

БЛАСТОЦИСТОЗ: ПРИНЦИПИ, КРИТЕРІЇ І МЕТОДИ ДІАГНОСТИКИ (ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ)

Ігор Кириченко¹, Михайло Бірюков¹, Сергій Похил²,
Олена Тимченко²

¹Військово-медичний клінічний центр Північного
регіону МО України

²ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.
Мечникова Національної академії медичних наук
України»

Затверджено вченою радою ДУ «ІМІ НАМН»,
Протокол №7 від 18.07.2025

Рецензент : Філімонова Н.І. доктор мед. наук, професор,
професор кафедри клінічної лабораторної діагностики,
мікробіології та біологічної хімії Національного
фармацевтичного університету МОЗ України

Пропонуються для використання у практичній роботі лікарів інфекціоністів, гастроентерологів, дерматологів, артралгологів, фахівців клініко-діагностичних лабораторій закладів цивільної і військової медицини, в освітніх програмах вищих медичних навчальних закладів, в науково-дослідній роботі профільних НДІ МОЗ та НАМН України сучасні принципи і критерії діагностики бластоцистозу у людей, лабораторні методи верифікації етіології захворювання та правила виконання їх найважливіших процедур. Застосування при обстеженні тематичних пацієнтів сукупності наведених епідеміологічних, клінічних і лабораторних критеріїв у поєднанні з правильно виконаними методами досліджень забезпечує науково-обґрунтоване встановлення діагнозу бластоцистозу на засадах доказової медицини.

Бластоцистоз – найпоширеніша протозойна кишкова хвороба (ПКХ) людини, спричинювана *Blastocystis* sp. – анаеробними одноклітинними процистами з групи страменопілів (синонім: гетероконти – хромофітові та діатомові водорості, грибоподібні, вільноплаваючі, коменсальні організми та інш.). Зараження *Blastocystis* sp. відбувається фекально-оральним механізмом, а маніфестний перебіг інвазії проявляється симптомами враження шлунково-кишкового тракту (ШКТ), шкіри та суглобів (Інформаційний лист. Бластоцистоз: епідеміологія і клінічні прояви).

Встановлення діагнозу бластоцистозу здійснюється з урахуванням епідеміологічних і клінічних даних та результатів спеціальних лабораторних досліджень.

Для діагностування бластоцистозу (на відміну від багатьох інших кишкових інфекцій) епідеміологічні діагностичні критерії мають обмежене значення. В рутинній медичній практиці рідко вдається встановити

епідеміологічний зв'язок пацієнта з лабораторно підтвердженим випадком бластоцистної інвазії у ланцюгу передачі від джерела інфекції (зараженої людини чи тварини) або з лабораторно підтвердженим фактором передачі паразитів (споживанням забрудненої води, їжі чи контактування з зараженими об'єктами навколишнього середовища). Корисними є анамnestичні дані про перебування пацієнта на ендемічних (щодо захворюваності на кишкові інфекції) територіях, близький контакт з тваринами, ймовірність вживання недоброякісної води та їжі, недотримання правил особистої санітарії і гігієни та інші небезпеки зараження, а також належність особи до групи підвищеного ризику розвитку бластоцистозу.

Клінічними діагностичними критеріями бластоцистозу вважається наявність принаймні одного з декількох найбільш типових симптомів, притаманних широкому спектру функціональних, запальних та інфекційних захворювань ШКТ (діареї та/або – болу у животі, спазмів, здуття, нудоти, нестійких випорожнень та інш.), що можуть супроводжуватись проявами ураження шкіри і суглобів. За умов відсутності патогномонічних симптомів бластоцистозу на користь протозойної етіології хвороби свідчить її тривалий перебіг (2 тижні і довше) та відсутність впродовж 72 годин позитивного ефекту лікування гострих кишкових проявів звичними протимікробними засобами.

При бластоцистозі результати загальноклінічних досліджень недостатньо інформативні: загальний аналіз сечі без змін, а відносна еозинофілія та/або базофілія і лімфоцитоз виявляються у загальному аналізі крові з формулою лише у 3-5 % пацієнтів. Зрідка у випадках тяжкого перебігу хвороби результати біохімічного аналізу крові вказують на підвищення загального білірубіну (за рахунок прямої фракції) та гіпоальбумінемію.

З огляду на поліетіологічність ПКХ, неповноцінність пов'язаних з ними епідеміологічних даних, неспецифічні клінічні прояви та малу інформативність результатів загальноклінічних аналізів, сучасна стратегія діагностики цих хвороб (зокрема і бластоцистозу) ґрунтується на результатах спеціальних лабораторних досліджень, спрямованих на виявлення протозойних збудників в біологічному матеріалі від пацієнта (найчастіше – у калі, рідше – у блювоті, жовчі, вмісті чи біоптаті кишечника). Лабораторними критеріями для встановлення діагнозу бластоцистозу є принаймні один з таких трьох: виявлення у випорожненнях від пацієнта діагностично значущої кількості трофозоїтів (вегетативних клітин), нуклеїнових кислот або антигенів *Blastocystis* sp. мікроскопічними (ММ), молекулярно-генетичними (ПЛР) та імунологічними (ІФА) методами, відповідно. Результати багатьох досліджень вказують на те, що симптоми бластоцистозу виникають за умов високого рівня колонізації кишечника *Blastocystis* sp., що корелює з присутністю великої кількості паразитів у випорожненнях (10^5 - 10^6 трофозоїтів/г). При прямій

мікроскопії мазку калу (без виконання процедури збагачення) діагностично значущою кількістю вважається виявлення п'яти і більше вегетативних клітин паразитів вакуолярної, гранулярної, авакуолярної, полівакуолярної чи іншої сферичної форми на «поле великого збільшення» мікроскопу ($\times 400$), що співставно з описовими термінами наближеної кількості «помірно» (3-9 об'єктів) та «багато» (≥ 10 об'єктів) у «полі збільшення масляної імерсії» мікроскопу ($\times 1000$). Також діагностично значимим є виявлення в будь-якій кількості амебодібних форм *Blastocystis* sp., наявність яких є проявом високої вірулентності їх популяції.

Вміст паразитів у порціях фекалій є непостійним, їх вивільнення з випорожненнями відбувається періодично. Тому для мікроскопічного аналізу необхідно проводити трьохкратний відбір зразків калу з інтервалом через один-два дні (допустимо – два відбори кожен день, але не впродовж однієї доби). За умови діагностики бластоцистозу методами ПЛР та ІФА достатнім є дослідження одного зразку калу, що пояснюється істотно вищою чутливістю і специфічністю цих тестів, а також більшою рівномірністю розподілу, тривалістю та надійністю збереження у випорожненнях ДНК і антигенів збудника. Однак використовувані ПЛР (PCR) та ІФА (ELISA) тест-системи повинні забезпечувати точне кількісне (англ. «quantitative») виявлення цих пошукових речовин (англ. аббревіатури маркування таких систем «qPCR» і «qELISA», відповідно) та бути схвалені для діагностики (англ. припис «for diagnostics use»). Не дозволяється застосовувати експериментальні тест-системи, які призначені лише для виконання наукових досліджень (англ. припис «for research use only»). Придатними для діагностики бластоцистозу (як і інших ПКХ) методами ПЛР та ІФА є свіжі, заморожені та консервовані зразки калу (ЗК). Для мікроскопічного дослідження заморожування ЗК не допускається, так як процедура заморожування/відтавання призводить до руйнування паразитів з втратою їх діагностично-важливих мікроскопічних характеристик. Свіжі ЗК повинні бути досліджені ММ протягом 30 хвилин (для рідких фекалій) після випорожнення (а не з часу надходження до лабораторії), або впродовж 1 години (для неоформлених, м'яких та сформованих фекалій), що дозволяє виявляти як цисти, так і трофозоїти різних кишкових найпростіших. Якщо ЗК неможливо дослідити протягом зазначених термінів, зразок слід консервувати, а потім доставити в лабораторію, що є більш зручною організаційною тактикою з практичної точки зору. Існує безліч варіантів консервантів для ЗК, які можна виготовляти в лабораторії або придбати у комерційних постачальників. При виборі певного типу консерванту попередньо оцінюється його сумісність з барвниками ММ, наборами реагентів для тестування ПЛР чи ІФА, які будуть використовуватись для дослідження ЗК (наприклад: 5-10 % розчини формаліну є цілком сумісними з трихромовим барвником ММ та

наборами реагентів ІФА, але інгібують проходження ПЛР). Загалом при виконанні робіт з ПЛР та ІФА тест-системами слід дотримуватись настанов їх виробника.

Для мікроскопічного виявлення кишкових протозойних паразитів (на відміну від гельмінтологічних досліджень) препарати мазків калу необхідно фарбувати для забарвлення клітин найпростіших, що забезпечує більш надійну візуалізацію їх ідентифікаційних ознак (розміру, форми, структури, тінкторіальних властивостей). При виготовленні вологих тимчасово забарвлених мазків (ВТЗМ) частіше застосовуються розчини йоду (1 % Люголя, Д'Антоні, Добелла тощо), рідше – метиленового синього, малахітового зеленого, хлоразолу чорного, лактофенольного бавовняного синього та інших барвників. Для виготовлення фіксованих перманентно (стійко) забарвлених мазків (ФПЗМ) зазвичай використовують методи фарбування трихромом за модифікацією Вітлі або залізним гематоксиліном за Гейденгайном (для мікроскопічного виявлення ооцист *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayetanensis*, *Cystoisospora belli* мазки фарбують модифікованим, холодним, методом за Цілем-Нільсеном). Загалом тимчасове забарвлення вологих мазків розчинами йоду та барвників вважається цілком задовільним для виявлення/ідентифікації трофозоїтів і цист *Giardia lamblia*, частково придатним для виявлення клітин *Blastocystis* sp. (переважно лише типової вакуолярної морфології), але є абсолютно непридатним для виявлення/ідентифікації трофозоїтів і цист *D. fragilis*, ооцист *Cryptosporidium* spp. та ряду інших протозойних паразитів і діагностично значущих об'єктів, які часто бувають присутніми у випорожненнях. Тому препарати ВТЗМ призначені для отримання попереднього результату мікроскопічного дослідження, а ФПЗМ – для остаточної ідентифікації виявлених кишкових найпростіших (патогенних і коменсальних) та візуалізованих у мазку діагностично важливих компонентів фекалій (ДВКФ) – еритроцитів, лейкоцитів, макрофагів, кристалів Шарко-Лейдена, дріжджоподібних грибів, конідій, гіф, міцелію/псевдоміцелію тощо. Мікроскопію всіх типів виготовлених мазків (ВТЗМ і ФПЗМ) слід виконувати на каліброваному світловому мікроскопі з урахуванням сумарних рівнів збільшення комплектів оптичних систем (окулярів та об'єктивів). Стандартне паразитологічне дослідження калу ММ передбачає перегляд повної площі ВТЗМ під покривним скельцем при сумарному збільшенні мікроскопу 90-150 разів (повітряна «імерсія», об'єктив $\times 10$) з додатковим вивченням підозрілих об'єктів зі збільшенням у 400-600 разів (повітряна «імерсія», об'єктив $\times 40$). Для попереднього виявлення мікрооб'єктів, подібних на клітини протозойних паразитів (англ. «Protozoa-like objects»), в умовах збільшення об'єктиву $\times 40$ переглядається не менше третини площі ВТЗМ. При мікроскопії ФПЗМ вимагається переглянути в різних зонах площі мазка не менше 300 полів зору при

сумарному збільшенні у 1000-1500 разів (масляна імерсія, об'єктив $\times 100$). Якщо протозойні паразити виявлені після коротшого обстеження, необхідно виконати повне дослідження 300 полів зору для виявлення інших їх видів, які можуть бути присутніми в меншій кількості і свідчити про наявність у пацієнта мікст-інвазії. У випадку виявлення *Blastocystis* sp. та ДВКФ визначається їх наближена кількість (оцінювана в термінах «рідко», «мало», «помірно», «багато»), що є усередненим показником підрахунку об'єктів у 10 різних полях зору в ФПЗМ. Інститутом клінічних і лабораторних стандартів США (CLSI) затверджено такі критерії опису кількості виявлених об'єктів: «рідко» – поодинокі у 10 полях зору; «мало» – ≤ 2 у полі зору (п/з); «помірно» – 3-9 у п/з; «багато» – ≥ 10 у п/з. При дослідженні консервованих фекалій слід враховувати ступінь їх розведення консервантом (визначену кількість об'єктів перемножити на коефіцієнт розведення). Виявлені інші збудники ПКХ (*D. fragilis*, *G. lamblia*, *Cryptosporidium* spp. тощо) не підраховуються і їх кількість в результатах аналізу не вказується.

Виписку результату паразитологічного аналізу калу (чи іншого клінічного матеріалу) слід виконувати з дотриманням міжнародних правил, основні вимоги яких полягають в наступному. Не допускається запис скорочень і аббревіатур термінів. В тексті вказується тип дослідженого матеріалу і використаний метод його дослідження. При негативному результаті дослідження його запис відображається за формою прикладів: «При дослідженні консервованого калу методом світлової мікроскопії гельмінтів і протозойних паразитів не виявлено»; «При дослідженні нативного калу методом імуноного ферментного аналізу антигенів *Giardia lamblia* і *Cryptosporidium* spp. не виявлено»; «При дослідженні замороженого калу методом мультиплексової полімеразної ланцюгової реакції у реальному часі дезоксирибонуклеїнових кислот *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Cryptosporidium* spp., *Blastocystis hominis*, *Dientamoeba fragilis* і *Cyclospora cayetanensis* не виявлено». Не допускаються категоричні записи на кшталт: «Кишкові гельмінти і протозойні паразити відсутні», або «Кишкових паразитів нема». За умови виконання діагностичних досліджень з використання комерційних наборів реагентів назви кишкових паразитів у тексті результату аналізу слід записувати згідно їх назв, вказаних у інструкціях виробника наборів. Запис позитивних результатів досліджень повинен включати виявлений лабораторний критерій з повним найменуванням кишкового(вих) паразита(ів), а за результатами мікроскопічного дослідження – і стадію (форму) його(їх) життєвого циклу. Наприклад: «При дослідженні консервованого калу методом світлової мікроскопії виявлено трофозоїти *Dientamoeba fragilis*», «При дослідженні методом світлової мікроскопії калу після збагачення виявлено цисти *Giardia lamblia*». У випадку виявлення *Blastocystis* sp. та інших діагностично-важливих компонентів калу необхідно вказати їх наближену кількість. Наприклад: «При

дослідженні консервованого калу методом світлової мікроскопії виявлено багато трофозоїтів *Blastocystis* sp. вакуолярної та гранулярної і рідко амебоїдної морфологічних форм, мало лейкоцитів та помірно дріжджоподібних грибів».

Blastocystosis: principles, criteria and methods of diagnostics (Information letter)

Igor Kyrychenko, Mykhailo Biriukov, Sergiy Pokhil, Olena Tymchenko

Establishing a diagnosis of blastocystosis is carried out taking into account epidemiological, clinical data and the results of special laboratory studies. For the diagnosis of blastocystosis, epidemiological diagnostic criteria are of limited value. The clinical diagnostic criteria for blastocystosis are considered to be the presence of at least one of several of the most typical symptoms of a gastrointestinal tract disorder (diarrhea and/or abdominal pain, spasms, bloating, nausea, unstable stools, etc.), which may be accompanied by manifestations of skin and joint damage. Laboratory criteria for establishing the diagnosis of blastocystosis include at least one of the following three: detection in the patient's stool of a diagnostically significant number of trophozoites (vegetative cells), nucleic acids, or antigens of *Blastocystis* sp. by microscopic (MM), molecular genetic (PCR), and immunological (ELISA) methods, respectively. For microscopic analysis, it is necessary to collect stool samples three times at intervals of one to two days, and for the diagnosis of blastocystosis using PCR and ELISA methods, it is sufficient to examine one stool sample. In stool smear microscopy, detection of any number of amoeboid forms of *Blastocystis* sp. and 5 or more vacuolar or other spherical parasite cells in the "high-power field" of the microscope ($\times 400$) is considered diagnostically significant, which is comparable to the descriptive terms of the approximate number of "moderate" (3-9 objects) and "many" (≥ 10 objects) in the "oil immersion magnification field" of the microscope ($\times 1000$). The PCR and ELISA test systems used must provide accurate quantitative detection of target DNA and antigens and be approved for the diagnosis of blastocystosis. Parasitological examination of MM feces is performed in compliance with the standardized procedures of the US Clinical and Laboratory Standards Institute, and by PCR and ELISA methods – in accordance with the manufacturer's instructions for the corresponding test systems. The results of the parasitological analysis of stool should be written out in compliance with international rules. In case of detection of *Blastocystis* sp. their approximate number should be indicated.

Key words: *Blastocystis* sp., blastocystosis, diagnostics, criteria, laboratory methods, reporting results.