лимфогематогенный туберкулез в ассоциации с грибковой инфекцией	1	3,5
• милиарный туберкулез легких в сочетании с цитомегаловирусной инфекцией	2	6,9
Другие заболевания органов дыхания, всего:	3	10,4
• аспирационная пневмония наркомана в сочетании с микобактериальной инфекцией	1	3,5
• токсико-аллергический альвеолит на фоне посттуберкулезных изменений	1	3,5
• гамартохондрома легкого в сочетании с диссеминированным туберкулезом легких	1	3,5
Всего:	29	100,0

Таким образом (табл. 4), в 29 случаях (78,4 %) у ВИЧ-инфицированных пациентов была диагностирована микобактериальная инфекция. По результатам дополнительного применения флуоресцентного и иммунофлуоресцентного методов в 26 случаях (70,3 %) подтвержден основной диагноз микобактериальной инфекции. В 4 случаях (10,8 %) было доказано наличие микобактериальной инфекции как фоновой патологии при других заболеваниях органов грудной полости. Еще в 5 случаях (13,5 %) были установлены другие заболевания органов дыхания не туберкулезной этиологии. Только в 2-х (5,4 %) случаях использование дополнительных методов не позволило установить окончательный диагноз.

Выводы

1. На момент госпитализации в высокоспециализированный стационар фтизиопульмонологического профиля более чем у половины пациентов с ВИЧ-инфекцией (59,5 %) результаты клинико-лабораторных и рентгенологических данных не позволяют определить истинный характер патологического процесса.

Еще в трети всех случаев (35,1 %) были за-

подозрены различные формы туберкулеза органов дыхания.

2. Традиционное исследование гистологических препаратов с окраской гематоксилином и эозином позволило диагностировать микобактериальную инфекцию в 70,3 % случаев.

3. Применение флуоресцентных методов увеличило эффективность морфологической диагностики микобактериальной инфекции на 10,8 %.

4. По результатам нашего исследования получены достаточно высокие диагностические параметры специальных методов морфологического обнаружения *M. tuberculosis*. Наибольшая чувствительность установлена для флуоресцентного метода – 88,0 %, тогда как иммунофлуоресцентный метод продемонстрировал высокий показатель специфичности (90,5 %).

5. Оба флуоресцентных метода исследования продемонстрировали приблизительно одинаковую эффективность диагностики, на уровне 69 %, что свидетельствует о целесообразности применения этих методов в случаях гистологической диагностики микобактериальной инфекции. Об-

щая эффективность применения флуоресцентных методов по выявлению *M. tuberculosis* при гистологическом исследовании составила 69,1 %.

Перспективы дальнейших разработок

Дальнейшие исследования целесообразно проводить в направлении повышения эффективности морфологической диагностики вторичных заболеваний органов грудной полости, с учетом иммунного статуса пациентов.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы «Розробити алгоритм гистологічної діагностики патології легень у хворих на ВІЛ-інфекцію» (номер государственной регистрации 0118U007361).

Конфликт интересов

Потенциальных или явных конфликтов интересов, связанных с этой рукописью, на момент публикации не существует и не предвидится.

Литературные источники References

1. Grishaev SL, Sharova NV, Moiseev EV, Bulankov YuI, Orlova ES. [Peculiarities of bronchopulmonary pathology in HIV-patients]. Military medical journal. 2014;8:37-44. Russian.
2. Puzyreva LV, Rodkina LA, Mordyk AV, Konchenko VD, Dalabaeva LM. [Analysis of lower respiratory tract infections with a research of a microbial landscape of material at HIV-positive patients]. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2018;(1):76-84. Russian. <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2018-1-76-84>
3. Puzyrjova LV, Safonov AD, Mordyk AV. [Diseases of respiratory organs at HIV infection (review)]. Journal infectology. 2016;8(2):17-25. Russian.
4. Viktorova EA, Azovtseva OV. [Pathological changes in AIDS-associated diseases with the respiratory system disorders]. International journal of medicine and psychology. 2019;2(3):74-80. Russian.
5. Zyzya YuR, Zimina VN, Alvares Figeroa MV, Parchomenko YuG, Dolgova EA. [The morphological characteristics of HIV-associated tuberculosis in relation to blood CD4+ lymphocyte counts]. Archive of pathology. 2014;76(5):33-37. Russian. URL : <https://www.mediasphera.ru/issues/arkhiv-patologii/2014/5/downloads/ru/030004-1955201455>.
6. Maksumova DK, Hakimova RA, Mamarsulova DZ, Botirova BT, Abdullayev MB. [Clinical manifestations of pulmonary tuberculosis at early and late stages of HIV-infection]. Bulletin of problems biology and medicine. 2016;2(127):96-99. Russian. URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vpbm_2016_1\(2\)_20](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Vpbm_2016_1(2)_20).
7. Zimina VN, Kravchenko AV, Batyrov FA at al. [Generalized tuberculosis in patients with HIV-infection at the stage of secondary diseases]. Infectious diseases. 2010;8(3):5-8. Russian.
8. Cribbs SK, Uppal K, Li S et al. [Correlation of the lung microbiota with metabolic profiles in bronchoalveolar lavage fluid in HIV infection]. Microbiome. 2016;4(1):3-7. doi: 10.1186/s40168-016-0147-4. Russian.
9. Grinberg LM, Berdnikov RB. [Structure of the diagnosis for tuberculosis, HIV-infection and their combination]. Ural medical journal. 2012;13(105):73-75. Russian.
10. Zinserling VA. [HIV infection and tuberculosis. Problems of clinic-pathological correlation]. Medical academic journal. 2013;13(4):87-91. Russian.
11. Privalikhina AV, Spitsyn PS, Arkhipov DO at al. [HIV-associated tuberculosis: features morphological in patients who did not receive antiviral therapy. Cause of death]. Modern problems of science and education. 2016;6:258-265. Russian.
12. Timchenko OA, Zhuravleva EI, Ivanov AA. [The importance of a histological method of research in the diagnosis of HIV-associated infections]. Russian journal of forensic medicine. 2017;3(3):42-45. Russian. URL : <https://doi.org/10.19048/2411-8729-2017-3-3-42-45>.
13. Seregina VA, Budritsky AM. [Modern possibilities of pulmonary tuberculosis diagnosis]. Vestnik VGMU. 2016;15(4):7-17. Russian.
14. Gupta S, Shenoy VP, Bairy I, Muralidharan S. Comparison among three cold staining methods in the primary diagnosis of tuberculosis: a pilot study. J. Bras. Pneumol. 2010;36(5):612-616. doi: 10.1590/s1806-37132010000500013.
15. Hoff DR, Ryan GJ, Driver ER et al. Location of intra- and extracellular *M. tuberculosis* populations in lungs of mice and guinea pigs during disease progression and after drug treatment. PLoS ONE. 2011;3:e17550. doi: 10.1371/journal.pone.0017550.
16. Greenwood N, Fox H. A comparison of methods for staining tubercle bacilli in histological sections. J. Clin. Path. 1973;26:253-257. doi: 10.1136/jcp.26.4.253.
17. Verkhulitski IY, Lutsenko YG, Papazov FK. [Role of izoferments of amilazy at prognostication of acute bleeding gastroduodenal erosions and ulcers for patients destructive pancreatitis]. Ukrainian journal of surgery. 2009;1:24-27. Russian.

Ліскіна І.В., Загаба Л.М., Кузовкова С.Д., Мельник О.О. Флуоресцентні методи у морфологічній діагностиці туберкульозу органів дихання у ВІЛ-інфікованих пацієнтів.

РЕФЕРАТ. Актуальність. Серед захворювань органів дихання у ВІЛ-інфікованих пацієнтів провідне місце займає туберкульоз (ТБ). Складнощі морфологічної діагностики ТБ пов'язані, перш за все, з його нетиповими гістологічними ознаками в умовах глибокої імуносупресії. З метою об'єктивізації гістологічного висновку про наявність туберкульозного враження, в морфології розроблена низка специфічних гістохімічних і флуоресцентних методів, які базуються на прямому чи опосередкованому виявленні *M. tuberculosis* (МБТ) в уражених тканинах. **Мета** – визначити доцільність та ефективність застосування флуоресцентних методів у морфологічній діагностиці туберкульозу органів дихання у ВІЛ-інфікованих пацієнтів. **Методи.** Морфологічне дослідження включало 37 випадків. Застосовані 2 методи: традиційний флуоресцентний метод (ФМ) та імуногістохімічне дослідження з поліклональним антитілом до *M. Tuberculosis* з флуоресцентною міткою (FІТС). У групі дослідження зіставлені гістологічні висновки із заключним клінічним діагнозом та результатами мікробіологічного дослідження. Встановлені чутливість, специфічність та ефективність кожного з методів. **Результати.** При госпіталізації в третині випадків за результатами клініко-рентгенологічних даних та лабораторних досліджень були запідозрені різні форми ТБ органів дихання. У 26 випадках (70,3 %) при традиційному забарвленні препаратів гематоксилином та еозином був установлений гістологічний діагноз туберкульозної інфекції. При виконанні ФМ отримано найбільшу кількість позитивних результатів (16 випадків, 84,2 %), тоді як при FІТС методі МБТ були виявлені тільки в 11 випадках (57,9 %). Аналіз відносної кількості бактерій у зрізах показав переважання випадків із градацією «мало» та дещо менше випадків – «багато». У 4 випадках автопсій обидва флуоресцентних методи продемонстрували велику кількість бактерій в уражених тканинах. Більша чутливість визначена для ФМ методу – 88,0 %, проти 61,1 % при FІТС. Специфічність FІТС методу склала 90,5 %, а ФМ – 84,6 %. Загальна ефективність паралельного застосування 2-х флуоресцентних методів склала 69,1 %. Збіг результатів обох методів визначено у 22 випадках із 31 (70,9 %). Загалом, з використанням морфологічних флуоресцентних методів мікобактеріальна інфекція у ВІЛ-інфікованих пацієнтів була діагностована у 29 випадках (78,4 %), причому у 4 випадках (10,8 %) встановлено наявність мікобактеріальної інфекції у якості фонові патології. **Підсумок.** На момент госпіталізації більш аніж у половини пацієнтів з ВІЛ-інфекцією (59,5 %) результати клініко-лабораторних та рентгенологічних даних не дозволяють визначити справжній характер патологічного процесу. Традиційне дослідження гістологічних препаратів із забарвленням гематоксилином та еозином дозволило діагностувати мікобактеріальну інфекцію у 70,3 % випадків. Застосування флуоресцентних методів підвищило ефективність морфологічної діагностики мікобактеріальної інфекції на 10,8 %. Флуоресцентний метод продемонстрував високий показник чутливості (88,0 %), тоді як показник специфічності був вище при імунофлуоресцентному методі (90,5 %). Загальна ефективність застосування флуоресцентних методів для виявлення *M. tuberculosis* склала 69,1 %, що свідчить про доцільність застосування цих методів у випадках діагностики мікобактеріальної інфекції.

Ключові слова: ВІЛ-інфекція, туберкульоз, морфологічна діагностика, флуоресцентні методи.

Лискина И.В., Загаба Л.М., Кузовкова С.Д., Мельник О.А. Флуоресцентные методы в морфологической диагностике туберкулеза органов дыхания у ВИЧ-инфицированных пациентов.

РЕФЕРАТ. Актуальность. Среди заболеваний органов дыхания у ВИЧ-инфицированных пациентов ведущее место занимает туберкулез (ТБ). Сложности морфологической диагностики ТБ связаны, прежде всего, со стертой его типичных гистологических признаков в условиях глубокой иммуносупрессии. С целью объективизации гистологического вывода о наличии туберкулезного поражения в морфологии разработан ряд специфических гистохимических и флуоресцентных методов, которые основаны на прямом или опосредованном обнаружении *M. tuberculosis* (МБТ) в пораженных тканях. **Цель** – определить целесообразность и эффективность применения флуоресцентных методов в морфологической диагностике туберкулеза органов дыхания у ВИЧ-инфицированных пациентов. **Методы.** Морфологическое исследование включало 37 случаев. Использованы 2 метода: традиционный флуоресцентный метод (ФМ) и иммуногистохимическое исследование с поликлональным антителом к *M. Tuberculosis* с флуоресцентной меткой (FІТС). В группе исследования сопоставлены гистологические выводы с заключительным клиническим диагнозом и результатами микробиологического исследования. Установлены чувствительность, специфичность и эффективность каждого из методов. **Результаты.** При госпитализации в трети случаев по результатам клиничко-рентгенологических данных и лабораторных исследований были заподозрены различные формы ТБ органов дыхания. В 26 случаях (70,3 %) при традиционной окраске препаратов гематоксилином и еозином был установлен гистологический диагноз туберкулезной инфекции. При выполнении ФМ получено наибольшее количество положительных результатов (16 случаев, 84,2 %), тогда как при FІТС методе МБТ были выявлены только в 11 случаях (57,9 %). Анализ относительного количества бактерий в срезах показал преобладание случаев с градацией «мало» и не-

сколько меньше случаев – «много». В 4 случаях аутопсий оба флуоресцентных метода продемонстрировали большое количество бактерий в пораженных тканях. Выше чувствительность была у ФМ метода – 88,0 %, против 61,1 % при FITC. Специфичность FITC метода составила 90,5 %, а ФМ – 84,6 %. Общая эффективность параллельного применения 2-х флуоресцентных методов составила 69,1 %. Совпадение результатов обоих методов отмечено в 22 случаях из 31 (70,9 %). Всего, с использованием морфологических флуоресцентных методов, микобактериальная инфекция у ВИЧ-инфицированных пациентов была диагностирована в 29 случаях (78,4 %), причем в 4 случаях (10,8 %) установлено наличие микобактериальной инфекции в качестве фоновой патологии. **Заключение.** На момент госпитализации более чем у половины пациентов с ВИЧ-инфекцией (59,5 %) результаты клинико-лабораторных и рентгенологических данных не позволяют определить истинный характер патологического процесса. Традиционное исследование гистологических препаратов с окраской гематоксилином и эозином позволило диагностировать микобактериальную инфекцию в 70,3 % случаев. Применение флуоресцентных методов повысило эффективность морфологической диагностики микобактериальной инфекции на 10,8 %. Флуоресцентный метод продемонстрировал высокий показатель чувствительности (88,0 %), тогда как показатель специфичности был выше при иммунофлуоресцентном методе (90,5 %). Общая эффективность использования флуоресцентных методов для выявления *M. tuberculosis* составила 69,1 %, что свидетельствует о целесообразности применения этих методов в случаях диагностики микобактериальной инфекции.

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, туберкулез, морфологическая диагностика, флуоресцентные методы.