

М.Т. Ковальчук

«ПЛІВКОВІ» МІКРОПРЕПАРАТИ В ПАРАЗИТОСКОПІЧНОМУ ДОСЛІДЖЕННІ: МЕТОДИЧНІ ПЕРЕВАГИ І ПЕРСПЕКТИВИ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського

*Розглядаються особливості методики «плівкових» мікропрепаратів у вигляді відбитків епідермісу пацієнтів на оптично-прозорій адгезивній плівці з дослідженням у поляризованому світлі, зокрема на предмет виявлення кліщів родини *Demodicidae*, а також перспективність щодо широкого застосування в лабораторно-діагностичній паразитологічній практиці.*

Ключові слова: паразитоскопія, демодикоз, оптично прозора адгезивна плівка, поляризована флуоресценція.

У пацієнтів з розацеа часто реєструють супутні паразитози, зокрема демодикоз, участь якого у патогенезі даного дерматозу залишається дискусійною. Проблема діагностики паразитозів на сучасному етапі стає дедалі актуальнішою передусім через поширення нових, раніше невідомих хвороб, появу яких пов'язують із змінами екологічної рівноваги довкілля, перш за все внаслідок неконтрольованого впровадження нерегламентованих технологій, а також відповідних порушень імунної реактивності та зниження загальної резистентності організму людини [1-3]. З огляду на це, пошук інформативних технологій діагностики паразитозів вимагає нових нестандартних технічних рішень, спрямованих на виявлення не тільки відповідних морфологічних ознак збудника, але й патогномонічних ознак певних змін його функціонального стану, наприклад, кліщів із родини *Demodicidae*, у полі зору люмінесцентного мікроскопу. До таких методик слід віднести виготовлення нативного мікропрепарату шляхом розміщення матеріалу від пацієнта на предметне скло під оптично прозору адгезивну плівку з наступним його дослідженням [4, 5].

Мета роботи – на основі запропонованих технічних рішень у сфері діагностики паразитозів проаналізувати методичні переваги методу «плівкових» мікропрепаратів і визначити перспективи подальшого вдосконалення лабораторної діагностики демодикозу у хворих на розацеа.

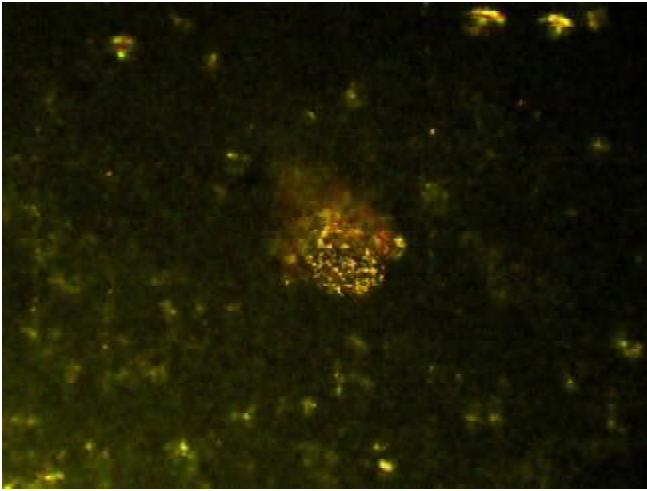
Матеріали і методи

Принциповий хід дослідження полягав у тому, що об'єкт аналізу – біологічний матеріал у вигляді відбитку з епідермісу пацієнта з розацеа на прозорому скотчі (смужці 2×5 см) після експозиції на шкірі хворого 15-30 хв обережно знімали і нашаровували клейкою поверхнею на попередньо підготовлене чисте знежирене предметне скло. Мікропрепарат досліджували під мікроскопом за методом поляризованої флуоресценції. При цьому завдяки високій оптичній активності біоорганічних компонентів, що входять до складу тіл паразита (кліща із родини *Demodicidae*) та продуктів його життєдіяльності, а, отже, притаманній йому властивості рідкокристалічних сполук, збудник поліхромно флуоресціює у поляризованому світлі. Наведене забезпечує достатньо високий рівень контрастності зображення мікрооб'єкта, а отже, методичних та діагностично-інформативних переваг. Значною мірою цьому сприяє відсутність потреби у застосуванні будь-яких фарбників, зазвичай токсичних, особливо з огляду на нестійкість тіла збудника у зовнішньому середовищі (мал. 1).

Результати досліджень та їх обговорення

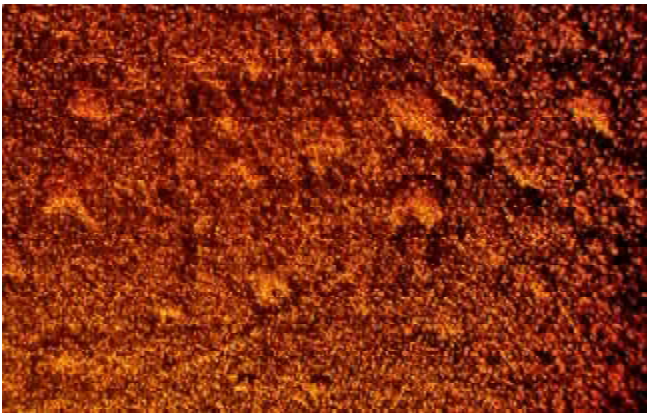
Завдяки створенню несприятливого для кліщів гіпоксичного мікрооточення в епідермісі пацієнта з розацеа під адгезивною плівкою, крім індукованого посиленого руху паразитів, спостерігається діагностично значима активація біотичних процесів збудника, що проявляється підвищенням інтенсивності флуоресценції клітинних структур кліща із родини *Demodicidae*. Аналогічно високу чутливість запропонованої методики виявлено при дослідженні ефективності біоорганічної приманки – порошкоподібного субстрату кріоліофілізованої ксеногенної шкіри (мал. 2). Вказаний феномен характеризується посиленою елімінацією із глибинних шарів шкірного покриву людини кліщів – збудників демодикозу. Останнє набуває відповідного значення не тільки в лікувальному, але й діагностичному аспектах.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ



Мал. 1. Поляризована флуоресценція тіла кліща в мікропрепараті під плівкою. ЛЮМАМ 8 М 3. $\times 150$

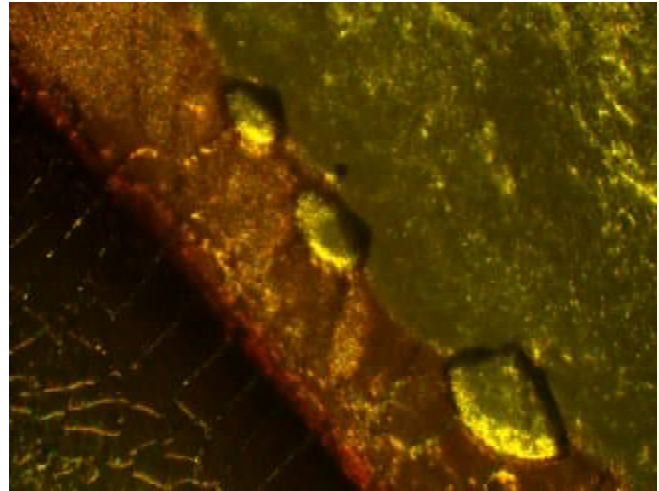
При внесенні на предметне скло 20-40 мкл свіжоцитратної крові хворого на розацеа до відбитку епідермісу, який знаходиться під плівкою, цього ж пацієнта, про наявність демодікозу роблять висновок за появою в мікропрепараті харак-



Мал. 3. Тіла кліщів у вигляді своєрідних «барханів» під моношаром цитратної крові. ЛЮМАМ 8 М 3. $\times 150$

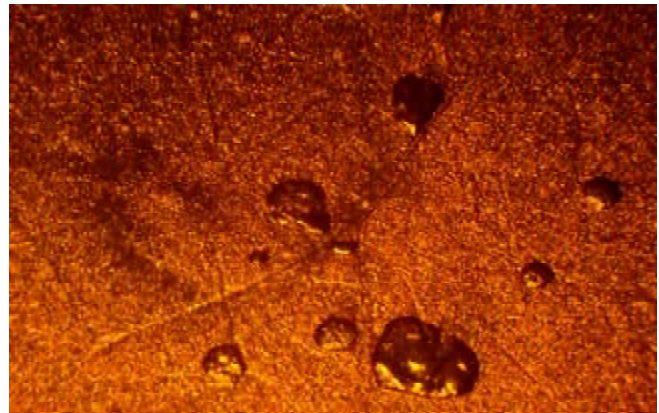
На особливу увагу заслуговують методичні підходи до визначення додаткових специфічних ознак життєдіяльності кліща із родини *Demodicidae* в мікропрепараті, а саме продукувати токсичну субстанцію білкової природи з властивостями гідролітичного ферменту, що і взято нами за критерій оцінки їх біохімічної активності.

Сутність методики полягає в тому, що на поверхню чистої шкіри пацієнта з розацеа наклею-



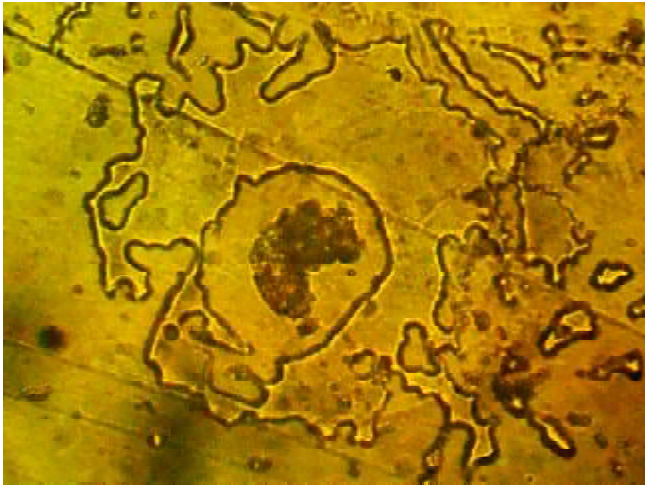
Мал. 2. Посилена елімінація кліщів з епідермісу, індукована приманкою у вигляді порошкоподібного субстрату кріоліофілізованої ксеногенної шкіри. ЛЮМАМ 8 М 3. $\times 150$

терних підвищень, утворених укритими моношаром цитратної крові тілами кліщів у вигляді своєрідних «барханів» із притаманними їм цитотоксичними (гемолітичними) проявами (мал. 3, 4).

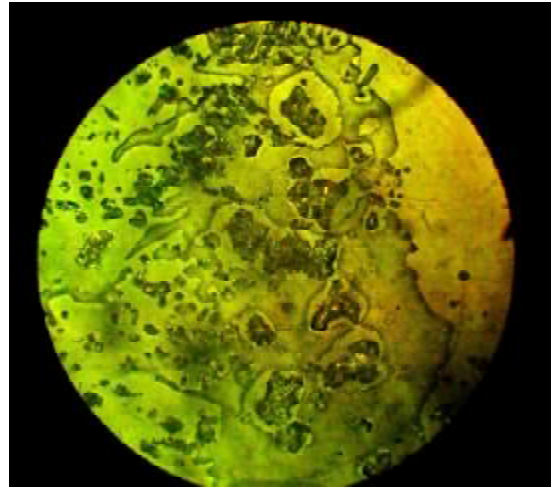


Мал. 4. Цитотоксична (гемолітична) дія кліщів як прояв паразитарної активності. ЛЮМАМ 8 М 3. $\times 150$

ють стрічку скотчу на 15 хв, після чого її обережно переносять на чисте знежирене предметне скло, витримують упродовж 2 год при 18-22 °С у полі зору поляризаційного мікроскопу. При цьому гідролази накритого адгезивною плівкою кліща в результаті його взаємодії з акриловою кислотою, як клейовою основою скотчу, розріджують її з формуванням у площині мікропрепарату своєрідної лакуни з розташованим в ній тілом кліща (мал. 5, 6).



Мал. 5. Тіло кліща всередині «токсичної» лакуни під плівкою в мікропрепараті. ЛЮМАМ 8 М 3. $\times 150$



Мал. 6. Множинні кліщі (в лакунах) під плівкою в мікропрепараті. ЛЮМАМ 8 М 3. $\times 150$

Характеризуючи методичні переваги технології дослідження кліща з родини *Demodicidae* методом «плівкового» мікропрепарату, слід зазначити, що окрім високоточного виявлення цього паразиту, наведений прийом суттєво розширює спектр діагностики демодекозу. Це стосується насамперед вивчення специфічної діагностично важливої захисної реакції кліща із родини *Demodicidae* у вигляді гідролітичної активності, наприклад, у відношенні акрилової кислоти. Вказана методика, як і інші на основі «плівкових» мікропрепаратів, також може бути використана для оцінки ефективності протипаразитарної терапії.

Висновки

1. «Плівкові» мікропрепарати, як принципово нова лабораторна діагностика демодекозу, забезпечують комплекс методичних переваг, до яких слід віднести високу точність дослідження та інформативність отриманих результатів.

2. Значна економічність, пов'язана з дослідженням нативного біологічного матеріалу без проведення його фарбування, забезпечує високий рівень методичної доступності.

Література

1. Акбулатова Л.Х. Морфология двух форм клеща *Demodex folliculorum hominis* и его роль в заболеваниях кожи человека: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Л.Х. Акбулатова. – Ташкент, 1968. – 27 с.

2. Лошакова В.И. Демодекоз – актуальная проблема современной дерматокосметологии / В.И. Лошакова // Вест. последип. мед. образ. – 2001. – № 1. – С. 79-80.

3. Потекаев Н.Н. Розацеа. Новый взгляд на старую проблему / Н.Н. Потекаев // Актуальные вопросы пластической, эстетической хирургии и дерматокосметологии: Сб. науч. работ (под ред. В.А. Виссарионова). – М., 2001. – С. 88-93.

4. Пат. 40079 (UA) G01N 21/21, A61B 10/00. Спосіб визначення біоценозу шкіри у хворих на рожеві вугри / М.Т. Ковальчук. – № u200812128 від 13.10.2008; опубл. 25.03.2009, бюл. № 6.

5. Пат. 91611 (UA) A61B 10/00, G01N 33/483. Діагностикум для виявлення шкірних паразитів – збудників демодекозу / М.А. Андрейчин, М.Т. Ковальчук, В.В. Дем'яненко. – № a200813068 від 10.11.2008; опубл. 10.08.2010, бюл. № 15.

«FILM» MICROPREPARATIONS IN PARASITOLOGICAL RESEARCH: METHODOLOGICAL ADVANTAGES AND PROSPECTS

M.T. Kovalchuk

SUMMARY: The features of the method "film" – micropreparations in the form of epidermis reprints in patients with an optically transparent adhesive film and the subsequent investigation into polarized light, in particular for the detection of the *Demodicidae* family mites as well as the prospects of widespread use in the laboratory and parasitological diagnostic practice are represented.

Key words: parasitology, demodicosis, optically clear adhesive film, polarized fluorescence.

Отримано 26.10.2012 р.