

ЛИТЕРАТУРНОЕ ДИФФЕРЕНЦИРОВАНИЕ БЛАСТОЦИСТОЗА

Худоярова Г.Н

асс.

Мусаев Мухаммаджон

(студент лечебного факультета) Самаркандский государственный
медицинский университет

Актуальность: В настоящее время паразитарные заболевания продолжают составлять значительную часть инфекционной патологии. В 2018 году в Российской Федерации было зарегистрировано более 34 миллионов случаев инфекционных и паразитарных заболеваний, что на 2,6% меньше, чем в 2017 году. Согласно государственному докладу "О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году", острые кишечные инфекции (ОКИ) являются одной из главных групп инфекционных заболеваний. В течение 2018 года было зарегистрировано более 816 тысяч случаев ОКИ в Российской Федерации (555,71 на 100 тысяч населения). Такая ситуация свидетельствует о сохраняющейся высокой активности путей передачи: контактно-бытового, водного и пищевого. Эти пути передачи характерны для возбудителей вирусной, бактериальной и паразитарной природы. Кроме хорошо известных классических патогенных простейших кишечника, таких как лямблии и энтероамебы гистолитики, в эту группу включаются также *Blastocystis spp.*, *Cryptosporidium spp.* и *Cyclospora spp.*, их более глубокое исследование начато недавно.

Ключевые слова: *blastocystis spp.*, пути передачи, патогенные, простейшие, фекально-оральный механизм, дискомфорт, боль, размножения.

ВВЕДЕНИЕ

В причиной написания этой статьи стал результат лабораторного исследования одного знакомого. Она долгое время страдала от отсутствия аппетита, запоров, обильного потоотделения и постоянной усталости, а также от частых болей в области живота. При обращении к врачу выяснилось, что необходимо лабораторное заключение.

По рекомендации врача было проведено анализ кала и по результатам анализа выявлен безопасный вид *Blastocystis spp.* Однако позже выяснилось, что вышеуказанные симптомы не связаны с этим микроорганизмом. Нас заинтриговала *blastocystis spp.*, которая не была вызвана болезнью, но присутствовала в стуле. Итак, если безопасный тип этого одноклеточного организма не вызывает заболевания, зачем его обнаруживать в стуле? Каковы пути его передачи, а также стадии развития? При каких обстоятельствах это может вызвать заболевание? Каково его значение в клинике и диагностике?

Когда это может быть опасно или безопасно? Как отличить его от других паразитов? Мы посвятили наш следующий поиск ответам на эти и подобные вопросы. Мы работали с рядом литератур и интернет-ресурсов, собирали и анализировали данные.

В ходе ознакомления с источниками установлено микробиологическое и клиническое значение бластоцисты spp. Также в литературе подчеркивается, что: *blastocystis* spp нельзя рассматривать поверхностно, но необходимо провести глубокие исследования, а также применить точные результаты на практике, но в большинстве стран это не было должным образом установлено, а также то, что это в наших научных исследованиях "новый" организм, который не получил широкого освещения в литературе или вообще не получил широкого распространения из-за его различных проявлений на этапах развития, сложности дифференциации. Именно поэтому эта тема не утратила своей актуальности.

Бластоцистоз — это заболевание человека, вызываемое простейшим одноклеточным микроорганизмом *Blastocystis*, который колонизирует желудочно-кишечный тракт и при определённых условиях вызывает срыв функционирования кишечника (запоры или диарея, дискомфорт и боли в животе). Также *Blastocystis* повышает частоту развития иммунодепрессии, проблемной кожи и патологии суставов. Паразит проникает в организм посредством фекально-орального механизма. Чаще всего болезнь протекает в форме неактивного носительства. Бластоцисты — очень разнообразные по генетическим вариациям простейшие одноклеточные. Они выявляются в кишечнике как у человека, так и у множества животных (свиней, приматов, собак, птиц, тараканов и др.), т. е. не являются строго специфичными к хозяину. Отсюда рекомендуемое наименование — *Blastocystis* sp. (species subtype n., где n — число, указывающее субтип простейшего). До сих пор ведутся дискуссии по поводу патогенности их для человека, однако в экспериментах на мышах заражение бластоцистами вызывало у животных воспаление кишечника, выраженное нарушение его работы и преждевременную смерть, а у высших приматов — хроническую диарею.

Цель: Литературное дифференцирование бластоцистоза в разных источниках.

Материалы и методы исследования. В результате проведенного исследования использовались анкетные данные пациентов, которые были собраны в специально разработанных клиниках. Анкеты включали вопросы, направленные на выявление клинических симптомов, возможно вызванных присутствием *blastocystis*. Среди этих симптомов можно выделить диспептические расстройства, боль или дискомфорт в области живота, изменение частоты и консистенции стула, а также кожные высыпания и другие подобные проявления. Авторы исследования отметили, что материалы для

исследования были собраны у пациентов в три этапа, при ежедневном стуле сбор производился в течение трех дней, с увеличением интервала при наличии склонности к запорам.

Собирали стул в контейнеры объемом 30 мл, при этом в контейнер добавлялось 8 мл фиксирующей смеси в качестве консерванта. Специально разработанный консервант сохранял морфологические особенности *blastocystis*, поэтому общий объем собранного материала не должен был превышать половину объема контейнера. Для жидкого стула рекомендовалось собирать не менее 5 мл, а для твердого стула необходимо было его размять перед сбором. Собранный материал или контейнер без материала можно было хранить при комнатной температуре в темном месте до 3 недель. Во время сбора кала пациентам было рекомендовано избегать употребления печени, грибов, фруктов и овощей, богатых клетчаткой, таких как бобовые, свекла, капуста и другие продукты. Также не рекомендовалось принимать активированный уголь или другие сорбенты, а также использовать ректальные свечи на масляной основе. В случае лечения антибактериальными препаратами кал для исследования следовало начинать собирать спустя 7-10 дней после окончания приема препаратов. Для посева фекалий использовалась среда павловой, в пробирку по 10-12 мл среды добавляли 1-2 петли стерильного рисового крахмала перед посевом. Объем фекалий вносили в пробирку не более размера горошины перца, при наличии жидкого стула объем составлял 100-150 мкл.

Рост клеток контролировался через 24, 48 и 72 часа инкубации при 37 °С. Наличие *blastocystis* в культуре оценивалось с помощью микроскопии материала из ростовой зоны клеток в придонной части при увеличении $\times 120$ (окуляр $\times 15$, объектив $\times 8$). При наличии роста клеток в пробе делали постоянные окрашенные препараты методом Романовского-Гимза. Тестируемые образцы готовили следующим образом: в штатив расставляли необходимое количество пронумерованных пробирок и в каждую пробирку добавляли 400 мкл раствора для разведения фекалий (синий). С помощью аппликатора (использовался одноразовый аппликатор для каждого образца) переносили в пробирку 1 мл фекалий и тщательно перемешивали.

Пробирки оставляли на отстаивание не более 30 минут, чтобы получить осадок и декантировать жидкую фазу. Необходимое количество полосок помещали в специальный штатив, добавляли 100 мкл положительного и отрицательного контроля в отдельные лунки, а в остальные индивидуальные лунки вносили по 100 мкл разведенных исследуемых образцов. Плашку закрывали пленкой и инкубировали при 37 °С в течение 1 часа. Затем удаляли содержимое лунок, каждую лунку 5 раз промывали буферным раствором, а остатки влаги удаляли салфеткой. Далее в каждую лунку добавляли по 100 мкл готового к использованию конъюгата, накрывали стрипы пленкой и инкубировали при 37 °С в термостате в течение 1 часа. После этого проводили

промывку так же, как описано выше. Затем добавляли в каждую лунку по 100 мкл субстрата и инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Для остановки реакции добавляли в каждую лунку по 100 мкл стоп-раствора, который был раствором серной кислоты.

Результаты исследований. Результаты считывали с помощью спектрофотометра при длине волны 450 нм. Положительный контроль: степень адсорбции должна быть больше/равна 1.0 при 450/620 нм. Отрицательный контроль: степень адсорбции должна быть 45 меньше/ равна 0.20 при 450/620 нм. Положительный результат: в тестируемой лунке визуализируется желтая окраска. Метод выделения бластоцист в культуре продемонстрировал не только эффект зависимости от характера расстройств ЖКТ у обследованных, но и вариабельность существования *Blastocystis spp in vitro*: наблюдение вспышек роста, коротко- и долгоживущих изолятов, с развитием среди них как промежуточных форм, соответствующих типу размножения, так и нетипичных (многоядерных) и редких (гигантские клетки) морфоформ.

Полученные данные еще раз подтверждают феномен полиморфизма бластоцист. Методы окраски обеспечивают морфологическую идентификацию паразита не только при типичной, но и при атипичной локализации. Впервые испытанный экспресс-вариант окраски бластоцист с применением коммерческого набора «Лейкодиф 200» позволил выявлять различия между гибнущими и вегетирующими клетками (характерная окраска ядра), которые могут различаться по их клиническому значению, то есть верифицировать присутствие наиболее значимых вегетативных форм бластоцист.

Выводы. Мы сравнивали литературные данные по специализированной КДЛ по паразитарным болезням было организована на Российских в 2000 году как диагностическая лаборатория экспертного уровня. Модификацию метода ФЭО разработали в КДЛ для первичного скрининга возбудителей паразитов кишечника. Однако накопленные данные не анализировали и не изучали при перекрестном сравнении с другими методами скрининга.

Алгоритм сбора материала пациентами был сознательно усложнен и растянут во времени с целью лучшей выявляемости всех стадий простейших. В рутинном процессе микроскопии мы отмечали хорошую сохранность трофозоитов амеб и жгутиковых, а также хрупких вакуолярных морфотипов бластоцист. Микроскопия препаратов, приготовленных методом ФЭО, дает возможность оценить популяцию бластоцист конкретного пациента: наличие амебоидных и других редко встречающихся форм, микст – инфекций, способы размножения. Это позволяет при выпуске результатов дать пациенту соответствующие рекомендации.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА:

1. Максимова М. С. Верификация диагностики *Blastocystis species* при разных формах инфекции. Диссертация. Москва – 2019. –С. 36-45.
- Бугеро Н. В., Немова И. С., Потатуркина-Нестерова Н. И. Факторы персистенции простейших фекальной флоры при дисбиозе кишечника // Вестник новых медицинских технологий. — 2011. — Т. 18. — № 3.
2. Продеус Т. В., Федянкина Л. В., Фролова А. А. Морфологическая идентификация бластоцист // Медицинская паразитология и паразитарные болезни. — 2014. — № 1. — С. 9-13.
3. Бондаренко В. М., Грачева Н. М., Мацулевич Т. В. Дисбактериозы кишечника у взрослых. — М.: КМК, 2003. — 224 с.
3. Захаров А. А., Ильина Н. А. Клинические проявления бластоцистной инвазии // Современные наукоемкие технологии. — 2010. — № 9. — С. 88-90.
4. Гаврилюк Т. В., Захаркив Ю. Ф., Турицин В. С., Сигидаев А. С., Гудков Р. В., Захаренко С. М., Козлов С. С. Изучение чувствительности *Blastocystis hominis* к антипротозойным, антимикотическим и антибактериальным препаратам // Материалы Всероссийской научно-практической конференции "Нерешенные вопросы этиотропной терапии актуальных инфекций". — 2015. — С. 17-18.
5. Потатуркина-Нестерова Н. И., Чебан Н. М., Ильина Н. А., Нестеров А. С. Простейшие *Blastocystis hominis* в патологии человека / Практические рекомендации. — Ульяновск: УлГУ. — 2000. — 38 с.
6. Parasites — *Blastocystis* spp. Infection // Centers for Disease Control and Prevention. — 2020. [ссылка](#)
7. Медицинская паразитология и паразитарные болезни: учебное пособие / под ред. А. Б. Ходжаян, С. С. Козлова, М. В. Голубевой. — М.: ГЭОТАРМедиа, 2014. — 448 с.
8. Бронштейн А. М. Паразитарные болезни человека : протозоозы и гельминтозы: учеб. пособие / А. М. Бронштейн, А. К. Токмалаев. — М. : Изд-во РУДН, 2002. — 207 с.
9. Xudoyarova G.N. Musayev Muhammadjon. Blastocystislarni mikrobiologik tekshirishlar asosida o'rganish natijalar // «Yosh olimlar» ilmiy-amaliy konferensiyasi -2024.-с.32-34.