

## Вивчення мікробіоти кишечника й дуоденального вмісту у хворих на лямбліоз із супутніми алергічними захворюваннями шкіри

Олена Покришко<sup>1</sup>, Олександр Камишний<sup>1</sup>, Наталія Ткачук<sup>1</sup>, Ніна Олійник<sup>1</sup>, Аліна Петрук<sup>2</sup>, Олег Івахів<sup>1</sup>,  
Наталія Ничик<sup>1</sup>, Аліна Покришко<sup>1</sup>

<sup>1</sup>-Тернопільський національний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України м. Тернопіль, Україна

<sup>2</sup>-КНП «Красилівська багатопрофільна лікарня»

### Вступ

Лямбліоз (лат. Lambliosis, Giardiasis) – широко розповсюджена протозойна інвазія людини, спричинена найпростішими, що переважно уражають тонку кишку, супроводжується в деяких хворих алергічними й неврологічними симптомами.

Поширеність недуги у країнах, що розвиваються, коливається від 20 до 30 %, у розвинених країнах від 3 до 7 % [1]. У США, за різними оцінками, лямбліоз щороку уражає близько 1,2 млн осіб, що призводить до 3 584 госпіталізацій [2]. В Україні кожного року реєструють 30-40 тис. випадків цього паразитозу, що приблизно відповідає ураженню 0,01 % населення, серед дітей, особливо молодшого віку, відсоток заражених цими найпростішими значно вищий ніж серед дорослих [3].

Лямбліоз характеризується широким спектром клінічних проявів від безсимптомної інфекції до гострих і хронічних захворювань. *Giardia lamblia* є поширеною причиною гострих діарейних захворювань у всьому світі. Лямблії спричинюють порушення мікробіоти кишечника, сприяють бактеріальній інвазії, що призводить до апоптозу епітелію, руйнування щільного з'єднання та транслокації бактерій через епітеліальний бар'єр кишечника [4]. Доведено, що *G. lamblia* викликає довготривалі розлади шлунково-кишкового тракту, зокрема, порушення травлення, порушення всмоктування, стеаторею, синдром роздратованого кишечника, навіть після елімінації паразита з організму людини. З літературних джерел відомо, що лямбліоз пов'язаний із розвитком позакишкових синдромів і захворювань, таких як: патології очей і сітківки, реактивний і постінфекційний артрит, гіпокаліємічну міопатію, порушення когнітивних функцій, синдром хронічної втоми, які вражають до 30% інфікованих пацієнтів [4-7]. Доведено, що паразитарні інфекції можуть супроводжуватися розвитком алергічних захворювань шкіри [8]. Наявність лямблій є етіологічним чинником алергодерматозів (АД) [9]. Постійне збільшення реєстрації таких дерматозів спонукає до виявлення маловідомих ланок їх патогенезу. Однією з актуальних проблем сучасної медицини є вдосконалення методик виявлення *G. lamblia*.

В організмі людини лямблії створюють паразитоценоз, формуючи асоціації гельмінтами, а також з деякими видами бактерій та грибів, такими, як: кишкові палички, стафілококи, стрептококи, кандиди. Нормальна флора може пригнічувати розвиток інфекцій, викликаних *G. lamblia*, за допомогою кількох механізмів, включаючи конкуренцію за ресурси, пряму токсичність, індукцію

перехресно-реактивних адаптивних імунних відповідей або відмінності у вродженій імунній системі слизових оболонок [10,11]. Tysnes K.R. та співавтори (2014) вказували на те, що мікробіота хазяїна може бути первинно або вторинно залучена до наслідків інфекції, викликаной *G. lamblia*. Проте існує багато інших факторів, які можуть впливати на мікробіом кишечника, потенційно маскуючи його взаємозв'язок з лямбліями [28].

За останніми рекомендаціями CDC (2011), хворою на лямбліоз є людина, котра має характерні клінічні прояви й лабораторне підтвердження паразитозу. Лабораторно підтверджений лямбліоз визначається при виявленні лямблій, антигену або ДНК збудника у калі, кишковій рідині, зразках тканин, біопсійному матеріалі або інших біологічних зразках [12]. Непідтвержені випадки лямбліозу включають ймовірні, підозрювані та невідомі. Ймовірний випадок лямбліозу відповідає клінічному опису та епідеміологічно пов'язаний із підтвердженим випадком. Випадки, не класифіковані як підтвержені, ймовірні або підозрілі, класифікуються як невідомі [13].

Кропив'янка – захворювання шкіри, що проявляється еритематозними (червоними, рожевими), безболісними висипаннями, які часто супроводжуються свербінням і зникають протягом 24 год, залишають після себе чисту шкіру [14]. У 2017 р. Європейська академія алергії та клінічної імунології (The European Academy of Allergy and Clinical Immunology – EAACI) разом з Глобальною європейською мережею з алергії та астми (Global Allergy and Asthma European Network – GA2LEN), Європейським дерматологічним форумом (European Dermatology Forum – EDF) і Всесвітньою організацією з алергії (World Allergy Organization – WAO) опублікували спільні рекомендації щодо лікування кропив'янки, в яких наведено розроблений алгоритм менеджменту пацієнтів з цією недугою. Натепер нагромадилися численні дані щодо можливого виникнення кропив'янки при багатьох інфекційних хворобах [15]. Часто причетними до розвитку кропив'янки можуть бути збудники деяких протозойних інфекцій, зокрема лямбліозу і трипаносомозу. Обстеження хворого на кропив'янку передбачає необхідність з'ясування можливих факторів, які спричинили недугу чи зумовили її загострення, тригерних факторів.

**Метою** роботи було вивчення стану мікробіоти кишечника й дуоденального вмісту у хворих на лямбліозну інвазію, яка супроводжувалася алергічними дерматозами шкіри.

### Матеріали і методи

З метою вивчення стану мікрофлори кишечника та дуоденального вмісту у хворих з лямбліозною інвазією, обстежено 38 осіб, хворих на лямбліоз із супутніми АД (алергічний дерматит, кропив'янка), які протягом 2021-2022 років перебували на амбулаторному лікуванні у КУТОР «Тернопільський обласний клінічний шкірно-венерологічний диспансер» і КНП «Красилівська багатопрофільна лікарня» Хмельницької області. Середній вік обстежених становив 39,5±13,7 років (рис. 1), серед яких 71,1 % (27) були особи жіночої статі, 28,1% (11) – чоловічої.

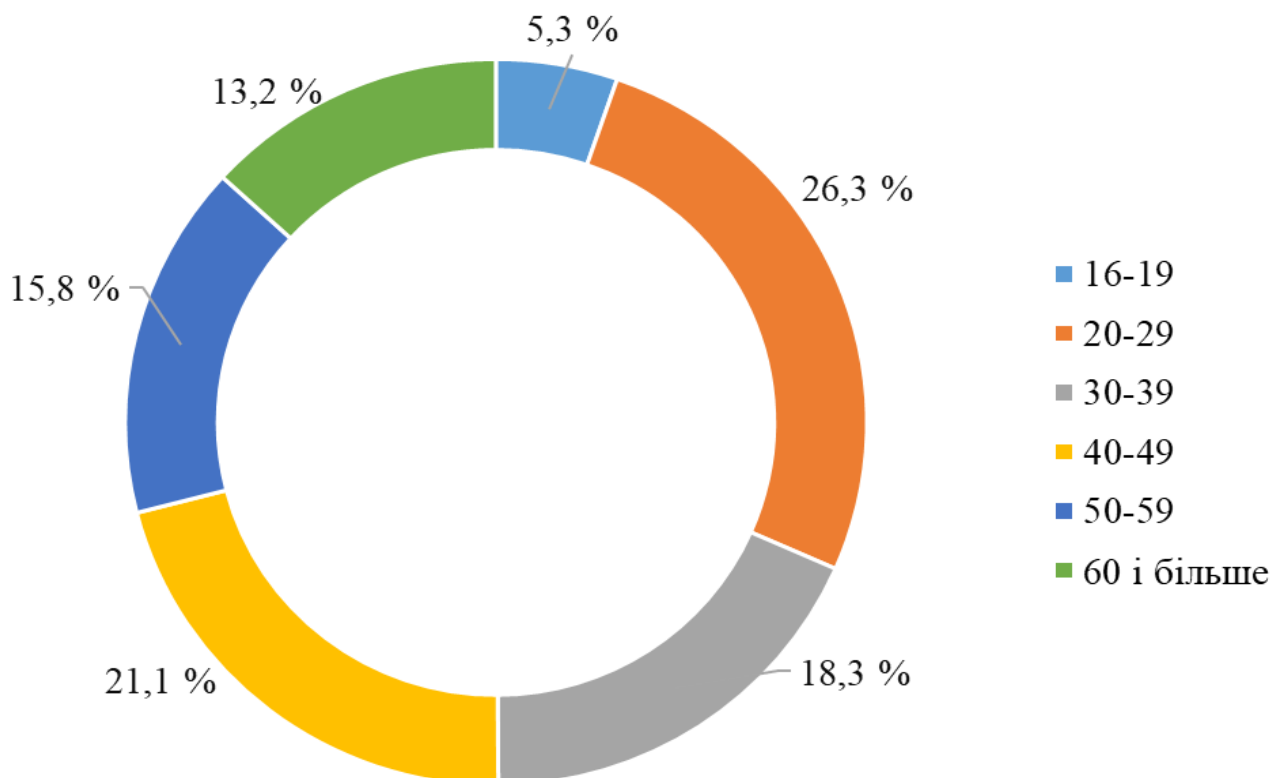


Рисунок 1. Вікова структура хворих на лямбліоз із супутніми алергодерматозами

Для виявлення лямблій використали прямий мазок свіжозібраного нативного матеріалу (фекалії, дуоденальний вміст) на підготовлене предметне скло. Після приготування мазка додавали одну краплю розчину Люголя (Himedia/Індія) для умертвіння й фарбування трофозоїтів і цист та досліджували його під світловим мікроскопом [16]. Для правильної діагностики цього протозойного захворювання копроскопію проводили щонайменше тричі з інтервалом 2-4 дні [17].

Окрім світлооптичної мікроскопії, для порівняння ефективності методик лабораторної діагностики лямбліозу було використано метод поляризованої флюоресценції, в основі якої лежить оптична анізотропія біомакромолекул: РНК, ДНК, ліпідів мембран та ін. [18]. Належність *G. lamblia* до оптично активних об'єктів із властивостями рідких кристалів дає можливість вивчати їх за цим методом мікроскопії, відрізнити в мікропрепаратах окремі форми живого (а не фіксованого) паразиту без будь-якої попередньої обробки препарату. З цією метою застосовували люмінесцентний мікроскоп ЛЮОММ 8-3М.

Мікробіологічні дослідження проводили згідно регламентуючих нормативних документів за загально прийнятими методами на базі лабораторії мікробіологічних та паразитологічних досліджень Тернопільського національного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України (Свідоцтво про технічну компетентність № 182/23 від 28.12.2023 р., чинне до 27.12.2028 р.). Визначення мікрофлори товстої кишки проводили на час звертання хворого до лікаря. Матеріал забирали із останньої порції фекалій стерильним

шпателем і поміщали в пробірку. Від моменту взяття матеріалу до початку засіву проходило не більше 2 год. Із матеріалу готували гомогенат у фарфоровій ступці з фізіологічним розчином із розрахунку 10:1 (об'єм/вага), готували серійні розведення від  $10^{-2}$  до  $10^{-11}$  та по 0,1 мл висівали на елективні середовища з метою подальшої ідентифікації: Ендо – кишкових паличок і лактозонегативних ентеробактерій, жовтково-соляний – стафілококів, кров'яний, модифіковане середовище Блаурока – біфідобактерій, середовище для росту лактобактерій, Сабуро – грибів роду *Candida* та у конденсаційну воду свіжоскошеного агару. Після інкубації при оптимальній температурі проводили кількісний підрахунок мікроорганізмів кожного роду, що виявлялися в розведеннях 1 г випорожнень, за формулою:

$$K = \sum: (k \cdot v \cdot n),$$

де  $\sum$  – сума колоній, які виростили у всіх розведеннях,  
 $k$  – кількість колоній,  
 $v$  – об'єм суспензії, що нанесена на чашку,  
 $n$  – ступінь розведення.

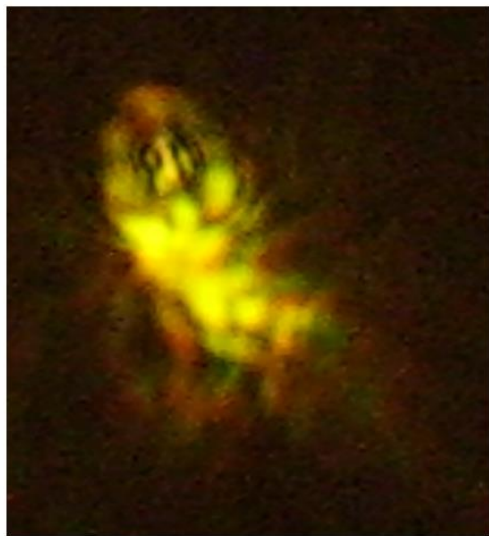
Базуючись на результатах проведеного мікробіологічного дослідження порожнистої мікробіоти кишечника, визначали наявність дисбіозу й ступінь його тяжкості за уніфікованою робочою класифікацією [19]. І ступінь кишкового дисбіозу (компенсований) характеризується зниженням на 1-2 порядки кількості біфідо- та лактобактерій; II ступінь (субкомпенсований, легкий перебіг) – зниженням кількості біфідо- та лактобактерій на 3-4 порядки та підвищенням кількості умовно патогенної флори (УПФ) – стафілококів, протеїв; мікроорганізмів з гемолітичними властивостями; III

ступінь (субкомпенсований, тяжкий перебіг) – значним зниженням кількості біфідо- та лактобактерій та зростанням УПФ з вираженими агресивними властивостями. При IV ступені (декомпенсованому) відбуваються значні зміни співвідношення облигатних та факультативних мікроорганізмів, різкі зниження функцій кишкової флори, активація УПФ.

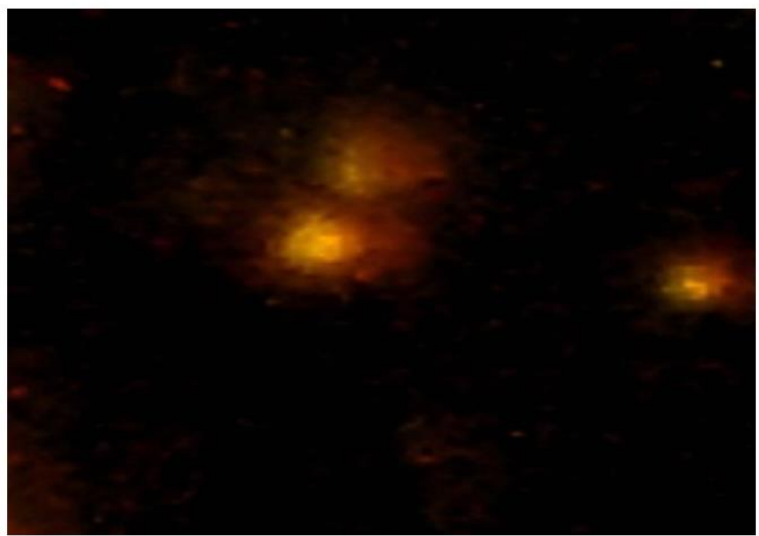
Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерної програми Statistica 7.0 Microsoft Excel.

### Результати

Копроскопічно діагноз лямбліозу підтверджений у всіх обстежених осіб. У більшості пацієнтів (55,3 %) цисти *G. lamblia* виявлено у першому зразку випорожнень. При другому дослідженні лямблій знайдено у 34,2 % (13) хворих, за третьою спробою – у 7,9 % (3). У 1 пацієнта найпростіші було знайдено лише у четвертому зразку.



А



В

Рисунок 2. Виявлення вегетативні форми *G. lamblia* (А) та цист (В) за методом поляризаційної флюоресценції (ЛЮМАМ8-3м:Об. 9×О<sup>3</sup>. 20×).

Усього виділено 642 штами аеробних і факультативно анаеробних мікроорганізмів 13 видів, представників просвітної кишкової бактеріальної мікробіоти. Результати проведеного копрологічного дослідження засвідчили наявність субкомпенсованого або декомпенсованого дисбіозу кишечника у всіх обстежених пацієнтів (табл.1). Дисбіоз III ступеня тяжкості діагностовано у більшості з них – 86,4 % (32 особи). Практично у всіх пацієнтів спостерігали зниження популяційного рівня біфідо- і лактобактерій на 3-4 порядки порівняно з нормою – в середньому до  $10^5$  та  $10^3$  КУО/г фекалій відповідно. У більшості обстежених осіб виділено популяції *E. coli* також у зниженій концентрації, причому у 18,5 % (5) випадків висівали кишкові палички із гемолітичними властивостями. Варто зауважити, що зростали титри популяцій кишкових паличок із слабоферментативними властивостями. В половини обстежених виділяли колонії лактозонегативних представників родини *Enterobacteriaceae* (протеї, гафнії, ентеробактери, клібсїєли, цитробактери) у титрах вищих за нормальні показники. Частота виділення УПФ (коковидних та паличковидних бактерій, зокрема

Чутливість методу світлооптичної мікроскопії дуоденального вмісту становила 71,5 %: *G. lamblia* була виявлена у 27 хворих на лямбліоз із АД. З них у 55,5 % (15) пацієнтів знайдено трофозоїди (вегетативні форми лямблій). Причому, у більш як половині цих обстежених (8) трофозоїди містилися в порції С дуоденального вмісту, у 26,7 % (4) осіб – у порції А, у 13,3 % (2) – у порціях А і С, і в 1 пацієнта – в усіх трьох порціях дуоденального вмісту. В інших обстежених, які отримали позитивний результат мікроскопічного аналізу, було виявлено цисти.

За допомогою методу поляризаційної флюоресценції цисти *G. lamblia* знайдено у 92,1 % (35) обстежених осіб хворих на АД. Це свідчило про те, що даний метод виявлення лямблій ефективніший порівняно з світлооптичною мікроскопією на 20,6%: цисти найпростіших були виявлені додатково ще у 8 пацієнтів.

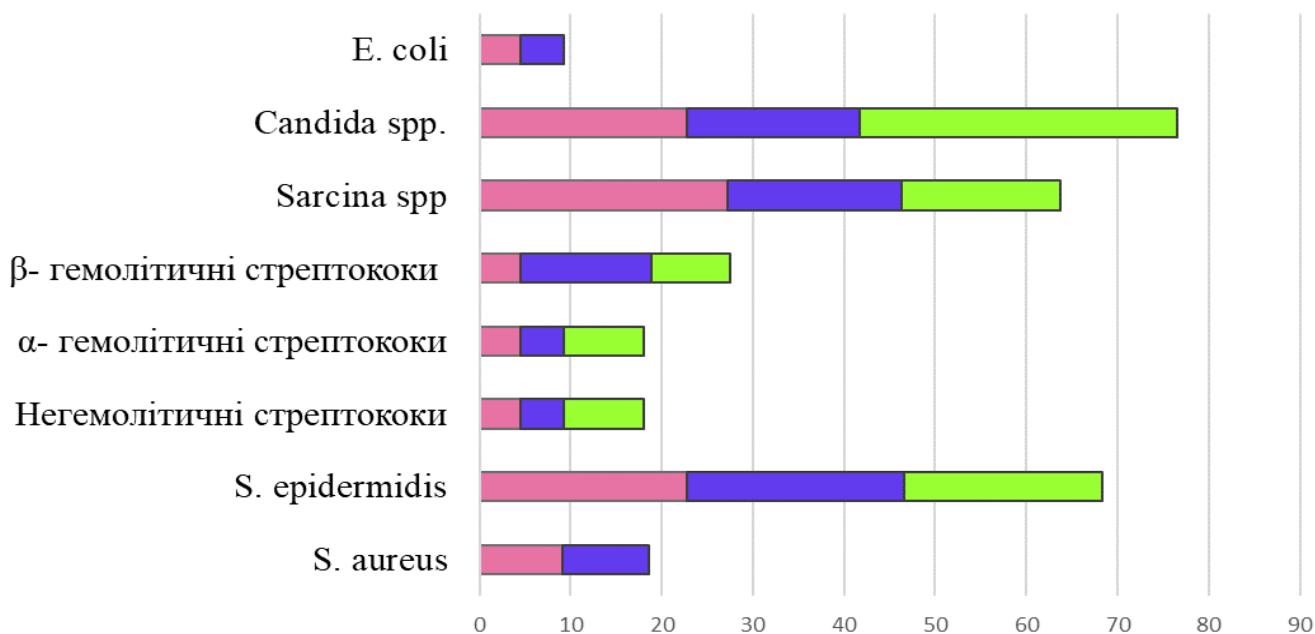
популяції *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Bacillus* spp.) і щільність їх колонізації слизової кишечника перевищувала допустимі значення була вищою на 2-3 порядки порівняно з нормою. Більш того, 38,9 % з них володіли гемолітичними властивостями. У 27,1 % (10) хворих на лямбліоз виявлено підвищений вміст дріжджоподібних грибів роду *Candida* (в середньому у титрі  $10^7$  КУО/г фекалій). Мікроскопічно у всіх пацієнтів у дуоденальному вмісті виявлено помірну кількість слизу, бактеріальну флору й поодинокі лейкоцити без суттєвої різниці від наявності в ньому лямблій. Аеробні та факультативно анаеробні мікроорганізми були наявні в усіх трьох порціях дуоденального вмісту й у всіх обстежених осіб. Всього з дуоденального вмісту висіяно 184 аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів. Найбільше видове різноманіття було характерне для порції А: виділені мікроби належали до 9 родів і 12 видів. У порції В та С було ізольовано мікроорганізми 7 родів, які належали до 9 видів. Кількість їх в порції С була в 1,2-1,5 рази меншою, ніж у порціях А та В відповідно.

**Таблиця 1. Кількісний і якісний склад мікробіоти товстого кишечника у хворих на лямбліоз із супутніми АД, КУО/г фекалій**

Мікроорганізм	Титр виділення	Норма
Біфідобактерії	$10^5$	$10^8-10^9$
Лактобактерії	$10^3$	$10^6-10^7$
<i>E. coli</i> з типовими властивостями	$1,2 \cdot 10^7$	$10^7-10^8$
Лактозонегативні, гемолізуючі <i>E. coli</i> та ін. представники родини <i>Enterobacteriaceae</i>	$5,7 \cdot 10^6$	$\leq 10^7$
Види мікроорганізмів, що утворюють гемоліз	$10^6$	$< 10^6$
Стафілококи (негемолітичні, епідермальні, коагулазонегативні)	$10^7$	$< 10^4 - 10^5$
Стафілококи (гемолітичні, плазмокоагулюючі)	$4,1 \cdot 10^5$	$< 10^4$
Стрептококи	$1,5 \cdot 10^6$	$< 10^5 - 10^7$
Ентерококи	$1,2 \cdot 10^7$	$10^7 - 10^8$
Аеробні бацили	$4,0 \cdot 10^5$	$\leq 10^5$
Гриби роду <i>Candida</i>	$1,6 \cdot 10^7$	$< 10^4$

Серед бактерій домінувала кокова група, переважно *Staphylococcus* spp. (31,8 %) (рис. 3). В угрупованні стафілококів переважали популяції коагулазонегативних стафілококів (22,9 %). Окрім стафілококів, виділяли популяції *Streptococcus* spp. ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -гемолітичні). В мікробній спільноті порції А дуоденального вмісту це угруповання займало 13,5 %. Серед них переважали популяції з вираженими  $\beta$ -

гемолітичними властивостями. Популяції *E. coli* в порції А жовчі висівали лише в 4,5 % випадків. Популяції *Candida* spp. за частотою висівання лише дещо поступались стафілококовому угрупованню: вони становили 22,7 % мікробної спільноти, субдомінуючи разом із сарцинами в мікробіоценозі порції А дуоденального вмісту.



	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	Негемолітичні стрептококи	$\alpha$ -гемолітичні стрептококи	$\beta$ -гемолітичні стрептококи	<i>Sarcina</i> spp.	<i>Candida</i> spp.	<i>E. coli</i>
■ Порція А	9,09	22,74	4,54	4,54	4,54	27,27	22,74	4,54
■ Порція В	9,52	23,8	4,78	4,78	14,28	19,04	19,04	4,76
■ Порція С	0	21,73	8,7	8,7	8,7	17,39	34,78	0

■ Порція А ■ Порція В ■ Порція С

**Рисунок 3. Характеристика спектру мікробіоти дуоденального вмісту, %**

Встановлено, що як і в порції А, у порції В серед бактерій домінували коковидні грампозитивні мікроорганізми (рис. 3). Найбільш часто в порції В зустрічалося угруповання стафілококів (33,2 %). Частка популяції *S. aureus* у цьому угрупованні виявилася в 2,5 рази меншою (9,5 %) за частоту зустрічання *S. epidermidis*. Частки представників угруповання стрептококів у мікробіоценозі дуоденального вмісту порції В була вищою порівняно з порцією А майже у 2 рази, в основному за рахунок збільшення частоти зустрічання популяцій із вираженими  $\beta$ -гемолітичними властивостями (у 3 рази в порівнянні з кількістю таких мікроорганізмів у порції А жовчі). Популяцію *E. coli* в порції В висівали лише в 4,8 % випадків, це, практично стільки ж, як у порції А. Дещо меншу частоту зустрічання мали *Candida* spp. Їх частка в мікробній спільноті становила 19 % мікробної спільноти.

У мікробіоті порції С, як і в інших порціях дуоденального вмісту, домінували займали коки (рис. 3). Слід відмітити, що з порції С не виділяли коагулазопозитивних коків. Кількість популяцій коагулазонегативних стафілококів була такою ж, як в двох інших порціях (21,7 %). Частка угруповання стрептококів у мікробній спільноті дуоденального вмісту порції С була вищою практично в 2 рази, ніж у порції А. Популяції *E. coli*, як і *S. aureus*, в порції С не виділяли. Частота зустрічання *Candida* spp. зросла в 1,5-2 рази (у порівнянні з порціями А та В відповідно). Частка дріжджоподібних грибів у мікробній спільноті порції С дуоденального вмісту становила 34,8 %. Відповідно до отриманих даних найбільш контамінованою мікроорганізмами була порція В, найменш контамінованою – порція С.

У порції А переважали трьохкомпонентні асоціації мікробів (46,2 % зразків), 30,8 % зразків становили двокомпонентні й 23,0 % – монокультури мікроорганізмів. У порції В також мікроорганізми висівали переважно в двокомпонентних асоціаціях: (42,8 %), трикомпонентні становили 14,3 %. Монокультури бактерій містили 42,9 % зразків, що майже удвічі більше, ніж у порції А. У порції С ізолювали мікроби переважно у монокультурі (61,5 % зразків). Двокомпонентні асоціації зареєстровано в 23,1 % випадків, а трикомпонентні – у 15,4 %.

### Обговорення

Протягом багатьох років світлооптичну мікроскопію випорожнень використовували як надійний метод виявлення *G. lamblia* і вважали «золотим стандартом» лабораторної діагностики лямбліозу [20]. Отримані нами результати щодо виявлення *G. lamblia* у першому зразку випорожнень обстежених (55,3 %) узгоджується з даними джерел літератури – 50-60 % [20, 21].

Біологічним матеріалом для виявлення *G. lamblia* може бути й ендоскопічний дуоденальний аспірат чи біоптат. Проте за даними Suzuki H.U. та співавт. (1994), паразитоскопія дуоденального вмісту та виявлення лямблій у ендоскопічних біоптатах дає нижчі показники чутливості та специфічності, і тому не рекомендована як метод першого ряду для діагностики лямбліозу [22]. Тим не менше, Kalas M.A. та співавт. пропонують застосовувати мікроскопічне дослідження дуоденального

біоптату у випадках з високою підозрою на лямбліоз при негативному аналізі калу [23]. Вважаємо доречним такий метод, з огляду на отримані результати обстеження одного із хворих на лямбліоз із супутнім АД, у дуоденальному вмісті якого було виявлено вегетативні форми *G. lamblia*, а цисти у випорожненнях – лише за 4-ою спробою. В Діагностичних рекомендаціях Товариства інфекціоністів Америки (Infectious Disease Society of America) вказано, що за умови отримання негативного результату мікроскопії калу, але наявності високої підозри на це лямбліоз, мікроскопія аспірату дванадцятипалої кишки є єдиною альтернативною діагностичною стратегією [24]. Alharbi A. та співавт. у своїй роботі підтверджують досить високу чутливість мікроскопічних методів для виявлення *G. lamblia* у зразках калу, проте для збільшення ймовірності виявлення наявності чи відсутності інфекції рекомендують проводити мультиплексний ПЛР-аналіз в реальному часі [25]. Однак інші автори наголошують, що хоча ПЛР у реальному часі - це простий і швидкий молекулярно-генетичний аналіз і забезпечує додаткову чутливість, існує ризик перехресного зараження. Виходячи з цього спостереження, ПЛР наразі корисна лише як додатковий до мікроскопії аналіз [26]. Метод поляризаційної флюоресценції *G. lamblia*, на 36,8 % був ефективніший за мікроскопію випорожнень, згідно результатів наших досліджень. Флюоресцентна мікроскопія дуоденального вмісту дозволила якісно відрізнити трофозоїди *G. lamblia* від цист, адже як фізичний метод поляризаційна флюоресценція не потребує застосування флюорохромів, які можуть бути токсичними для найпростіших [27]. Згідно з отриманими даними, така мікроскопія виявилася більш ефективною та специфічною, що дозволило лікареві призначити ефективне етіотропне лікування алергодерматозів. Такий висновок збігається з результатами дослідження М.І. Шкільної (2008) [27].

Просвіт кишечника є найбільшим резервуаром комменсальних бактерій в організмі людини. У ньому міститься приблизно 100 трильйонів бактерій, які поступово збільшуються вздовж проксимальних і дистальних сегментів, досягаючи найбільшої кількості в товстій кишці [28]. Tysnes K.R. та співавт. (2014) стверджують, що зміни в мікробіомі макроорганізму можуть сприяти контакту між паразитами та клітинами хазяїна. Такі зміни можуть бути викликані різними стресами, такими як зміни в харчуванні чи навколишньому середовищі, інфекції або медикаментозне лікування. Незалежно від того, чи є *Giardia* комменсалом чи паразитом, можна припустити, що порушення рівноваги хазяїн-паразит може бути основою певної патогенності та може пояснити варіації симптомів як між хазяїнами, так і всередині одного хазяїна з часом [12]. Якщо мікробіота хазяїна може бути первинно або вторинно залучена до наслідків інфекції *Giardia*, багато інших факторів, окрім *Giardia*, можуть впливати на мікробіом кишечника, потенційно маскуючи взаємозв'язок мікробіому *Giardia* [12]. Beatty J.K. та співавт. досліджували полімікробні взаємодії за участю лямблій і кишкової мікробіоти й припустили, що лямблії можуть спричиняти стійкий дисбактеріоз [29]. Результати роботи Toro-Londono M.A. та співавт. підтвердили спостереження інших вчених про те, що наявність

кишкових паразитів у дітей, головним чином лямблій і гельмінтів, таких як аскариди, впливає на мікробіоту кишечника, впливаючи на рівновагу бактеріальних спільнот [29]. Процик А.Л. (2019) дослідив, що більшість хворих (93,48 %) на лямбліоз мали ознаки дисбіозу кишечника. Ці дані співзвучні результатам наших досліджень. Проте майже у половини з них діагностовано дисбіоз I ступеню (47,82 % пацієнтів), а хворих з дисбіозом IV ступеню не було виявлено. У решти встановлено II ст. або III ст. дисбіозу - у 32,61% та 13,04% осіб відповідно. Вочевидь, існує залежність між алергічними проявами лямбліозу та ступенем дисбіозу кишечника у хворих на лямбліоз із супутніми АД, адже в усіх обстежених цієї групи виявлено субкомпенсований ступінь дисбіозу [21]. Дисбіоз кишечника – це лише синдром основного захворювання, нерідко обумовлює його тяжкість та тривалість перебігу [28]. Клінічні прояви дисбіозу кишечника залежать від характеру основного захворювання, ступенів специфічної та неспецифічної резистентності макроорганізму й, особливо, від мікробних асоціацій, які беруть участь у формуванні дисбіозу [30]. Лямблії є строгими паразитами. Вегетативні форми можуть існувати тільки на поверхні слизової оболонки верхнього відділу тонкої кишки. Вони механічно блокують її слизову оболонку, порушують пристігкове травлення, ушкоджують рухову активність тонкої кишки [31]. У зв'язку з цим можливе посилене розмноження бактерій і дріжджових клітин, що приводить до порушення мікробно-асоціативних зв'язків у кишківнику та розвитку явища дисбактеріозу [28]. Проте в літературних джерелах описаний вплив окремих патогенів на розвиток дисбіозу кишечника; деякі автори припустили, що зміни в резидентній кишковій мікрофлорі відповідають за розвиток симптомів у хворих на лямбліоз [20, 31].

#### Висновки

1. У хворих на лямбліоз із супутніми алергічними захворюваннями шкіри у випорожненнях виявлено цисти *G. lamblia* в 100,0 % випадків, однак лише у 55,3 % осіб у першому зразку.
2. Ефективність виявлення *G. lamblia* у дуоденальному вмісті – 71,5 %; причому у 55,5 % знайдено вегетативні форми лямблій.
3. Існує пряма залежність між наявністю лямблій і ступенем вираженості дисбіозу кишечника. Результати дослідження показали, що наявність лямблій може бути індикатором дисбіозу кишечника.
4. *G. lamblia* причетна до формування в організмі людини особливого стану паразитоценозу, до якого можуть входити різноманітні бактерії та найпростіші. У мікробних спільнотах дуоденального вмісту переважають коагулазонегативні стафілококи й *Candida* spp. Колонізаційний рівень дуоденального вмісту зменшується за градієнтом: порція А → порція В → порція С.
5. Лікування хворих на алергічний дерматит і лямбліоз повинен бути комплексним з урахуванням діагностованого у них дисбіозу кишечника.

#### The study of intestinal microbiota and duodenal aspirate in patients with giardiasis accompanied by allergic skin diseases

Olena Pokryshko, Oleksandr Kamyshnyi, Natalia Tkachuk, Nina Oliynyk, Alina Petruk, Oleh Ivakhiv, Natalia Nychyk, Alina Pokryshko

**Background.** *Giardia lamblia* can be an etiological factor of allergic skin diseases. In the human body, giardia create parasitocenosis. Giardia's colonization of the intestine causes dysbiosis throughout the gut that persists during infection, in turn affects the development of symptoms in patients with giardiasis. The purpose of the work was to study the duodenal aspirate and commensal gut microbiota in patients with giardiasis infestation, which was accompanied by allergic skin dermatoses. **Materials and Methods.** 38 patients with giardiasis accompanied by allergic skin diseases were examined. The presence of giardia in duodenal aspirates and stools samples was determined using light-optical microscopy and the method of polarized fluorescence. Microbiological studies of biological material were carried out in accordance with regulatory documents and generally accepted methods. Based on the results of the conducted microbiological study of the gut microbiota, the dysbiosis and its severity were determined according to the unified classification. Statistical processing was carried out using the Statistica 7.0 Microsoft Excel computer program. **Results.** The giardiasis was confirmed in all 38 examined persons. The efficiency of light optical microscopy of stool samples has been 55.3%, of duodenal aspirate samples - 71.5%. *Giardia lamblia* cysts were found in the feces samples of all patients. Vegetative forms of giardia were found in duodenal contents (55.5% of patients). Most often, trophozoites were found in portion C (26.7%). The efficiency of polarization fluorescence has been 92.1%. This method of *Giardia* detecting was more effective than light-optical microscopy by 20.6%. All patients were diagnosed with dysbiosis of gut. In most of them (86.4%) f subcompensated level of dysbiosis was found out. Among the microorganisms isolated from the duodenal aspirates, coagulase-negative cocci and yeast were dominated. Portion B of aspirates was the most contaminated with microorganisms, portion C was the least contaminated. Three-component microbial associations were dominated in a portion A; two-component associations – in a portion B. In a portion most of isolates were monocultures. **Conclusions.** *G. lamblia* cysts were found in stools of giardiasis patients with accompanying allergic skin diseases in 100.0% of cases, but only in 55.3% of people in the first sample. The efficiency of detecting *G. lamblia* in duodenal aspirate samples is 71.5%; moreover, vegetative forms of *G. lamblia* were found in 55.5%. There is a relationship between the presence of *G. lamblia* and the severity of intestinal dysbiosis. The results of the study showed that the presence of giardia can be an indicator of intestinal dysbiosis. *G. lamblia* is involved in the formation of a special state of parasitocenosis in the human body, which can include various bacteria and protozoa. Coagulase-negative staphylococci and *Candida* spp predominate in the microbial communities of duodenal contents. The colonization level of duodenal aspirates decreases according to the gradient: portion A → portion B → portion C. Treatment of patients with allergic dermatitis and giardiasis should be comprehensive, taking into account the intestinal dysbiosis diagnosed in them.



**Key words:** *Giardia lamblia*, giardiasis, allergic skin diseases, laboratory diagnostics

## References

1. Ferguson L. C., Smith-Palmer A., Alexander C. L. An update on the incidence of human giardiasis in Scotland, 2011–2018. *Parasit. Vectors*. 2020. 13(1):291. doi:10.1186/s13071-020-04160-9.
2. Beer KD, Collier SA, Du F, Gargano JW. Giardiasis Diagnosis and Treatment Practices Among Commercially Insured Persons in the United States. *Clin Infect Dis*. 2017. 64(9):1244–1250. doi:10.1093/cid/cix138
3. Ara-Montojo MF, Bustamante J, Sainz T, et al. Intestinal giardiasis in children: Five years' experience in a reference unit. *Travel Med Infect Dis*. 2021. 42:102082. doi:10.1016/j.tmaid.2021.102082
4. Liu L, Fang R, Wei Z, Wu J, Li X, Li W. *Giardia duodenalis* Induces Apoptosis in Intestinal Epithelial Cells via Reactive Oxygen Species-Mediated Mitochondrial Pathway In Vitro. *Pathogens*. 2020. 9(9):693. <https://doi.org/10.3390/pathogens9090693>
5. Allain T, Buret AG. Pathogenesis and post-infectious complications in giardiasis. *Adv Parasitol*. 2020. 107:173–199. doi:10.1016/bs.apar.2019.12.001
6. Mahdavi J, Motavallihaghi S, Ghasemikhah R. Evaluation of clinical and paraclinical findings in patients with reactive arthritis caused by giardiasis: A systematic review. *Semin Arthritis Rheum*. 2022. 57:152094. doi:10.1016/j.semarthrit.2022.152094
7. Allain T, Buret AG. Pathogenesis and post-infectious complications in giardiasis. *Adv Parasitol*. 2020. 107:173–199. doi:10.1016/bs.apar.2019.12.001
8. Brandt O, Wegenstein B, Müller I, et al. Association between allergic sensitization and intestinal parasite infection in schoolchildren in Gqeberha, South Africa. *Clin Exp Allergy*. 2022. 52: 670–683. doi:10.1111/cea.14100
9. Yildiz Ozkaya D, Kartal O, Kalkan F. An atypical urticaria case caused by *Giardia intestinalis*. *J Infect Dev Ctries*. 2022. 16(11):1781–1783. doi:10.3855/jidc.17177
10. Singer, Steven M., et al. What's eating you? An update on *Giardia*, the microbiome and the immune response. *Current opinion in microbiology*. 2020. 58: 87–92.
11. Giallourou N, Arnold J, McQuade ETR, et al. *Giardia* hinders growth by disrupting nutrient metabolism independent of inflammatory enteropathy. *Nat Commun*. 2023. 14(1):2840. doi:10.1038/s41467-023-38363-2
12. Giardiasis. URL: <https://ndc.services.cdc.gov/case-definitions/giardiasis-2011>
13. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Giardiasis Summary Report. National Notifiable Diseases Surveillance System, United States, 2018. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2019. URL: <https://www.cdc.gov/healthywater/surveillance/giardiasis/giardiasis-2018.html>.
14. Zaikov S. V., Bogomolov A. Ye., Kyrlyenko T. V., Gryshylo A. P. Acute Urticaria as a Current Multidisciplinary Problem. *Asthma and Allergy*. 2022. № 3, p. 66–76. <https://doi.org/10.31655/2307-3373-2022-3-66-76>
15. Zuberbier T., Aberer W., Asero R. et al. The EAACI/GA/LEN/EDF/ WAO guideline for the definition, classification, diagnosis and management of urticaria. *Allergy*. 2018. Vol. 73, № 6. P.1393–1414. <https://doi.org/10.1111/all.13397>
16. Hooshyar H, Rostamkhani P, Arbabi M, Delavari M. *Giardia lamblia* infection: review of current diagnostic strategies. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*. 2019. 12(1):3–12.
17. Vicente B, Freitas A, Freitas M, Midlej V. Systematic Review of Diagnostic Approaches for Human Giardiasis: Unveiling Optimal Strategies. *Diagnostics (Basel)*. 2024. 14(4):364.
18. Kharraz, Y., Lukesova, V., Serrano, A. L., Davison, A., & Muñoz-Cánoves, P. Full spectrum cytometry improves the resolution of highly autofluorescent biological samples: Identification of myeloid cells in regenerating skeletal muscles. *Cytometry. Part A : the journal of the International Society for Analytical Cytology*. 2022. 101(10), 862–876. <https://doi.org/10.1002/cyto.a.24568>
19. Wei, S., Bahl, M. I., Baunwall, S. M. D., Hvas, C. L., & Licht, T. R. Determining Gut Microbial Dysbiosis: a Review of Applied Indexes for Assessment of Intestinal Microbiota Imbalances. *Applied and environmental microbiology*. 2021. 87(11), e00395–21. <https://doi.org/10.1128/AEM.00395-21>
20. Mangusheva V. Yu. Pathogenetic significance of skin biocenosis disorders and their correction in patients with allergic dermatoses (experimental and clinical studies). 2021. Kharkiv: KhNMU, 116 p.
21. Protsyk A. L. Clinical and pathogenetic changes in the functional state of the liver, intestinal biocenosis and optimization of treatment of patients with giardiasis and ascariasis: author's review. thesis ... k. med. n.: 14.01.13. Infectious diseases. 2019. Available on: [https://www.ifnmu.edu.ua/images/zagalna\\_informacia/spec\\_v\\_cheni\\_radi/2017-2019/K20.601.03/procik/Dysertaciya1.pdf](https://www.ifnmu.edu.ua/images/zagalna_informacia/spec_v_cheni_radi/2017-2019/K20.601.03/procik/Dysertaciya1.pdf)
22. Kalas MA, Alduaij A, Alkhatib AA. Incidental Diagnosis of Duodenal Giardiasis. *Cureus*. 2021. 7;13(6):e15499. doi: 10.7759/cureus.15499.
23. Groudan K, Gupta K, Chalhoub J, Singhania R. *Giardia lamblia* Diagnosed Incidentally by Duodenal Biopsy. *J Investig Med High Impact Case Rep*. 2021. 9:23247096211001649. doi: 10.1177/23247096211001649.
24. Alharbi A, Toulah FH, Wakid MH, Azhar E, Farraj S, Mirza AA. Detection of *Giardia lamblia* by Microscopic Examination, Rapid Chromatographic Immunoassay Test, and Molecular Technique. *Cureus*. 2020. 7;12(9):e10287. doi: 10.7759/cureus.10287.
25. Schuurman T, Lankamp P, van Belkum A, Kooistra-Smid M, van Zwet A. Comparison of microscopy, real-time PCR and a rapid immunoassay for the detection of *Giardia lamblia* in human stool specimens. *Clin Microbiol Infect*. 2007. 13(12):1186–91. doi: 10.1111/j.1469-0691.2007.01836.x.
26. Shaked NT, Boppart SA, Wang LV, Popp J. Label-free biomedical optical imaging. *Nat Photonics*. 2023. 17(12):1031–1041. doi:10.1038/s41566-023-01299-6
27. Shkilna M. Laboratory diagnosis of giardiasis. *Infectious Diseases*. 2013. (4):43–46. <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2008.4.972>
28. Adam RD. *Giardia duodenalis*: Biology and Pathogenesis. *Clin Microbiol Rev*. 2021.34(4):e0002419. doi:10.1128/CMR.00024-19
29. Toro-Londono MA, Bedoya-Urrego K, Garcia-Montoya GM, Galvan-Diaz AL, Alzate JF. Intestinal parasitic infection

alters bacterial gut microbiota in children. *PeerJ*. 2019.  
7:e6200. doi:10.7717/peerj.6200

30. Hrnčir T. Gut Microbiota Dysbiosis: Triggers,  
Consequences, Diagnostic and Therapeutic Options.  
*Microorganisms*. 2022. 10(3), 578.

<https://doi.org/10.3390/microorganisms10030578>

31. Fekete E, Allain T, Siddiq A, Sosnowski O, Buret AG.  
*Giardia* spp. and the Gut Microbiota: Dangerous Liaisons.  
*Front Microbiol*. 2021. 11:618106.  
doi:10.3389/fmicb.2020.618106