

## СОВРЕМЕННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИЖИЗНЕННОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ МИКОБАКТЕРИАЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ

Ю.Р. Зюзя

ГБУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом  
Департамента здравоохранения города Москвы»

*Проанализированы результаты комплексного морфологического исследования аутопсийного, операционного и биопсийного материала от больных с микобактериальными инфекциями (туберкулез – 69 чел.; микобактериозы, вызванные нетуберкулезными микобактериями – 21 чел.; осложнения вакцинации БЦЖ – 7 чел.), в том числе при иммуносупрессивных состояниях (55 чел.). Для определения микроскопических дифференциально-диагностических признаков микобактериальных и некоторых других инфекционных гранулематозных процессов приведены результаты исследования материала от больных с микозами – 10 чел., гельминтозами – 5 чел., актиномикозом – 3 чел., пневмоцистозом – 3 чел. Представлены основные морфологические диагностические признаки этих заболеваний, обращено внимание на микроскопические особенности различных гранулематозных процессов, сформулирован диагностический алгоритм. Идентификация возбудителя в гистологическом материале дает возможность корректно верифицировать заболевание.*

**Ключевые слова:** микобактериальные инфекции, туберкулез, гранулематозное воспаление

## MODERN CAPABILITIES OF LIFETIME MORPHOLOGICAL DIAGNOSIS OF MYCOBACTERIAL DEFEAT

Yu.R. Zyuzya

*The results of a comprehensive morphological study of autopsy, surgical and biopsy material from patients with mycobacterial infections (tuberculosis – 69 people; mycobacteriosis caused by non-tuberculous mycobacteria – 21 people; complications of BCG vaccination – 7 people), including those with immunosuppressive conditions (55 people), were analyzed. To determine the microscopic differential diagnostic signs of mycobacterial and some other infectious granulomatous processes, the results of a study of material from patients with mycoses – 10 people, helminthiasis – 5 people, actinomycosis – 3 people, pneumocystosis – 3 people. The main morphological diagnostic signs of these diseases presented, attention paid to the microscopic features of various granulomatous processes, and a diagnostic algorithm formulated. Identification of the causative agent of the disease in the histological material makes it possible to correctly verify the disease.*

**Keywords:** mycobacterial infections, tuberculosis, granulomatous inflammation

### Введение

Морфологические изменения при туберкулезном воспалении имеют достаточно характерную картину, и, на первый взгляд, микроскопическая диагностика не должна вызывать затруднений. Однако необходимо помнить, что, помимо туберкулеза и других микобактериальных поражений, в настоящее время насчитывается более полутора сотен гранулематозных процессов как инфекционного, так и неинфекционного, а также неустановленного генеза [12, 14, 17, 18, 22, 23, 24]. Кроме того, иммуносупрессивные состояния создают условия, при которых как клиническое течение микобактериальных инфекций, так и морфологическая картина совершенно нетипичны [5, 6, 7, 10, 11, 15, 20], что приводит к значительным трудностям диагностики и, к сожалению, к диагностическим ошибкам.

### Цель исследования

Изучение морфологических особенностей микобактериального поражения и дифференциальная диагностика с некоторыми инфекционными гранулематозными процессами.

### Материалы и методы исследования

Проанализированы результаты морфологического исследования операционного, биопсийного и секционного материала от 97 больных микобактериальными инфекциями (туберкулез – 69 чел.; микобактериозы, вызванные нетуберкулезными микобактериями – 21 чел.; осложнения вакцинации БЦЖ – 7 чел.), в том числе при иммуносупрессивных состояниях (55 чел.). Для определения микроскопических дифференциально-диагностических признаков проведено комплексное морфологическое исследование материала от больных с некоторыми другими

инфекционными гранулематозными процессами (микозы – 10 чел., гельминтозы – 5 чел., актиномикоз – 3 чел., пневмоцистоз – 3 чел.).

Для микроскопического исследования забирали кусочки внутренних органов, которые фиксировали в 10%-ном забуференном формалине, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, заключали в парафин. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином для обзорной микроскопии; по Ван Гизону для выявления процессов организации в очагах воспаления; по Цилю – Нельсену для выявления кислотоустойчивых бактерий; по Броун – Хоппсу для определения грамположительной и грамотрицательной флоры; по Грокотту, альциановым синим, PAS-реакция для выявления микотических структур.

Для иммуногистохимического исследования использовали моноклональные антитела *Myc. tuberculosis mouse monoclonal antibody, clone 1.1/3/1, VectoLab; Monoclonal Mouse Anti-Pneumocystis Jiroveci, clone 3F6, DAKO*. Результаты иммуногистохимического исследования интерпретировали с использованием полуколичественной визуально-аналоговой шкалы *D.C. Allred*. Микроскопическое исследование гистологических препаратов проводили с помощью микроскопа *Olympus B51*, с увеличением  $\times 40$ – $1000$ . Микрофотографирование выполнено микрофотокамерами *Olympus DP41* и *Zeiss AxioCam ERc5s*.

Видовую идентификацию возбудителя в материале из парафиновых блоков осуществляли молекулярно-генетическими методами: методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием наборов реагентов «АмплиСенс® МТC-FL», «АмплиСенс® МТC-diff-FL» и «АмплиСенс® АВИУМ» производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Морфологические исследования проводили с участием врачей-патологоанатомов А.А. Варлахина, И.В. Шершневой, М.Г. Кузиной, А.В. Скибиной.

**Результаты исследования**

Туберкулез относится к группе гранулематозных заболеваний инфекционного характера. Гранулемы при активном туберкулезном воспалении эпителиоидные, эпителиоидно-гигантоклеточные, обычно имеют тенденцию к слиянию, часть из них с участком некроза и лейкоцитарной инфильтрацией в центре. Вокруг формируется лимфоидный вал и перифокальная экссудативная или экссудативно-гранулематозная реакция с образованием в просвете прилежащих альвеол серозного, фибринозного, серозно-фибринозного и фибринозно-гнойного экссудата, а также с формирующимися гранулемами. Межалвеолярные перегородки вблизи участков обычно умеренно утолщены за счет отека, фиброза, с лимфоидной реакцией различной выраженности (рис. 1).

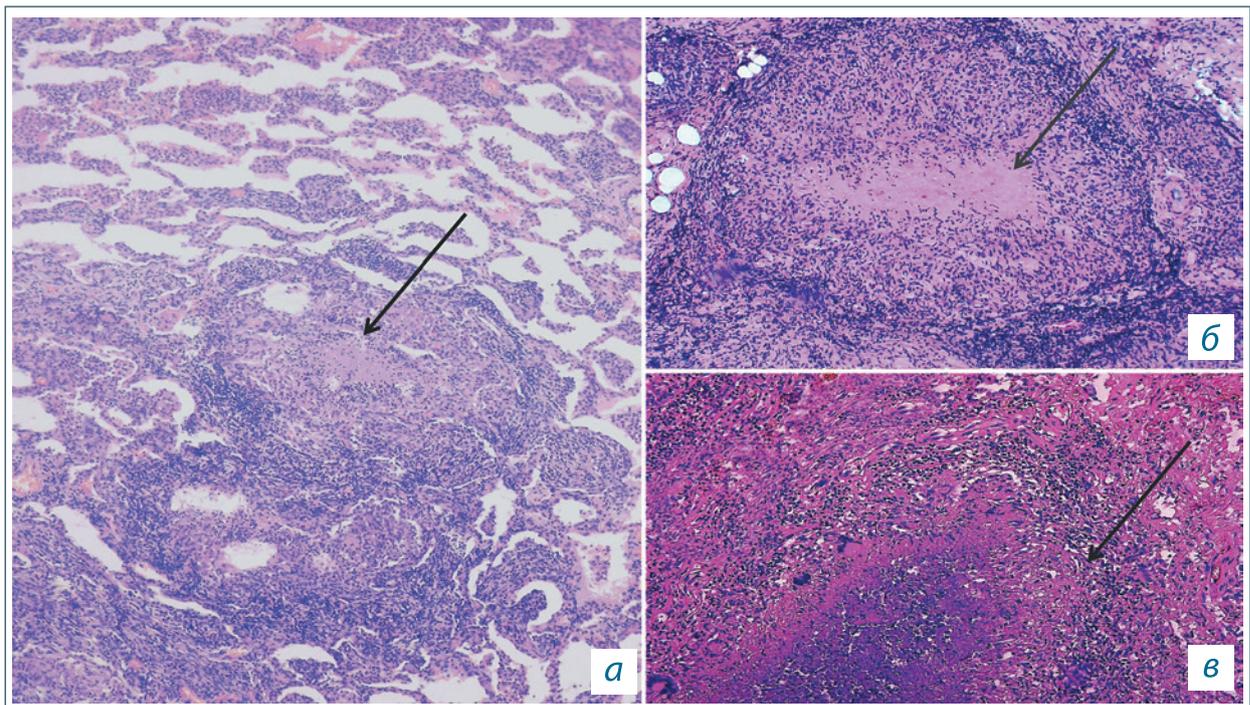


Рис. 1. Туберкулез: а) сливающиеся гранулемы с некрозом в центре (указано стрелкой), перифокальная лимфоидная реакция, межалвеолярные перегородки утолщены за счет отека, фиброза, лимфоидной инфильтрации,  $\times 40$ ; б) сливающаяся гранулема с некрозом в центре (указан стрелкой), лимфоидный вал по периферии,  $\times 100$ ; в) очаг казеозного некроза с лейкоцитарной инфильтрацией, по краю некроза гранулематозная реакция,  $\times 200$ . Окраска гематоксилином и эозином

Fig. 1. Tuberculosis: a) merging granulomas with necrosis in the center (indicated by arrow), perifocal lymphoid reaction, interalveolar septa thickened due to edema, fibrosis, lymphoid infiltration,  $\times 40$ ; б) merging granuloma with necrosis in the center (indicated by arrow), lymphoid shaft along the periphery,  $\times 100$ ; в) focus of caseous necrosis with leukocyte infiltration, along the edge of necrosis granulomatous reaction,  $\times 200$ . Staining with hematoxylin and eosin

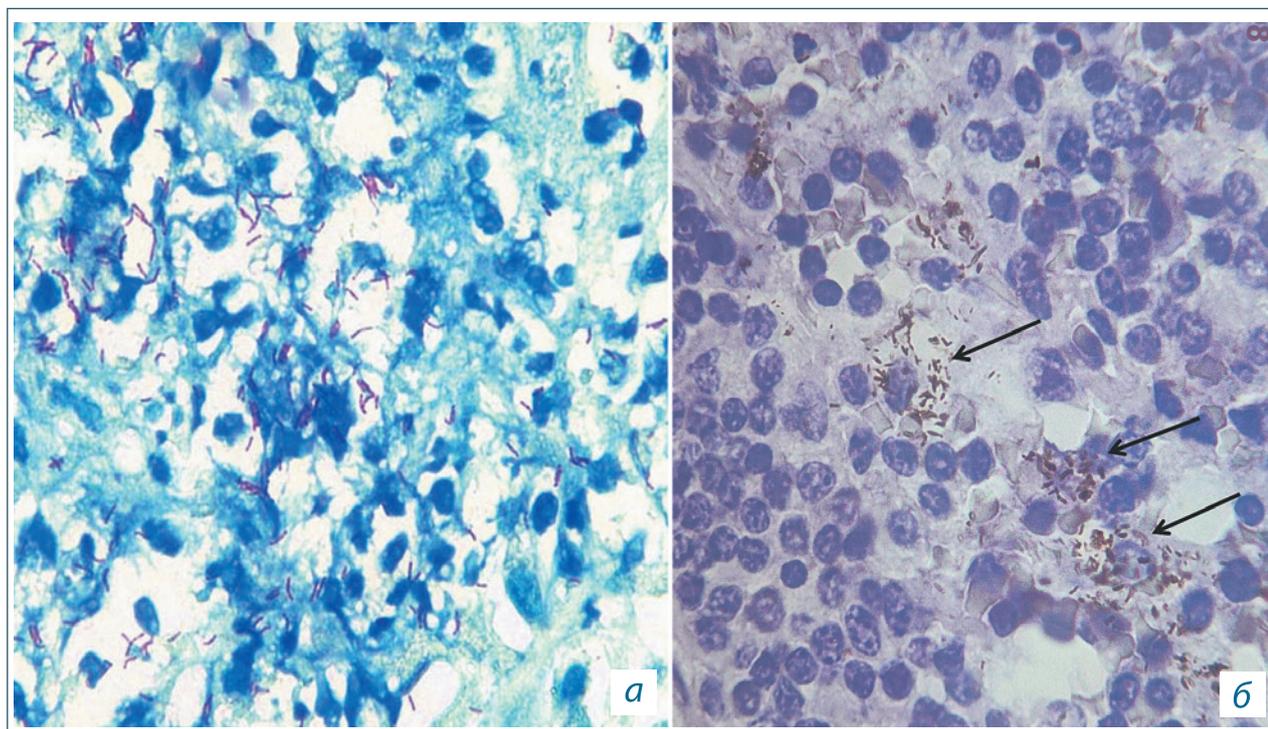


Рис. 2. Туберкулез: а) кислотоустойчивые бактерии (окрашены в красный цвет); окраска по Цилю – Нельсену,  $\times 1000$ ; б) микобактерии (окрашены в коричневый цвет); иммуногистохимическая реакция с туберкулезными антителами,  $\times 1000$   
 Fig. 2. Tuberculosis: a) acid-resistant bacteria (colored red); Ziehl – Neelsen stain,  $\times 1000$ ; б) mycobacteria (colored brown); immunohistochemical reaction with tuberculosis antibodies,  $\times 1000$

Наиболее простым гистологическим методом выявления возбудителей микобактериальных инфекций в срезах является окраска по Цилю – Нельсену, при которой данные микро-

организмы окрашиваются в красный цвет (рис. 2 а). Однако метод гистобактериоскопии по Цилю – Нельсену позволяет определить только семейство кислото- и спиртоустойчивых

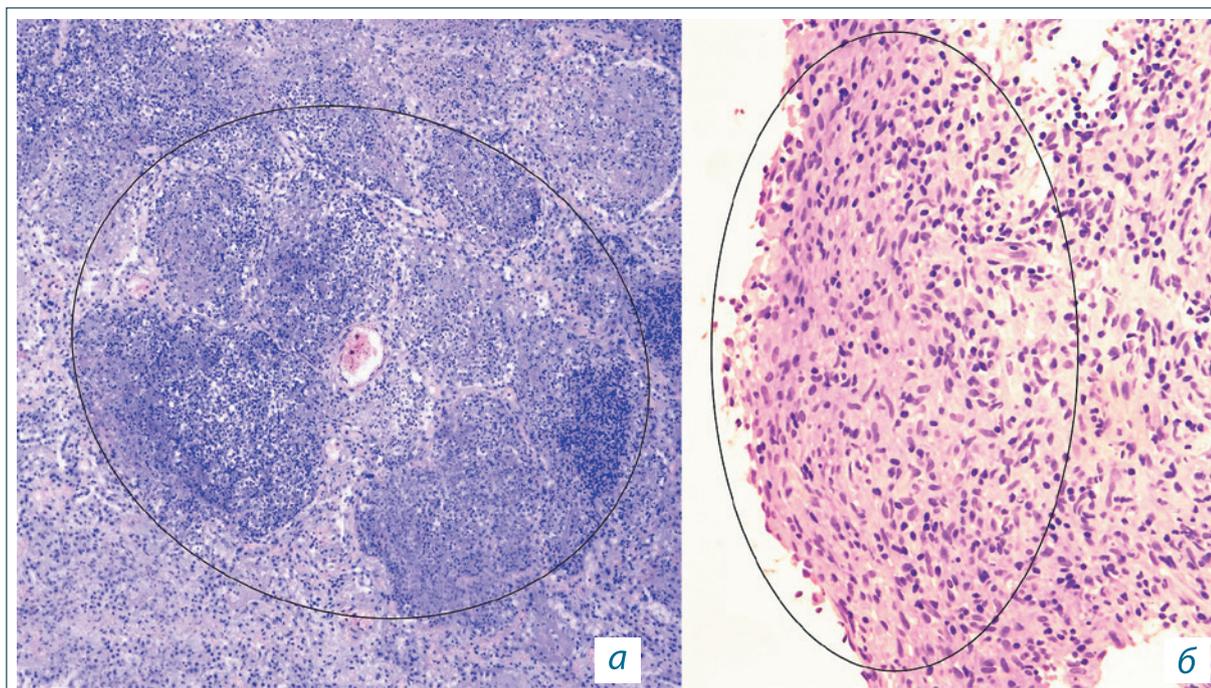


Рис. 3. ВИЧ-ассоциированный туберкулез: а) гнойно-некротический очаг туберкулезного воспаления в легком (круглая рамка), отсутствуют признаки гранулематозного воспаления,  $\times 40$ ; б) стертое гранулематозное воспаление (овальная рамка),  $\times 200$ . Окраска гематоксилином и эозином  
 Fig. 3. HIV-associated tuberculosis: a) purulent-necrotic focus of tuberculous inflammation in the lung (round frame), there are no signs of granulomatous inflammation,  $\times 40$ ; б) erased granulomatous inflammation (oval frame),  $\times 200$ . Staining with hematoxylin and eosin

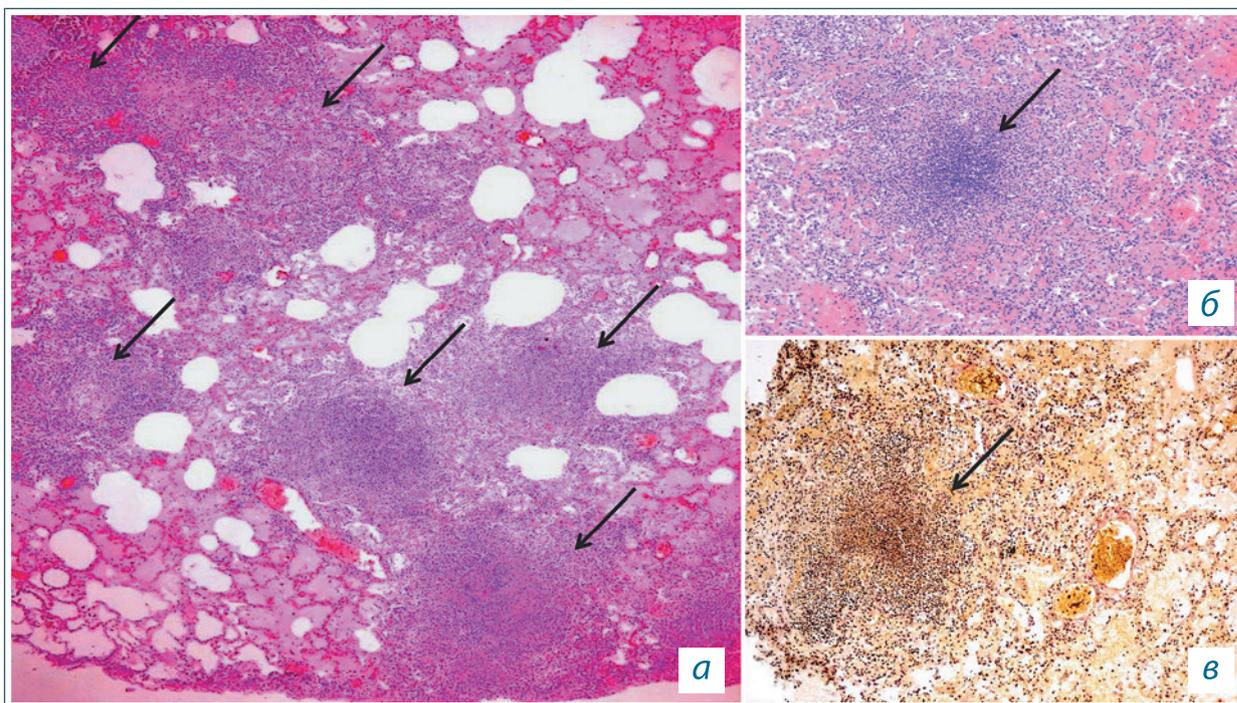


Рис. 4. ВИЧ-ассоциированный туберкулез: а) мономорфные гнойно-некротические милиарные и субмилиарные очажки туберкулезного воспаления в легком (указаны стрелками),  $\times 40$ ; б) гнойно-некротический милиарный очажок туберкулезного воспаления без элементов гранулематозной реакции (указан стрелкой),  $\times 100$ ; в) гнойно-некротический милиарный очажок туберкулезного воспаления без признаков организации (указан стрелкой), отсутствуют коллагеновые волокна,  $\times 100$ . а, б – окраска гематоксилином и эозином, в – окраска по Ван Гизону

Fig. 4. HIV-associated tuberculosis: a) monomorphic purulent-necrotic miliary and submiliary foci of tuberculous inflammation in the lung (indicated by arrows),  $\times 40$ ; б) purulent-necrotic miliary foci of tuberculous inflammation without elements of granulomatous reaction (indicated by arrow),  $\times 100$ ; в) purulent-necrotic miliary foci of tuberculous inflammation without signs of organization (indicated by an arrow), there are no collagen fibers,  $\times 100$ . а, б – hematoxylin and eosin staining, в – Van Gieson staining

бактерий, которое насчитывает несколько десятков видов микробов и в число которых входят микобактерии туберкулеза (МБТ) и нетуберкулезные микобактерии (НТМБ). При туберкулезе возбудитель локализуется в некротических массах, в цитоплазме макрофагов, нейтрофильных лейкоцитов, а также внеклеточно вблизи разрушенных клеток.

Более точную верификацию возбудителя можно проводить при иммуногистохимическом исследовании, основанном на формировании комплекса антиген – антитело с последующей его визуализацией. При иммуногистохимической реакции (ИГХ) с туберкулезными антителами последние формируют в исследуемых срезах комплекс с антигеном, в качестве которого в данном случае выступают микобактерии (рис. 2 б). ИГХ дает возможность подтвердить, что выявленные микроорганизмы относятся к роду микобактерий, но не позволяет дифференцировать микобактерии туберкулеза и нетуберкулезные микобактерии. Эффективность ИГХ с туберкулезными антителами достигает 90%, что более чем вдвое выше эффективности гистобактериоскопии по Цилю – Нельсену, которая составляет 40% [3, 21].

Видовую идентификацию возбудителей микобактериальных инфекций при отсутствии нативного материала можно проводить с помощью молекулярно-генетического исследо-

вания материала из парафинового блока с фрагментом ткани – полимеразной цепной реакции с выявлением ДНК МБТ [2].

Несмотря на, казалось бы, достаточно типичную микроскопическую картину туберкулезного воспаления, на первый взгляд не вызывающую каких-либо сомнений в правильности определения патологического процесса, существуют условия, при которых морфологическая картина туберкулеза настолько изменяется, что это может привести к диагностическим ошибкам. Речь идет об иммуносупрессивных состояниях и, конечно же, в первую очередь о ВИЧ-ассоциированном туберкулезе.

При ВИЧ-ассоциированном туберкулезе у пациентов с 4В-5 стадиями ВИЧ-инфекции гранулематозная реакция отсутствует или минимальна. Характерно быстрое развитие некроза в участках воспаления с большим количеством нейтрофильных лейкоцитов и абсцедированием, что придает участкам туберкулезного воспаления вид гнойно-некротических очагов, идентичных по строению пиемическим очагам при сепсисе или, например, при пневмонии с абсцедированием (рис. 3 а). В подавляющем большинстве случаев гранулемообразование подавлено вплоть до полного отсутствия гранул. Изредка в участках воспаления можно найти единичные элементы гранулематозного воспаления в виде рассеянных

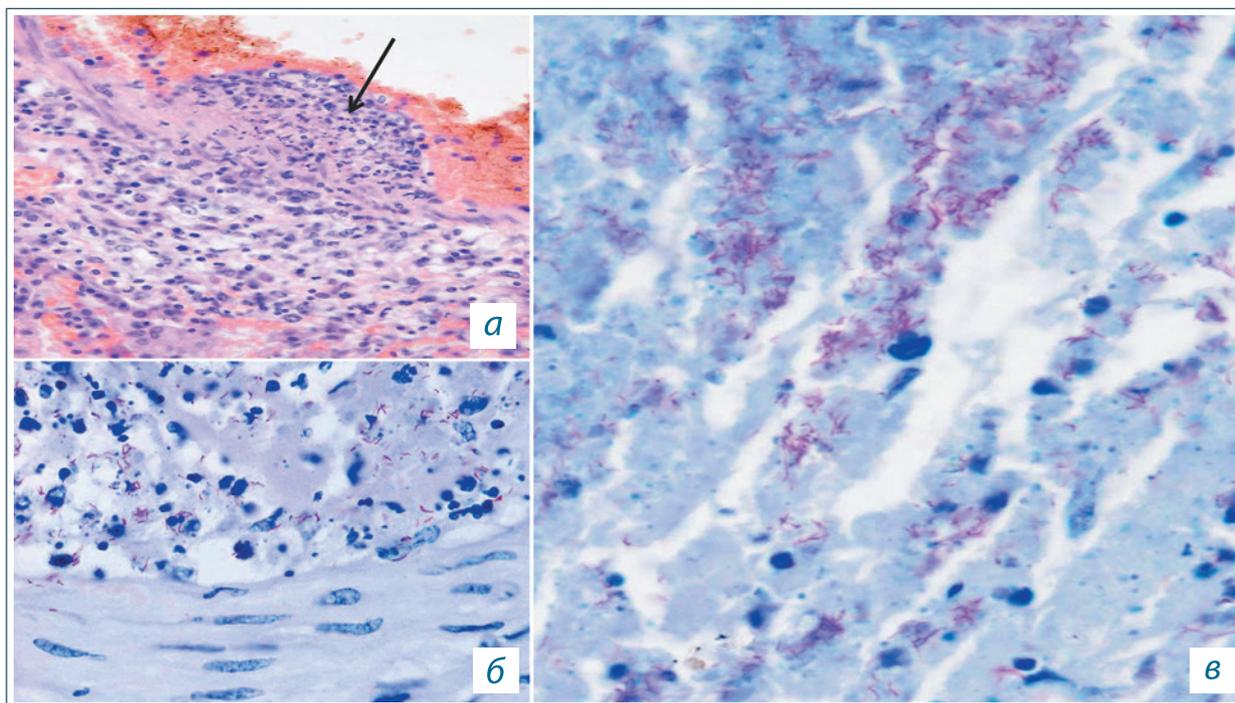


Рис. 5. ВИЧ-ассоциированный туберкулез: а) туберкулезный васкулит, отсутствуют признаки гранулематозного воспаления,  $\times 100$ ; б) туберкулезный васкулит, кислотоустойчивые бактерии в стенке и просвете сосуда (окрашены в красный цвет),  $\times 1000$ ; в) большое количество кислотоустойчивых бактерий (окрашены в красный цвет) в некротических массах, вблизи разрушенных нейтрофильных лейкоцитов,  $\times 1000$ . а – окраска гематоксилином и эозином; б, в – окраска по Цилю – Нельсену

Fig. 5. HIV-associated tuberculosis: a) tuberculous vasculitis, no signs of granulomatous inflammation,  $\times 100$ ; b) tuberculous vasculitis, acid-resistant bacteria in the wall and lumen of the vessel (colored red),  $\times 1000$ ; c) a large number of acid-resistant bacteria (colored red) in necrotic masses, near destroyed neutrophil leukocytes,  $\times 1000$ . a – hematoxylin and eosin staining; б, в – Ziehl – Neelsen staining

одиночных гигантских многоядерных клеток, единичных эпителиоидных клеток или нечетких тяжей из эпителиоидных клеток без формирования гранул (рис. 3б). Таким образом, при ВИЧ-ассоциированном туберкулезе отсутствуют признаки «специфического» воспаления. Вирус иммунодефицита человека, попадая в макроорганизм, обеспечивает цитопатическое действие на CD4<sup>+</sup> клетки с последующей их гибелью, исключая таким образом основополагающее звено – Т-хелперы, играющие ключевую роль в формировании клеточного иммунного ответа.

Для очагов туберкулезной диссеминации у лиц с выраженной иммуносупрессией характерно отсутствие признаков волнообразного течения процесса, типичного для гранулематозного воспаления. Выявляемые при гистологическом исследовании вышеописанные очаги одинаковой давности, без признаков организации (рис. 4). Их монотипность отражает стремительность развития туберкулезной диссеминации с одновременным формированием множественных очагов практически во всех органах и свидетельствует об остром прогрессировании заболевания.

Перифокально формируется выраженная экссудативная тканевая реакция, признаки повышения проницаемости стенок сосудов (отек сосудистой стенки, плазматическое пропитывание), острый или подострый васкулит реактивного харак-

тера. Учитывая преобладание гематогенной генерализации туберкулеза у иммунокомпрометированных пациентов, формируется и туберкулезный васкулит, который по микроскопическим изменениям может быть идентичен острому васкулиту или тромбоваскулиту вследствие утраты признаков гранулематозного воспаления (рис. 5 а).

Таким образом, туберкулезное воспаление в условиях глубокой иммуносупрессии протекает с выраженными альтеративной (некротической) и экссудативной тканевыми реакциями при отсутствии продуктивного компонента в виде гранулемообразования.

Как известно из литературных данных, гистобактериоскопия по Цилю – Нельсену при ВИЧ-ассоциированном туберкулезе эффективна в 80% случаев, что приближается к эффективности иммуногистохимического исследования с туберкулезными антителами [4]. Кислотоустойчивые бактерии располагаются в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов, а также внеклеточно вблизи разрушенных лейкоцитов, в казеозно-некротических массах, в детрите язвенных дефектов (рис. 5 б) [1, 13, 16, 19]. ИГХ подтверждает принадлежность возбудителя к роду микобактерий [8, 17, 18, 21], а ПЦР-исследование материала из парафинового блока устанавливает принадлежность микроорганизмов, определяя ДНК *M. tuberculosis complex* [9, 12, 22].

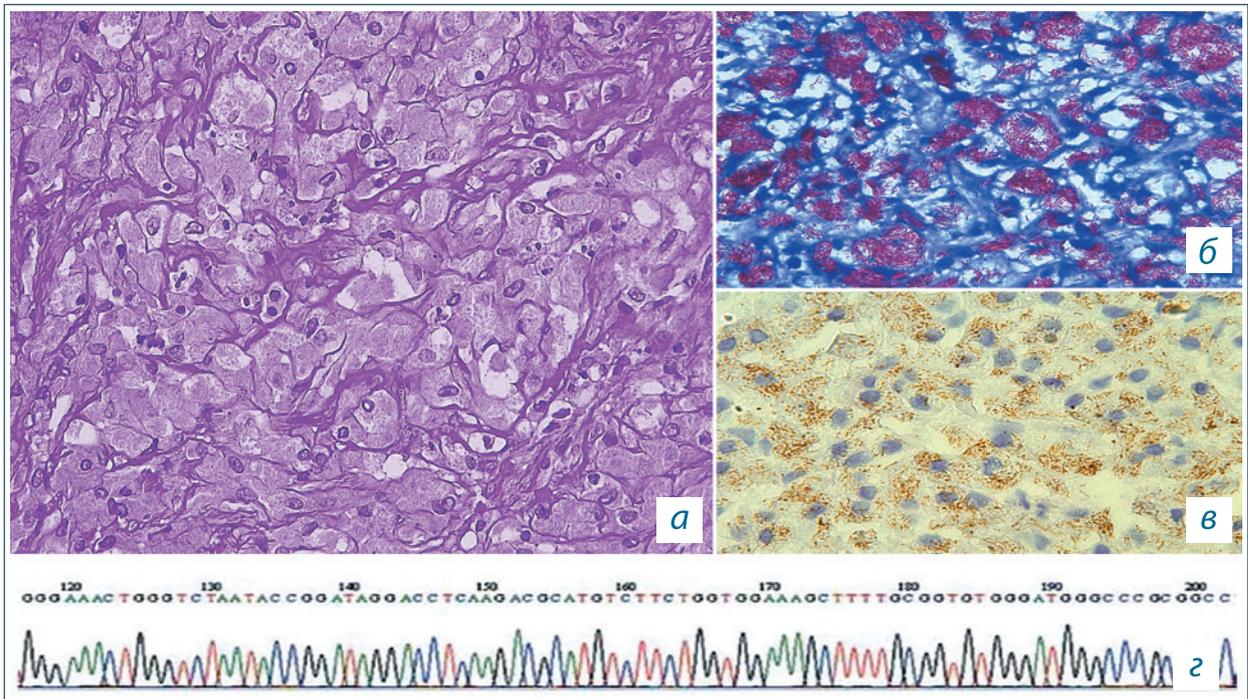


Рис. 6. ВИЧ-ассоциированный нетуберкулезный микобактериоз MAC: а) очаг воспаления из гистиоцитов, ×400; б) кислотоустойчивые бактерии в цитоплазме макрофагов в количестве, не поддающемся подсчету (окрашены в красный цвет), ×1000; в) микобактерии в цитоплазме макрофагов в количестве, не поддающемся подсчету (окрашены в коричневый цвет), ×1000; г) выявление ДНК MAC при ПЦР-исследовании. а – окраска гематоксилином и эозином; б – окраска по Цилю – Нельсену; в – иммуногистохимическое исследование с туберкулезными антителами; г – ПЦР-исследование

Fig. 6. HIV-associated non-tuberculosis mycobacteriosis by weight: a) a focus of inflammation from histiocytes, × 400; b) acid-resistant bacteria in the cytoplasm of macrophages in an amount that cannot be counted (colored red), × 1000; c) mycobacteria in the cytoplasm of macrophages in an amount that cannot be counted (colored brown color), ×1000; d) detection of MAC DNA during PCR examination. a – hematoxylin and eosin staining; б – Ziehl – Neelsen staining; в – immunohistochemical study with tuberculosis antibodies; г – PCR study

При морфологическом изучении операционного или биопсийного материала от пациентов с ВИЧ-инфекцией необходимо помнить о микобактериозе, вызванном нетуберкулезными микобактериями комплекса *M. avium-intracellulare complex* (MAC).

ВИЧ-ассоциированный нетуберкулезный микобактериоз MAC в большинстве случаев имеет генерализованный характер, с преимущественным поражением лимфатических узлов и органов брюшной полости (печени, селезенки, поджелудочной железы, кишечника). Поражение легких и других органов, лимфатических узлов различных групп вне брюшной полости также встречается, но реже. Макроскопическая картина с милиарной или мелкоочаговой диссеминацией в различных органах и тотальным казеозным лимфаденитом совершенно неотличима от изменений при генерализованном ВИЧ-ассоциированном туберкулезе. Конгломерат пораженных мезентериальных лимфатических узлов с распространением воспаления на стенку прилежащей кишки при микобактериозе MAC часто имеет вид лимфопролиферативного заболевания лимфатических узлов и органов брюшной полости. Гистологическое исследование с обзорной микроскопией не всегда позволяет достоверно идентифицировать патологический процесс, поскольку микобактериоз MAC проявляется такими морфологическими изменениями, как выраженная макрофа-

гальная реакция из мимоморфных округлых или полигональных макрофагов с мелкозернистой слегка матовой светлой цитоплазмой и округлым ядром. Подобные клетки выявляют при новообразованиях гистиоцитарного ряда или при почечно-клеточном раке, что без дополнительных гистохимического и гистобактериоскопического исследований приведет к диагностической ошибке, гипердиагностике злокачественных новообразований и пропуску инфекционной патологии (рис. 6 а). Кроме того, при этом заболевании в участках поражения могут формироваться казеозно-некротические очаги и очень «стертое» гранулематозное воспаление из вышеописанных клеток и мелких нечетких макрофагально-эпителиоидных гранул, характерных для туберкулезного воспаления. Еще одним фактором, который провоцирует диагностические морфологические ошибки, является формирование очень мелких макрофагальных стертых гранул, которые исследователь может расценить как микроскопически малые мононуклеарные инфильтраты реактивного характера и игнорировать.

Гистобактериоскопия по Цилю – Нельсену выявляет кислотоустойчивые бактерии, которые локализуются в цитоплазме макрофагов в количестве, не поддающемся подсчету. Подобная картина наблюдается и при иммуногистохимическом исследовании. Такой результат гистобактериоскопии и ИГХ

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТОДОМ ПЦР**

**ФИО** вид материала мягкие ткани,  
**пол** мужской проведен ПЦР-контроль чистоты  
**возраст** 1 гистологической проводки и парафина  
**клиника** ДГКБ св. Владимира, дата взятия материала 25.10.2019  
**консультация** № парафинового блока:  
**№ медицинской карты -** вид оперативного вмешательства –  
**Отделение -** экстракция ДНК парафиновый блок  
 наборы реагентов АмплиСенс® МТC-FL,  
 АмплиСенс® МТC-diff-FL.

**Результат:**

| Вид исследования  | Результат              | Комментарии       |
|---|------------------------|-------------------|
| Обнаружение ДНК <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex ( <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. bovis</i> BCG и др.)                       | <b>ОБНАРУЖЕНА</b>      | -                 |
| Дифференциация видов, принадлежащих к <i>Mycobacterium tuberculosis</i> complex ( <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. bovis</i> , <i>M. bovis</i> BCG и др.) | <i>M. tuberculosis</i> | Не обнаружена     |
|   | <i>M. bovis</i>        | Не обнаружена     |
|   | <i>M. bovis</i> BCG    | <b>ОБНАРУЖЕНА</b> |

Рис. 7. Осложненный вакцинный процесс: а) казеозный некроз с эпителиоидноклеточной реакцией по периферии; б) кислотоустойчивые бактерии в некротических массах (окрашены в красный цвет); в) гранулематозная реакция в участке поражения; г) результат ПЦР-исследования с выявлением ДНК *M. bovis* BCG. Окраска гематоксилином и эозином,  $\times 100$

Fig. 7. Complicated vaccine process: a) caseous necrosis with epithelioid cell reaction along the periphery; б) acid-resistant bacteria in necrotic masses (colored red); в) granulomatous reaction in the affected area; г) the result of a PCR study with the detection of *M. bovis* BCG DNA. Staining with hematoxylin and eosin,  $\times 100$

позволяет провести предварительную дифференциальную диагностику между нетуберкулезным микобактериозом МАС и туберкулезным воспалением, поскольку при прогрессирующем туберкулезе кислотоустойчивые бактерии визуализируются в цитоплазме нейтрофильных лейкоцитов, а также внеклеточно и в некротических массах, и количество бактерий значительно меньше (рис. 6 б, в). При исследовании микропрепаратов с окраской по Цилю – Нельсену можно выявить макрофаги, нагруженные микобактериями в стенке сосудов, в просвете сосудов среди клеточных элементов крови, то есть констатировать развитие микобактериального васкулита и предположить гематогенную генерализацию инфекционного процесса. Причем при обзорной микроскопии выявить вовлечение в процесс кровеносных сосудов при нетуберкулезном микобактериозе МАС крайне проблематично. Окончательно судить о микобактериозе МАС позволяют результаты молекулярно-биологического исследования – ПЦР-исследование материала из парафинового блока с выявлением ДНК МАС при отсутствии ДНК МБТ (рис. 6 г).

Осложнение вакцинного процесса, в большинстве случаев имеет микроскопическую картину, аналогичную туберкулезу, то есть гистологически проявляется наличием участков казеозного некроза и гранулематозного воспаления с выявлением возбудителя при гистобактериоскопии по Цилю – Нельсену и при ИГХ с туберкулезными антителами (рис. 7 а, б, в). У детей

с подавлением иммунитета отмечено формирование гранулематозного лимфаденита с преобладанием гистиоцитарной (макрофагальной) реакции с большим количеством кислотоустойчивых бактерий в цитоплазме макрофагов, выявляемых при гистобактериоскопии по Цилю – Нельсену, что придает сходство с ВИЧ-ассоциированным микобактериозом МАС (рис. 8).

Клинические данные о возрасте пациента, наличие в анамнезе вакцинации БЦЖ (BCG), локализация процесса (левая верхняя конечность, мягкие ткани левой половины грудной клетки, деструктивные изменения в грудине) имеют большое значение для патологоанатома. Критерием, позволяющим предположить поствакцинальную этиологию процесса, является возраст ребенка от 6 месяцев до 1 года (возможно и немного старше) и ограниченность очага поражения. Критерием, позволяющим исключить вакцинальную этиологию процесса, является отсутствие факта вакцинации ребенка против туберкулеза.

Видовую идентификацию вакцинного штамма BCG можно провести с использованием молекулярно-биологического исследования (ПЦР) материала из парафинового блока (рис. 7 г).

Осложнение при проведении BCG-терапии рака мочевого пузыря развивается у взрослых людей. При работе с материалом от таких больных морфолог должен иметь клиническую информацию о проведении БЦЖ-терапии. При этом методе

Tuberculosis and socially significant diseases • 2023. – Vol. 11. – # 3 (43)

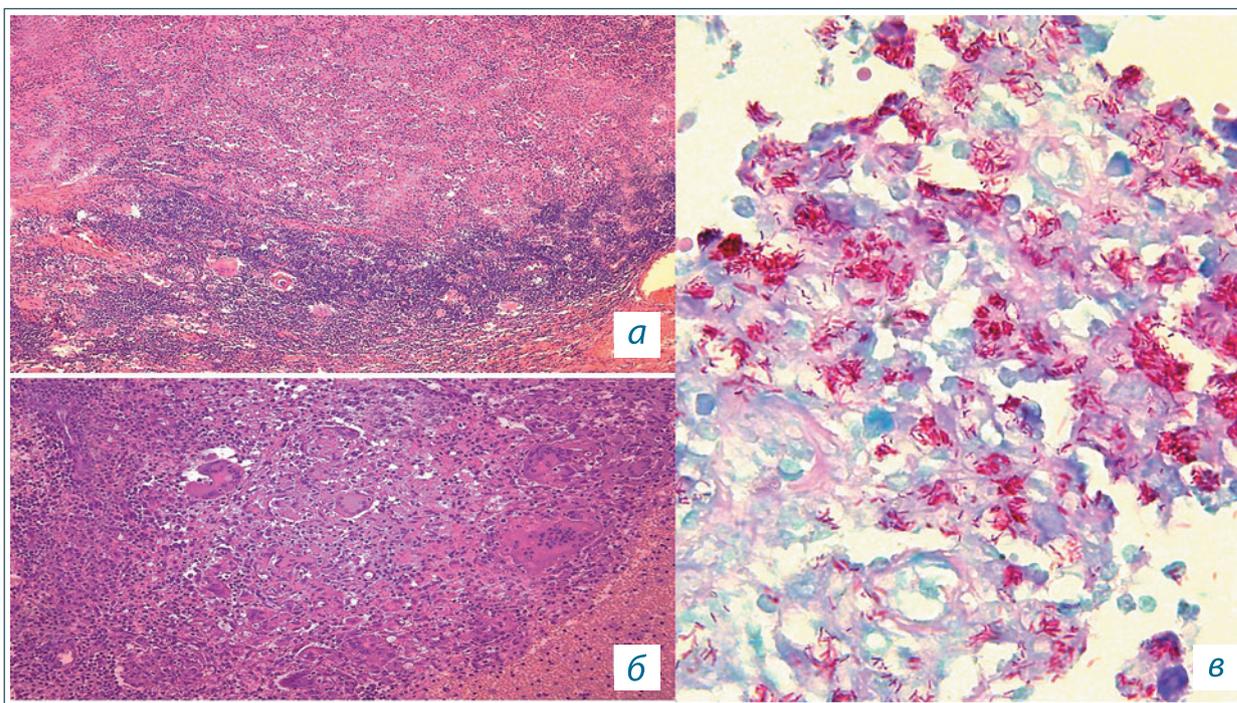


Рис. 8. Осложненный вакцинный процесс у ребенка с подавлением иммунитета. Лимфатический узел: а) преобладание гистиоцитарной (макрофагальной) реакции в участке воспаления,  $\times 100$ ; б) макрофагально-гигантоклеточная реакция в участке воспаления,  $\times 100$ ; в) в цитоплазме макрофагов кислотоустойчивые бактерии в большом количестве (окрашены в красный цвет),  $\times 1000$ . а, б – окраска гематоксилином и эозином; в – окраска по Цилю – Нельсену

Fig. 8. Complicated vaccine process in a child with suppressed immunity. Lymph node: a) predominance of histiocytic (macrophage) reaction in the site of inflammation,  $\times 100$ ; б) macrophage-giant cell reaction in the site of inflammation,  $\times 100$ ; в) acid-resistant bacteria in large numbers in the cytoplasm of macrophages (colored red),  $\times 1000$ . а, б – staining with hematoxylin and eosin; в – staining by Ziehl-Neelsen

производится внутривузырное введение вакцины БЦЖ, представляющей собой суспензию ослабленных жизнеспособных бацилл Кальметта – Герена (*Calmette – Guerin*). При реакции на вакцину происходит стимуляция активности иммунных факторов с последующим уничтожением атипичных клеток. При таком БЦЖ-ите гранулематозное или гранулематозно-некротическое воспаление выявляется в биопсийном или операционном материале мочевого пузыря, в предстательной железе. Генерализованный БЦЖ-ит может привести к смерти пациента. Генерализованные формы БЦЖ-ита развиваются, вероятно, при каком-либо первичном иммунодефицитном состоянии или при вторичном иммунодефиците при терапии онкологического процесса (лучевая терапия, химиотерапия). Микроскопическая картина идентична изменениям при туберкулезном простатите или туберкулезном цистите. Наиболее точную информацию можно получить при молекулярно-биологическом исследовании материала с выявлением ДНК микобактерий вакцинного штамма БЦЖ.

Несмотря на хорошо известные морфологам микроскопические изменения при микобактериальном поражении, существуют другие гранулематозные процессы (в том числе инфекционные, речь о которых пойдет ниже), с которыми приходится проводить дифференциальную диагностику. Это бывает крайне затруднительно ввиду практически идентичной

микроскопической картины, микроскопически малого размера возбудителей, что требует обязательного проведения комплексного морфологического исследования с применением гистохимических, иммуногистохимических и молекулярно-биологических методов исследования для определения характера гранулематозного процесса и идентификации возбудителя в гистологических срезах или в материале из парафинового блока. Наиболее часто приходится дифференцировать воспаление при микобактериальном поражении и микотическом (грибковом) процессе.

При **микотическом поражении** макроскопическая картина может проявляться участками некрозов, диссеминацией, абсцессами в различных органах, в мягких тканях – изменениями по типу флегмоны, в легких – пневмонией. Воспалительные изменения при микотическом поражении носят в большинстве случаев гранулематозный или гранулематозно-некротический характер и при обзорной микроскопии идентичны морфологической картине туберкулеза. Обращают на себя внимание такие неявные на первый взгляд признаки, как преобладание гигантоклеточной реакции с наличием гигантских многоядерных клеток типа инородных тел, эозинофильная тканевая реакция с диффузным или локальным расположением эозинофильных лейкоцитов, развитие васкулитов и тромбоваскулитов. Кроме того, отсутствие кислотоустойчивых

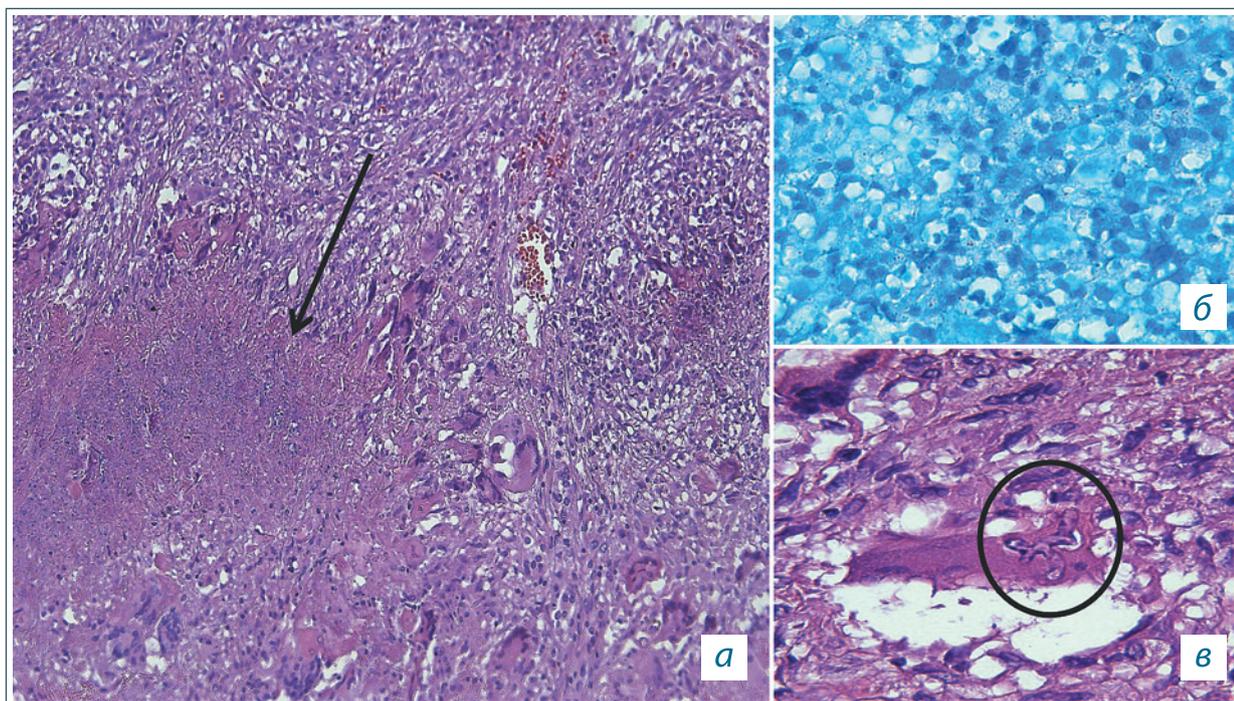


Рис. 9. Микотическое поражение: а) очаг некроза с гранулематозной реакцией по периферии, сходный с очагом туберкулезного воспаления,  $\times 40$ ; б) отсутствие кислотоустойчивых бактерий в участке воспаления,  $\times 400$ ; в) муконовый гриб (в круглой рамке) в цитоплазме гигантской многоядерной клетки в участке гранулематозного воспаления,  $\times 1000$ . а, в – окраска гематоксилином и эозином; б – окраска по Цилю – Нельсену

Fig. 9. Mycotic lesion: а) necrosis focus with granulomatous reaction along the periphery, similar to the focus of tuberculous inflammation,  $\times 40$ ; б) absence of acid-resistant bacteria in the inflammation site,  $\times 400$ ; в) mucor fungus (in a round frame) in the cytoplasm of a giant multinucleated cell in the granulomatous inflammation site,  $\times 1000$ . а, в – hematoxylin and eosin staining; б – Ziehl – Neelsen staining

бактерий/микобактерий при гистобактериоскопическом исследовании по Цилю – Нельсену/иммуногистохимическом исследовании с туберкулезными антителами, отрицательный результат молекулярно-биологического исследования на выявление ДНК МБТ в материале из парафинового блока не очень типично при микроскопической картине активного воспаления (рис. 9 а, б).

При выявлении такого несоответствия следует расширить морфологический диагностический поиск, прежде всего начав с самого простого – дорезки парафинового блока с получением дополнительных гистологических срезов, в которых могут быть выявлены структуры гриба при обычной обзорной окраске (рис. 9 в). Кроме того, определить элементы гриба возможно при таких гистохимических окрасках, как PAS-реакция (ШИК-реакция) – окраска на гликопротеиды, являющиеся составным элементом оболочки гриба; окраска серебрением по Грокотту; окраска по Броун – Хоппсу (Brown – Horrs), альциановым синим (рис. 10 а, б, в). Необходимо помнить, что структуры некоторых видов гриба могут слабо принимать вышеуказанные окраски, например, грибы класса зигомицеты, род мукор (рис. 10 г, д). Выявление микотического васкулита или тромбоваскулита свидетельствует о развитии инвазивного микоза и может быть признаком генерализации процесса, что в ряде случаев приводит к гибели больного.

**Пневмоцистная пневмония**, относящаяся также к микозам, имеет достаточно характерную микроскопическую картину с наличием в просвете альвеол пенистого эозинофильного экссудата с очень мелкими слабо-базофильными включениями и обычно не вызывает трудностей верификации процесса даже при обзорной микроскопии. Экссудат при гистохимическом исследовании дает отрицательный результат при окраске на фибрин и PAS-положительную реакцию. Однако при ателектатической стадии пневмоцистной пневмонии возможно разрушение межальвеолярных перегородок (особенно при рецидивирующем течении заболевания) с образованием обширных скоплений эозинофильных масс, сходных с некротическими. Также отмечается формирование полостей распада, стенки которых представлены вышеописанными эозинофильными массами. В процессе организации в скоплениях эозинофильных масс и в стенках полостей могут формироваться мелкие кальцинаты. Эти изменения бывают ошибочно приняты морфологом за микобактериальное поражение. Кроме того, при генерализованном пневмоцистозе отмечается милиарная диссеминация, практически идентичная некротическим милиарным очагам при туберкулезе (рис. 11 а, б).

В большинстве случаев достаточно провести гистобактериоскопию по Цилю – Нельсену и параллельно в срезах с этих же блоков выполнить PAS-реакцию. При пневмоцистозе

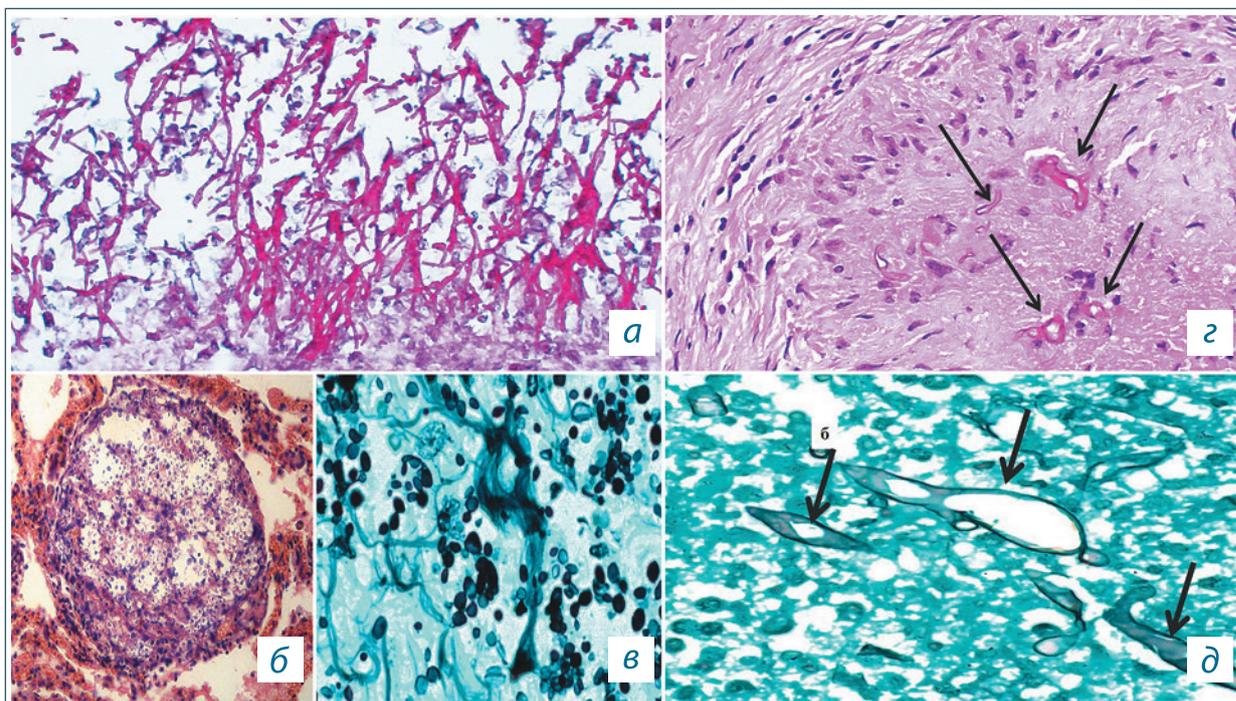


Рис. 10. Микотическое поражение: а) кандидоз пищевода (мицелий гриба окрашен в малиновый цвет); б, в) криптококкоз легкого, мелкие округлые структуры криптококков; г, д) муконовый гриб (структуры гриба указаны стрелками). а – PAS-реакция; б, г – окраска гематоксилином и эозином; в, д – окраска по Грокотту. а, б –  $\times 100$ ; в, г –  $\times 200$ ; д –  $\times 1000$

Fig. 10. Mycotic lesion: а) candidiasis of the esophagus (mycelium of the fungus is colored crimson); б, в) lung cryptococcosis, small rounded structures of cryptococci; г, д) mucor fungus (mushroom structures are indicated by arrows). а – PAS-reaction; б, г – hematoxylin and eosin staining; в, д – Grocott staining. а, б –  $\times 100$ ; в, г –  $\times 200$ ; д –  $\times 1000$

кислотоустойчивые бактерии не выявляются, а эозинофильные массы, сходные с казеозно-некротическими, окрасятся в ярко-малиновый цвет за счет наличия в них большого количества пневмоцист. В сомнительных случаях применяется окраска серебрением по Грокотту, при которой пневмоцисты приобретают черный или серо-черный цвет (рис. 11 в, г). Наиболее эффективной и видоспецифичной является иммуногистохимическое исследование с пневмоцистными антителами (рис. 11 д, е).

**Актиномикотическое поражение** вызывают грамположительные микроорганизмы – актиномицеты или актинобактерии (Actinobacteria), часть из которых способна формировать ветвящиеся нитевидные структуры, похожие на мицелий гриба, чем обусловлено устаревшее название актиномикоза – «лучистый грибок» (рис. 12 а). Вокруг этих структур может сформироваться гранулематозно-некротическое воспаление, подобное туберкулезному. Актиномикоз поражает различные органы и мягкие ткани, в нашей практике встретилось несколько случаев с актиномикотическим поражением миндалин. При выявлении в гистологическом препарате достаточно крупной друзы актиномицет диагностика не вызвала особых затруднений. В случаях малых размеров друзы или наличия в срезе только ее микроскопически малой частицы PAS-реакция и окраска по Грокотту дают окрашивание, характерное для грибов, о чем говорилось выше (рис. 12 б, в). При

окраске по Цилю – Нельсену нитевидные структуры друзы окрашиваются в темно-синий цвет, а кислотоустойчивые бактерии выявляться не будут. Молекулярно-биологическое исследование фрагмента из парафинового блока не обнаружит ДНК микобактерий туберкулеза.

При **гельминтозах** гистологические изменения нередко проявляются гранулематозно-некротическим воспалением (рис. 13 а), причем в гистологический срез далеко не всегда могут попасть элементы паразита или гельминта. Признаки, на которые следует обращать внимание, – это эозинофильная тканевая реакция, возможно, большое количество гигантских многоядерных клеток в участках гранулематозного воспаления. При отрицательных результатах комплексного морфологического исследования на микобактериальные инфекции и наличии описанных выше микроскопических особенностей гранулематозно-некротического воспаления следует выполнить серийные срезы с парафинового блока для получения материала из более глубоких участков исследуемого фрагмента. В полученных срезах могут быть выявлены элементы гельминта (рис. 13 б, в, г, д), которые обычно дают хорошую положительную PAS-реакцию с типичным малиновым окрашиванием (рис. 13 е). Эта окраска бывает особенно ценной при мелких частицах гельминта в некротических массах или в участках гранулематозного воспаления, которые могут быть мало заметны при обзорной микроскопии.

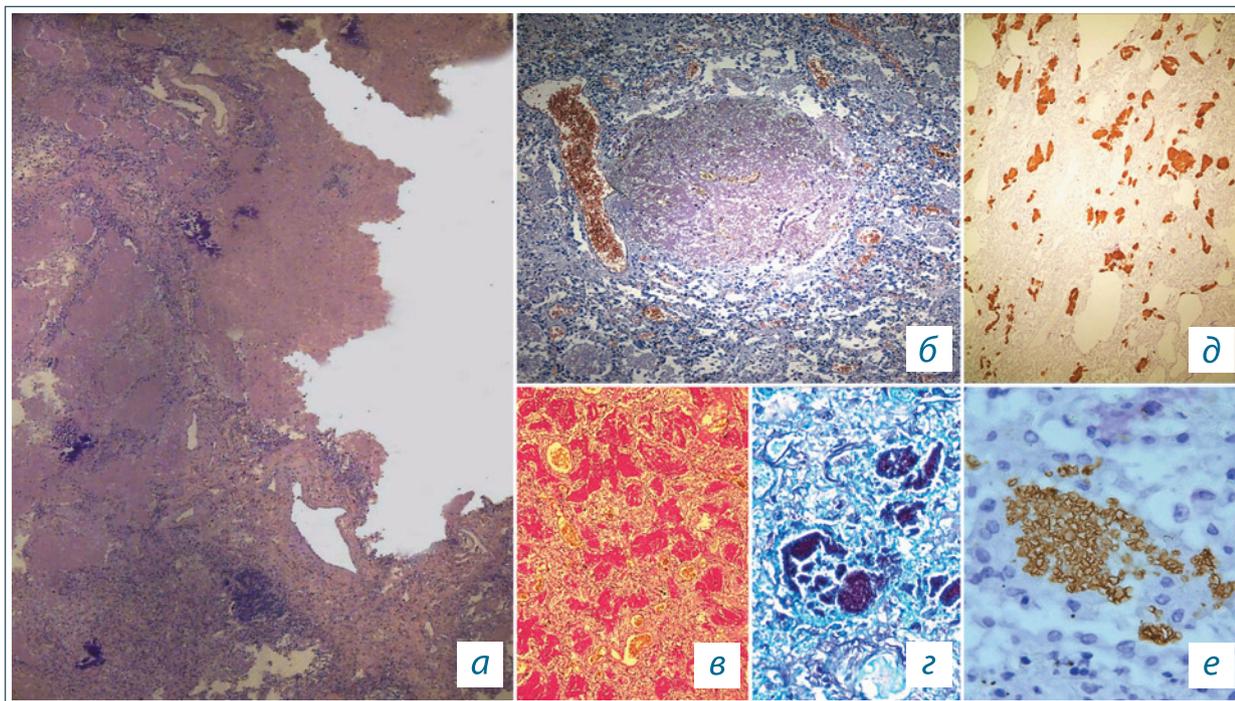


Рис. 11. Генерализованный пневмоцистоз: а) разрушение межальвеолярных перегородок с формированием обширных эозинофильных участков с мелкими кальцинатами, полость распада в участке пневмоцистной пневмонии; б) милиарный периваскулярный очажок в селезенке при генерализованном пневмоцистозе; в) пневмоцисты (окрашены в малиновый цвет); з) пневмоцисты (окрашены в черный цвет); д, е) пневмоцисты (окрашены в коричневый цвет). а, б – окраска гематоксилином и эозином; в – PAS-реакция; з – окраска по Грокотту; д, е – иммуногистохимическая реакция с пневмоцистными антителами. а, б, в, д –  $\times 100$ ; з –  $\times 200$ ; д –  $\times 400$

Fig. 11. Generalized pneumocystosis: a) destruction of the interalveolar septa with the formation of extensive eosinophilic sites with small calcinates, a decay cavity in the site of pneumocystic pneumonia; б) miliary perivascular lesion in the spleen with generalized pneumocystosis; в) pneumocysts (colored crimson); з) pneumocysts (colored black); д, е) pneumocysts (colored brown). а, б – hematoxylin and eosin staining; в – PAS-reaction; з – Grocott staining; д, е – immunohistochemical reaction with pneumocystic antibodies. а, б, в, д –  $\times 100$ ; з –  $\times 200$ ; д –  $\times 400$

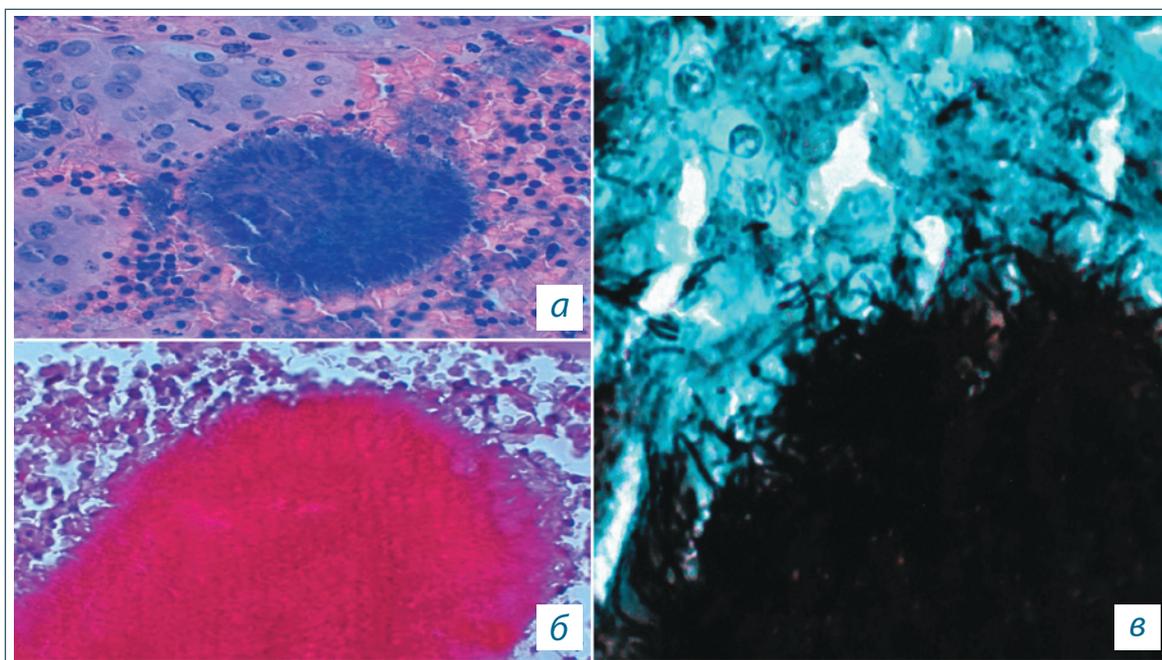


Рис. 12. Актиномикоз: а) «лучистая» друза,  $\times 100$ ; б) положительная PAS-реакция, друза актиномицет окрашена в малиновый цвет,  $\times 200$ ; в) друза актиномицет с ветвящимися нитевидными структурами по краю,  $\times 1000$ . а – окраска гематоксилином и эозином; б – PAS-реакция; в – окраска по Грокотту

Fig. 12. Actinomycosis: а) «radiant» druse,  $\times 100$ ; б) positive PAS-reaction, actinomycete druse is colored crimson,  $\times 200$ ; в) actinomycete druse with branching filamentous structures along the edge,  $\times 1000$ . а – staining with hematoxylin and eosin; б – PAS-reaction; в – Grocott coloring

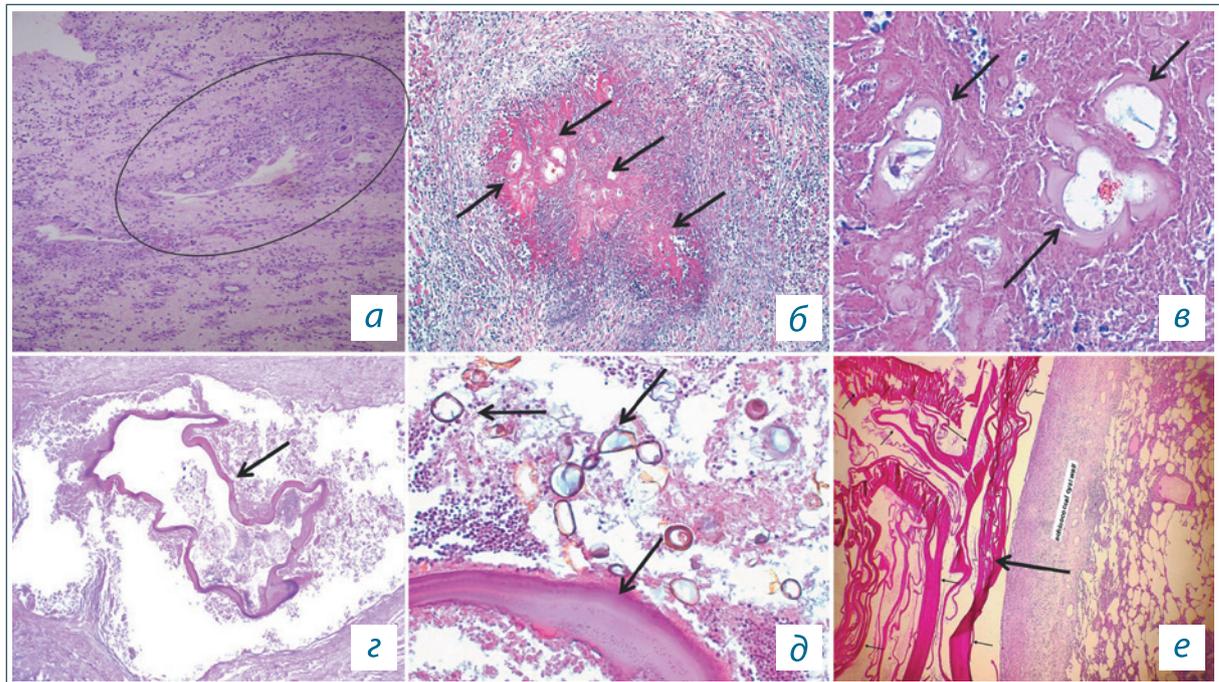


Рис. 13. Эхинококкоз и альвеококкоз. а) гранулематозная реакция в участке гельминтозного поражения легкого; б) печень, мелкие элементы гельминтов в некрозе; в) участок рис. б; г) печень, элементы гельминта в участке некроза; д) участок рис. г; е) легкое, элементы эхинококка в легком. а, б, г, д – окраска гематоксилином и эозином; е – PAS-реакция. а, б, г, е –  $\times 40$ ; в –  $\times 200$ ; д –  $\times 400$

13. Echinococcosis and alveococcosis. а) granulomatous reaction in the site of helminthic lung lesion; б) liver, small elements of helminths in necrosis; в) plot fig. б; г) liver, helminth elements in the necrosis site; д) участок рис. г; е) lung, elements of echinococcus in the lung. а, б, в, г, д – staining with hematoxylin and eosin; е – PAS-reaction. а, б, г, е –  $\times 40$ ; в –  $\times 200$ ; д –  $\times 400$

### Заключение

Инфекционные гранулематозные процессы, несмотря на сходство микроскопической картины, имеют свои особенности, что позволяет дифференцировать их при микроскопическом изучении. Современные методы морфологического исследования дают возможность в достаточно многих случаях определить инфекционный агент при дифференциальной диагностике различных гранулематозных/гранулематозно-некротических процессов. Именно идентификация возбудителя

заболевания в гистологическом материале дает возможность корректно верифицировать заболевание. Во избежание диагностических ошибок, особенно при прижизненной диагностике, необходимо учитывать анамнестические, клинические и лабораторные данные, состояние иммунного статуса и микроскопические особенности различных гранулематозных процессов. Это снижает возможность диагностических ошибок и в ряде случаев сокращает время обследования пациента.

### Литература

1. Агапов М.М. Патологоанатомическая и комплексная гистобактериоскопическая характеристика отдельных форм туберкулеза, в том числе в сочетании с ВИЧ-инфекцией: Дисс. ... канд. мед. наук. – 2022. – 148 с.
2. Альварес Фигероа М.В., Долгова Е.А., Флигиль Д.М. Особенности применения метода ПЦР для анализа материала парафиновых блоков при дифференциальной диагностике туберкулеза // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 9. – Ч. 4. – С. 63.
3. Гринберг Л.М., Баранова Е.Ю., Кондрашов Д.Л. Гистобактериоскопия в морфологической диагностике туберкулеза легких: пособие для врачей. – Екатеринбург, 2005. – 18 с.
4. Зими́на В.Н. Совершенствование диагностики и эффективность лечения туберкулеза у больных ВИЧ-инфекцией при различной степени иммуносупрессии : Дисс. ... д-ра мед. наук. – М., 2012. – 299 с.
5. Зюзя Ю.Р., Зими́на В.Н., Альварес Фигероа М.В., Пархоменко Ю.Г., Долгова Е.А. Морфологическая характеристика ВИЧ-ассоциированного туберкулеза в зависимости от количества CD4+ лимфоцитов в периферической крови // Архив патологии. – 2014. – № 5. – С. 33-37.
6. Зюзя Ю.Р., Пархоменко Ю.Г., Зими́на В.Н., Альварес Фигероа М.В. Морфологическая верификация ВИЧ-ассоциированного микобактериоза, вызванного нетуберкулезными микобактериями *M. avium* complex // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2015. – № 3. – С. 11-21.
7. Зюзя Ю.Р., Пархоменко Ю.Г., Зими́на В.Н., Долгова Е.А., Альварес М.В. ВИЧ-ассоциированный микобактериоз, вызванный нетуберкулезными микобактериями *M. avium*. Особенности морфологической верификации // Туберкулез и болезни легких. – 2015. – № 7. – С. 56-57.

8. Зюзя Ю.Р., Кузина М.Г., Пархоменко Ю.Г. Морфологические особенности микобактериозов, вызванных нетуберкулезными микобактериями // Клиническая и экспериментальная морфология. – 2017. – № 4. – С. 4-14.
9. Зюзя Ю.Р. Возможности морфологической верификации ВИЧ-ассоциированных инфекционных поражений в биопсийном материале // Туберкулез и социально значимые заболевания. – 2021. – Т. 9. – № 3. – С. 26-36.
10. Пархоменко Ю.Г., Зюзя Ю.Р. Патологоанатомическая диагностика ВИЧ-ассоциированных инфекций. Методические рекомендации. – М.: 4МПресс. – 2012.
11. Пархоменко Ю.Г., Зюзя Ю.Р., Мазус А.И. Морфологические аспекты ВИЧ-инфекции. – М.: Литерра, 2016. – 168 с.
12. Севостьянова Т.А., Борисов С.Е., Аксенова В.А., Зюзя Ю.Р., Белиловский Е.И. Доказательная диагностика туберкулеза и осложнений вакцинации БЦЖ у детей с помощью молекулярно-генетических методов // Туберкулез и социально значимые заболевания. – 2017. – № 3. – С. 12-18.
13. Синицын М.В., Скопин М.С., Решетников М. Н., Плоткин Д.В., Зюзя Ю.Р., Соколова И.А. Дифференциальная диагностика лимфаденопатии брюшной полости у больных ВИЧ-инфекцией // Туберкулез и болезни легких. – 2019. – Т. 97. – № 2. – С. 5-11.
14. Струков А., Кауфман О. Гранулематозное воспаление и гранулематозные болезни. – М.: Медицина, 1989. — 182 с.
15. Цинзерлинг В.А. Важнейшие проблемы морфологической диагностики ВИЧ-инфекции // ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия. – 2009. – № 2. – С. 31-37.
16. Цинзерлинг В.А., Свистунов В.В., Бубочкин А.Б. Туберкулез в сочетании с ВИЧ-инфекцией: морфологические аспекты // Туберкулез и болезни легких. – 2014. – № 9. – С. 74-75.
17. Цинзерлинг В.А. Морфологическая диагностика туберкулеза в современных условиях // Архив патологии. – 2015. – № 3. – С. 3-9.
18. Цинзерлинг В.А., Агапов М.М. Современные подходы к морфологической диагностике туберкулеза // Туберкулез и болезни легких. – 2017. – Т. 95. – № 2. – С. 7-12.
19. Цинзерлинг В.А., Агапов М.М., Орлов А.Н. Информативность различных методов идентификации кислотоустойчивых микобактерий в зависимости от степени активности туберкулезного процесса // Архив патологии. – 2018. – № 3. – С. 40-45.
20. Цинзерлинг В.А., Карев В.Е., Зюзя Ю.Р., Пархоменко Ю.Г. Посмертная и прижизненная патологоанатомическая диагностика болезни, вызванной ВИЧ (ВИЧ-инфекцией). Иллюстрированные клинические рекомендации. – М.: Практическая медицина, 2021. – 96 с.
21. Эллиниди В.Н., Ариэль Б.М., Самусенко И.А., Туголукова Л.В. Иммуногистохимический метод в диагностике туберкулеза // Архив патологии. – 2007. – № 5. – С. 36-38.
22. Mukhopadhyay S., Gal A.A. Granulomatous lung disease an approach to the differential diagnosis // Pathol. Lab. Med. – 2010. – Vol 134. – P. 667-690.
23. Zinserling V. Infectious Pathology of the Respiratory Tract / V. Zinserling with Contributions by Y.R. Zyuzya, V.V. Svistunov, V.V. Varyasin. – Springer (Springer Nature Switzerland AG). – 2021. – P. 259.
24. Zinserling V. Infectious Lesions of the Central Nervous System / V. Zinserling with Contributions by Y.R. Zyuzya ... – Springer (Springer Nature Switzerland AG). – 2022. – P. 362.

**Об авторе**

**Зюзя Юлия Рашидовна** – заведующая патологоанатомическим отделением, ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. +7 (916) 550-28-95

e-mail: zuzaju@mail.ru