

**ОВЧИННИКОВА,
ЛИАНА ГРИГОРЬЕВНА**



**Новые технологии в
лабораторной
диагностике
паразитарных
заболеваний кишечника**

Диагностика паразитарных заболеваний необходима:

- с целью выявления источников заражения
- для определения уровня зараженности населения
- для оценки качества проведения комплекса противопаразитарных мероприятий
- для контроля эффективности лечения паразитарных заболеваний

Главный государственный санитарный врач РФ
ПОСТАНОВЛЕНИЕ
25.12.2007
№ 94



«Об усилении мероприятий по предупреждению паразитарных заболеваний и элиминации малярии в Российской Федерации»

2.2

2.3 Внедрить в клиничко-диагностических лабораториях современные методы лабораторной диагностики гельминтозов эфир-уксусным, химико-седиментационным или эфир-формалиновым осаждением, а также метод исследования на энтеробиоз по Рабиновичу.

2.4. Потребовать от руководителей лечебно-профилактических учреждений обеспечить режим работы клиничко-диагностических лабораторий, соответствующий требованиям работы с микроорганизмами 3-4 группы патогенности и гельминтами.

Методики повышения выявляемости при микроскопии

Осветление препаратов

- Метод Като и Миура

Концентрирование

- Седиментация
- Флотация

Метод	Като и Миура	Флотация	Седиментация (эфир-формалиновый метод)
Диагностируемые объекты	Только яйца кишечных и печеночных гельминтов	Эффективен для обнаружения только яиц гельминтов кишечника (нематод, цистод)	Яйца, личинки гельминтов кишечника и печени, цисты, ооцисты простейших
Определяемая степень инвазии	высокая, средняя	высокая, средняя	высокая, средняя, низкая
Преимущества	Готовые стекла с препаратами могут сохраняться долгое время, прост в исполнении, низкая себестоимость.	Отсутствие ядовитых и едких компонентов для проведения анализа	Высокая чувствительность, универсален - позволяет определять практически всех паразитов кишечника (круглые и плоские черви, простейшие), дает возможность работать с консервированным материалом, позволяет проводить количественную оценку.
Недостатки	Низкая чувствительность, требует предварительной подготовки материалов (гигроскопичный целлофан пропитывается раствором Като), избирательность	Избирателен (трематоды), требует длительного процесса подготовки, трудоемок, высокие требования к флотирующим растворам и предметным стеклам	практически не выявляет взрослые формы простейших, трудоемок
Время проведения пробоподготовки на одного пациента	Более 1 часа	Более 1 часа	до 10 минут
Используемые едкие или ядовитые вещества и растворы	Фенол	Нет	формалин, эфир (ледяная уксусная кислота)

СЕДИМЕНТАЦИЯ КЛАССИЧЕСКАЯ

(формалин-эфирный, уксусно-эфирный метод)

Необходимые реактивы и оборудование	Ход исследования
<ol style="list-style-type: none"> 1. Раствор формалина 10%-ный (10 мл формалина аптечного + 90 мл дистиллированной воды). 2. Этиловый эфир медицинский. 3. Раствор Люголя 1%-ный. 4. Центрифужные градуированные пробирки 2 шт. на один образец!!! 5. Воронки стеклянные. 6. Металлическое ситечко чайное или бинт (марля). 7. Предметные и покровные стекла. 8. Деревянные и стеклянные палочки. 9. Пипетки. 10. Резиновые пробки. 11. Микроскоп. 12. Центрифуга на 3000 об./мин. 	<p>-В пробирки налить 7 мл 10%-ного раствора формалина</p> <p>-Добавить 1 г фекалий и тщательно перемешать при помощи палочки до образования однородной смеси</p> <p>-Процедить через воронку с металлическим ситечком или двухслойным бинтом в другую пробирку</p> <p>-Добавить 2 мл эфира</p> <p>-закрыть пробкой и энергично встряхивать в течение 30 с</p> <p>-Центрифугировать при 3000 об./мин. в течение 1 мин. (или в течение 2 мин. при 1500 об./мин.)</p> <p>- "Каловую пробку" палочкой отделить от стенок пробирки и вместе с надосадочной жидкостью вылить, перевернув пробирку вверх дном.</p> <p>-Осадок, со дна пробирки, нанести на предметное стекло пипеткой или непосредственно из пробирки</p>

Система «Paraser» модернизированный формалин-эфирный метод

- Пробирки (концентраторы) «Paraser» для забора и подготовки образцов кала
- Обновленные пробирки (концентраторы) «Paraser SF» для забора и подготовки образцов кала
- Станция для бесконтактной микроскопии образцов FE-5

Концентраторы PARASEP

Одноразовые
пластиковые пробирки
для взятия,
фильтрации и
концентрации проб
кала



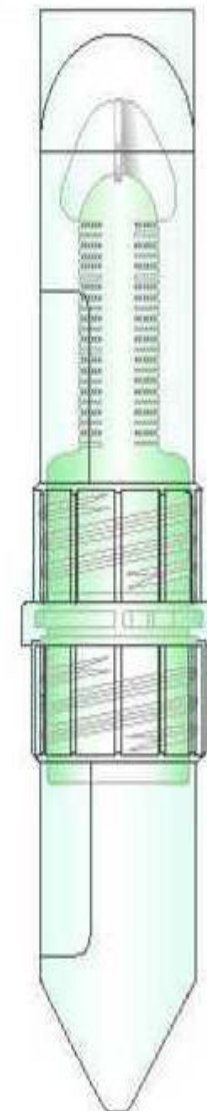
СЕДИМЕНТАЦИЯ “PARASEP”

(формалин-эфирный, уксусно-эфирный метод)

Необходимые реактивы и оборудование	Ход исследования
<ol style="list-style-type: none"> 1. Раствор формалина 10%-ный (10 мл формалина аптечного + 90 мл дистиллированной воды). 2. Этиловый эфир медицинский. 3. Раствор Люголя 1%-ный. 4. Центрифужные градуированные пробирки 2 шт. на один образец!!! 5. Воронки стеклянные. 6. Металлическое ситечко чайное или бинт (марля). 7. Предметные и покровные стекла. 8. Деревянные и стеклянные палочки. 9. Пипетки. 10. Резиновые пробки. 11. Микроскоп. 12. Центрифуга на 3000 об./мин. 	<p>-В пробирку с раствором формалина добавить 0,9 мл этил-ацетета</p> <p>-Добавить 0,5 г фекалий с помощью шпателя на конце фильтра собрать пробирку и тщательно перемешать встряхиванием</p> <p>-Центрифугировать при 1200 об./мин. в течение 3 минут</p> <p>- "Каловую пробку" наконечником пипетки отделить от стенок пробирки и вместе с надосадочной жидкостью вылить, перевернув пробирку вверх дном.</p> <p>-Осадок, со дна пробирки, нанести на предметное стекло пипеткой или непосредственно из пробирки</p>

Фильтрация

- Фильтр расположен вертикально, т.о. фильтрация происходит латерально через фильтр 425 мкм, что приводит к тому, что грубые частицы непереваренной пищи и клетчатка оседают в смесительной камере, а жидкая часть с выделившимися в неё паразитами, яйцами паразитов под давлением фильтруются и центрифугируются в конической пробирке



Преимущества применения пробирок (концентраторов) «Parasep»

- Увеличивает выявляемость возбудителей
- Одноразовая система, исключает подготовку и повторную обработку посуды
- Уменьшается опасность контаминации, т.к. минимизирован контакт персонала с исследуемыми образцами
- Оптимизирует работу лаборанта – сокращает время проведения анализа



Оценка эффективности концентраторов «Parasер»

*Паразитологическая лаборатория
ФГУЗ «Центр гигиены и
эпидемиологии Липецкой области»*

*Заведующая лабораторией
М.Л. Хропова*

Применяемые методики обследования

- Нативный мазок
- Нативный мазок по Като
- Традиционная эфир-формалиновая седиментация
- Эфир-формалиновая седиментация с использованием пробирок «Parasep»



Результаты обследования

ПАРАЗИТЫ	СЛУЧАИ ВЫЯВЛЕНИЯ
<u>яйца аскарид</u>	1
<u>яйца описторхиса</u>	1
<u>яйца ланцетовидной двуустки</u>	1
<u>цисты лямблий</u>	2
<u>цисты непатогенных кишечных амёб</u>	47



Результаты обследования

При применении данных методик выявлялись возбудители паразитарных заболеваний, но количество возбудителей при микроскопии препаратов резко отличалось. Если при просмотре по Методу Като, или с 1% раствором Люголя на простейшие их обнаруживались единичные экземпляры в поле зрения, а иногда в нескольких полях зрения, то при использовании Э/Ф и Paraser в поле зрения выявлялись от 5 до 15 экземпляров возбудителей.



Примеры

У больного лямблиозом, выявленного в 2007г, при просмотре препаратов количество цист лямблий при использовании нативного мазка с 1% раствором Люголя обнаруживались 1-2 цисты в поле зрения, а при применении Э/Ф и Parasер в поле зрения обнаруживалось от 5-10 цист



Примеры

При выявлении цист непатогенных амёб, результаты исследований также отличались по количественным показателям обнаружения возбудителя, при применении нативного мазка с 1% раствором Люголя обнаруживались 2-3 цисты в поле зрения, а при применении Э/Ф и Paraser в поле зрения обнаруживалось от 8-15 цист непатогенных амёб.



Примеры

При низкой инвазии у больного описторхозом, выявленного в 2008г., при просмотре по методу Като яйца описторхиса не выявлялись, при применении методов Э/Ф и Paraser обнаруживались 1-2 яиц гельминта в 10 полях зрения



Преимущества PARASEP перед традиционной седиментацией

Оценка специалиста

- используются реагенты, не требующие специфических правил хранения, и легко приобретаемые
- уменьшение времени анализа (более удобное исследование пробы)
- снижение риска заражения (нет контакта с пробой)
- уменьшается количество отходов, образующихся в результате проведения анализа

Преимущества PARASEP перед традиционной седиментацией

Оценка специалиста

- возможность хранения в системе Parasep материала до 24ч в случае невозможности проведения исследования сразу
- улучшается стандартизация метода анализа
- повышается выявляемость паразитов
- повышается достоверность анализа

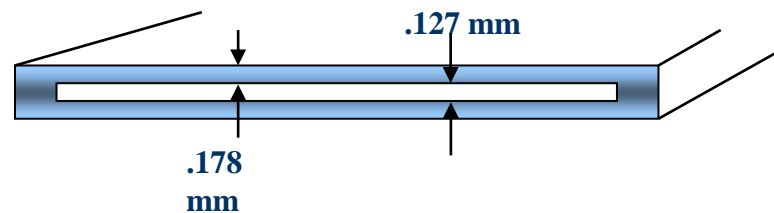
FE-5 Рабочая станция для микроскопии (модернизированный формалин-эфирный метод)

- Снижает биологическую опасность
- Повышает:
 - Выявляемость
 - Стандартизацию
- Снижает время анализа
- Исключает из процесса
 - Предметные стёкла
 - Покровные стёкла
 - Пипетки
- Улучшает визуализацию



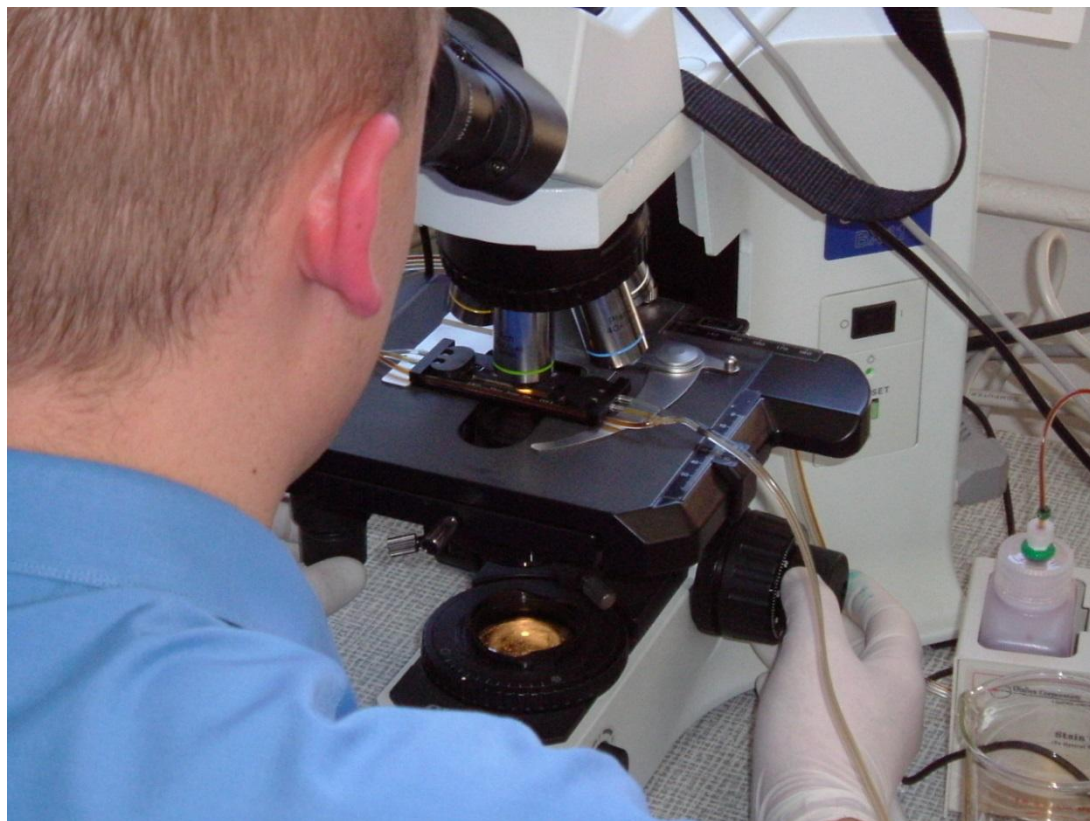
FE-5 Рабочая станция для микроскопии (модернизированный формалин-эфирный метод)

- Содержит два канала:
 - Нативная проба
 - Окрашенная проба
- Позволяет добавлять пробу в ходе анализа
- Каналы не деформируют объекты исследования
- Более точно выявляет морфологические детали



FE-5 Рабочая станция для микроскопии (модернизированный формалин-эфирный метод)

- Установка проточной камеры на предметном столике микроскопа



Преимущества системы FE-5

- **Закрытая система сводит к минимуму контакт оператора с потенциально инфицированными образцами**
- **Исключает из процедуры следующие бьющиеся и режущие предметы:**
 - **Пробирки для образцов**
 - **Предметные и покровные стекла**

Обновленные пробирки (концентраторы) «Parasep SF»



Parasep SF

Концентраторы Parasep SF содержат 3,3 мл формалина с одной каплей ПАВ (Triton X-100), 40 штук в упаковке.

Четыре простых шага в концентрации с использованием Parasep SF:

1. Поместить образец кала при помощи шпателя. Добавлять этилацетат не требуется.
2. Закрыть пробирку фильтрующей насадкой и перемешать содержимое с использованием вортекса.
3. Перевернуть и центрифугировать 2 минуты при 200g.
4. Удалить супернатант и исследовать концентрированный образец.

Обновленная паразитологическая станция ParaSys

ParaSys



Паразитологическая станция ParaSys – следующий шаг в развитии технологий автоматизации микроскопии концентрированных образцов кишечных паразитов.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

