

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Література

1. Князевич В. Якість питної води безпосередньо впливає на здоров'я громадян // Ваше здоров'я . – 2008. – № 29. – С. 7.
2. Карпович Л.Г., Евреїнова Е.Э. Ротавірусная інфекція. – М., 2002. – Т. 1. – С. 261-268.
3. Світа В. Вода як фактор передачі збудників інфекційних захворювань // СЕС – профілактична медицина. – 2005. – № 3. – С. 48-50.
4. Мокитенко А.В., Петренко Н.Ф. Питьевая вода и водно-обусловленные инфекции (сообщение 1) // Вода і водоочисні технології. – 2007. – № 1 (21). – С. 57-64.
5. Санітарно-вірусологічний контроль водних об'єктів: Методичні вказівки / І.В. Дзюблик, С.Г. Вороненко, О.В. Ковалюк, О.В. Обертинська. – Київ, 2007. – 72 с.
6. Концентрування ротавірусів із стічних вод за допомогою поліметилсилоксанового адсорбенту «Ентеросгель»: Інформ. лист № 219 / Дзюблик І.В., Обертинська О.В., Миколенко Н.І. – К., 2005.
7. Вивчення та оцінка ефективності розробленого способу концентрування кишкових вірусів із води різного походження в польових умовах / О.В. Романюк, О.В. Обертинська, Н.І. Миколенко та ін. // Збірник наукових праць КМАПО. – К., 2006. – Вип. 15, кн. 2. – С. 589-594.

8. Дзюблик І.В. Патогенетичні механізми продуктивної ротавірусної інфекції та вдосконалення методів її лабораторної діагностики: дис. ... д-ра мед. наук. – К., 1994. – 281 с.

DISTRIBUTION OF ROTAVIRUSES IN AQUEOUS OBJECTS OF UKRAINIAN SURROUNDING

I.V. Dziublyk, O.V. Obertynska, I.H. Kostenko, N.M. Tikhtenko, N.I. Mykolenko, Zh.V. Khatynska, A.A. Boyko

SUMMARY. It is shown the expediency of using the new method of concentration of methylsilicic acid on hydrogel and algorithms of sanitary-hygienic investigation of water by means of simple/rapid tests on the basis of immune-chromatographic analysis with the purpose of monitoring of water of different application. It is described for the first time the distribution of rotaviruses in aqueous objects of 20 administrative-territorial zones of Ukraine.

Key words: water, rotavirus, distribution, method, monitoring.

© Шкільна М.І., 2008
УДК 616.993-074

М.І. Шкільна

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА ЛЯМБЛІОЗУ

Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського

Проаналізовано ефективність різних методів діагностики лямбліозу – паразитологічного, серологічного, поляризаційної флюоресценції, спектрального аналізу. Визначено оптимальний обсяг обстежень та умови їх проведення.

Ключові слова: лямблії, діагностика, паразитоскопія фекалій, дуоденального вмісту, поляризаційна флюоресценція, антитіла.

Наявність паразитів, зокрема лямблій (гіардій), останнім часом розглядають як один з етіологічних чинників алергодерматозів [1]. Існує низка методів діагностики лямбліозу, розробляються нові перспективні способи виявлення збудника.

Протоколами надання медичної допомоги хворим на алергічну кропив'янку та набряк Квінке, алергічні та атопічні дерматити (2006) передбачено обов'язкове паразитологічне дослідження

[2]. Показаннями для обстеження на лямбліоз у хворих на алергічні захворювання шкіри є недостатня ефективність стандартної терапії, а також наявність патології травного каналу.

Мета роботи – визначити оптимальний обсяг обстежень на лямбліоз та умови їх проведення.

Матеріали і методи

Під спостереженням було 105 хворих віком від 6 до 70 років, які перебували на амбулаторному та стаціонарному лікуванні в Тернопільському шкірно-венерологічному диспансері та амбулаторному лікуванні в поліклінічному відділенні відділкової клінічної лікарні ст. Тернопіль протягом 2006-2008 рр. Пацієнтів поділили на дві групи, з них 77 (1-а група) – хворі на алергічні дерматози на тлі лямбліозної інвазії (лямбліоз розглядали як супутнє захворювання) та 28 (2-а група) – хворі на лямбліоз як основну патологію. У 1-й групі перева-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

жали жінки (67,5 %, $P < 0,05$), у 2-й – жінок та чоловіків було приблизно порівну – 46,4 та 53,6 %.

Для виявлення лямблій нативний матеріал фекалій, дуоденального вмісту, зішкребку зі слизової оболонки язика досліджували у світлооптичному мікроскопі та методом поляризаційної флюоресценції з використанням люмінесцентного мікроскопа ЛЮМАМ-8 3м з фотометричною насадкою ФМЕЛ-1 для спектрального аналізу. Антитіла до антигенів лямблій в сироватці крові визначали методом імуноферментного аналізу за допомогою тест-систем виробництва ЗАО “Вектор-Бест” (Новосибірськ, Росія). Отримані результати досліджень об-

роблені методом варіаційної статистики у програмі Statgraf з використанням критерію Стюдента.

Результати досліджень та їх обговорення

У всіх випадках діагноз лямбліозу підтверджено виявленням найпростіших у фекаліях при паразитологічному дослідженні нативного матеріалу. Позитивні результати при першому дослідженні отримані у 54,6 % хворих 1-ї групи та 75,0 % – 2-ї ($P < 0,05$). Лише з другої спроби результати виявились позитивними у 29,2 % пацієнтів, з третьої – у 7,9 %, навіть із четвертої – у 2,9 % (табл. 1).

Таблиця 1

Частота виявлення лямблій при дослідженні фекалій

Група хворих	Кількість спроб							
	1-а		2-а		3-я		4 і >	
	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%	абс. число	%
1-а група (n=77)	42	54,6	25	32,6	6	7,9	3	3,9
2-а група (n=28)	21	75,0*	5	17,9	2	7,1	–	–
Разом (n=105)	63	60,0	30	29,2	8	7,9	3	2,9

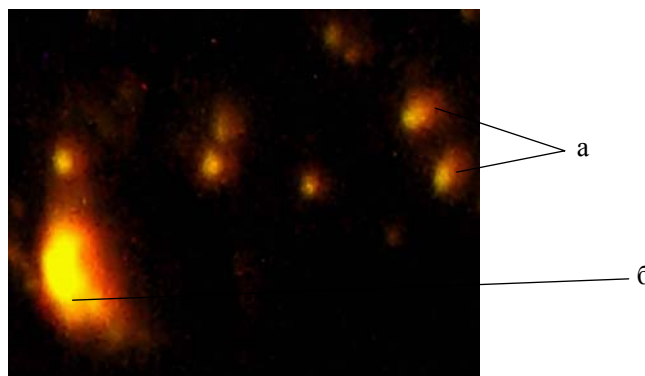
Примітка. * – $P < 0,05$ між групами.

У зв'язку зі скаргами на больові відчуття в животі здійснено дуоденальне зондування 36 пацієнтів. Лямблії виявлено при дослідженні отриманого матеріалу у 13 із 18 хворих 1-ї групи (72,2 %) та 14 із 18 (77,7 %) – 2-ї ($P > 0,05$). Вегетативні форми лямблій (трофозоїти) знайдено у 10 (38,4 %) осіб, із них лише в порції А – у 2 пацієнтів, в порції С – у 5, в порціях А і С – в 1, у всіх трьох порціях також у 1; трофозоїти разом із цистами знайдено в 1 пацієнта; у 17 осіб виявлено лише цисти. У більшості пацієнтів у дуоденальному вмісті виявлено помірну кількість слизу та бактерій, поодинокі лейкоцити без суттєвої залежності від наявності чи відсутності лямблій.

Обсяг досліджень на лямбліоз був доповнений методом поляризаційної флюоресценції фекалій, жовчі, зішкребку з язика. Як відомо, макромолекулярні структури одноклітинних паразитів *Lambliа intestinalis* належать до оптично активних речовин з властивостями рідких кристалів [3]. Ліпідам мембран, нуклеїновим кислотам ядер живих клітин притаманна здатність індукувати еліптичну поляризацію світла, що проявляється залежним від довжини хвилі явищем кругового дихроїзму [4-6]. В силу того, що поляризаційна флюоресценція як фізичний метод [4, 5] не потребує застосування будь-яких, зазвичай токсичних, барвників-флюорохромів, якісний цитофлюоресцентний аналіз лямблій у вітальних мікро-

препаратах дає можливість відрізнити вегетативні форми від цист (мал. 1). Найхарактернішою відмінністю флюоресценції лямблій у поляризованому світлі є надвисока інтенсивність світіння клітинних ядер паразита, яка відображає функціональний баланс ДНК і РНК, відповідає рівню їх біоенергетики, змінюється на різних стадіях інфекційного процесу, і на порядок вищий порівняно зі світінням ядерних структур лейкоцитів, що умовно прийняте за 100 % [7].

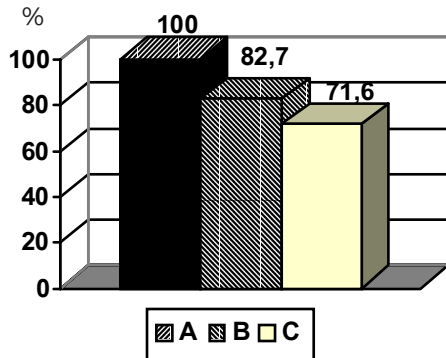
Поляризаційна флюоресценція дозволила виявити залежність інтенсивності світіння лямблій у



Мал. 1. Світіння цистних (а) і вегетативних (б) форм лямблій у дуоденальному вмісті. ЛЮМАМ 8-3м: Об. 9х Ок. 20х

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

поляризованому світлі від місця їх знаходження на момент діагностичного зондування – найвищий рівень інтенсивності світіння притаманний паразитам з порції А, взятий нами за 100 %, тоді як найнижчий було встановлено в порції С – (71,6±5,9) %; проміжний рівень інтенсивності флуоресценції, (82,7±5,1) %, мав місце при дослідженні жовчі порції В (p<0,05). Такий розподіл рівнів біоенергетики клітин паразитів із різних порцій жовчі є відображенням реакції з боку паразитів на зміни умов мікрооточення, а саме кількісного складу компонентів жовчі (мал. 2). У 6 хворих цим методом виявлено цисти лямблій в окремих порціях жовчі додатково до даних звичайної мікроскопії, у тому числі у 3 прозондованих хворих, в яких результат паразитоскопії нативної жовчі був від'ємний.



Мал. 2. Залежність інтенсивності флуоресценції лямблій від їх локалізації в порціях жовчі.

Всупереч даним літератури, які стверджують, що вегетативні форми лямблій можна знайти тільки у свіжозібраній жовчі [8], нам вдалось спостерігати їх у дуоденальному вмісті за допомогою методу як звичайної, так і поляризаційної мікроскопії навіть через 6 діб після забору (матеріал зберігали в холодильній камері при 4 °С, у шприці).

При аналізі спектрального розподілу світіння паразитів, виділених з порції А жовчі, виявлено значне зростання піку світіння РНК цисти порівняно з характером кривої флуоресценції вегетативної форми лямблій.

Враховуючи природний (аліментарний) шлях інвазії лямблій, проведено дослідження зішкрібків з язика, яке виявилось позитивним у 92,8 % випадків. Особливістю розробленого нами методу є можливість вивчення як живих паразитів у поляризованому світлі, так і особливостей спектрального складу їх випромінювання [9]. Звичайна світлооптична мікроскопія підтвердила наявність лямблій у цих препаратах у 72,2 % хворих.

Антитіла до антигенів лямблій виявлено в 35 (33,3 %) хворих (табл. 2), у тому числі у 30 пацієнтів дані серологічного і копрологічного досліджень співпали, а у 5 – антитіла виявлено за відсутності лямблій у фекаліях. Отримані результати частково збігаються з даними літератури [10, 11], що свідчить про недостатню інформативність імуноферментного методу та, ймовірно, пов'язано з недостатньою імунною відповіддю. За даними літе-

Таблиця 2

Порівняння діагностичної чутливості різних методів діагностики лямбліозної інвазії

Метод дослідження		Група хворих		Разом (n=105)
		1-а група (n=77)	2-а група (n=28)	
Мікроскопія калу	Обстежено	77	28	105
	Результат (+)	74 (96,1 %)	26 (92,8 %)	100 (95,2 %)
Мікроскопія порцій жовчі	Обстежено	18	18	36
	Результат (+)	13 (72,2 %)	14 (77,7 %)	27 (75,0 %)
Поляризаційна флуоресценція	Фекалії			
	Обстежено	13	22	35
	Результат (+)	11 (84,6 %)	21 (95,5 %)	32 (91,4 %)
	Жовч			
	Обстежено	15	16	31
	Результат (+)	14 (93,3 %)	14 (81,2 %)	28 (90,3 %)
Зішкріб з язика	Обстежено	32	24	56
	Результат (+)	30 (93,8 %)	22 (91,6 %)	52 (92,8 %)
	«Сіра зона»			
Імуноферментний аналіз крові на антитіла	Обстежено	77	28	105
	Результат (+)	26 (33,8 %)	9 (32,1 %)	35 (33,3 %)
	Результат (-)	36 (46,8 %)	15 (53,7 %)	51 (48,6 %)
	«Сіра зона»	15 (19,4 %)	4 (14,2 %)	19 (18,1 %)

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

ратури [12], антитіла з'являються не відразу після інвазії, визначаються лише протягом деякого часу (до 1,5 року) після елімінації збудника. У той же час, деякі автори надають перевагу саме серологічним методам діагностики лямбліозу [13].

Результати лабораторних досліджень залежали від умов їх проведення та підготовки пацієнтів. Дослідженню підлягав лише свіжозібраний нативний матеріал, оскільки за 10-15 хв в умовах довкілля вегетативні форми лямблій руйнуються.

Звертає на себе увагу те, що у хворих 1-ї групи рідше вдавалося виявити лямблії при першому дослідженні фекалій. За нашим припущенням, це пов'язано з тим, що частину базової терапії алергійних захворювань шкіри складала ентеросорбенти, які спричинювали закрепи. Покращенню виявлення лямблій сприяла відповідна попередня підготовка, коли хворим призначали спазмолітики (но-шпу) та жовчогінні препарати (алохол), що, у свою чергу, усувало «феномен переривчастого цистовиділення» [11].

Частота позитивних результатів у наших хворих (60 %) узгоджується із даними літератури, згідно яких цистні форми лямблій виявляються з першої спроби у 50-60 %. Використання спазмолітиків, жовчогінних препаратів сприяло підвищенню частоти виявлення цистних форм до 90 % [14], у наших дослідженнях – до 95,2 % випадків.

Висновки

1. Найбільш чутливим у лабораторній діагностиці лямбліозу залишається класичний метод паразитоскопії фекалій (95,2 %) і зішкребку з язика (92,8 %).

2. При дослідженні жовчі позитивні результати отримано у 75,0 % хворих. Завдяки діагностичним можливостям поляризаційної флуоресценції, в окремих порціях жовчі додатково можна виявити лямблії, які не знайдені при звичайній світлооптичній мікроскопії.

3. Спектральний аналіз особливостей випромінювання живих лямблій в поляризованому світлі дозволяє диференціювати вегетативні та цистні форми цих паразитів.

4. Для кращого виявлення лямблій у фекаліях необхідна попередня підготовка до лабораторного обстеження із застосуванням спазмолітиків і жовчогінних препаратів.

Література

1. Зайков С.В. Проблемы диагностики и лечения крапивницы // Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія. – 2008. – № 2 (13). – С. 5–10.
2. Протокол надання медичної допомоги хворим на алергічну кропив'янку та набряк Квінке // Збірник нормативно-правових документів МОЗ України. – 2006. – № 7 (29). – С. 91-93.
3. Карнаухов В.Н. Люминесцентный спектральный анализ клетки. – М.: Наука, 1978. – 209 с.
4. Жевандров Н.Д. Поляризация света. – М.: Наука, 1969. – С.125-140.
5. Уильямс З.В., Уильямс Х. Физическая химия для биологов: Пер. с англ. – М.: Мир, 1976. – 500 с.
6. Varma R., Mayor S. GPI-anchored proteins are organized in submicron domains at the cell surface. – Nature. – 1998. – V. 394. – P. 798-801.
7. Шкільна М.І., Дем'яненко В.В. Біофізичні засади клініко-лабораторної інформативності поляризаційної флуоресценції лямблій // Розвиток наукових досліджень: Матер. 3-ї міжнарод. наук.-практ. конф. (26-28.11.2007). – Полтава: ІнтерГрафіка, 2007. – Т. 5. – С. 77-78.
8. Профилактика лямблиоза: Методические указания / Цыбина Т.Н., Сыслова Т.Г. – М., 2004. – 40 с.
9. Пат. 29303 U. Спосіб діагностичного визначення лямблій / Андрейчин М.А., Шкільна М.І. – № u200709882; Заявлено 03.09.2007; Опубл. 10.01.2008; Бюл. № 1.
10. Выявление антител к антигенам тропозоитов лямблий иммуноферментным методом / Дедкова Л.М., Волков Г.Н., Серова О.А. и др. // Мед. паразитол. и паразит. болезни. – 1999. – № 1. – С. 46-48.
11. Бандурина Т.Ю., Кнорринг Г.Ю. Лечение лямблиоза и его возможных аллергических проявлений у детей // Алергологія. – 2004. – № 2. – С. 62-64.
12. Сальникова С.И. Лямблиозная инвазия у детей // Медицинская сестра. – 2006. – № 7. – С. 13-15.
13. Серологическая диагностика лямблиоза: Методические рекомендации / Каримова Р.Н., Осипова С.О. – Ташкент, 1984. – 7 с.
14. Ершова И.Б., Коваленко И.А., Кунегина Е.Н. Проблемы диагностики и лечения лямблиоза у детей // Укр. мед. газета. – 2006. – № 7-8. – С. 1-4.

LABORATORY DIAGNOSIS OF LAMBLIASIS

M.I. Shkilna

SUMMARY. Different methods of lambliosis diagnosis (parasitological, fluorescence polarization, serological spectral analysis) are characterized. Optimal volume of investigations and conditions of their performance are defined.

Key words: lamblias, diagnosis, parasitology of feces, duodenum content, fluorescence polarization, antibodies.