



Ачилова Матлюба Мирхамзаевна

Самарқанд давлат тиббиёт университети, Ўзбекистон Республикаси, Самарқанд ш.

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЦР-ТЕСТИРОВАНИЯ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С
БЛАСТОЦИСТОЗОМ**

Ачилова Матлюба Мирхамзаевна

Самаркандский государственный медицинский университет, Республика Узбекистан, г. Самарканд

**EFFECTIVENESS OF THE PCR METHOD IN HIV-INFECTED PATIENTS WITH DIAGNOSED
BLASTOCYSTOSIS**

Achilova Matlyuba Mirkhamzaevna

Samarkand State Medical University, Republic of Uzbekistan, Samarkand

e-mail: achilovamatlyuba.88@mail.ru

Резюме. Мазкур мақолада ОИВ инфекцияли беморларда ичак паразитози – бластоцистознинг микст кечишида касалликнинг лаборатор хусусиятлари ўрганилди. Илмий тадқиқотлар Самарқанд вилоят юқумли касалликлар клиник шифохонасида 2021-2024 йилларида даволанган ОИВ юқтирган 185 нафар беморда тадқиқот ўтказилиди. Тадқиқот ишида умумклиник, паразитологик, биокимёвий, серологик, молекуляр-генетик, инструментал усуллар қўлланилиди. Дастребки ўтказилган микроскопик текширувда олинган мусбат таҳтил (30,0%) га қараганда 15,9% юқори самара билан ПЗР усулида бластоцисталар аниқланди. ОИВ инфекцияли беморлар ичагида бластоцисталарнинг асосан зооноз субтиплари *Blastocystis spp.ST-5* ва *Blastocystis spp.ST-6* кўп (62,8%) қайд қилинади, антропоноз тин – *Blastocystis spp.ST-3* ушбу беморларда 19,2% ҳолатдагина учрасада, ОИВ инфекциясиз беморларда доминантлик (66,7%) қиласади.

Калим сўзлар: ОИВ инфекция, бластоцистоз, ПЗР, микроскопия, генотиплар.

Abstract. This article studies the laboratory characteristics of the disease in the mixed course of intestinal parasitosis - blastocystosis in HIV-infected patients. Scientific research A study was conducted on 185 HIV-infected patients treated in the Samarkand Regional Infectious Diseases Clinical Hospital in 2021-2024. General clinical, parasitological, biochemical, serological, molecular-genetic, and instrumental methods were used in the study. Blastocysts were detected by PCR with a 15.9% higher efficiency than the positive analysis obtained during the initial microscopic examination (30.0%). In the intestines of HIV-infected patients, the zoonotic subtypes of blastocysts, *Blastocystis spp.ST-5* and *Blastocystis spp.ST-6*, are most common (62.8%), while the anthropotic type, *Blastocystis spp.ST-3*, is found in only 19.2% of these patients, but is dominant (66.7%) in patients without HIV infection.

Key words: HIV infection, blastocystosis, PCR, microscopy, genotypes.

ОИВ инфекцияси вирус табиатли сурункали юқумли касаллик бўлиб, асосан иммун тизимини заарлаб, оппортунистик касаллик ва ўсмалар ривожланишига сабаб бўлади ва антиретровирус терапия ўтказилмаганда ўлим ҳолати билан якунланади [Raimondo M. et al., 2017; Guaraldi G., 2019]. ОИВ инфекцияси бугунги кунда бутун дунёда соғлиқни саклашнинг ассий муаммоларидан бири бўлиб қолмоқда. Мазкур касалик билан асосан 14-50 ёшдаги одамлар кўпроқ касалланади. Шу билан бирга ОИВ инфекцияси бутун жаҳон иқтисодиётига катта зарар етказмоқда. ОИВ инфекциясида иммун тизим фаолияти пасайиши билан бирга марказий асаб тизими, нафас ва овқат ҳазм килиш йўллари кўп заарланади [Покровский В.В., 2013]. Ичак

паразитларидан *Blastocystis* асосан мушукларда учрайди. Бундан ташқари мазкур паразит ҳашаротлар ва зулук организмида ҳам аниқланган. Одам организмига *Blastocystis* гигиена қоидаларига риоя қилмаслик орқали тушади [Продеус Т.В., 2014]. Бугунги кунда иммунитет танқислиги бўлган шахслар сонининг ортиб бориши туфайли патоген ичак содда хайвонлари *Leishmania intestinalis* ва *Entamoeba histolytica* билан бирга *Blastocystis* spp, *Cryptosporidium* spp ва *Cyclospora* spp нинг учраш частотаси ҳам кўпайди [Бартлетт Д., 2012; Taylor T.H., 2016].

Blastocystis spp. юқсанлигини лаборатор ташхислашда нажас микроскопияси асосий усул хисобланиб, замонавий текшириш усулларидан иммунологик ва молекуляр-биологик усуллар кенг

кўлланилмоқда. Ҳозирда паразитар инвазияларни ташхислашда формалин-эфирли чўқтириш орқали бойитиш усули ҳам амалиётга киритилган [1;4.]. Культурал усул орқали паразитозларни аниқлашда турли озука муҳитларидан фойдаланилади. Иммунологик ва вирусологик текширув усуллари бугунги кунда амалиётда кенг кўлланилаётган замонавий лаборатор текширув усулларидан бўлиб хисобланади [8;6;3;10].

Тадқиқот мақсади. Бластоцистоз аниқланган ОИВ инфекцияли беморларда ПЗР текшириш усулини самарадорлигини аниқлаш.

Тадқиқот обьекти ва усуллари. Самарқанд вилоят юқумли касалликлар клиник шифохонасида 2021-2024 йилларида даволанганд ОИВ юқтирган 185 нафар беморда тадқиқот ўтказилди. Беморлар 2 та гурухга тақсимланди: I-гурух (асосий гурух)га ОИВ инфекцияси ва бластоцист инвазияси аниқланган 78 нафар бемор, II-гурух (назорат гурухи)га эса бластоцист инвазияси аниқланган ОИВ инфекциясиз 15 нафар бемор киритилди (жадвал 1).

Жадвалдан кўриниб турибдики, гурухлар ўзаро солишириш учун муносаб.

I-гурух (бластоцист инвазияси аниқланган беморлар) 78 (100%) бемордан 50 (64,1%) нафар бемор антиретровирус терапия (АРТ) олади ва 28 (35,9%) нафар бемор АРТ олмайди.

Беморларга “ОИВ инфекцияси” ташхиси Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни саклаш вазирлигининг 2018 йил 30 апрелдаги 277-сонли буйругига асосан Самарқанд вилоят ОИТСга қарши курашиб марказида иммунофермент таҳлил ва иммуноблот текшируви асосида кўйилган.

Тадқиқот материали сифатида беморларнинг қон зардоби (плазмаси) олинди. Конда CD4 хужайралар (T-лимфоцитлар) сони Becton Dickinson FACS Calibur цитометри технологиясида цитофлюориметрия усулида аниқланди.

Бластоцисталар копроовоскопия (натив/йўғон томчи Като ва Миур усули) ва нажасда формалин эфирли седиминтация усулида аниқланди. Формалин эфирли седиминтация (чўқтириш) усули гельминтлар тухумларининг солиширима оғирлик бўйича фарқларига асосланган. Бластоцист инвазиясини ташхислаш учун суртмани микроскопия қилиш усули кўлланилди. Суртма Романовский-Гимза усулида бўялди.

Нажас суртмаси X400 баравар катталаштирилганда 5 тадан кўп паразит аниқланганда натижаси мусбат хисобланди. Молекуляр-генетик

усуллардан Barcode нинг SSUrDNA соҳаси учун икки жуфт праймерлардан фойдаланган ҳолда полимераза занжир реакцияси (ПЗР) усули қўлланилди. Бластоцистларнинг иккита усулда ҳам аниқланиши бластоцист инвазияси мавжудлигини тасдиқлаш учун асос бўлди ва бу bemorlar тадқиқот гурухига киритилди.

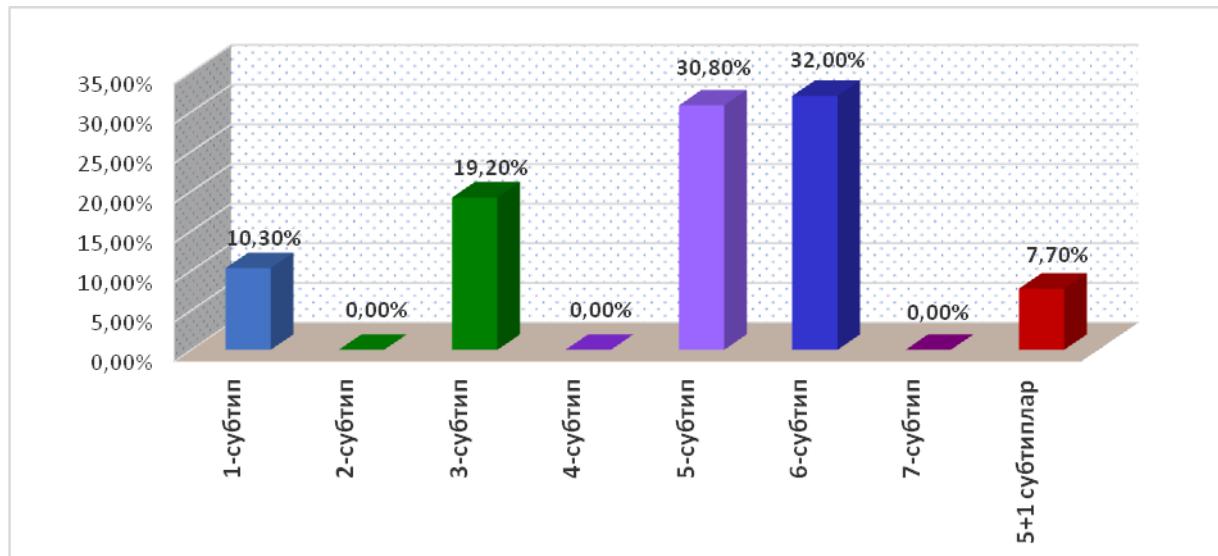
Тадқиқот натижалари статистик ишлов бериш учун MicrosoftExcel да тўпланди. Омиллар учун шанслар нисбати (OR) ва бошқа биостатик кўрсаткичлар ЕріInfo 7 компьютер дастури ва StatCalc иловасидан фойдаланган ҳолда хисобланди (www.cdc.gov/erinfo).

Паразитологик текширувлар шуни кўрсатадики, bemorlar нажасида бластоцисталар 2 турдаги морфологик шаклларда яъни вакуоляр ва грануляр шаклларда учради. Вакуоляр шаклларининг катталиги 6-20 мкм ни ташкил қилди. 85,9% bemorларда бластоцисталар хужайранинг 60-80% ҳажмини эгаллаб, периферияда 2-5 ядроли кўринадиган марказий вакуолага эга бўлган ҳолда аниқланди. Микроскопик текширувда кўрув майдонида аниқланган бластоцисталар сони 3 тадан 20-23 тагача бўлган миқдорни ташкил қилди. 83,3% bemorларда бластоцисталар ачитқисимон замбуруғлар билан бирга аниқланди. Бу бир томондан ичак дисбиози ривожланганинг кўрсатса, иккинчи томондан ичакда бластоцисталарнинг яшаш фаолияти учун кулагай шароит (мухит) хосил бўлганлигидан дарак беради.

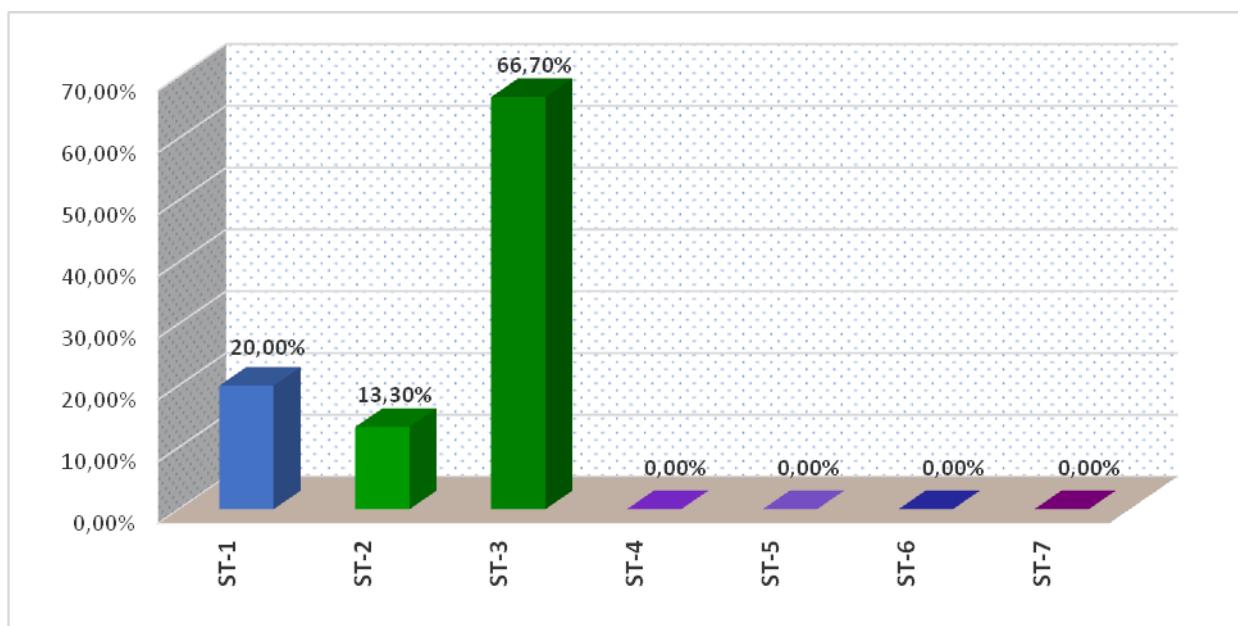
Нажасда бластоцистоз кўзғатувчиси *Blastocystis* spp. ни аниқлашда амалиётда кенг кўлланиладиган микроскопик (анъанавий) ва молекуляр-генетик (полимераза занжир реакцияси) текширув усулларини кўллашда олинган натижалар киёсий ўрганилганда ичак паразитозларининг клиник кўринишлари аниқланган 170 нафар ОИВ инфекцияли беморда нажасни микроскопик усулда текширув натижасида 51 нафар (30,0%) ҳолатда *Blastocystis* га мусбат натижаси аниқланди. Бемор нажаси полимераза занжир реакцияси *Blastocystis elongation factor-alpha gene* тест-тўпламларини кўллаган ҳолда текширилганда эса 170 нафар бластоцисталар аниқланган бемордан олинган материалда 10,6% ҳолат (18 нафар бемор) да бластоцисталар аниқланди. Шуни алоҳида таъкидлаб ўтиш зарурки, анъанавий микроскопик усулда *Blastocystis* аниқланган 51 нафар бемор нажаси полимераза занжир реакцияси усулида текширилганда 9 (17,6%) нафар беморда бластоцисталар мавжудлиги бўйича мусбат натижаси олинди.

Жадвал 1. Тадқиқот ўтказилган bemorларнинг умумий тавсифи

Кўрсаткич	I-гурух (бластоцист инвазияси аниқланган ОИВ инфекцияли bemorлар) n=78	II-гурух (бластоцист инвазияси аниқланган ОИВ инфекциясиз bemorлар) n=15
Ёши	16-49	15-50
Эркак	46 (59,0%)	8 (53,3%)
Аёл	32 (41,0%)	7 (46,7%)
CD4+ (T-лимфоцит)	316,4	446,3



Расм 1. ОИВ инфекцияли шахсларда *Blastocystis spp.* субтилларининг тарқалганлиги



Расм 2. ОИВ инфекцияси бўлмаган шахсларда *Blastocystis spp.* субтилларининг тарқалганлиги

Бундай маълумотлар ОИВ инфекциялии беморлар ичагида *Blastocystis spp.* нинг турли субтиллари паразитлик қилишидан дарак беришини кўрсатади. Бундан ташқари, инсон организмидаги турли бошқа патологик холатларда аксарият холларда аниқланадиган бластоцистанинг антропоноз 3-субтипи ушбу беморларда асосий субтип эмаслигидан ҳам далолат беради.

Ушбу келтирилган фикрларни илмий асослаш мақсадида айнан текширув ўтказилган намуналар полимераза занжир реакцияси ёрдамида яна бир марта *Blastocystis spp.* ни аниқлаш учун текширувдан ўтказилди. Бунда дастлабки қўлланилган *Blastocystis*-elongation factor-alpha-gene ўрнига бошқа праймер *Blastocystis*-18S ribosomalRNA-gene дан фойдаланилди (3-илова). Молекуляр генетик текширув усули (полимераза занжир реакцияси) ёрдамида қайта ўтказилган текширувлар натижасида *Blastocystis spp.* геномига хос бўлган нуклеотидлар кетма-кетлиги 170 нафар беморнинг 78 (45,9%) нафаридан олинган нажас намунасида аниқланди. Ушбу натижада дастлабки

ўтказилган микроскопик текширувда олинган мусбат таҳлил (30,0%) га караганда 15,9% юқори самара билан аниқланди. Бластоцисталарнинг субтилларини аниқлаш мақсадида беморларда текширув намуналари (нажас) 7 та бластоциста субтилларини аниқлаш тўпламлари (*Blastocystis spp.* ST-1,2,3,4,5,6,7) дан иборат маҳсус праймерлардан фойдаланилди (1-расм).

ОИВ инфекцияли 78 нафар беморда аниқланган бластоцисталарнинг генотипларини ўрганиш шуни кўрсатдики, беморларда аксарият зооноз субтиллар доминантлик (62,8%) килади: *Blastocystis spp.* ST-5 24 нафар (30,8%) ва *Blastocystis spp.* ST-6 25 нафар (32,0%) беморда қайд қилинди. *Blastocystis spp.* ST-3 15 (19,2%) беморда аниқланди. *Blastocystis spp.* ST-1 эса жами 8 нафар (10,3%) бемордагина қайд қилинди.

Тадқиқот гурухларида 6 нафар (7,70%) ОИВ инфекциялии беморларда бластоцисталарнинг 2 та: *Blastocystis spp.* ST-5 ва *Blastocystis spp.* ST-1 субтилларининг биргага микст тарзда учраши қайд қилинди. Шуни алоҳида таъкидлаш муҳимки, ушбу гурухлардаги ОИВ инфекциялии беморларда

бластоцисталарнинг *Blastocystis spp.* ST-2, *Blastocystis spp.* ST-4 ва *Blastocystis spp.* ST-7 субтиплари умуман кайд этилмади.

Бластоциста инвазияси билан заарланган ОИВ инфекцияси бўлмаган беморлар ($n=15$) (6-гурух – назорат гурухи) да бластоцисталар генотиплари полимераза занжир реакцияси ёрдамида ўрганилганда 66,7% (10 нафар) беморда бластоцисталарнинг *Blastocystis spp.* ST-3 типи аниқланди (3-расм).

Расмдан кўриниб турибдики, ОИВ инфекциясиз шахсларда бластоцисталарнинг асосан *Blastocystis spp.* ST-3 субтипи энг кўп 66,7% учрайди. *Blastocystis spp.* ST-1 20,0% (3 нафар беморда) ва *Blastocystis spp.* ST-2 13,3% (2 нафар беморда) холларда кайд этилди. Бластоцисталарнинг *Blastocystis spp.* ST-4, ST-5, ST-6 ва ST-7 субтиплари бирорта ҳолатда ҳам кайд қилинмади.

Шундай килиб, дастлабки ўтказилган микроскопик текширувда олинган мусбат таҳлил (30,0%) га қараганда 15,9% юқори самара билан ПЗР усулида бластоцисталар аниқланди. ОИВ инфекцияли беморлар ичагида бластоцисталарнинг асосан зооноз субтиплари *Blastocystis spp.* ST-5 ва *Blastocystis spp.* ST-6 кўп (62,8%) кайд қилинади, антропоноз тип – *Blastocystis spp.* ST-3 ушбу беморларда 19,2% ҳолатдагина учрасада, ОИВ инфекциясиз беморларда доминантлик (66,7%) қиласди.

Адабиётлар:

1. Малеев В. В., Токмалаев А. К., Кожевникова Г. М. и др. Клинические формы, диагностика и лечение инфекции, вызванной *Blastocystis species* // Терапевтический архив. - №11, - 2020. - С. 86-90.
2. Ярмухамедова Н. А., Ризаев Ж.А. Изучение Краткосрочной Адаптации К Физическим Нагрузкам У Спортсменов Со Вторичными Иммунодефицитами // Журнал гуманитарных и естественных наук. – 2023. – №. 6. – С. 128-132.
3. Ярмухамедова Н. А. и др. Ёш спортчиларда иммун функция бузилишларини баҳолаш // Биология. – 2021. – Т. 6. – С. 132.
4. Abstracts. XXIII of the World Congress on clinical immunology and immune rehabilitation. New York, USA, 28 April – 1 May 2017 // Allergol. Immunol. – 2018. – Vol.17, - № 4. – P. 246-299.
5. Ajjampur S. S., Png C. W., Chia W. N. et al. Ex vivo and in vivo mice models to study *Blastocystis spp.* Adhesion, Colonization and Pathology: Closer to Proving

Koch's Postulates // PloS one. – 2016. – Vol. 11. – №. 8. – P. e0160458.

6. Rizaev J. A., Nazarova N. S., Vohidov E. R. Homilador ayollarda parodont kasalliklari rivojlanishining patogenetik jihatlari // Журнал гуманитарных и естественных наук. – 2024. – №. 11 [2]. – С. 104-107.

7. Rizaev J. A., Vohidov E. R., Nazarova N. S. The importance of the clinical picture and development of the condition of periodont tissue diseases in pregnant women // Central Asian Journal of Medicine. – 2024. – №. 2. – С. 85-90.

8. Van Hellemond J. J. Is paromomycin the drug of choice for eradication of *Blastocystis* in adults? J Infect Chemotherapy. - 2013. - N19(3): - P. 545-8.

9. Von B. A., Sekagya W. C., Scherrer A. U. et al. Early virological failure and HIV drug resistance in Ugandan adults co-infected with tuberculosis / AIDS Res Ther, - 2017. - P. 1.

10. World Health Organization, News bulletin, 2020.

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПЦР-ТЕСТИРОВАНИЯ У ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ БОЛЬНЫХ С БЛАСТОЦИСТОЗОМ

Ачилова М.М.

Резюме. В статье изучены лабораторные особенности заболевания при смешанном течении кишечного паразитоза - бластроцистоза у больных ВИЧ-инфекцией. Научное исследование проводилось у 185 больных ВИЧ-инфекцией, проходивших лечение в Самаркандской областной клинической инфекционной больнице в 2021-2024 годах. В исследовании использованы общеклинические, паразитологические, биохимические, серологические, молекулярно-генетические и инструментальные методы. Бластроцисты были обнаружены методом ПЦР с более высокой эффективностью 15,9% по сравнению с положительным анализом, полученным при первичном микроскопическом исследовании (30,0%). В кишечнике ВИЧ-инфицированных пациентов чаще всего встречаются зоонозные подтипы бластроцист *Blastocystis spp.* ST-5 и *Blastocystis spp.* ST-6 (62,8%), тогда как антропонозный тип *Blastocystis spp.* ST-3 встречается лишь у 19,2% этих пациентов, но доминирует у ВИЧ-неинфицированных пациентов (66,7%).

Ключевые слова: ВИЧ-инфекция, бластроцистоз, ПЦР, микроскопия, генотипы.