

УДК 616.993.1

Диагностика гиардиаза у детей с применением методов микроскопии, иммуноферментного анализа, полимеразной цепной реакции

Алиуллина А. Д.

ФГБОУ ВО «ЧГУ им. И.Н. Ульянова»

Аннотация (150-250 слов) Гиардиаз у детей остается актуальной проблемой, значимость которой определяется эндемичностью для многих стран и регионов, возникновением спорадических эпидемий, полиморфизмом клинической симптоматики и недостаточной эффективностью лечения. Гиардиаз (гиардиоз, жиардиаз, лямблиоз) остается самым распространенным протозоозом, встречающимся у человека. Распространенность глистно-протозойной инвазии среди взрослого и детского населения является критерием социально-экологического благополучия стран и регионов. Особое положение в структуре паразитарных инвазий у детей занимает лямблиоз (жиардиаз), характеризующийся широкой распространенностью как в России, так и за рубежом. Согласно определению Всемирной Организации Здравоохранения(ВОЗ), под лямблиозом подразумевается любой случай инвазии лямблиями как клинически явный, так и бессимптомный. Заболевание вызывается микроорганизмами из семейства простейших — *Giardia lamblia*. В 2016 г. в России было зарегистрировано более 48 тыс. случаев гиардиаза (общий показатель заболеваемости — 32,9 на 100 тыс. населения, у детей — от 100 до 350 случаев и более на 100 тыс. детского населения). В Астраханской области, по данным Роспотребнадзора, в 2016 г. зарегистрировано 346 случаев гиардиаза, в том числе 302 (87%) у детей; показатель заболеваемости составил 101,5 на 100 тыс. детского населения.

Ключевые слова: дети; гиардиаз; лабораторная диагностика; микроскопия; ИФА; ПЦР

UDC 616.993.1

Diagnosis of giardiasis in children using microscopy methods, enzyme immunoassay, polymerase chain reaction.

Aliullina A.D.

FGBOU VO "ChSU named after I.N. Ulyanov"

Abstract (150-200 words)

Giardiasis in children remains an urgent problem, the significance of which is determined by its endemicity for many countries and regions, the occurrence of sporadic epidemics, polymorphism of clinical symptoms and insufficient effectiveness of treatment. Giardiasis (giardiasis, giardiasis, giardiasis) remains the most common protozooosis found in humans. The prevalence of helminthic-protozoan infestation among adults and children is a criterion for the socio-ecological well-being of countries and regions. A special position in the structure of parasitic infestations in children is occupied by giardiasis (giardiasis), which is characterized by a wide prevalence both in Russia and abroad. According to the definition of the World Health Organization(WHO), giardiasis refers to any case of giardia infestation, both clinically obvious and asymptomatic. The disease is caused by microorganisms from the family of protozoa — *Giardia lamblia*. In 2016, more than 48 thousand cases of giardiasis were registered in

Russia (the total incidence rate is 32.9 per 100 thousand of the population, in children - from 100 to 350 cases and more than 100 thousand of the child population). In the Astrakhan region, according to Rospotrebnadzor, in 2016, 346 cases of giardiasis were registered, including 302 (87%) in children; the incidence rate was 101.5 per 100 thousand children.

Key words: children; giardiasis; laboratory diagnostics; microscopy; EFA; PCR.

Введение. Гиардиаз у детей остается актуальной проблемой, значимость которой определяется эндемичностью для многих стран и регионов, полиморфизмом клиники, что обуславливает трудности клинической диагностики этой патологии.

Представлены результаты диагностической значимости методов лабораторной диагностики гиардиаза: микроскопии нативного и окрашенного раствором Люголя препарата фекалий, иммуноферментного анализа (ИФА) на наличие антител класса IgM и IgG к антигенам лямблий в сыворотке крови и антигена *G. Lamblia* в кале, полимеразной цепной реакции (ПЦР) - обнаружение ДНК лямблий в кале, полученные при обследовании 160 больных гиардиазом детей в возрасте от 3 до 14 лет.

Цель исследования - установить диагностическую значимость методов лабораторной диагностики (микроскопии кала, ИФА, ПЦР) при гиардиазе у детей.

Материал и методы. Проведено ретроспективное, когортное исследование. Критериями включения в исследование являлись дети в возрасте от 3 до 14 лет, наличие в медицинской документации письменного согласия родителей или законного представителя ребёнка на обработку данных и их использование в научных целях. Учитывали случаи болезни, подтверждённые по месту обследования положительными результатами: а) 3-х кратного (с интервалом в 2 сут) исследования кала на цистные формы *G. lamblia*, методом микроскопии нативного и окрашенного раствором Люголя препарата; б) ИФА крови; в) ИФА кала; г) ПЦР кала. Источниками информации являлись амбулаторные карты и результаты обследования 160 пациентов с верифицированным диагнозом гиардиаз, в возрасте от 3 до 14 лет, за период с января 2015 по январь 2018 года. Определение антител к лямблиям в крови методом ИФА проводилось с использованием конъюгата моноклональных антител против иммуноглобулинов человека с пероксидазой хрена (ЗАО «Вектор-Бест», Новосибирск), позволяющим определять IgG, IgA, IgM. Определение антигена *Giardia lamblia* в кале методом ИФА, с применением моноклональных антител к антигену GSA-65 (R- Biopharm, Ag, Германия). ПЦР диагностика лямблий в кале проводилась с использованием набора «ДНК-экспресс» (НПФ «Литех», Москва). Определение антигена в кале, антител в крови методом ИФА, ДНК паразита методом ПЦР проводилось после получения результатов микроскопического исследования (до начала лечения).

Заключение этического комитета на проведение исследования не запрашивалось.

Результаты. Из 160 детей, находившихся под наблюдением, 144 (90%) составляли дети из организованных коллективов (дошкольные учреждения, школьники младших классов) проживающие в городе 140 (87,5%). В возрастной структуре больных гиардиозом преобладали дети в возрасте от 3 до 10 лет – 135 (84,4%), на долю детей в возрасте 11-14 лет приходилось 25 (15,6% случаев от общего количества больных). Во всех группах больных гиардиозом существенных различий частоты заболеваемости у мальчиков 79 (49,4% от общего числа больных) и девочек 81(50,6%) не прослеживалось (табл. 1).

Клиническая симптоматика гиардиоза обуславливалась сочетанием болевого абдоминального, диспептического синдромов. Абдоминальный синдром характеризовался болями в области пупка у 72 (45%), эпигастрия у 10 (6%) детей, сочетающимися с болями в правом и левом подреберьях у 15 (9%) пациентов. Клиническими симптомами диспептического синдрома являлись: снижение аппетита у 28,8%, тошнота у 17,3%, рвота у 9,2%, диарея у 71,5% пациентов, от общего количества больных. Наличие дисбиотических нарушений (по результатам исследования микробного пейзажа кала) за счёт снижения количества бифидо- и лактобактерий определялось у 115 (72%), кишечной палочки у 105 (65%) и роста условно патогенных бактерий у 54 (33%) детей. Микроскопия мазка кала на лямблии, с окраской 1% раствором Люголя, проведенная у 160 детей показала, что чувствительность данного метода исследования 98,1%, специфичность 96,2%.

Таблица 1. Группы детей, обследованных по поводу гиардиоза

Пол	Группы обследованных				P
	1(n=160)	2(n=40)	3(n=40)	4(n=400)	
Девочки/мальчики	81/79	20/20	18/22	22/18	0,900
Возраст, годы	5,9±3,5	6,0±3,1	5,6±3,5	6,3±3,6	0,995

Таблица 2. Диагностическая значимость методов лабораторной диагностики гиардиоза у детей

	Кол-во больных	Специфичность метода, %	Чувствительность метода. %
Копроскопия с окраской 1% раствором Люголя	160	96,2	98,1
Определение антител в сыворотке крови методом ИФА	40	90	27
Определение антигена в кале методом ИФА	40	87,5	60

ПЦР диагностика кала	40	85	82,5
----------------------	----	----	------

Методом ИФА исследовано 80 сывороток крови (от 40 больных в динамике, с интервалом 10 сут). Наличие специфических антител к антигену *G. lamblia* определялось у 36 (90%) детей в титре от 1:100 до 1:800 и более. Высокий титр антител от 1:800 до 1:1600 имел место при рецидивирующем варианте инвазии, 1:200 с нарастанием в динамике до 1:400 и более при остром течении, низкий 1:100 при бессимптомных формах гiardиаза. Диагностическая значимость ИФА выше при повторных заражениях лямблиями и при длительной персистенции паразитов, что может быть связано с сенсibilизацией иммунокомпетентных клеток антигенами лямблий при повторных заражениях [1]. При высокой специфичности (90%), чувствительность ИФА, на антитела к лямблиям в сыворотке крови 27,5%, что более чем в 3 раза ниже метода копроскопии (98,1%). Чувствительность ИФА для обнаружения антигена лямблий в кале уступает методу копроскопии (табл. 2). Специфичность и чувствительность ПЦР по обнаружению ДНК лямблий в кале достаточно высокая - 85% и 82,5% соответственно, но ниже метода микроскопии кала (табл. 2).

Обсуждение. Данные литературы по определению чувствительности и специфичности разных методов диагностики гiardиаза неоднозначны, что может обуславливаться отличиями методик и кратностью проведённых исследований. По данным [3] однократное микроскопическое исследование кала позволяет определить наличие лямблий у 54% пациентов, при трёхкратном исследовании число истинно положительных результатов увеличивается до 98%. Выделение цист лямблий из кишечника больного происходит не постоянно. Промежутки между выделением паразита могут составлять от 2 до 14 дней, что отрицательно сказывается на результатах исследования. Повышение эффективности методики до 90% и более достигается трёхкратным исследованием, с интервалом 3-4 дня, при использовании микроскопии с формалин-эфирным осаждением и окраской мазка 1% раствором Люголя [3]. Показатели ИФА крови по результатам исследований [2] имеют чувствительность 20,4-36,5%, специфичность - 93-95% с прогностической значимостью положительных результатов ИФА 97%, отрицательных 22%. Данные исследования [4] прямо противоположные: истинноположительные результаты составляют 2,9%, ложноотрицательные 14,8%, ложноположительные 26,8%, истинноотрицательные 55,5%. Специфичность ИФА исследования крови - 67,4%, чувствительность - 16,5%, прогностическая ценность положительных результатов - 9,8%, отрицательных - 21%. Приведённые параметры результатов ИФА крови не позволяют дать однозначного заключения о наличии у пациента, текущего гiardиаза. Полученные нами данные позволяют считать, что ИФА исследование крови на лямблии имеет достаточно высокую

специфичность - 90%, при низкой чувствительности - 27,5%. Чем выше титр антител в сыворотке крови больного, тем чаще наблюдается отрицательное цитовыделение [5].

Данные литературы по оценке результатов исследования кала методом ПЦР различаются незначительно чувствительность метода 78,8% и 62,7%, специфичность 89,8% и 88,8% [2, 5]. Специфичность ПЦР исследования кала по нашим данным составляла 85%, чувствительность 82,5%

Заключение. Наиболее информативными методами диагностики лямблиоза у детей является копроскопия (специфичность - 96,2%, чувствительность - 98,1%), ПЦР копрофильтрата. (специфичность - 85%, чувствительность 82,5%), определение антигена в кале методом ИФА (специфичность - 87,5%, чувствительность - 60%). «Золотым стандартом» диагностики гиардиаза остается микроскопия нативного и окрашенного раствором Люголя препарата фекалий с проведением трёхкратного исследования с интервалом в 2-3 дня.

Ограничения исследования. В исследовании проанализированы результаты обследования только 160 (13%) случаев гиардиаза, от общего числа больных детей, зарегистрированных в Астраханской области в период исследования (Федеральное статистическое наблюдение. «Сведения о паразитарных заболеваниях»). Этот факт ограничивает распространение полученных результатов на все случаи гиардиаза у детей, включая бессимптомные формы болезни.

Список литературы

1. Сергиев В.П., Лобзин Ю.В., Козлов С.С. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы). СПб.: Издательство Фолиант; 2006.
2. Шамитова Е.Н., Герасимова Л.И. Скрининг факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний// Общественное здоровье и здравоохранение. 2009. № 2 (22). С. 20-23.
3. Emelianov V.U., Skvortsova T., Shamitova E.N., Mikhailova L.V Serum antibody ig g and ig m titers for opisthorchis felineus correlate with eggs in faeces - a comprehensive study in chuvash republic, russia. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention : APJCP. 2016. Т. 17. № 1. С. 281-283.
4. Ермакова Л.А., Амбалов Ю.М., Пшеничная Н.Ю., Черникова Е.А. Оценка эффективности иммуноферментного анализа (ИФА) при инвазии *Lambliia intestinalis*. Цитокины и воспаление. 2008; 3: 45.
5. Александрова В.А, Одинцова В.Е. Сравнительная характеристика диагностики и лечения гельминтно-протозойных инвазий у детей на современном этапе. Лечащий врач. 2010; 8: 33-5.