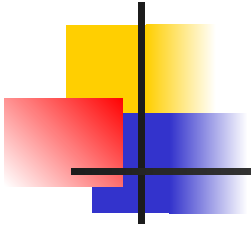


Кафедра Биологии

**ЛАБОРАТОРНАЯ
ДИАГНОСТИКА
ГЕЛЬМИНТОЗОВ**

**Целоусова Ольга Сергеевна
к.б.н., ассистент**

- **Гельминтозы-заболевания вызываемые паразитическими червями (гельминтами).**





Диагностика гельминтозов

- Для обнаружения гельминтов, их фрагментов (проглоттид. сколексов), личинок или яиц исследуют:
кал, мочу, мокроту, дуоденальное содержимое, кровь.
- Исследование испражнений (копрологическое исследование) наиболее распространенное.

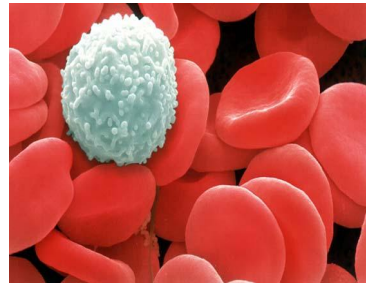
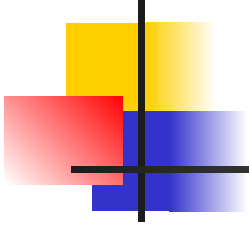
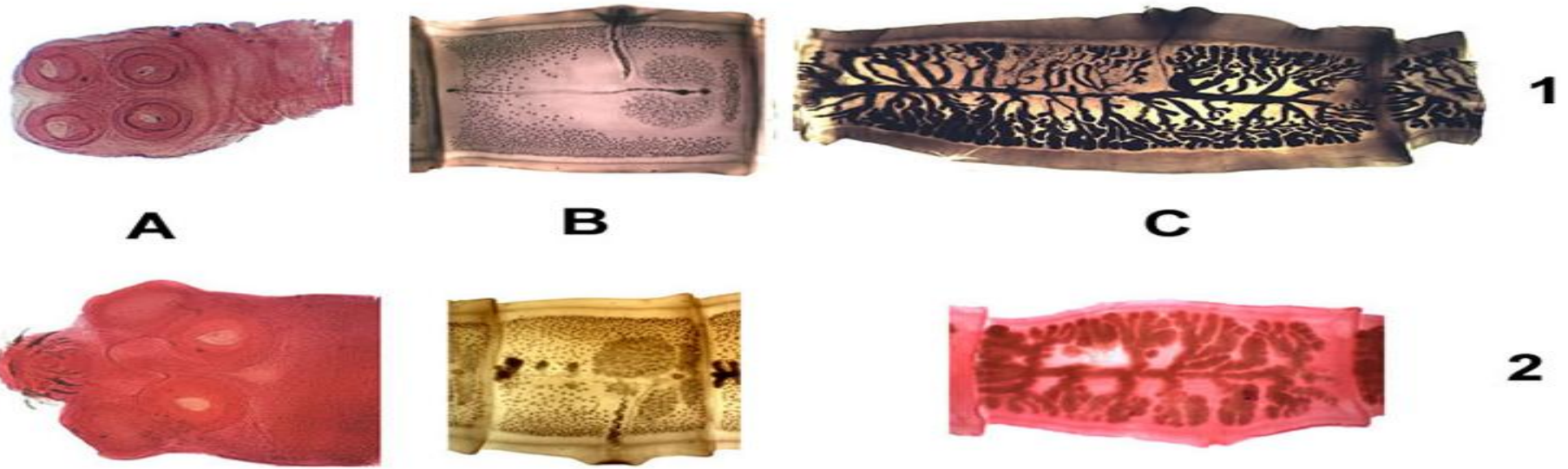




Рис. 4.3. Яйца трематод.
 1 — нанофет; 2 — олисторх; 3, 4 — дикроцелий (незрелое и зрелое); 5 — клоонорх; 6 — паргоним; 7 — метагоним; 8 — фасциола; 9 — шистосома японская; 10 — шистосома кровяная; 11 — шистосома Мансона; 12 — фасциолопс (К. И. Скрыбин, с изменениями).

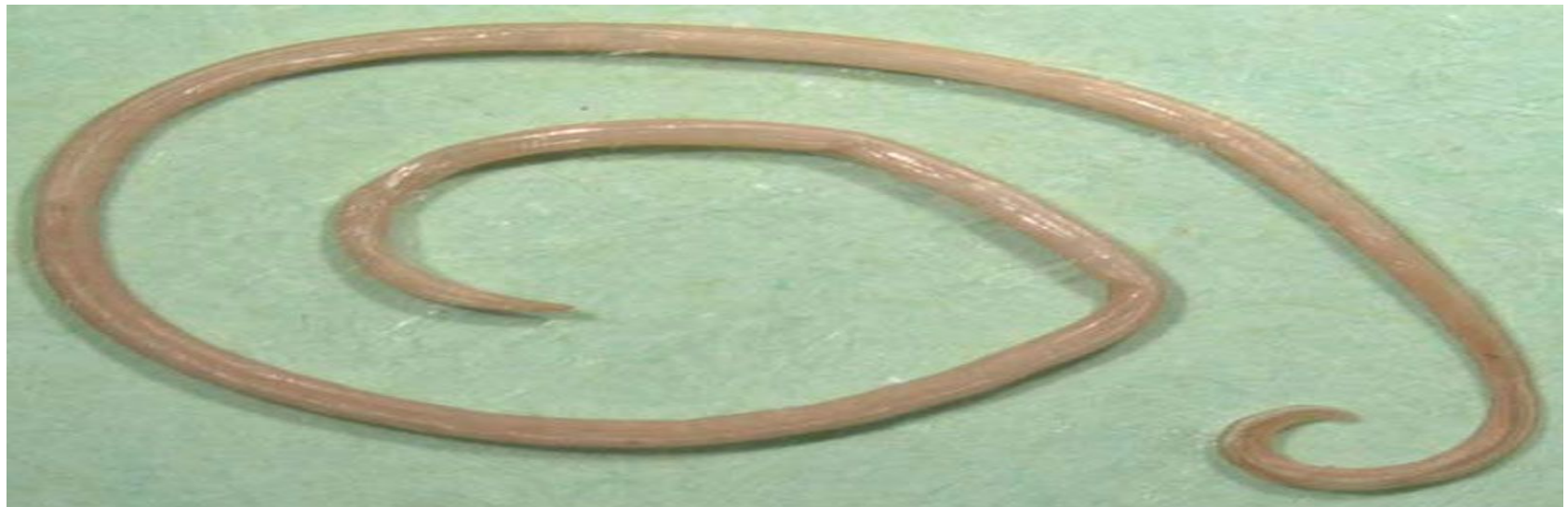


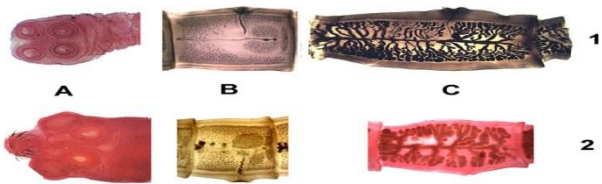
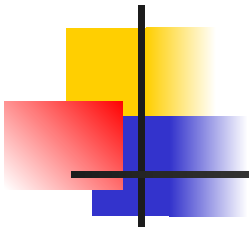
Рис. 5.2. Яйца цестод.
 1, 2 — тениды (яйцо и оокифера); 3 — карликовый цепень; 4 — крысиный цепень; 5 — широкий лентец; 6, 7 — тыквovidный цепень (яйцо и кокон) (К. И. Скрыбин, с изменениями).



Сколексы и членики бычьего (1) и свиного (2) цепней.
 А- сколекс, В- гермафродитный членик, С- зрелый членик.
 1А, 2А, 3С – окраска квасцовым кармином,
 1В, 1С, 2В – окраска молочнокислым кармином по Блажину.

©

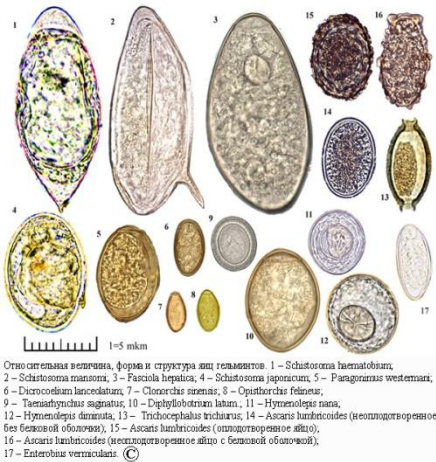




Сколексы и членики бычьего (1) и свиного (2) цепней.
А- сколекс, В- гермафродитный членик, С- зрелый членик.
1А, 2А, 3С – окраска квасцовым кармином,
1В, 1С, 2В – окраска молочнокислым кармином по Блажину. ©

Микроскопические методы

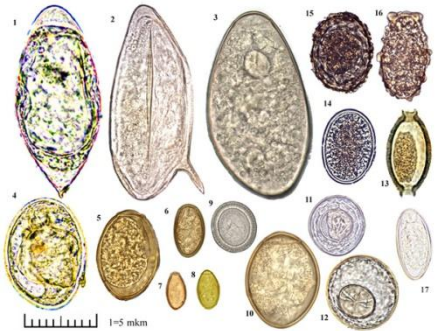
Овогельминтоскопия



1. Нативный мазок

Ход исследования: небольшой кусочек испражнений переносят палочкой на предметное стекло в каплю 50% водного раствора глицерина и растирают до получения равномерного прозрачного мазка. На одном стекле готовят два мазка.

Недостатки метода: при небольшом количестве яиц в испражнениях их не всегда удастся выявить, поэтому применение только этого метода **не** является полноценным и **достоверным**.



Отно сгелыныя велычыны, формы і структуры яіц гелмінтаў: 1 – Schistosoma haematobium, 2 – Schistosoma mansoni, 3 – Fasciola hepatica, 4 – Schistosoma japonicum, 5 – Pangonimus westermani, 6 – Diplostomum lanceolatum, 7 – Clonorchis sinensis, 8 – Opisthorchis felinus, 9 – Taeniarhynchus saginatus, 10 – Diphyllobothrium latum, 11 – Hymenolepis nana, 12 – Hymenolepis dimorpha, 13 – Trichocephalus volvulus, 14 – Ascaris lumbricoides (неоплодотворенае, без белай абалочкі), 15 – Ascaris lumbricoides (оплодотворенае яйца), 16 – Ascaris lumbricoides (неоплодотворенае яйца з белай абалочкай), 17 – Enterobius vermicularis. ©

Мікроскопічныя метады

Овогельмінтаскопія

2. Толстый мазок (метод Като)

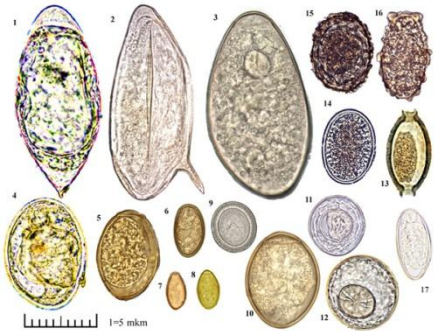
Принцип метода: яйца гельминтов обнаруживают в толстом мазке фекалий, просветленном глицерином и подкрашенном малахитовой зеленью.

Предварительно гидрофильный целлофан, нарезают пластинками 20x40 мм и погружают на сутки в раствор: 6 мл 3% водного раствора малахитовой зелени, 500 мл глицерина и 500 мл 6% водного раствора фенола. 3-5 мл указанной смеси достаточно для обработки 100 пластинок, которые затем хранят в этом же растворе в хорошо закрытом сосуде.

Ход исследования: 100 мг фекалий наносят на предметное стекло, покрывают пластинкой целлофана и придавливают резиновой пробкой.

Преимущества метода: позволяет исследовать значительный объем испражнений; выявить яйца аскариды, власоглава, лентеца, трематод, тениид.

Недостатки метода: не эффективен для выявления яиц анкилостомид и карликового цепня



Отноительно величина, форма и структура яиц гельминтов. 1 – *Schistosoma haematobium*, 2 – *Schistosoma mansoni*, 3 – *Fasciola hepatica*, 4 – *Schistosoma japonicum*, 5 – *Fangoniopsis westermanni*, 6 – *Dicrocoelium lanceolatum*, 7 – *Clonorchis sinensis*, 8 – *Opiasthorchis felinae*, 9 – *Taeniathyridias saginatus*, 10 – *Diphyllobothrium latum*, 11 – *Hymenolepis nana*, 12 – *Hymenolepis dimorpha*, 13 – *Trichocephalus trichurus*, 14 – *Ascaris lumbricoides* (неоплодотворенное бел. оболочкой), 15 – *Ascaris lumbricoides* (оплодотворенное яйцо), 16 – *Ascaris lumbricoides* (неоплодотворенное яйцо с белковой оболочкой), 17 – *Enterobius vermicularis*. ©

Микроскопические методы

Овогельминтоскопия

3. Методы Флотации (всплывания)

Метод Фюллеборна

Метод Калантарян

Принцип методов: основаны на разности удельного веса яиц и применяемого раствора.

При большем удельном весе раствора яйца всплывают на поверхность жидкости, и тогда исследуют пленку.

Наиболее эффективны для обнаружения яиц анкилостомид, власоглава и карликового цепня.

Микроскопические методы

Овогельминтоскопия

3. Методы Флотации (всплывания)

Метод Фюллеборна

Принцип метода: всплывание яиц гельминтов в насыщенном растворе NaCl (хлорида натрия) с высокой плотностью (1,18-1,22).

Ход исследования: 400 г NaCl растворяют в 1 л воды при кипячении. В банку объемом 30-50 мл помещают 2-3 г фекалий и при помешивании палочкой доливают почти доверху насыщенный раствор NaCl. Полоской бумаги быстро удаляют всплывшие крупные частицы.

Отстаивают 45-60 мин., проволочной петлей снимают поверхностную пленку и переносят ее на предметное стекло в каплю 50% водного раствора глицерина. Готовят несколько препаратов. Дополнительно просматривают 2-4 препарата из осадка, набирая его глазной пипеткой на 2 предметных стекла.

Хорошо **всплывают** яйца нематод (за исключением неоплодотворенных яиц аскарид), карликового цепня и лентеца.

Образуют **осадок** - яйца трематод и тениид, неоплодотворенные яйца аскарид.

Преимущества метода: дешевизна и доступность

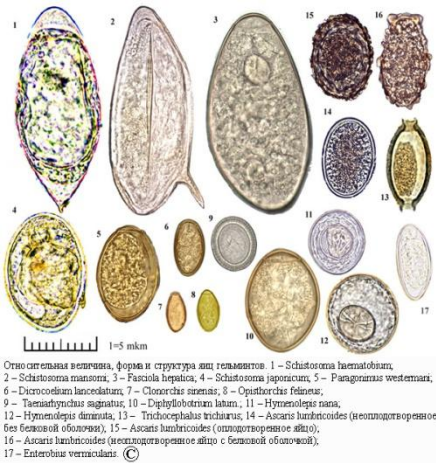
Недостатки - необходимость просмотра препаратов из поверхностной пленки и осадка, а также длительность отстаивания.

Микроскопические методы

Овогельминтоскопия

3. Методы Флотации (всплывания)

Метод Калантарян



Принцип метода: основаны на разности удельного веса яиц и насыщенного раствора азотнокислого натрия (1,4).

При большем удельном весе раствора яйца всплывают на поверхность жидкости, и тогда исследуют пленку.

Преимущества метода: быстро всплывают и обнаруживаются в поверхностной пленке яйца большинства гельминтов, что исключает необходимость исследования осадка.

Недостатки - высокая стоимость нитрата натрия ограничивает применение данного метода; **не выявляет** онкосферы тениид и яйца трематод (тонут).

PS.

НЕОБХОДИМО сочетать метод Като и метод Фюллеборна

Микроскопические методы

Овогельминтоскопия

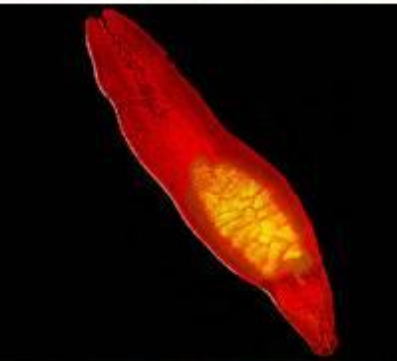
3. Метод осаждения (седиментации)

Уксусно-эфирный метод

Принцип метода: если удельный вес яиц больше удельного веса жидкости, то яйца концентрируются в осадке, который исследуют под микроскопом.

Этот метод применяют для обнаружения яиц **трематод** (диагностика описторхоза и других трематодозов).

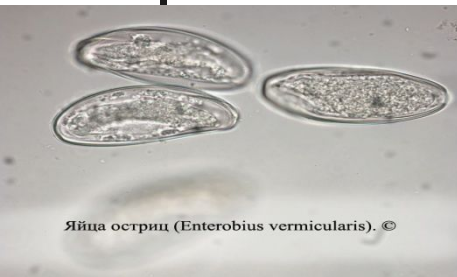
Ход исследования: в цилиндр для центрифугирования наливают 7 мл 5% раствора уксусной кислоты и формалина. Добавляют фекалии до 8 мл (1 гр.). Осторожно фильтруют через воронку с двумя слоями марли в цилиндр до 8 мл, добавляют 2 мл эфира. Центрифугируют при 1,5 тыс оборотах в течении 3 мин. Раствор разделяется на следующие фазы: эфир, каловая пробка, раствор уксусной кислоты и формалина, и осадок содержащий яйца трематод. Надосадочные фазы сливают. Осадок пипеткой переносят на предметное стекло, покрывают покровным стеклом и микроскопируют.





Специальные методы

Диагностика энтеробиоза



1. Метод липкой ленты

Ход исследования: кусочек липкой прозрачной полиэтиленовой ленты длиной 4-5 см липким слоем прикладывают через анус к перианальным складкам, сразу же снимают и приклеивают на предметное стекло. Полученные таким образом препараты микроскопируют.

Преимущества быстрота и возможности длительного хранения препаратов.

2. Соскоб с перианальных складок

Ход исследования: стеклянной палочкой берут соскоб с перианальных складок и переносят в каплю 50% раствора глицерина на предметное стекло, накрывают покровным и микроскопируют.

Специальные методы

Диагностика трихинеллеза

1. Метод биопсии мышц

Принцип метода: Исследуют мышцы больного и остатки мяса животных, послуживших причиной заражения человека. Для анализа чаще берут кусочек (несколько граммов) дельтовидной или икроножной мышцы в асептических условиях.

Ход исследования: Мышцу измельчают ножницами и помещают между двумя толстыми стеклами (компрессорий) слегка раздавливают и просматривают на малом увеличении микроскопа. Внутри мышечных волокон обнаруживаются спирально свернутые личинки трихинелл в округлых или лимонообразных капсулах.



Внешний вид трихинеллоскопа (вверху).
Внизу - компрессориум ©

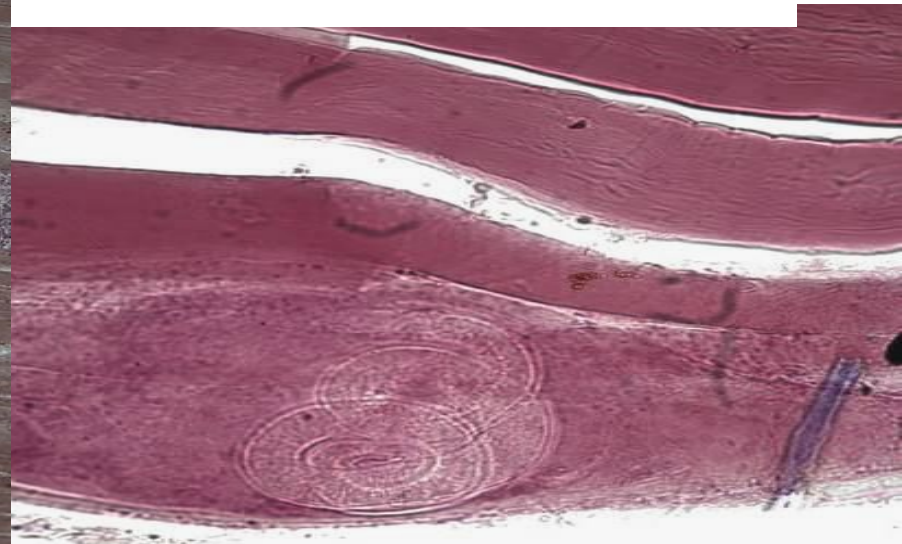
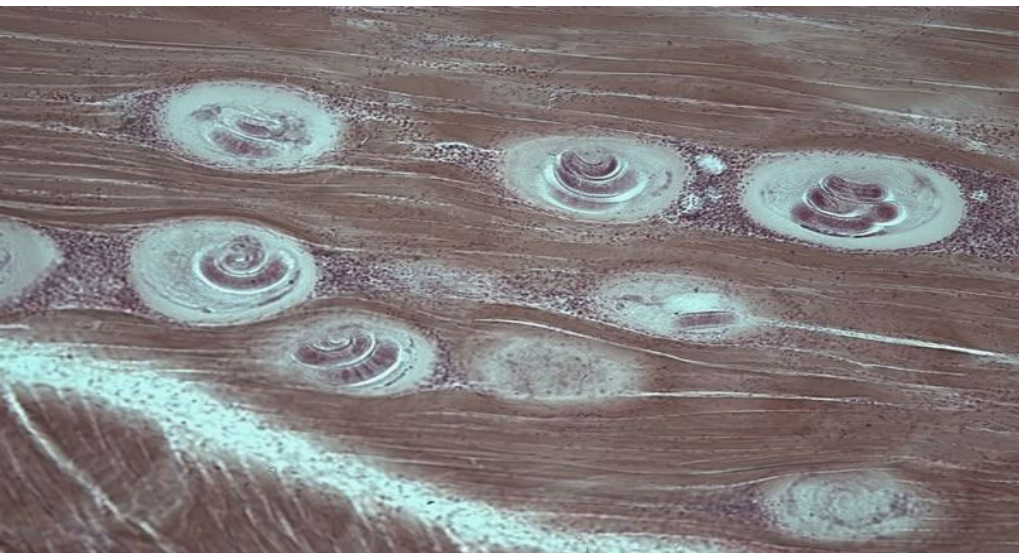
Специальные методы

Диагностика трихинеллеза

2. Метод переваривания мышц

Ход исследования: мелко нарезанные мышцы заливают искусственным желудочным соком (1% раствор пепсина в 0,7% растворе соляной кислоты) и помещают в термостат при 37°C на 12-16 часов. Объем желудочного сока должен превышать навеску мышц в 15-20 раз. После переваривания на предметное стекло пипеткой переносят осадок и микроскопируют. В осадке обнаруживаются свободные от капсул личинки трихинелл.

Преимущества метода: наиболее эффективен.



Срез мышечной ткани при массовой инвазии личинками трихинелл (*Trichinella spiralis*). Окраска по Ван-Гизон. ©

Специальные методы

Диагностика филяриатозов

Метод мазка крови и толстой капли



Кровь берут в асептических условиях из пальца преимущественно **ночью**. Для приготовления мазка каплю крови помещают на предметное стекло и краем второго стекла размазывают ее по стеклу.


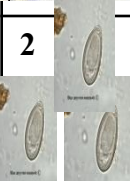

Мазок фиксируют метиловым спиртом и окрашивают по Романовскому-Гимза.

Для приготовления толстой капли берут несколько капель крови на предметное стекло и углом другого стекла круговыми движениями размазывают ее до получения пятна, диаметром около 1,5 см.

После высушивания эритроциты гемолизируют дистиллированной водой и окрашивают по Романовскому-Гимза.

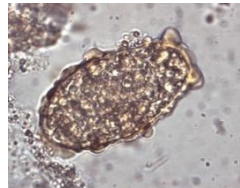
Микрофилярии выявляются в виде тонких извитых нитей, окрашенных в голубой цвет.

ОТЛИЧИТЕЛЬНЫЕ ПРИЗНАКИ ЯИЦ ГЕЛЬМИНТОВ

| № | Название гельминта (гельминтоз) | Отличительные признаки яиц |
|--|--|--|
|  <p>Яйцо двуустки печеночной (<i>Fasciola hepatica</i>). Хорошо видна приоткрытая крышечка.</p> | <p>Печеночный сосальщик – <i>Fasciola hepatica</i> (фасциолез)</p> | <p>Трематоды Размеры около 153x80 мкм. Форма яйцевидная, правильная. Оболочка желтовато-коричневая, гладкая. На верхнем полюсе имеется крышечка. Это самое крупное яйцо гельминтов человека.</p> |
| <p>2</p>  | <p>Кошачий сосальщик – <i>Opisthorchis felinus</i> (описторхоз)</p> | <p>Размеры 26-30x10-15 мкм. Яйцо овальной формы, несколько расширенное у нижнего полюса. На верхнем полюсе имеется крышечка. Оболочка желтого цвета.</p> |
|  <p>Незрелые и зрелые яйца ланцетовидной двуустки (<i>Dicrocoelium lanceatum</i>). ©</p> | <p>Ланцетовидный сосальщик</p> | <p>Размеры 80-118x48-60 мкм. Форма овальная. На верхнем полюсе хорошо выражена крышечка. Оболочка золотисто-коричневая, толстая, гладкая.</p> |
| | <p>Шистосома уrogenитальная</p> | <p>Размеры 120-190x50-73 мкм. Форма веретенообразная, без крышечки. Острый шип на одном полюсе расположен вдоль продольной оси яйца. Оболочка тонкая, прозрачная.</p> |
| <p>5</p> | <p>Шистосома Менсони</p> | <p>Размеры 112-169x60-70 мкм. Форма овально-вытянутая. Острый крупный шип расположен на боковой поверхности яйца, слегка загнут. Оболочка толстая, желтая.</p> |
| <p>6</p> | <p>Шистосома японская</p> | <p>Размеры 75-90x53-74 мкм. Форма овальная. На боковой поверхности ближе к одному из полюсов расположен небольшой тупой шип. Оболочка бледно-желтая.</p> |

| | | |
|---|--|---|
|  | <p>Тенииды (свиной и бычий цепни)</p> | <p>Цестоды Размеры 30-40x20-30 мкм. Форма округлая, реже слегка овальная. Оболочка толстая, двухконтурная, поперечно-исчерченная, прозрачная. Внутри расположена онкосфера.</p> |
|  | <p>Карликовый цепень</p> | <p>Размеры 40x50 мкм. Форма округлая или овальная. Оболочка двойная, прозрачная. Между оболочками имеются извивающиеся нити. Внутри различима лимонообразная онкосфера.</p> |
|  | <p>Лентец широкий</p> | <p>Размеры 68-71x40-45 мкм. Форма широкоовальная. Оболочка серого или желтоватого цвета, гладкая. На одном полюсе имеется крышечка, на другом - бугорок.</p> |
|  | <p>Аскарида</p> | <p>Нематоды а) Оплодотворенные яйца. Размеры 50-70x40-50 мкм. Форма овальная, реже округлая. Оболочка толстая, многослойная, бугристая, темно-желтая. Внутри находится зародышевая клетка округлой формы. Между ней и полюсами имеется свободное пространство. б) Неоплодотворенные яйца. Размеры 50-80x40-50 мкм. Форма близкая к овальной. Оболочка толстая, многослойная, мелкобугристая с отдельными выступающими более крупными буграми темно-желтая. От полюса до полюса яйцо заполнено желточными клетками.</p> |
|  | <p>Власоглав</p> | <p>Размеры 50-55x23-32 мкм. Форма лимонообразная (боченкообразная). Оболочка толстая, гладкая, желто-коричневая. На полюсах имеются пробкообразные структуры.</p> |
|  | <p>Острица</p> | <p>Размеры 50-60x26-30 мкм. Форма овально-вытянутая, асимметричная (одна сторона выпуклая другая более плоская). Оболочка тонкая, гладкая, прозрачная, бесцветная.</p> |
|  | <p>Анкилостомиды</p> | <p>Размеры 54-70x36-40 мкм. Форма овальная с притуплёнными полюсами. Оболочка тонкая, прозрачная, бесцветная.</p> |

Яйца лентеца широкого (Diphyllobothrium latum). ©



Неоплодотворенное яйцо аскариды (Ascaris lumbricoidea) с бугристой оболочкой. ©

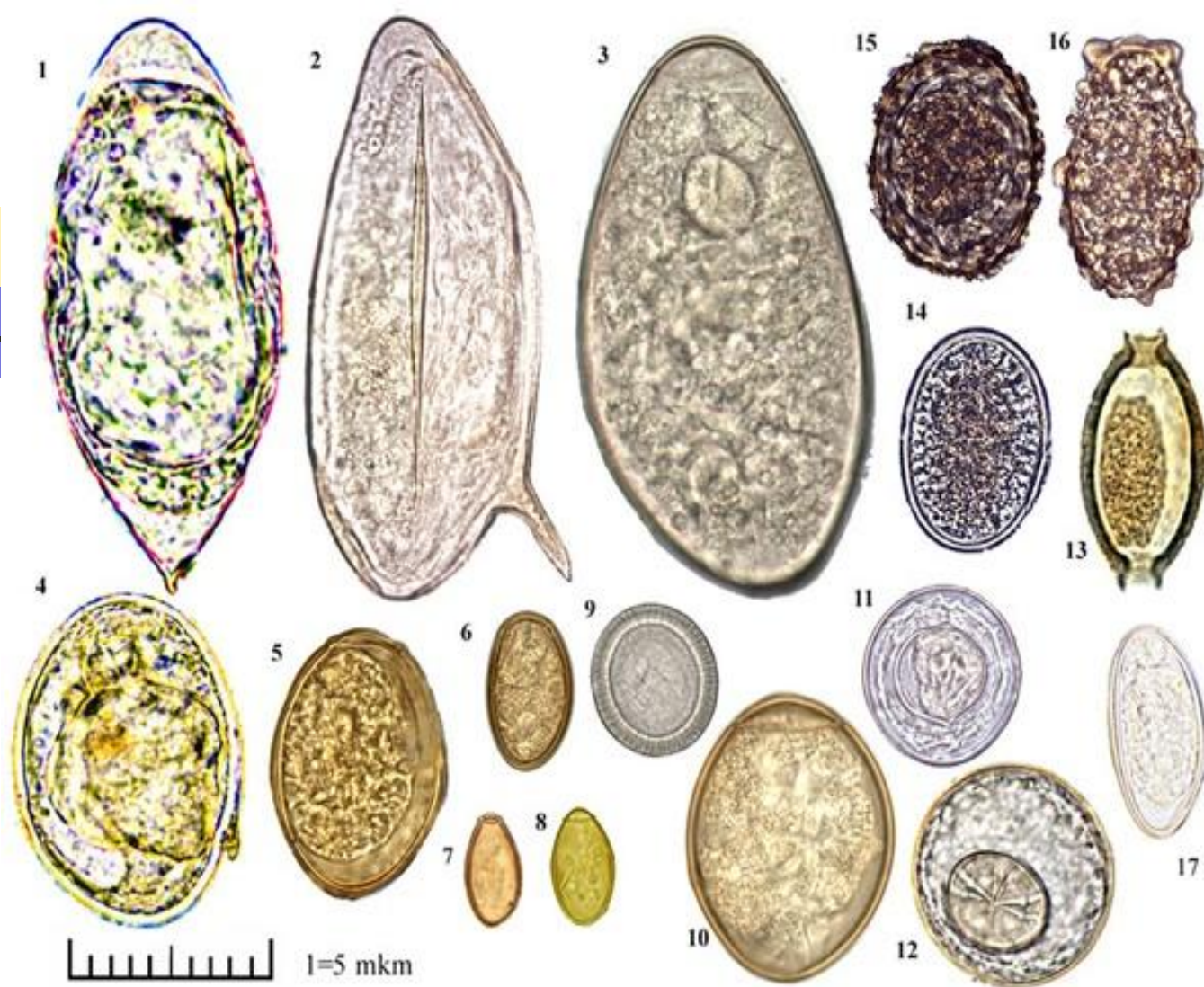


Неоплодотворенное яйцо аскариды (Ascaris lumbricoidea). ©

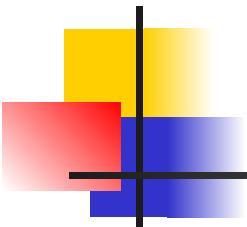


Яйцо власоглава (Trichostrongylus axei). ©

Яйца остриц (Enterobius vermicularis). ©



Относительная величина, форма и структура яиц гельминтов. 1 – *Schistosoma haematobium*,
 2 – *Schistosoma mansoni*, 3 – *Fasciola hepatica*; 4 – *Schistosoma japonicum*, 5 – *Paragonimus westermani*;
 6 – *Dicrocoelium lanceolatum*; 7 – *Clonorchis sinensis*; 8 – *Opisthorchis felineus*;
 9 – *Taeniathyynchus saginatus*; 10 – *Diphyllobotrium latum*; 11 – *Hymenolepis nana*;
 12 – *Hymenolepis diminuta*; 13 – *Trichocephalus trichiurus*; 14 – *Ascaris lumbricoides* (неоплодотворенное,
 без белковой оболочки); 15 – *Ascaris lumbricoides* (оплодотворенное яйцо);
 16 – *Ascaris lumbricoides* (неоплодотворенное яйцо с белковой оболочкой);
 17 – *Enterobius vermicularis*. ©



БЛАГОДАРЮ

ЗА

ВНИМАНИЕ 😊

