

У.Е. Макарова, К.С. Лоскутова, М.П. Кириллина

ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКИЙ МЕТОД В ДИАГНОСТИКЕ ТУБЕРКУЛЕЗНОГО ЛИМФАДЕНИТА

УДК 616-002.5:611.428/616-07

Изучены возможности применения иммуногистохимического метода в диагностике туберкулеза периферических лимфатических узлов. Выяснено, что использование данного метода позволяет увеличить частоту выявления микобактерий туберкулеза по сравнению с другими методами в 2 раза.

Ключевые слова: туберкулез периферических лимфатических узлов, микобактерии туберкулеза, диагностика, патоморфологическая картина, иммуногистохимический метод

The authors studied possibilities of application of immunohistochemical method in diagnostics of peripheral lymph nodes tuberculosis. It was found out that the method allowed to increase frequency of mycobacterium tuberculosis revealing in comparison with the other methods in 2 times.

Keywords: peripheral lymph nodes tuberculosis, mycobacterium tuberculosis, diagnostics, pathomorphological pattern, immunohistochemical method.

Наиболее распространенной экстраторакальной локализацией туберкулезной инфекции является поражение периферических лимфатических узлов (ТПЛУ), которое в структуре внелегочного туберкулеза занимает 1-3 место, при этом до 80% больных выявляются в поздних стадиях заболевания, поэтому вопросы его ранней диагностики до настоящего времени остаются наиболее актуальными [1,3].

Трудности диагностики ТПЛУ в ранних стадиях развития связаны с тем, что данное заболевание относится к большой группе гранулематозных болезней (более 70 нозологий). Известно, что гранулематозы, в отличие от вульгарного воспаления, проявляются первично продуктивной реакцией и поэтому на этом этапе верификация генеза гиперплазии лимфоидной ткани становится более сложной или даже неразрешимой диагностической проблемой. В подобных случаях основным диагностическим критерием туберкулезного заболевания служит выявление микобактерий туберкулеза (МБТ) в исследуемом материале. При диагностике ТПЛУ таковыми служат удаленный лимфоузел или его пунктат, гнойное отделяемое свищей.

В настоящее время МБТ в исследуемом материале выявляют микроскопическим методом с помощью классической окраски мазков по Цилю-Нильсену, выращиванием культуры микобактерий, люминесцентной микроскопией с окрашиванием аураминном, методом

полимеразной цепной реакцией (ПЦР). Современный иммуногистохимический (ИГХ) метод обнаружения микобактерий был применен при кавернозных и диссеминированных формах туберкулеза легких, кожи и становится наиболее эффективным, повышает качество гистологической диагностики туберкулеза [5]. При этом в доступной отечественной и зарубежной литературе практически отсутствуют работы, рассматривающие применение данного метода в диагностике туберкулезного лимфаденита.

Следует отметить, что в последние годы имеет место уменьшение случаев выявления МБТ из материала лимфатических узлов. Если в 1953 г. в биоптатах казеозных лимфоузлов методом прямой бактериоскопии и посева МБТ были выявлены в 100% случаев [2], то в 1977 г. их обнаружено только в 35,8% [4]. Наши исследования подтвердили подобную тенденцию - МБТ были выявлены в 26% случаев [6].

В связи с этим данное исследование проводилось с целью оценки результатов применения ИГХ метода в диагностике ТПЛУ.

Материал и методы исследования. Из числа больных с лимфаденопатией, обследованных в различных лечебно-профилактических учреждениях, были выделены 30 пациентов с подозрением на туберкулез лимфоузлов, которые подверглись к диагностическому хирургическому вмешательству. Патоморфологическое описание биоптатов лимфатических узлов и определение МБТ применением ИГХ метода проводилось в лаборатории морфологических исследований Республиканской больницы №1-Национального центра медицины Минис-

терства здравоохранения Республики Саха (Якутия).

Иммуногистохимическое выявление МБТ выполнено с применением системы визуализации PolyVue Mouse/Rabbit HRP Kit (производитель Diagnostic BioSystems, США) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. Демаскировка антигена проводилась в течение 2 мин в цитратном буфере pH 6,0. Первичные антитела МБТ NCL-MT (clone 1.1/3/1) (производитель «Novocastra», Великобритания) инкубировали при 37°C в течение одного часа. Результат реакции визуализировали диаминобензидином (DAB kit «Pharmingen», США).

Результаты и обсуждение. В 16 (53,33%) из 30 случаев патоморфологическое исследование биоптатов лимфоузлов показало наличие туберкулезного процесса (рис. 1), в 14 (46,67%) – гиперплазию, пролиферацию лимфоидной ткани без четких признаков формирования гранулем. Исходя из этого, ИГХ исследование проводилось по двум основным группам больных. В первую группу были включены 16 больных, у которых патоморфологическая картина была характерна для казеозного туберкулеза лимфоузлов. Вторую группу составили 14 больных, которым при рутинном гистологическом исследовании было установлено неспецифическое поражение лимфатического узла (лимфаденит, гиперплазия), без формирования гранулем.

При анализе данных исследования выяснилось, что в первой группе больных МБТ были обнаружены ИГХ методом из 16 в 10 (62,5%) случаях, в 3 (18,75%) – результат был сомнительный, а у остальных 3 (18,75%) – отрицательный. Из тех же 16 в 5 (31,25%) случа-

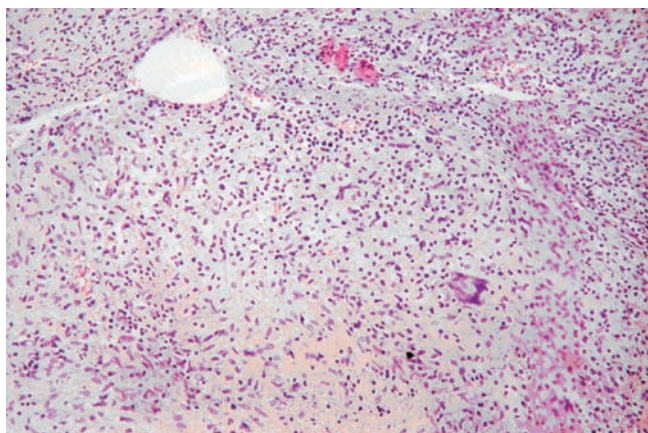


Рис.1. Участок гранулематозного воспаления в лимфатическом узле, без зоны казеозного некроза, с гигантской клеткой типа Пирогова-Лангганса (x100, окраска гематоксилином и эозином).

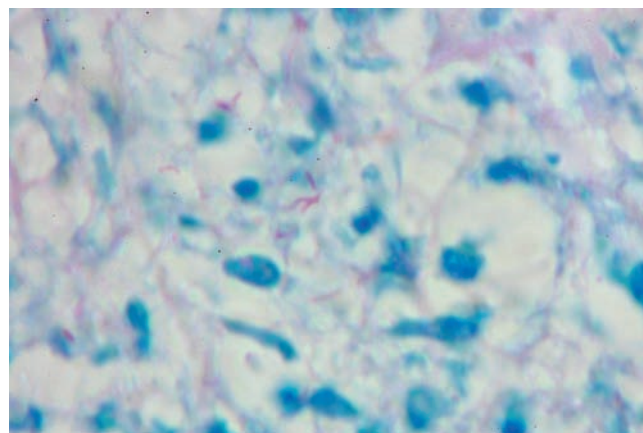


Рис.2. Микобактерии туберкулеза в ткани лимфоузла, в области гранулематозного воспаления (x1000, окраска по Цилю-Нильсену).

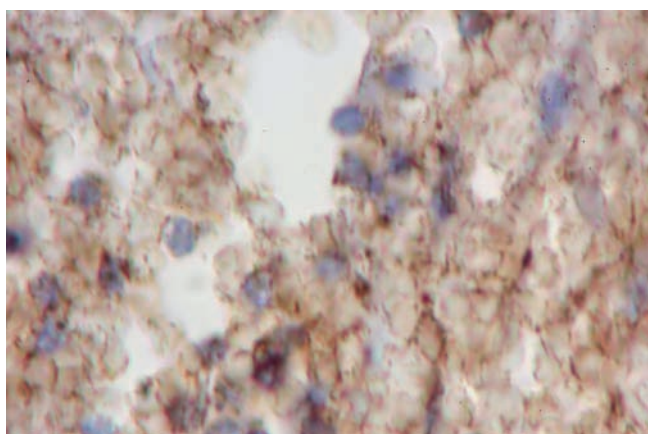


Рис.3. Микобактерии туберкулеза в ткани лимфоузла, в области гранулематозного воспаления (x1000, иммуногистохимический метод, антитела к МБТ NCL-MT, clone 1.1/3/1).

ях МБТ были выявлены микроскопическим методом по Цилю-Нильсену (рис.2), люминесцентной микроскопией и посевом. Несколько неожиданным оказался результат ИГХ исследования биоптатов от больных второй группы. Из 14 случаев в 11 (78,57%) ИГХ методом были выявлены возбудители туберкулеза (рис.3) и лишь у 3 результат был отрицательным. При этом другими методами исследования (люминесцентным) МБТ были обнаружены в биоптатах лимфоузлов у 1 больного, что составляет 7,14%.

Таким образом, использование ИГХ метода в казеозной стадии туберкулезного лимфаденита позволило выявлять МБТ в 2 раза чаще, чем всеми другими методами исследования, а при наличии гиперплазии лимфоидной

ткани, расцененной как категория «неспецифическое поражение», — больше на 71,43%.

Заключение.

Все вышесказанное на примере использования иммуногистохимического метода выявления МБТ в биоптатах периферических лимфатических узлов показывает возможности современного метода, его высокую эффективность и значимость в диагностике, диф-

ференциальной диагностике туберкулеза, а также является наиболее перспективным направлением внедрения молекулярно-генетических методов в практической работе. Полученные результаты иммуногистохимического исследования свидетельствуют о сложностях диагностики специфического воспаления лимфатических узлов в ранних стадиях, что требует продолжения углубленного исследования данной проблемы.

Литература

1. Беллендир Э.И. Патогенез внегочных локализаций туберкулеза / Э.И. Беллендир // Тр. С-Пб. НИИТ -С-Пб., 1997.-С 23-25.
Bellendir E.I. Pathogenesis of tuberculosis extrapulmonary localizations/ E.I. Bellendir //Coll. of SPb NIIT.-SPb.- 1997.- P. 23-25.

2. Белогурова В.П. О вирулентности и типовой принадлежности туберкулезных микобактерий при некоторых формах туберкулеза в ЯАССР / В.П. Белогурова //Вопросы краевой эпидемиологии туберкулеза.- Якутск, 1953.- С.115-134.

Belogurova V.P. Virulence and typicality of tubercular mycobacterium at some forms of tuberculosis in YASSR / V.P. Belogurova //Questions of regional epidemiology of tuberculosis. - Yakutsk, 1953. - P.115-134.

3. Внегочный туберкулез: руководство для врачей /Под. ред. А.В.Васильева.- СПб., 2000.

Extrapulmonary tuberculosis: the guide for doctors / under A.V.Vasilev ed. - SPb., 2000.

4. Дьячковская С.С. Клинико-цитологическая и бактериологическая диагностика туберкулеза периферических лимфоузлов при современных эпидемиологических условиях внегочного туберкулеза: автореф. дис. ... канд. мед. наук / С.С. Дьячковская - М., 1977.

Djachkovskaja S.S. Clinico-cytological and bacteriological diagnostics of peripheral lymph nodes tuberculosis under modern epidemiological conditions of extrapulmonary tuberculosis: abstract of a thesis....PhD / S.S. Djachkovskaja. - M., 1977.

5. Иммуногистохимический метод в диагностике туберкулеза / В.Н. Эллиниди [и др.] //Арх. патологии – 2007. - №5.-С.36-38.

Immunohistochemical method in tuberculosis diagnostics / V. N. Ellinidi, B.M. Ariel, I.A. Samusenko, L.V. Tugolukova //Ark. Patologii. - 2007. -№5.-P.36-38.

6. Макарова У.Е. Патоморфоз туберкулеза периферических лимфатических узлов в современных социально-эпидемиологических условиях Якутии / У.Е. Макарова //Труды Якутск. науч.-исслед. ин-та туберкулеза.- Якутск, 2002.- С. 85-91.

Makarova U.E. Pathomorphism of peripheral lymph nodes tuberculosis in modern socially-epidemiological conditions of Yakutia /U.E. Makarova //Coll. of YNIIT. - Yakutsk, 2002. - P. 85-91.