

УДК 616.24-002.54/.57.036.65-07-091.8:576.852.211

*І.В. Ліскіна,  
Л.М. Загаба,  
С.Д. Кузовкова,  
О.О. Мельник*

ДУ "Національний інститут фтизіатрії і  
пульмонології ім. Ф.Г. Яновського  
НАМН України"

## ЧАСТОТА ВИЯВЛЕННЯ І ОСОБЛИВОСТІ ЛОКАЛІЗАЦІЇ МІКОБАКТЕРІЙ ТУБЕРКУЛЬОЗУ У ФАЗУ ПРОГРЕСУВАННЯ ФІБРОЗНО- КАВЕРНОЗНОГО ТУБЕРКУЛЬОЗУ ЛЕГЕНЬ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ МЕТОДИКИ ГІСТОБАКТЕРІОСКОПІЇ

**Ключові слова:** прогресуючий  
фіброзно-кавернозний туберкульоз  
легень, кислотостійкі мікобактерії,  
гістобактеріоскопія.

**Резюме.** У статті представлені результати прямого виявлення мікобактерій в гістологічних зрізах із використанням двох гістохімічних методів, що дозволило встановити частоту виявлення кислотостійких мікобактерій (КСМ) та особливості їх локалізації в легеневій тканині при прогресуючому фіброзно-кавернозному туберкульозі легень. Установлено, що в казеозно-некротичному вмісті каверни при забарвленні кітом "Tb-fluor" вірогідно частіше виявлялися типові паличковидні форми бактерій, ніж при забарвленні за Цілем-Нільсеном - 100,0 % проти 64,0 %. У грануляційному та фіброзному шарах каверни частота виявлення КСМ приблизно однакова, та становить 64,0 % випадків при застосуванні кіта "Tb-fluor" і 52,0 % випадків при методі Ціля-Нільсена. У перифокальних ділянках, та на віддаленні від каверни, типові паличковидні КСМ визначаються у більшому відсотку випадків при використанні "Tb-fluor" порівняно до забарвлення за Цілем-Нільсеном - 21 (84,0 %) і 20 (80,0 %) проти 18 (72,0 %) і 19 (76,0 %) випадків відповідно. Застосування методу Ціля-Нільсена дозволило виявляти КСМ всередині пінистих макрофагів, розташованих у капсулі каверни, у перикавітарній зоні та на віддаленні від каверни - у 21 (84,0 %), 22 (88,0 %) та 25 (100,0 %) випадках відповідно. Прояви корд-фактору спостерігали при застосуванні обох гістохімічних методів: у 8 (33,3 %) випадках при забарвленні за Цілем-Нільсеном та у 10 випадках (40,0 %) при флуоресцентному методі. Ефективність виявлення КСМ методом гістобактеріоскопії виявилися вищою порівняно з результатами мікробіологічного дослідження харкотиння та/або операційного матеріалу - 100,0 % проти 64,0 % відповідно.

### Вступ

Останні два десятиліття характеризуються негативним патоморфозом як клінічних, так і морфологічних проявів легеневого туберкульозу. На теперішній час, не дивлячись на суттєві успіхи у вирішенні низки проблем щодо подолання епідемії туберкульозу в Україні, спостерігається збільшення питомої ваги інкапсульованих та деструктивних форм легеневого туберкульозу, у тому числі - частки фіброзно-кавернозного туберкульозу (ФКТ) [3].

Наразі ФКТ легень залишається однією з поширених форм вторинного туберкульозу легень у зв'язку з тим, що він є наслідком прогресування багатьох інших форм легеневого туберкульозу.

Згідно сучасного протоколу ведення туберкульозу, діагноз його вірогідно може бути встановлений лише при виявленні збудника

хвороби - кислотостійких мікобактерій (КСМ). У сучасній клінічній практиці головним методом діагностики залишається бактеріоскопія - мікроскопічне дослідження мазка харкотиння, окрім того, широко розповсюджені культуральний посів та молекулярно-генетичні дослідження харкотиння та/або операційного матеріалу у випадках хірургічного лікування [6]. Вищезазначені методи складають мікробіологічне дослідження і ґрунтуються переважно на дослідженні мокротиння, отримати яке вдається далеко не завжди.

Тим не менш, отримання фрагментів ураженої тканини хворого на туберкульоз при інвазивних методах діагностики або при оперативному втручанні, дозволяє проводити морфологічне дослідження біопсійного або операційного матеріалу хворих та безпосередньо виявляти КСМ, використовуючи низку спеціальних гістохімічних

методів забарвлення тканини. Розроблені гістохімічні методи мікроскопічного виявлення мікроорганізмів у тканинах, які загалом визначаються як "гістобактеріоскопія", зараз застосовується не повною мірою, а можливості і результати застосування гістобактеріоскопії вкрай недостатньо висвітлені в сучасній літературі, зокрема й морфологічні особливості збудника в умовах тривалого перебігу специфічного запалення. Звертає увагу недостатність фундаментальних знань щодо визначення ділянок у легеневій тканині з найбільшою скупченістю збудника, зокрема його типових, паличкоподібних форм, оскільки при попередній до оперативного втручання тривалій хіміотерапії локалізація та скупченість бактерій в різних структурах легень, безумовно, змінюється [1, 5, 7].

Таким чином, зберігає актуальність питання уточнення осередків локалізації КСМ, їх кількісної представленості та морфології в легеневій тканині, зокрема при ФКТ у фазі прогресування хвороби.

#### **Мета дослідження**

Установити частоту виявлення кислотостійких мікобактерій та особливості їх локалізації в легеневій тканині за умов прогресування туберкульозного запального процесу при фіброзно-кавернозній формі туберкульозу легень.

#### **Матеріали і методи**

Проведене гістохімічне дослідження серійних зрізів окремих ділянок легеневої тканини на матеріалі 25 резектатів легень від прооперованих хворих на ФКТ легень. В усіх випадках при традиційному гістологічному дослідженні був встановлений діагноз "фіброзно-кавернозний туберкульоз легень з ознаками прогресування специфічного запального процесу". В роботі застосовані два гістохімічні методи виявлення КСМ: за Цілем-Нільсеном [2] та флуоресцентний (аурамін-родаміновий) у зразках тканин з використанням кіта "Tb-fluor", виробництва Німеччини (MERCK) [10]. Вивчали ділянки внутрішнього вмісту та шарів капсули каверни, перифокальні ділянки каверни та віддалені ділянки - зони візуально незміненої легеневої тканини. Кількість позаклітинно виявлених КСМ визначали за наступною умовно прийнятою робочою градацією, яка узгоджується з аналогічними запропонованими кількісними характеристиками [9]: рідко (1-5), помірна кількість (6-15), багато (16-25) та дуже багато (більше 25) паличковидних форм в одному полі зору. За цією ж градацією визначали кількість КСМ із внутрішньоклітинною

локалізацією в макрофагах. Відмічали морфологічні прояви корд-фактору (вірулентності) КСМ, а саме - "злипання" кількох паличок, розташування їх у вигляді "ланцюжка", стрічок серпантину, тощо. Мікроскопічне дослідження зразків, забарвлених за Цілем-Нільсеном, проводили на світловому мікроскопі Olympus CX21 при збільшенні  $\times 1000$ , а зразків оброблених аурамін-родаміном - на світловому мікроскопі Olympus BX51 у світлі люмінесценції, із застосуванням синього фільтру та при збільшенні  $\times 400$ . У кожному зрізі тканини, в середньому, вивчали 15-20 полів зору, більше полів зору - при збільшенні  $\times 1000$ .

У 9 (36,0 %) випадках з групи дослідження перед оперативним втручанням результати мікробіологічного дослідження харкотиння були негативні, тобто, КСМ не виявлялися. Проте, в історіях хвороби, за результатами попереднього лікування, були наявні позитивні результати мікробіологічного дослідження: визначені мультирезистентність та розширена резистентність до хіміопрепаратів - по 3 (33,3 %) випадки, ще в 2 (22,2 %) випадках - встановлена полірезистентність та в 1 (11,1 %) випадку - тест медикamentозної чутливості не проводили.

Статистична обробка даних проводилася за допомогою ліцензованих програмних продуктів, які входять в пакет Microsoft Office Professional 2000 (Excel). Відмінності вважали статистично значущими при  $p < 0,05$ .

#### **Обговорення результатів дослідження**

Згідно до отриманих результатів, при гістобактеріоскопічному дослідженні з використанням обох гістохімічних методів КСМ були виявлені в 24 (96,0 %) випадках при забарвленні за Цілем-Нільсеном та в 25 (100,0 %) випадках при забарвленні кітом "Tb-fluor" у різних структурах та ділянках легеневої тканини.

Проведений порівняльний аналіз виявлення КСМ позаклітинно та внутрішньоклітинно безпосередньо в шарах каверни із застосуванням двох гістохімічних методів, результати наведені в табл. 1.

Як представлено в таблиці 1, при забарвленні кітом "Tb-fluor" в казеозно-некротичному вмісті каверни вірогідно частіше виявлялися типові паличковидні форми порівняно до забарвлення за Цілем-Нільсеном - 100,0 % проти 64,0% (трозр=3,7500),  $p < 0,001$ . За кількістю виявлених КСМ у казеозно-некротичному шарі каверни частіше всього в одному полі зору спостерігали від 1 до 5 паличок (градація "рідко") при обох методах забарвлення. Помірну кількість КСМ, але без вірогідної різниці, в цьому ж шарі каверни

Таблиця 1

**Частота виявлення КСМ у каверні, у фазу прогресування специфічного запального процесу, при застосуванні різних гістохімічних методів, абс., (M ± m), %**

Відносна кількість кислотостійких паличок, розташованих позаклітинно або в клітинах	Забарвлення за Цілем-Нільсеном, (n=25)	Забарвлення кітом «Tb-fluor», (n=25)
<b>Внутрішній (казеозно-некротичний) шар каверни</b>		
Паличкоподібні форми (всього):	16 (64,0 ± 9,6) *	25 (100,0) *
– рідко	8 (50,0 ± 12,5)	15 (60,0 ± 9,8)
– помірна кількість	7 (43,8 ± 12,4)	5 (20,0 ± 8,0)
– багато	1 (6,3 ± 6,1)	2 (8,0 ± 5,4)
– дуже багато	–	3 (12,0 ± 6,5)
<b>Грануляційний та фіброзний шари каверни</b>		
Паличкоподібні форми (всього):	13 (52,0 ± 10,0)	16 (64,0 ± 9,6)
– рідко	11 (84,6 ± 10,0)	14 (87,5 ± 8,3)
– помірна кількість	2 (15,4 ± 10,0)	1 (6,3 ± 6,1)
– багато	–	–
– дуже багато	–	1 (6,3 ± 6,1)
У макрофагах	21 (84,0 ± 7,3) *	3 (12,0 ± 6,5) *

**Примітка.** \* – вірогідність розбіжностей відповідного показника між групами статистично підтверджена ( $p < 0,001$ )

спостерігали частіше при забарвленні за Цілем-Нільсеном, аніж при забарвленні кітом "Tb-fluor" - 43,8 % проти 20,0 % випадків. КСМ у великій кількості загалом визначалися в незначній кількості випадків, і лише при застосуванні флуоресцентного методу, що, вірогідно, пов'язано з попереднім інтенсивним лікуванням даного контингенту хворих. Отримані результати добре узгоджуються з результатами дослідження іноземних авторів, які в експерименті на морських свинках установили, що після специфічної хіміотерапії в тканинах легень усередині осередку некрозу при забарвленні за Цілем-Нільсеном зберігаються типові паличкоподібні форми КСМ [12].

У грануляційному та фіброзному шарах каверни паличкоподібні форми КСМ були виявлені в 52,0 % випадків при забарвленні за Цілем-Нільсеном та в 64,0 % випадків при забарвленні кітом "Tb-fluor". Згідно представлених даних табл. 1, у цих шарах каверни, як і в казеозно-некротичному шарі, в одному полі зору переважали рідкі (1-5) паличководні форми КСМ при застосуванні обох методів гістобактеріоскопічного дослідження, що повністю узгоджується з даними інших подібних досліджень [11].

Наразі доведена можливість тривалого персистування КСМ усередині пінистих макрофагів, які слугують внутрішньоклітинним резервуаром інфекції, з подальшою можливістю розповсюдження мікобактерій [4, 13]. У грануляційному та фіброзному шарах стінки каверни

вірогідно частіше були виявлені паличкоподібні КСМ у пінистих макрофагах при забарвленні за Цілем-Нільсеном порівняно до забарвлення кітом "Tb-fluor" - 84,0 % та 12,0 % відповідно ( $t_{\text{розр}}=7,3661$ ),  $p < 0,001$ .

Наступним етапом нашого дослідження було вивчення перикавітарної ділянки та легеневої паренхіми віддаленої від каверни. Результати наведені в табл. 2.

Згідно даних табл. 2, при ФКТ з морфологічно високим ступенем активності специфічного запального процесу в перифокальних ділянках та на віддалені від каверни типові паличководні форми КСМ визначаються дещо в більшому відсотку при забарвленні кітом "Tb-fluor" порівняно до випадків, забарвлених за Цілем-Нільсеном - 21 (84,0 %) і 20 (80,0 %) проти 18 (72,0 %) і 19 (76,0%) випадків відповідно. У кількісному відношенні, подібно до каверни, частіше всього КСМ спостерігали рідко - 1-5 паличок в одному полі зору, незалежно від методу забарвлення. Звертає увагу, що лише при застосуванні методу Ціля-Нільсена в перифокальній ділянці легеневої тканини були виявлені КСМ у пінистих макрофагах - 88,0 % випадків. У легеневій тканині на віддаленні від каверни, вірогідно частіше були виявлені паличководні КСМ у пінистих макрофагах при забарвленні за Цілем-Нільсеном проти забарвлення за кітом "Tb-fluor" - 100,0 % та 4,0 % випадків відповідно ( $t_{\text{розр}}=24,6154$ ),  $p < 0,001$ . Можна зробити припущення, що виявлення в значній більшості випадків обома гістохімічними

Таблиця 2

**Результати виявлення КСМ в перифокальних ділянках та на віддаленні від каверни при прогресуючому ФКТ легень, абс. (M ± m) %**

Відносна кількість кислотостійких паличок, розташованих позаклітинно або в клітинах	Забарвлення за Цілем-Нільсенном, (n=25)	Забарвлення кітом «Tb-fluor», (n=25)
<b>Перифокально, біля каверни</b>		
Паличкоподібні форми (всього):	18 (72,0 ± 9,0)	21 (84,0 ± 7,3)
– рідко	12 (66,7 ± 11,1)	18 (85,7 ± 7,6)
– помірна кількість	6 (33,3 ± 11,1)	2 (9,5 ± 6,4)
– багато	–	1 (4,8 ± 4,6)
– дуже багато	–	–
У макрофагах	22 (88,0 ± 6,5)	–
<b>На віддаленні від каверни</b>		
Паличкоподібні форми (всього):	19 (76,0 ± 8,5)	20 (80,0 ± 8,0)
– рідко	15 (78,9 ± 9,4)	16 (80,0 ± 8,9)
– помірна кількість	4 (21,1 ± 9,4)	2 (10,0 ± 6,7)
– багато	–	1 (5,0 ± 4,9)
– дуже багато	–	1 (5,0 ± 4,9)
У макрофагах	25 (100,0) *	1 (4,0 ± 3,9) *

**Примітка.** \* – вірогідність розбіжностей відповідного показника між групами статистично підтверджена (p < 0,001)

методами типових КСМ у перифокальній зоні та на віддаленні від каверни свідчить про те, що капсула каверни не стримує розповсюдження мікобактеріальної інфекції в легеневій тканині.

Прояви корд-фактору (вірулентності) КСМ, а саме - "злипання" кількох паличок, розташування їх у вигляді "ланцюжка" в різних структурах та ділянках легеневої тканини у випадках прогресуючого ФКТ, виявлені в середньому лише в 36,7 % випадків при забарвленні зрізів обома гістохімічними методами: у 8 (33,3 %) випадках при забарвленні за Цілем-Нільсенном та в 10 випадках (40,0 %) при флуоресцентному методі.

Проведене дослідження дозволило виявити КСМ у всіх структурах каверни та за її межами при застосуванні двох гістохімічних методів прямого виявлення мікобактерій. Перевагою методу забарвлення за Цілем-Нільсенном є те, що він забезпечує краще виявлення внутрішньоклітинної локалізації КСМ, зокрема в пінистих макрофагах,

у той час, коли флуоресцентний метод "Tb-fluor" дозволяє виявляти КСМ у відносно більшій кількості в одному полі зору, а також забезпечує більш "якісні" спостереження морфологічних проявів корд-фактору (вірулентності) МБТ. Перевага флуоресцентного методу дослідження щодо кількісного виявлення МБТ у легеневій тканині пов'язана переважно з використанням робочого збільшення мікроскопа (x 400), тоді як при забарвленні за Цілем-Нільсенном робоче збільшення мікроскопа (x 1000), тобто площа спостереження (поле зору) відповідно в 2,5 раза менша. Такі висновки повністю узгоджуються з подібними зарубіжними дослідженнями [8].

Додатково проведений порівняльний аналіз мікробіологічного виявлення МБТ в період підготовки до оперативного лікування хворих на ФКТ з прогресуванням специфічного запального процесу та результатами гістобактеріоскопії, отримані дані наведені в табл. 3.

Таблиця 1

**Порівняльний аналіз результатів мікробіологічного та гістобактеріоскопічного виявлення мікобактерій туберкульозу серед хворих на прогресуючий ФКТ легень, абс. (M ± m) %**

Методи дослідження	Результат дослідження	
	Позитивний	Негативний
Мікробіологічне дослідження	16 (64,0 ± 9,6) *	9 (36,0 ± 9,6)
Гістобактеріоскопічне дослідження двома методами	25 (100,0) *	–

**Примітка.** \* – вірогідність розбіжностей відповідного показника між різними методами дослідження статистично підтверджена (p < 0,001)

Як видно з табл. 3, гістобактеріоскопічне дослідження легеневої тканини при ФКТ на стадії прогресування дозволило виявити типові паличковидні форми КСМ у всіх випадках, у той час, коли мікробіологічне дослідження харкотиння чи/або операційного матеріалу виявило мікобактерії лише в 16 (64,0 %) випадків ( $t_{\text{прозр}}=3,7500$ ,  $p<0,001$ ).

### Висновки

1. При гістобактеріоскопічному дослідженні та застосуванні двох гістохімічних методів забарвлення позитивні результати щодо виявлення КСМ у легеневій тканині хворих на прогресуючий фіброзно-кавернозний туберкульоз отримані у 24 (96,0 %) випадках при забарвленні за Цілем-Нільсеном та у 25 (100,0 %) випадках при забарвленні кітом "Tb-fluor".

2. При флуоресцентному методі дослідження вірогідно частіше виявляються паличкоподібні форми КСМ порівняно з методом Ціля-Нільсена у казеозно-некротичному шарі каверни - 100,0 % і 64,0 % випадків відповідно, ( $p<0,001$ ).

3. У грануляційному та фіброзному шарах каверни частота виявлення паличковидних КСМ приблизно однакова, незалежно від гістохімічного методу забарвлення, та складає 64,0 % випадків при застосуванні кіта "Tb-fluor" та 52,0 % випадків - при методі Ціля-Нільсена.

4. Забарвлення зрізів тканини за Цілем-Нільсеном дозволило вірогідно частіше виявляти типові КСМ у пінистих макрофагах, розташованих в капсулі каверни та на віддаленні від каверни ( $p<0,001$ ).

5. Порівняльний аналіз результатів виявлення КСМ при застосуванні гістобактеріоскопії та мікробіологічного дослідження харкотиння та/або операційного матеріалу показав, що вірогідно частіше мікобактерії виявлялися при гістобактеріоскопічному дослідженні - 100,0 % проти 64,0 % при мікробіологічному дослідженні ( $p < 0,001$ ).

### Перспективи подальших досліджень

Установлена висока ефективність виявлення КСМ при застосуванні гістобактеріоскопії доводить доцільність застосування цього методу дослідження в наукових роботах з метою уточнення локалізації збудника, його кількісної характеристики та морфологічних проявів скупчень мікобактерій у різних тканинах при туберкульозному ураженні, особливо при тривалому хвилеподібному характері перебігу захворювання.

**Література.** 1. Баранова Е.Ю. Методика гістобактеріоскопії в морфологічній діагностиці туберкульозу легких / Е. Ю. Баранова, Л. М. Гринберг // Уральский мед.

ж. - 2007. - № 8. - С. 55-57. 2. Коржевский Д. Э. Основы гистологической техники / Д. Э. Коржевский, А. В. Гилларов. - СПб. : СпецЛит, 2010. - С. 63-64. 3. Ліска І. В. Проблема прогресуючого туберкульозу легень та деякі його патологоанатомічні особливості / І. В. Ліска, О. В. Хміль // Туберкульоз. Легеневі хвороби. ВІЛ-інфекція. - 2010. - № 2 (02). - С. 29-35. 4. Ліска І. В. Сучасний патоморфоз прогресуючого мультирезистентного фіброзно-кавернозного туберкульозу легень з позицій морфологічної характеристики збудника та його локалізації в легеневій тканині / І. В. Ліска, О. О. Олексинська // Медицина сьогодні і завтра. - 2013. - № 1 (58). - С. 40-47. 5. Михайловский А. М. Частота виявлення і признаки дифузного альвеолярного пошкодження при остропрогресуючому туберкульозі легких і його сочетанні з ВІЧ-інфекцією / А. М. Михайловский, Л. Н. Лепеха, В. Л. Сазыкин // Tuberculosis. - 2013. - № 2. - С. 56-60. 6. Наказ МОЗ України № 620 від 04.09.2014 р. "Уніфікований клінічний протокол первинної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. "Туберкульоз". - Київ: [б.в.], 2014. - 179 с. 7. Филоненко Т. Г. Особенности локализации микобактерий туберкулеза в ткани легких при фиброзно-кавернозном туберкулезе в зависимости от бактериовыделения / Т. Г. Филоненко // Таврический медико-биологический вестник. - 2010. - Том 13, № 3 (51). - С. 201-205. 8. Chronoes Z. C. Immunoregulatory role of GM-CSF in pulmonary tuberculosis / Z. C. Chronoes, C. Jagannath // Understanding Tuberculosis - Analyzing the origin of Mycobacterium tuberculosis pathogenicity. - 2012. - 560 p. 9. Granuloma formation and host defense in chronic Mycobacterium tuberculosis infection requires PYCARD/ASC but not NLRP3 or caspase-1 / E. M. TeKippe // PLoS ONE. - 2010. - Vol. 5 (8). - 10 pages. - Режим доступу: doi:10.1371/journal.pone.0012320. 10. Greenwood N. A comparison of methods for staining tubercle bacilli in histological sections / N. Greenwood, H. Fox // J. Clin. Path. - 1973. - № 26. - P. 253-257. 11. Immunopathology of post-primary tuberculosis: increased T-regulatory cells and DEC-205-positive foamy macrophages in cavitory lesions / K. J. Welsh [et al.] // Clinical and Developmental Immunology. - 2011. - Vol. 2011, Article ID 307631, 9 pages. - Режим доступу: doi:10.1155/2011/307631. 12. Location of intra- and extracellular M. tuberculosis populations in lungs of mice and guinea pigs during disease progression and after drug treatment / D. R. Hoff [et al.] // PLoS ONE. - 2011. - Vol. 6 (3). - 14 pages. - Режим доступу: doi:10.1371/journal.pone.0017550. 13. Mycobacterium tuberculosis growth at the cavity surface: a microenvironment with failed immunity / G. Kaplan [et al.] // Infection and immunity. - 2003. - Vol. 71, N. 12. - p. 7099-7108.

### ЧАСТОТА ВЬЯВЛЕННЯ І ОСОБЕННОСТИ ЛОКАЛИЗАЦИИ МИКОБАКТЕРИЙ ТУБЕРКУЛЕЗА В ФАЗЕ ПРОГРЕССИРОВАНИЯ ФИБРОЗНО- КАВЕРНОЗНОГО ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ МЕТОДИКИ ГИСТОБАКТЕРИОСКОПИИ

И. В. Лискина, Л. М. Загаба, С. Д. Кузовкова,

О. А. Мельник

**Резюме.** В статье представлены результаты прямого выявления микобактерий в гистологических срезах с использованием двух гистохимических методов, что позволило установить частоту выявления кислотоустойчивых микобактерий (КУМ) и особенности их локализации в легочной ткани при прогрессирующем фиброзно-кавернозном туберкулезе легких. Установлено, что в казеозно-некротическом содержимом каверны при окраске китом "Tb-fluor" достоверно чаще выявлялись типичные паличковидные формы бактерий, чем при окраске по Цилю-Нильсену - 100,0 % и 64,0 % случаев соответственно. В грануляционном и фиброзном слое каверны частота выявления КУМ примерно одинакова, и составляет 64,0% случаев при использовании кита "Tb-fluor" и 52,0% при методе Циля-Нильсена. В перифокальных участках и на

отдалении от каверны типичные палочковидные КУМ определяются в большем числе случаев при окраске китом "Tb-fluor" в сравнении с окраской по Цилю-Нильсену - 21 (84,0 %) и 20 (80,0 %) против 18 (72,0 %) и 19 (76,0 %) случаев соответственно. Использование метода Циля-Нильсена позволило выявлять КУМ внутри пенистых макрофагов, расположенных в капсуле каверны, в перикавитарной зоне и на отдалении от каверны - в 21 (84,0 %), 22 (88,0%) и 25 (100,0 %) случаях соответственно. Проявления корд-фактора наблюдали при использовании обоих гистохимических методов: в 8 (33,3 %) случаях при окраске по Цилю-Нильсену и в 10 случаях (40,0 %) при флуоресцентном методе. Эффективность обнаружения КУМ с применением метода гистобактериоскопии оказались выше по сравнению с результатами микробиологического исследования мокроты и/или операционного материала - 100,0 % и 64,0% соответственно.

**Ключевые слова:** прогрессирующий фиброзно-кавернозный туберкулез, кислотоустойчивые палочки, гистобактериоскопия.

**DETECTION FREQUENCY AND SPECIFIC LOCALIZATION OF MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS IN PHASE OF PROGRESSION OF FIBROCAVERNOUS PULMONARY TUBERCULOSIS IN CASE OF USING THE METHOD OF HISTOBACTERIOSCOPY**

*I.V. Liskina, L.M. Zagaba, S. D. Kuzovkova, O.A. Melnik*

**Aim of the research:** the determination of the frequency of detection of acid fast bacilli (AFB) and peculiarities of their localization in lung tissue against a background of the progression of fibro-cavernous pulmonary tuberculosis (FC PTB).

**Materials and methods:** The study was performed on serial samples of separate pieces of lung tissue on the material of 25 cases of surgically removed lung lobes with FC TB. In all cases morphologically it was identified a high degree of activity of specific inflammation. The detection of frequency of M. tuberculosis on the time of surgical intervention and the features of localization and morphology of the pathogen in the lung tissue were studied using two histochemical methods of AFB detection. These were classic Ziehl-Nielsen method and fluorescent method using a kit reagent "Tb-fluor".

**Results:** It has been established that in the inner caseous-necrotic contents of the cavern when used "Tb-fluor" the typical AFB were identified significantly more frequently than when stained by Ziehl-Nielsen - 100,0 % and 64,0 % respectively. In the granulation and fibrous layers of the cavity the frequency of detection of typical AFB was defined in a greater percentage of cases, and was 64,0 % of the cases when using kit reagent "Tb-fluor" and 52,0 % - for Ziehl-Nielsen. In pericavity tissues and at the distance from the cavity typical AFB determined in a large percentage of cases using kit reagent "Tb-fluor" in comparison with the method of Ziehl-Nielsen - 21 (84,0%) and 20 (80,0 %) respectively and 18 (72,0 %) and 19 (76,0 %) cases. The staining by Ziehl-Nielsen allows to detect intracellular localization AFB in macrophages, namely in the capsule cavity, in perifocal zone and far from the cavity - in 21 (84,0 %), 22 (88,0 %) and 25 (100,0 %) cases respectively. The presence of Cord factor was observed when using both histochemical methods: in 8 (33,3 %) cases, when stained by Ziehl-Nielsen, and in 10 cases (40,0 %) for fluorescent method. Efficacy of AFB detection with using histobacterioscopy method was higher in comparison with the results of the microbiological examination of sputum and/or surgical material - 100,0 % versus 64,0 %, respectively.

**Conclusions:** Installed high efficiency of AFB detection when using method of histobacterioscopy is justified the use of this method in scientific studies to elucidate the localization of the pathogen, its quantitative characteristics and morphological manifestations of Mycobacterium tuberculosis in different tissues with tuberculosis process, especially at long duration of the disease.

**Key words:** fibro-cavernous tuberculosis, progression of tuberculosis, acid fast bacilli.

**SO "National institute of phthisiology and pulmonology named after F.G. Yanovsky National academy of medical sciences of Ukraine", Kiev, Ukraine**

*Clin. and experim. pathol. - 2014. - Vol.13, №4 (50). - P.67-72.*

*Надійшла до редакції 20.11.2014*

*Рецензент – проф. Л.Д. Тодоріко*

*© I.V. Ліскіна, Л.М. Загаба, С.Д. Кузовкова, О.О. Мельник, 2014*