ЗА ЛАБОРАТОРНАТА ДИАГНОСТИКА НА ПАРАЗИТНИТЕ БОЛЕСТИ

Катерина Господинова[1], Мелиха Расимова[1], Мерием Юсеин[1],Галя Попова[2]
Медицински университет – Пловдив

1. Медицински колеж, Специалност "Медицински лаборант"
2. Медицински факултет, Катедра по Инфекциозни болести, паразитология и тропическа медицина

Резюме: Паразитните болести все още са разпространени и нерядко се диагностицират в ежедневната практика на лечебно-диагностичните заведения у нас - както местни паразитози, така и внасяна от топлите страни малария. Специфичните рутинни лабораторно-паразитологична методи, които описваме са решаващи за точната диагноза и правилно лечение. Те са лесни за изпълнение с минимално осигуряване, в т.ч. микроскоп, центрофуга, лабораторна стъклария, физиологичен и луголов разтвор, боя на Романовски-Гимза и др. С тези общодостъпни методи се разкрива в паразитологичните лаборатории на РЗИ и др. ежегодно паразитния статус на населението в страната и се определят съответни профилактични мероприятия.
Ключови думи: паразитни болести, лабораторна диагностика, рутинни методи

ABOUT THE LABORATORY DIAGNOSIS OF THE PARASITE DISEASES

Katerina Gospodinova[1], Meliha Rasimova[1], Meriem Iusein[1], Galya Popova[2]
Medical University – Plovdiv

1. Medical College, Speciality of Medical Laboratory Assistant
2. Faculty of medicine, Department of Infectious Diseases, Parasitology and Tropical Medicine

Summary: Parasitic diseases are still prevalent and are often diagnosed in the daily practice of the medical and diagnostic institutions in Bulgaria - both domestic parasites and inported malaria. The specific routine laboratory-parasitological methods we describe are crucial for accurate diagnosis and proper treatment. They are easy to implement with minimal security, incl. Microscope, centrifuge, laboratory glassware, physiological and Lugol-solution, Romanovski-Gimza paint and others. With these generally available methods, it is revealed in the parasitic laboratories of RHI and others. Annually the parasitic status of the population in the country and relevant prophylactic measures are defined.
Key words: parasitic diseases, laboratory diagnostic, routine methods

Въведение. Паразитните болести са отговорни за значителна заболяемост у нас и навсякъде по света, а някои от тях са и с възможен летален изход, напр. тропическата малария. Нерядко те се съпровождат с неспецифични оплаквания и симптоми, а при безсимптомните паразитоносители липсват и такива. Повечето от паразитните болести не може да бъдат диагностицирани само с физикален преглед. Лабораторната диагностика установява дали пациентът е заразен и с какъв вид паразит. Така паразитологичното изследване играе решаваща роля за определяне диагнозата на паразитно болните хора и е ключ към избор на подходящо лечение, както и при контрола на ефективността му.

Лабораторните методи е необходимо да са лесни за изпълнение, точни и сигурни, за да послужат пълноценно на лекарите в помощ на диагностиката. Лаборантите трябва да са мотивирани от обстоятелството, че само грижливото изпълнение на лабораторните методи и техники осигурява откриването и ясното представяне на паразитите и техните елементи при макроскопско и микроскопското наблюдение. [1]

Основна цел на нашата работа е да представим лабораторната диагностика на паразитозите в синтетичен вид с основните рутинни методи за най-често срещаните протозои и хелминти, причинители на паразитни болести у нас - микроскопска диагностика при изследване на екскременти - фецес, урина и кръв.

Задачи: Описание и техника на методите, изисквания за изследваните проби. Необходим инвентар и реагенти: светлинен микроскоп, лабораторна центрофуга, предметни и покривни стъкла, конични стъклени чаши, стъклени кристализатори (обем 50 мл), малки петрита, центрофужни епруветки, апарат на Берман, стъклени пръчки; разтвори - физиологичен разтвор, луголов разтвор, концентриран разтвор на готварска сол (по Фюлеборн) ; боя на Романовски-Гимза - работен разтвор.

Материали за рутинна диагностика:

Екскременти: фецес и урина, депозирани в стандартни съдове (количество респ. по 20 г и 50 мл)

Периф. кръв**:** приготвят се препарати "кръвна натривка" и "дебела капка" (добре изсушени на стайна температура)

Описание на методите.

<u>I. Изследвания на фецес</u>

1. ***За протозои*****:**

а) <u>нативен препарат</u> за вегетативни форми

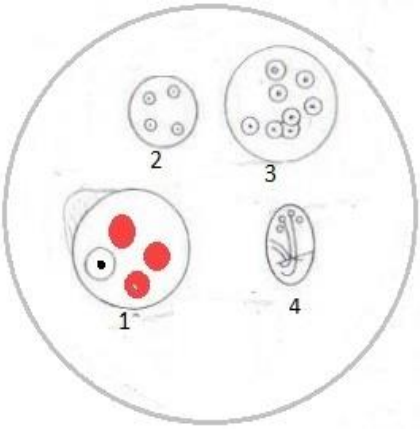
<u>Принципи и техника</u>: Късче от фецеса (ев. със слуз и кръв) се размива в капка физиологичен разтвор върху предметно стъкло, поставя се покривно стъкло и микроскопира на увеличение 10x40.

<u>Очаквани резултати</u>: Патогенната амеба *(Entamoeba histolytica)* извършва постъпателни движения с псевдоподи от ектоплазмата (лъжливи крачета), променяйки формата си и съдържат фагоцитирани еритроцити. Камшичестите (*Giardia intestinalis)* извършват хаотични постъпателни движения.

б) <u>препарат с Луголов разтвор</u> за протозойни цисти

<u>Принципи и техника</u>: Късче от фецеса се размива в капка физиологичен разтвор върху предметно стъкло, поставя се покривно стъкло и микроскопира на увеличение 10x40.

<u>Очаквани резултати</u>: Кръгли (*Entamoeba histolytica и E. coli*) и елипсовидни (*Giardia intestinalis*), ясно контурирани, с гранулирано съдължание и фибри, оцветени са жълтеникаво, с различен брой кафеникави или мехуресто ядра при различните видове.



1. Entoameba histolytica - вегетативна форма
2. Entamoeba histolytica (циста с 4 ядра)
3. Entamoeba coli (циста с 8 ядра)
4. Giardia lamblia - циста

2. З*а хелминтни яйца*

Микроскопирането на хелминтни яйца става при спуснат кондензор на микроскопа, отначало на малко увеличение (x100). Ако се открие хелминтно яйце и е затруднени за определяното му може да се премине на средно увеличение (x400). Отчита се форма, големина, устройство и цвят на яйцето. Яйцата трябва да се диференцират от артефакти: растителни клетки, масни капки, мехурчета, полени и др.

1.2.1. Метод на седиментация

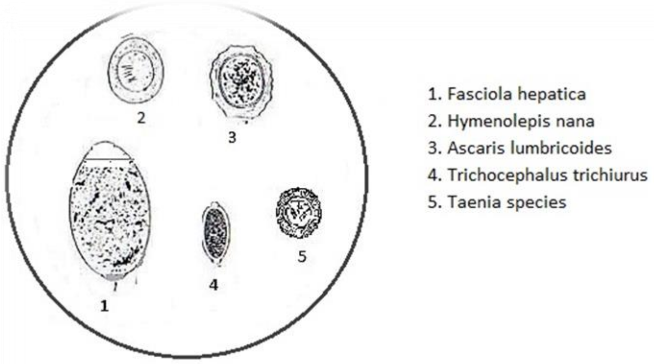
<u>Принципи и техника</u>: хелминтните яйца във водна среда потъват на дъното на съда. Фекалната проба се резмива с чешмяна вода до гъста течност и се прецежда през телена цедка в стъклена островърха конична чаша. Долива се вода до горе и чашата се концентриран, концентриран, концентриран, концентриран, концентриран,оставя в покой за 1/2 час. Следва внимателно отливане на съдържанието, но седиментът да остане в чашата. Доливат се още няколко мл вода , разклаща се и се прелива в малка петриева паничка. Наблюдава се на малко увеличение. Така може да се изолират и наблюдават всички видове хелминтни яйца от фекалийте.

<u>Очаквани резултати</u>: хелминтни яйца от *Ascaris lumbricoides, Trichocephalus trichiurus, Hymenolepis nana, Taenia species, Fasciola hepatica***.**

1.2.2. Метод на флотация

<u>Принцип</u>: хелминтните яйца изплуват на повърхността на разтвор с високо относително тегло, от където се изолират и наблюдават микроскопски. Използува се разтвор на Фюлеборн - от готварска сол във вода, концентриран. Пробата се размива в разтвора и се прецежда през телена цедка и фунийка в със с вместимост до 50 мл. Даолива се отново разтвор по ръба на съда и се оставя в покой за 15 мин. Хелминтните яйца през това време изплуват на повърхността. Вземане на проба за изследване става от повърхността с йозе - капката се нанася на предметно стъкло и се слага покривно стъкло. Микроскопирането се прави веднага (кристализира готварската сол), но най-големите яйца не могат да изплуват.

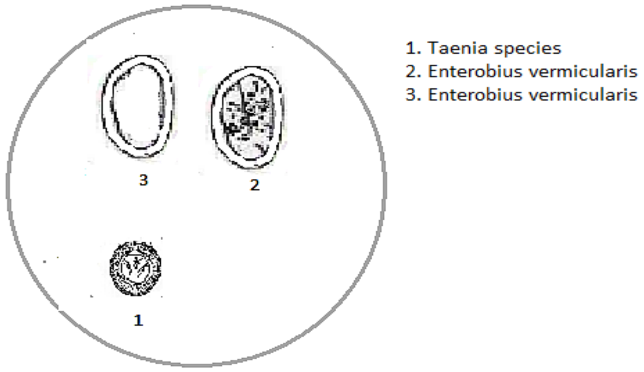
<u>Очаквани резултати</u>: хелминтни яйца от *Ascaris lumbricoides, Trichocephalus trichiurus, Hymenolepis nana, Taenia species.*



1.2.3. Изследване на перианален секрет

<u>Принцип</u>*:* използува се прозрачна, лепеща се лента (скоч-лента) за вземане на секрет. Това се прави сутрин - пациентът не трябва да е дефекирал, да не се е подмивал и да не сменяно нощното бельо. Ивица от лентата се допира с лепещата страна плътно до ануса и перианалните гънки. След това се отделя и залепя върху предметно стъкло. Препаратът може да се микроскопира веднага или след време. Препъратът се запазва дълго време.

<u>Очаквани резултати</u>: яйца от *Enterobius vermicularis* или *Taenia sp.*



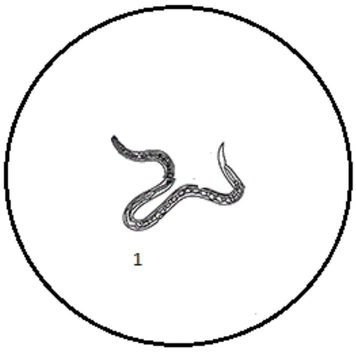
1.3. Изследване за хелминтни ларви

1.3.1. Метод на Берман

<u>Принцип</u>*:* под действие на топлина ларвите се предвижват и изолират. Използува се просто устройство, състоящо се от от статив със закрепена на него фунийка с отвор 10 св. На гърлото й е прикрепена гумена тръбичка, притисната с щипка на Моор. Пробата фецес с големина на орех се загръща в торбичка от двуслойна

марля и поставя във фунийката. Залива се с топла вода (45 оС). След 4 часа щипката се отваря и и се оставя да изтечат 3-4 мл вода в малка ппетриева паничка. Пробата се микроскопира на слабо увеличение и се търсят на дъното подвижни, със змиевидни движения хелминтни ларви. [3]

Очаквани резултати: ларви (и зрели форми) от *Strongyloides stercoralis. [2]*



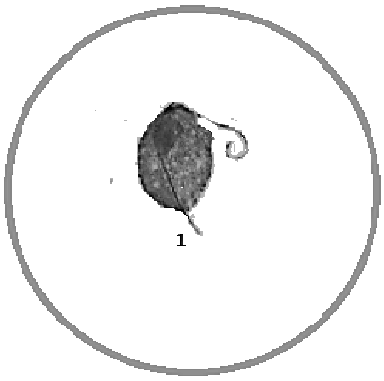
1. Strongyloides stercoralis
(зрял паразит)

2. Изследване на урина за трихомони

Принцип*:* Прясна урина по 10 мл в цетрофужна епруветка се центрофугира на 1000 об/10 мин и с пипета се изтегля седимента. Прехвърля се на предметно стъкло, поставя се покривно стъкло и се микроскопира веднага на малко и на средно увеличение (х200-400).

Очаквани резултати: всред епителни клетки, кристали, понякога кръвни клекти и други съставки на седимента, *Trichomonas vaginalis* разпознава по неговите хаотични движения. [5]

1. Trihomonas vaginalis

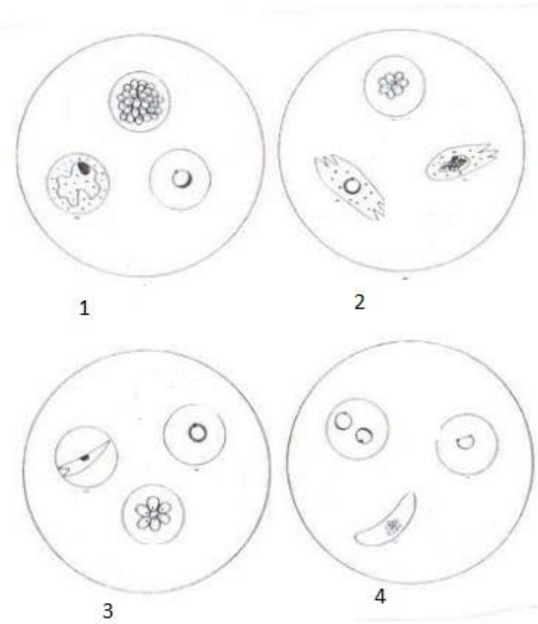


3. Изследване на кръв за малария

Принцип: за паразитологично изследване се взема периферна кръв по всяко време при съмнение за заболяването. Изследват се "дебела кръвна капка" и "кръвна натривка", оцветени по Романовски-Гимза.

Капките се оформят до 1 см в диаметър - по 3 броя на предметно стъкло, а натривките се приготвят както за ДКК. Изсъхват на стайна температура. Натривката се фиксира с алкохол за 3-5 мин и се суши отново, а капките не се фиксират. Следва оцветяване с работен р-р на боята (Романовски-Гимза) за 30-40 мин. Отново се сушат. Следва микроскопиране с имерсия при увеличение х 630 или х700. Първо се изследва дебела капка (за наличие на паразити) и при положителна паходка следва кръвна натривка (за определяне вида на паразита). Диференцират се по основнини морфологични признаци.

<u>Очаквани резултати:</u> от *Plasmodium spp. (vivax, ovale, malariae, falciparum)* може да се наблюдават ***<u>трофозоити</u>*** (пръстеновидни форми), ***<u>шизонти</u>*** (дележни форми), полови форми (***<u>гаметоцити</u>***) и промени в инвазираните еритроцити (различни гранулации). [6]



1. Plasmodium vivax
2. Plasmodium ovale
3. Plasmodium malariae
4. Plasmodium falciparum
(Различни морфологични форми)

Заключение:

Паразитологичните лаборатории към ДКЦ и РЗИ, с помощта предимно на описаните методи дават ежегодна информация за динамиката на съответните паразитози в страната. Напр. по публикувани данни, през 2011 г. са изследвани така към 1,4 милиона проби и са диагностицирани опаразитени 8363 лица. От тях положителни за контактни паразитози са установени с "дребни глисти" (*E. vermicularis*) 1833 деца (1,07%; при общо от изследваните - 0,7%); опаразитени с гиардиоза (*G. intestinalis*) в ДЗ са установени 653 деца (при общо опаразитени 0,4% - 1,959 лица); с хименолепидаза *(H. nana)* са диагностицирани само 140 лица (0,03% от изследваните). С геохелминтози - аскаридоза (*A. lumbricoides*) - диагностицирани 0,1% (към 500 лица), а с трихоцефалоза *(Tr. trichiurus)* 0,02% (към 100 лица). С тениаринхоза *(T. saginata)* са потвърдени само 28 лица (0,33%ооо). "Внесена" малария *(P. vivax, P. falciparum)* е диагностицирана при 8 лица, а чревна амебиаза *(E. histolytica)* не е открита.

С описаните общодостъпни методи се разкрива в паразитологичните лаборатории на РЗИ и ДКЦ текущо паразитния статус на населението в страната и в резултат на ежегодните анализи на динамиката на паразитозите, провеждани в Отдела по паразитология и тропическа медицина към НЦЗПБ-София се определят съответни профилактични мероприятия за контрола и ограничаването им с крайна цел - ирадикация. [4]

Литература:

1. Диагностика, лечение и профилактика на паразитните болести. Ред. Г. Генов. МФ – София. 1972, 248.
2. Лабораторна диагностика на паразитозите при хората. Ред. Р. Курдова. АРСО- – София. 2009, 254.
3. Лабораторниый практикум медицинской паразитологии. Ред. Е. Павловский. Медгиз-Москва. 1969, 486.
4. Райнова, И., Д. Йорданова, Р. Харизанов, И. Маринова, И. Биков, И. Кафтанджиев, Н. Цветкова. Състояние, надзор и кантрол на паразитните боласети в България през 2011 г. - Наука инфектология/паразитология, 2013, 1, 35-40.
5. Jemmali, M. Copro-parasitologie pratique. Editions estem - Paris. 1993, 354.
6. Ockert, G. Klinische Parasitologie. G. Fischer - Jena. 1987, 247.