

## ОСОБЕННОСТИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ МИКОБАКТЕРИЙ РАЗНЫМИ АНТИТЕЛАМИ В ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

Государственное учреждение «Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины» (г. Киев)

liskina@ifp.kiev.ua

**Связь публикации с плановыми научно-исследовательскими работами.** Работа выполнена в рамках НИР «Розробити алгоритм гістологічної діагностики патології легень у хворих на ВІЛ-інфекцію», № государственной регистрации 0118U007362, 2019-2021 гг. Одним из заданий НИР было изучить возможности и диагностическую эффективность дополнительного применения специальных морфологических методов для верификации этиологии легочной патологии на фоне ВИЧ-инфекции.

**Вступление.** Болезнь, вызванная вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ), в ассоциации с микобактериальной инфекцией (ко-инфекция ТБ-ВИЧ) является серьезной проблемой здравоохранения в мировом масштабе [1].

Одним из важных факторов, влияющих на характер взаимодействия микобактерий туберкулеза (МБТ) с макроорганизмом, является иммуносупрессия, прежде всего при ВИЧ-инфекции, в результате чего морфологическая картина туберкулеза во многих случаях становится нетипичной из-за меньшей выраженности гранулематозной реакции и нарастания явлений альтерации, при этом число обнаруживаемых кислотоустойчивых палочек, как правило, значительное [2].

На ранних стадиях ВИЧ течение туберкулеза не отличается от такового у ВИЧ-негативных лиц, тогда как на поздних стадиях ВИЧ-инфекции туберкулез приобретает атипичные клиничко-рентгенологические и морфологические черты, что вызывает значительные диагностические трудности. Также на поздних стадиях ВИЧ-инфекции отмечается высокая частота развития генерализованных форм туберкулеза [3].

Несмотря на высокую эффективность микробиологических и иммунологических методов диагностики туберкулеза у больных с ко-инфекцией, в клинической практике сохраняет актуальность и морфологическая диагностика. Между тем основная гистохимическая методика окраски МБТ для их прямого микроскопического выявления не изменилась с того времени, когда в 1882 году Ф. Циелем и Ф. Нильсеном был разработан метод окраски микроорганизмов для выявления кислотоустойчивых микобактерий. Однако окраска биоматериала по этому методу неспецифична для МБТ, так как вызывает подобное окрашивание и других кислотоустойчивых микроорганизмов. Также определенные трудности возникают при морфологическом исследовании генерализованных форм туберкулеза с выраженными альтеративными изменениями, в том числе при ВИЧ-инфекции. Как сообщают авторы [4], в 61% случаев невозможно выявить типичные кислотоустойчивые

палочки при окраске ткани по методу Циля-Нильсена. Окончательных объяснений этому феномену нет. Можно предполагать либо присутствие возбудителей в небольших количествах, либо изменение их тинкториальных свойств.

Такой же уровень диагностической результативности имеет и известный аурамин-родаминовый флуоресцентный метод, применяемый в гистологии для выявления МБТ в тканях, хотя его чувствительность приблизительно на 10% выше, чем метода Циля-Нильсена [5]. Преимуществом флуоресцентных методов окрашивания является оптическая особенность: флуоресценция красителей увеличивает видимые размеры микобактерий, при этом облегчается поиск микобактерий в тканях за счет высокой резкости и контрастности визуальной картины, что позволяет проводить исследования при меньшем увеличении микроскопа (x400), и что естественно приводит к увеличению площади одного поля зрения. Существуют также и некоторые недостатки применения этого метода, к которым, в частности, относится скрытость цитоархитектоники исследуемых тканей.

В последние десятилетия активно разрабатываются и применяются в основном для научных исследований иммуногистохимические (ИГХ) способы выявления МБТ в разных тканях организма [6-9].

В частности, было установлено, что антигены МБТ обнаруживаются в цитоплазме CD68 + клеток, то есть, в пораженных тканях можно определять не только целостные структуры бацилл, но и их фрагменты или даже мельчайшие частички (клеточный детрит) [10].

Однако, антитела к туберкулезным микобактериям представлены на рынке современных реагентов в ограниченном количестве и не всегда демонстрируют удовлетворительные диагностические параметры. Еще одной серьезной проблемой является перекрестная чувствительность ряда антител как к микобактериям туберкулезного комплекса (*M. tuberculosis*, *V. bovis* BCG, *M. africanum*, *M. microti*), так и к нетуберкулезным микобактериям. Кроме того, нельзя не учитывать, что ни одна из имеющихся в настоящее время на рынке иммуногистохимических систем выявления МБТ официально не рекомендована к использованию в клинической практике для диагностики туберкулеза [11].

**Цель исследования.** Проанализировать особенности иммуноморфологического выявления антигенов и целостных структур МБТ разными антителами в легочной ткани при ко-инфекции ВИЧ-ТБ.

**Объект и методы исследования.** В работе использован биопсийный (20 случаев) и аутопсийный

**Таблица – Частота выявления МБТ в легочной ткани при ИГХ исследовании с разными антителами, абс., (n=28)**

| Форма туберкулеза легких | Относительное количество иммунопозитивного материала |          |                        |          |         |          |        |          |
|--------------------------|------------------------------------------------------|----------|------------------------|----------|---------|----------|--------|----------|
|                          | «Мало»                                               |          | «Умеренное количество» |          | «Много» |          | Всего  |          |
|                          | ИГХ АТ                                               | ИГХ АТ Ф | ИГХ АТ                 | ИГХ АТ Ф | ИГХ АТ  | ИГХ АТ Ф | ИГХ АТ | ИГХ АТ Ф |
| Милиарный                | 2                                                    | 3        | 2                      | –        | 3       | 4        | 7      | 7        |
| Диссеминированный        | 3                                                    | 2        | 2                      | 2        | 3       | 1        | 8      | 5        |
| Инфильтративный          | 1                                                    | –        | 3                      | –        | 1       | 2        | 5      | 2        |
| Туберкулема              | 1                                                    | 3        | 3                      | –        | 2       | 2        | 6      | 5        |
| Фиброзно-кавернозный     | –                                                    | 1        | 1                      | –        | 1       | –        | 2      | 1        |

(8 случаев) материал пациентов с верифицированным диагнозом ВИЧ-инфекции и с разными формами туберкулеза легких. Во всех случаях наличие туберкулезной инфекции было верифицировано микробиологическими методами, а клинко-морфологическая форма туберкулеза была уточнена с помощью традиционного гистологического исследования патологического материала. Диагноз ВИЧ-инфекции был установлен ранее, на предыдущих этапах лечения больных, или по результатам лабораторных исследований в клинике института.

Проведено ИГХ исследование легочной ткани на предмет выявления микобактериальных антигенов (АГ МБТ) с использованием двух поликлональных антител: M. tuberculosis antibody PA1-7231 и M. tuberculosis antibody с флуоресцентной меткой PA1-73134 (Thermo Fisher Scientific, США). Исследование выполняли, используя последовательные серийные срезы парафиновых блоков каждого фрагмента (кусочка) легочной ткани. Иммуногистохимическую обработку первым антителом (ИГХ АТ) выполняли автоматическим способом, использован AUTOSTAINER 360-2D производства компании Thermo Fisher Scientific, система визуализации UltraVision Quanto, а обработку антителом с флуоресцентной меткой (ИГХ АТ Ф) проводили в ручном режиме. В качестве контроля служили серийные срезы ткани этих же случаев, без добавления соответствующего АТ в процессе обработки.

Микроскопирование препаратов с ИГХ АТ Ф осуществляли на световом микроскопе Olympus BX51 с флуоресцентной приставкой Olympus U-RFL-T при диапазоне длин волн возбуждающего света 461-489 нм и излучающего света 497-532,5 нм, рабочее увеличение x400. При этом на темном фоне ткани выявляли ярко светящиеся палочки или кокковые формы бактерий.

Микроскопическое исследование с использованием ИГХ АТ проводили на световом микроскопе Olympus BX51 при рабочем увеличении x400. Иммунопозитивным материалом считали наличие интенсивного крупнозернистого диффузного окрашивания цитоплазмы клеток или внеклеточное скопление интенсивно окрашенного гранулированного вещества.

Относительное количество иммунопозитивных структур во всех случаях оценивали по условно принятой шкале: «мало» – 1-5 единиц; «умеренное количество» – 6-20 единиц; «много» – более 20 единиц в одном поле зрения при рабочем увеличении микроскопа x400.

**Результаты исследований и их обсуждение.** По результатам клинко-рентгенологического обследо-

вания пациентов и традиционного гистологического исследования образцов ткани было установлено, что из 28 случаев милиарный туберкулез легких наблюдался в 7 (25%) случаев, диссеминированный – в 8 (28,6%), инфильтративный туберкулез легких – в 5 (17,8%), туберкулемы легких – в 6 (21,4%), фиброзно-кавернозный туберкулез легких – в 2 (7,1%) случаев. Частота наблюдений иммунопозитивных структур и их относительное количество при использовании разных антител к МБТ представлены в

**таблице.**

ИГХ АТ исследование ткани легких при милиарном туберкулезе выявило наличие АГ МБТ в клетках гранул в 4 (57,1%) случаях из 7. В 5 (71,4%) случаях АГ МБТ были выявлены в альвеолярных макрофагах, в 2 (28,6%) случаях в клетках типичных туберкулезных очагов и в 1 (14,3%) случае в некротическом содержимом гранул. По относительному количеству в 2 случаях иммунопозитивного материала было «мало», в 2 случаях выявлено «умеренное количество» и в 3 случаях материала было «много».

ИГХ АТ Ф исследование этих же 7 случаев позволило выявить в 4-х (57,1%) из них палочки в количестве «много», причем в 3 случаях палочек было огромное количество, не поддающееся счету. По морфологии палочковидные структуры были тоненькие и укороченные, располагались очень скученно практически во всех структурах легочной ткани, иногда покрывая «сплошным ковром» все поле зрения. Кроме того, было выявлено много светящегося иммунопозитивного материала в виде гранул. Все эти 3 случая были представлены материалом аутопсии. Как было установлено при клинко-анатомическом анализе, противотуберкулезное лечение этим пациентам не проводилось, туберкулез был впервые выявленным (в 1 случае непосредственно на аутопсии). Еще в 1 случае милиарного туберкулеза, когда палочек было «много», они формировали группы по 25-30 единиц, наблюдались также скопления палочек в клетках гранул. В этом случае у пациента был диагностирован рецидив туберкулеза на фоне выраженной иммуносупрессии, что привело к развитию острого туберкулезного сепсиса.

В других 3-х случаях милиарного туберкулеза методом ИГХ АТ Ф палочек в тканях легких было обнаружено «мало». В одном случае милиарный туберкулез сочетался с цитомегаловирусной инфекцией, диагноз туберкулеза был установлен при исследовании аутопсийного материала. В другом случае туберкулез и ВИЧ-инфекция были одновременно впервые диагностированы во время госпитализации пациента. В третьем случае милиарный туберкулез был вызван штаммом МБТ с расширенной резистентностью и развивался через 8 лет после ВИЧ-инфицирования пациента.

При диссеминированном туберкулезе легких применение ИГХ АТ в 7 (87,5%) случаях из 8 выявило интенсивное скопление АГ МБТ в альвеолярных макрофагах. Отчетливая позитивная реакция на АГ МБТ отмечена в клетках гранул в 6 случаях (75%). Боль-

шинство гранулем были эпителиоидно-лимфоидными, в 2 (25%) случаях в тканях отчетливая позитивная реакция на микобактериальные антигены была выявлена в макрофагах и моноцитах типичных туберкулезных очагов, а также в 5 (62,5%) случаях в клетках лимфоидных скоплений. Относительное количество иммунопозитивных клеток и внеклеточных скоплений при диссеминированном туберкулезе легких в 3 случаях соответствовало градации «мало», в 2 – «умеренное количество» и в 3 – «много».

При ИГХ АТ Ф обработке срезов пораженной ткани с диссеминированным туберкулезом палочки были обнаружены в 5 (62,5%) случаях. В 1 случае их было очень «много», они имели типичную продолговатую форму, располагались диффузно по всему препарату, иногда образовывали пары, которые расходились под углом или прилегали параллельно друг другу, в 1 поле зрения их насчитывалось до 50 единиц (рис.).

В 2-х случаях в препаратах наблюдалось «умеренное количество» палочек, они также были классической формы. Интересно, что в этих 2 случаях отмечено полное совпадение результатов ИГХ методов с использованием разных антител, а именно, относительное количество клеток с гранулами иммунопозитивного вещества и относительное количество светящихся палочек соответствовало градации «умеренное количество». В 2-х случаях при ИГХ АТ Ф палочек было «мало», и они визуально были более толстыми и несколько укороченными.

ИГХ АТ исследование легочной ткани с инфильтративной формой туберкулеза выявило наличие АГ МБТ в клетках эпителиоидно-лимфоидных гранул, в туберкулезных очагах, в лимфоидно-клеточных скоплениях. Отложения антигенпозитивных гранул наблюдали в этих образованиях как вне клеток, так и в клетках макрофагального ряда (моноциты, макрофаги, эпителиоидные клетки). Интенсивное окрашивание цитоплазмы макрофагов преобладало в клетках, расположенных в просвете альвеол. В 3 случаях единиц иммунопозитивного материала было «умеренное количество», в одном случае – «мало» и еще в одном случае «много». ИГХ АТ Ф исследование при этой форме туберкулеза позволило выявить палочки только в 2-х случаях. Причем светящихся палочек было «много», как в некрозе, так и в легочной ткани, они диффузно располагались по 10-20 единиц в поле зрения.

Из 6 случаев туберкулом легких применение ИГХ АТ выявило гранулы АГ МБТ в клетках гранул и альвеолярных макрофагах во всех 6 случаях. В 4 (66,6%) случаях гранулы АГ МБТ располагались внеклеточно в некротическом содержимом туберкулом и в 3 (50%) случаях в клетках лимфоидных скоплений. В 1 случае количество иммунопозитивного вещества соответствовало градации «мало», в 3 (50%) случаях наблюдалось «умеренное количество» и в 2 (33,3%) случаях иммунопозитивного материала было «много». Окраска ИГХ АТ Ф при этой патологии позволила выявить в 2-х случаях «много» классической формы палочек, по 20-30 единиц в поле зрения. Причем в этих случаях туберкулез был впервые выявленный (не леченый) и результат окраски количественно полностью соответствовал результату при окраске ИГХ АТ, где было выявлено также «много» единиц иммунопозитивного материала. В

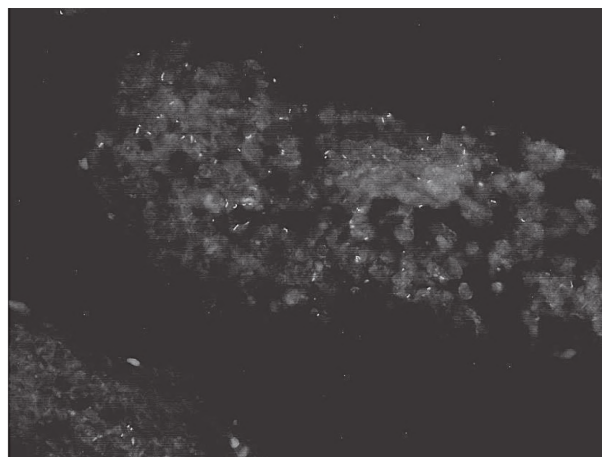


Рисунок – Микрофотография. Ткань легкого при диссеминированном туберкулезе. Преобладают палочки классической формы. Иммунофлуоресценция с M. tuberculosis antibody. Увеличение x400.

3-х случаях при туберкулемах легких палочки в препаратах присутствовали в количестве «мало», причем в 1 случае они имели классическую форму, а в 2-х других имели укороченную и утолщенную форму. И в этих двух случаях длительность туберкулезного процесса составляла 2-3 года, больные в этот период принимали противотуберкулезную терапию, что могло повлиять на морфологию возбудителя.

В 2-х случаях фиброзно-кавернозного туберкулеза при окраске препаратов ИГХ АТ иммунопозитивные гранулы были выявлены в клетках эпителиоидно-лимфоидных гранул с центральным некрозом, которые располагались вне стенки каверны, внутри макрофагов, эпителиоидных клеток, моноцитов и внеклеточно в туберкулезных очагах. В 1 случае иммунопозитивного материала было «умеренное количество» единиц, а в другом – «много». При обработке этих же препаратов ИГХ АТ Ф палочки были обнаружены в 1 случае, их было «мало» и они были диффузно рассеяны в ткани легкого. В этом случае туберкулез был установлен на 2 года ранее, чем ВИЧ-инфекция и пациент получал соответствующее противотуберкулезное лечение.

Известно, что возбудитель туберкулеза обладает разнообразным спектром форм существования, чрезвычайно широкой вариабельностью морфологии (полиморфизмом) и широким диапазоном изменчивости биологических свойств (плеоморфизмом). Все эти свойства в конечном результате приводят к успешному выживанию бактерии в макроорганизме и развитию хронических форм туберкулеза [12]. В определенной степени эти свойства возбудителя продемонстрированы в нашем исследовании, в котором наряду с классической формы палочками Коха в 45% случаев выявлены палочки укороченной и/или утолщенной формы.

Выполненное исследование с использованием двух антител для выявления антигенов МБТ показало, что применение обычного антитела к МБТ позволяет выявлять в тканях участки, как внеклеточного отложения гранул антигенов, так и их скоплений внутри клеток макрофагального ряда, в частности в макрофагах, эпителиоидных клетках, гигантских многоядерных макрофагах. Применение антитела с флуоресцентной меткой обеспечивает возможность

визуализации не только аморфных или в виде гранул отложений антигенов, но и типичные палочковидные бактерии, наличие мелких, так называемых кокковых форм бактерий, а также наличие фрагментированных структур МБТ в клетках.

Исследование ткани легких ВИЧ-инфицированных больных с различными формами туберкулеза с обычным антителом к МБТ выявило наличие иммунопозитивного материала во всех 28 случаях, в то время как иммунофлуоресцентный метод выявил АГ МБТ только в 20 случаях, что составило 71,4% от общего числа случаев. Различия в диагностической эффективности двух антител можно объяснить их диагностическими параметрами. А именно, *M. tuberculosis* antibody PA1-7231 обладает практически 100% чувствительностью, при этом специфичность его очень низкая, тогда как чувствительность *M. tuberculosis* antibody с флуоресцентной меткой PA1-73134 составляет 80%, а его специфичность достигает 75% [13].

При ИГХ АТ Ф методе, независимо от формы туберкулеза легких, установлено, что в 9 (45%) случаях в препаратах палочек было «мало» и визуально они были укороченными и слегка утолщенными. В 2 (10%) случаях классической формы палочки выявлены в «умеренном количестве». В 9 (45%) случаях палочек было «много» и в большинстве случаев они тоже были типичной формы, за исключением 2 случаев, когда кроме множества палочек, иммунопозитивный материал располагался диффузно по всей ткани в виде многочисленных гранул и кокковых форм бактерий.

Отмечена определенная взаимосвязь между клиническими особенностями течения ко-инфекции и морфологическими особенностями визуализации АГ МБТ. В легочной ткани ВИЧ-инфицированных пациентов с впервые выявленным туберкулезом легких, которые не принимали специфическое противотуберкулезное лечение, использование иммунофлу-

оресцентного метода в большинстве случаев (58,3%) выявляет «много» палочек, классической палочковидной формы.

## Выводы

1. Поликлональное *M. tuberculosis* antibody позволяет выявлять микобактериальные антигены в следующих гистологических структурах легочной ткани: гранулемах, туберкулезных очагах, клеточных инфильтратах, лимфоидных скоплениях, альвеолах. Иммунопозитивное вещество обнаруживается как внеклеточно, так и в клетках: макрофагах, моноцитах, эпителиоидных клетках при разных формах туберкулеза легких. Результаты нашего исследования продемонстрировали практически 100% чувствительность иммуногистохимического исследования с этим антителом.

2. Поликлональное антитело к *M. tuberculosis* с флуоресцентной меткой выявило микобактериальные антигены в 71,4% случаев. Антитело позволяет проводить как относительную количественную оценку микобактерий в легочной ткани, так и оценивать полиморфизм микобактерий, что является важной характеристикой в уточнении особенностей туберкулезного процесса у ВИЧ-инфицированных пациентов.

3. Одновременное использование двух антител расширяет возможности иммуногистохимического анализа при морфологических исследованиях легочной ткани с туберкулезным поражением.

**Перспективы дальнейших исследований.** Перспективным направлением дальнейших научных исследований можно считать поиск определенных взаимосвязей морфологических особенностей иммуногистохимического выявления антигенов МБТ с клиническим течением туберкулезного процесса. Также не теряет актуальность разработка более совершенных (диагностически эффективных) антител к микобактериям туберкулеза.

## Литература

1. Lawn SD, Zumla AI. Tuberculosis. *Lancet*. [Internet] 2011 Mar 18 [cited 2020 Jun 3];378:57-72. DOI: 10.1016/S0140-6736(10)62173-3
2. Parhomenko YuG, Zyuzya YuR, Mazus AI. Morfologicheskie aspekty VICH-infekcii. M.: Litterra; 2016. 168 s. [in Russian].
3. Zimina VN, Kravchenko AV, Viktorov IB. Epidemiologiya, techenie i osobennosti lecheniya tuberkul'oz'a u bol'nyh VICH-infekciej. *Medicina v Kuzbasse*. 2011 Okt;10(3):6-13. [in Russian].
4. Cinzerling VA, Svistunov VV. Tuberkulez v sochetanii s VICH-infekciej: kliniko-morfologicheskie aspekty. *Tuberkulez i bolezni legkih*. 2014 Jun;6:56-60. [in Russian].
5. Gupta S, Shenoy VP, Baiy I, Muralidharan S. Comparison among three cold staining methods in the primary diagnosis of tuberculosis: a pilot study. *J. Bras. Pneumol*. 2010 Sep-Oct;36(5):612-6. DOI: 10.1590/s1806-37132010000500013
6. Ulrichs T, Lefmann M, Reich M, Morawietz L, Roth A, Brinkmann V, et al. Modified immunohistological staining allows detection of Ziehl-Neelsen negative *Mycobacterium tuberculosis* organisms and their precise localization in human tissue. *J. Pathol*. 2005 Mar;205:633-40. doi: 10.1002/path.1728
7. Ellinidi VN, Ariel' BM, Samusenko IA, Tugolukova LV. Immunogistohimicheskij metod v diagnostike tuberkuleza. *Arh. patologii*. 2007 Maj;5:36-7. [in Russian].
8. Dvorakovskaya IV, Majskaya MYu, Nasyrov RA, Baranova OP, Ariel' BM. Morfologicheskoe issledovanie v differencial'noj diagnostike tuberkuleza i sarkoidoza. *Arh. patologii*. 2014 Yanv;1:27-31. [in Russian].
9. Karimi S, Shamaei M, Pourabdollah M, Sadr M, Karbasi M, Kiani A, et al. Histopathological findings in immunohistological staining of the granulomatous tissue reaction associated with tuberculosis [Internet]. *Tuberculosis Research and Treatment*. 2014 Jan. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2014/858396>
10. Ihama Y, Hokama A, Hibiya K, Kishimoto K. Diagnosis of intestinal tuberculosis using a monoclonal antibody to *Mycobacterium tuberculosis*. *World J. Gastroenterol*. 2012 Dec 21;18(47):6974-80. DOI: 10.3748/wjg.v18.i47.6974
11. Cinzerling VA, Agapov MM. Sovremennye podhody k morfologicheskoy diagnostike tuberkuleza. *Tuberkulez i bolezni legkih*. 2017 Fevr;95(2):7-12. [in Russian].
12. Dorozhkova IR. Vozbuditel' tuberkuleza: istoriya otkrytiya i izucheniya. *Tuberkulez i bolezni legkih*. 2012 Maj 03;3:3-14. [in Russian].
13. Kuzovkova SD, Liskina IV, Zagaba LM, Mel'ny'k OO. Diagnosty'chni mozhy'vosti gistologichnogo vy'yavleniya mikobakterial'noyi infekciyi v legenyakh pry' VIL-infekciyi. V materialy mizhnarodnoyi nauk.-prakt. konf. Suchasny'j vy'mir medy'chnoy nauky' ta prakty'ky'; 2020 Maj 8-9; Dnipro. Organizaciya naukovy'kh medy'chny'kh doslidzhen' Salutem. 2020. s. 68-71. [in Ukrainian].

### ОСОБЛИВОСТІ ІМУНОГІСТОХІМІЧНОГО ВИЯВЛЕННЯ АНТИГЕНІВ МІКОБАКТЕРІЙ РІЗНИМИ АНТИТІЛАМИ У ЛЕГЕНЕВІЙ ТКАНИНІ ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ ХВОРИХ

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

**Резюме.** Досліджені особливості імуногістохімічного виявлення антигенів та цілісних структур МБТ у легеневій тканині пацієнтів з ко-інфекцією ТБ-ВІЛ. Застосовано два поліклональних антитіла до МБТ: M. tuberculosis antibody PA1-7231 та M. tuberculosis antibody з флуоресцентною міткою PA1-73134.

Матеріалом для дослідження слугували біопсії легень та аутопсійний матеріал 28 ВІЛ-інфікованих пацієнтів з різними формами туберкульозного ураження легень.

Встановлено, що антитіло з флуоресцентною міткою дозволяє проводити відносну кількісну оцінку мікобактерій у тканині легень та оцінювати наявність поліморфізму мікобактерій. Інше поліклональне антитіло дозволяє максимально виявляти імунопозитивний матеріал у вигляді гранул у клітинах різних структур легеневої тканини та позаклітинно. Одночасне використання двох антитіл розширює можливості імуногістохімічного аналізу стосовно чіткого визначення локалізації та відносної кількості антигенів та цілісних структур МБТ.

**Ключові слова:** мікобактерії туберкульозу, поліклональне антитіло до МБТ, імуногістохімія, ВІЛ-інфекція, туберкульоз легень.

### ОСОБЕННОСТИ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОГО ВЫЯВЛЕНИЯ АНТИГЕНОВ МИКОБАКТЕРИЙ РАЗНЫМИ АНТИТЕЛАМИ В ЛЕГОЧНОЙ ТКАНИ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ

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

**Резюме.** Исследованы особенности иммуногистохимического выявления антигенов и целостных структур МБТ в легочной ткани пациентов с ко-инфекцией ТБ-ВИЧ. Использовали два поликлональных антитела к МБТ: M. tuberculosis antibody PA1-7231 и M. tuberculosis antibody с флуоресцентной меткой PA1-73134.

Материалом для исследования послужили биопсии легких и аутопсийный материал 28 ВИЧ-инфицированных пациентов с разными формами туберкулезного поражения легких.

Установлено, что антитело с флуоресцентной меткой позволяет проводить относительную количественную оценку микобактерий в ткани легких и оценивать наличие полиморфизма микобактерий. Другое поликлональное антитело позволяет максимально выявлять иммунопозитивный материал в виде гранул в клетках различных структур легочной ткани и внеклеточно. Одновременное использование двух антител расширяет возможности иммуногистохимического анализа в отношении четкого определения локализации и относительного количества антигенов и целостных структур МБТ.

**Ключевые слова:** микобактерии туберкулеза, поликлональное антитело к МБТ, иммуногистохимия, ВИЧ-инфекция, туберкулез легких.

### PECULIARITIES OF IMMUNOGISTOCHEMICAL DETECTION OF MYCOBACTERIA ANTIGENS WITH DIFFERENT ANTIBODIES IN PULMONARY TISSUE OF HIV-INFECTED PATIENTS

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

**Abstract.** Despite the high efficiency of microbiological and immunological methods for the diagnosis of tuberculosis in patients with co-infection TB-HIV, morphological diagnosis remains relevant in clinical practice.

In recent decades, immunohistochemical methods for detecting M. tuberculosis in affected body tissues have been actively developed and applied mainly for scientific research.

The aim of the study was to analyze the features of the immunomorphological detection of antigens and whole structures of the M. tuberculosis by different antibodies in the lung tissue during co-infection with TB-HIV.

Twenty eight specimens of biopsy (20 cases) and autopsy (8 cases) material were selected. In all cases diagnosis of HIV infection in association with various forms of pulmonary tuberculosis was previously verified.

An immunohistochemical study of lung tissue was performed to detect mycobacterial antigens using two polyclonal antibodies: M. tuberculosis antibody PA1-7231 and M. tuberculosis antibody with a fluorescent label PA1-73134 (Thermo Fisher Scientific, USA). Immunohistochemical treatment was performed automatically using AUTOSTAINER 360-2D system and reagents manufactured by Thermo Fisher Scientific (USA) with UltraVision Quanto imaging system.

Microscopy of samples was performed on an Olympus BX51 microscope with an Olympus U-RFL-T fluorescence attachment at a wavelength range of exciting light of 461-489 nm and emitting light of 497-532.5 nm, working magnification x400.

It was found that an antibody with a fluorescent label allows for making a relative quantitative assessment of mycobacteria in lung tissue and to assess the presence of mycobacterial polymorphism. Another polyclonal antibody allows the maximum detection of immunopositive material in the form of granules in the cells of various structures of the lung tissue and extracellularly. The simultaneous use of two antibodies expands the possibilities of immunohistochemical analysis.

**Key words:** mycobacterium tuberculosis, polyclonal antibody to MBT, immunohistochemistry, HIV infection, pulmonary tuberculosis.

Рецензент – проф. Катеренчук І. П.

Стаття надійшла 01.07.2020 року