

ПАРАЗИТОЛОГИЯ

Практика № 2. Кровепаразиты. Простейшие, паразитирующие в тканях.

Малярия.

Диагностика малярии основана на обнаружении кровяных форм паразитов (трофозоиты, шизонты и гаметоциты) при микроскопическом исследовании крови. Для обнаружения эритроцитарных форм плазмодиев и определения их вида используют препараты крови, приготовленные методом тонкого мазка и толстой капли, окрашенные по методу Романовского–Гимзы. Оба метода, имеющие свои преимущества и недостатки, являются взаимодополняющими.

Основной метод – толстая капля. В толстой капле форменные элементы располагаются многослойно. В результате за один и тот же промежуток времени просматривается количество крови в 30—40 раз большее, чем в тонком мазке, что значительно повышает шанс обнаружения паразитов, особенно при низкой паразитемии. Начинать надо всегда с просмотра толстой капли. Толстую каплю окрашивают нефиксированной; это приводит к гемолизу эритроцитов, в результате чего паразиты становятся доступными для выявления. Однако при этом паразиты подвергаются деформации.

В тонком мазке, фиксированном до окраски, сохраняются морфологические особенности, присущие данному виду паразита, и характерные изменения пораженного эритроцита. Тонкий мазок крови делают в дополнение к толстой капле. Дифференциальное определение вида малярийного паразита проводят по совокупности признаков: морфологии паразита, состоянию пораженных эритроцитов, соотношению стадий паразита, обнаруженных в периферической крови.

Стекла, многократно бывшие в употреблении, для приготовления препаратов крови использовать запрещается, так как имеющиеся на них царапины могут затруднить диагностику и даже привести к диагностическим ошибкам. Следует пользоваться только новыми стеклами и, предпочтительно, очищенными при изготовлении и готовыми к употреблению.

Если новые стекла поставлены неочищенными, то их очищают следующим образом:

1. Новые предметные стекла замачивают в мыльном растворе, нагретом до 60 °С, не кипятят.
2. Каждое предметное стекло протирают ветошью с обеих сторон в этом растворе.
3. Промывают в проточной воде в течение 2—3 ч, периодически перемешивая.
4. Погружают в дистиллированную воду на 30 мин; при отсутствии возможности протереть стекла в тот же день, их оставляют в холодильнике в дистиллированной воде до следующего дня.
5. Качество отмывки предметных стекол от щелочи проверяют нанесением на предметное стекло 1 капли фенолфталеина – появление розовой окраски раствора свидетельствует о недостаточной отмывке от щелочи.
6. Стекла вытирают чистой хлопчатобумажной тканью и помещают для обезжиривания в смесь Никифорова (из расчета 1 мл смеси на 1 стекло) или спирт 70°, где они могут храниться в течение длительного времени.
7. Извлеченные пинцетом из смеси Никифорова стекла протирают хлопчатобумажной материей, заворачивают в чистую гладкую не ворсистую бумагу небольшими партиями, оптимально по 6 штук – на одного больного. Во время манипуляций с чистыми предметными стеклами их следует брать только за боковые поверхности или пинцетом.

Взятие проб крови для исследования на малярию

1. Кровь для паразитологического исследования берут из пальца руки (у взрослых – обычно безымянного, у детей – из большого), у новорождённых детей – из большого пальца ноги (но не мочки уха!). Использовать венозную кровь можно только в случаях, если известно, что в качестве антикоагулянта применяли ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота), другие антикоагулянты, такие как гепарин, цитрат, не должны быть использованы, так как они могут влиять на морфологию паразитов.
2. Периферическую кровь для исследования берут вне зависимости от температуры тела и клинических проявлений. Распространено неверное мнение, что для обнаружения малярийных паразитов кровь у больного следует брать на высоте приступа.
3. Для прокола кожи пальца используют стерильные одноразовые скарификаторы или специальные стерильные разового использования иглы.
4. Перед проколом кожу пальца тщательно протирают ватным тампоном, смоченным в 70 %-м спирте, чем достигается не только предупреждение инфицирования места прокола, но и попадание с кожи пальца бактерий, различных посторонних частиц на препарат крови, которые могут затруднить диагностику при микроскопии.
5. Первую каплю крови, выступившую после прокола, вытирают сухим стерильным ватным тампоном, чтобы избежать фиксации эритроцитов остатками спирта, которым дезинфицировали кожу.
6. Последующие капли (выступающие самостоятельно или при легком надавливании на палец массирующими движениями) используются для приготовления препаратов крови. Кровь набирают в стерильный сухой гематологический капилляр, из которого быстро переносят на предметное стекло, либо выступившую кровь непосредственно из прокола пальца наносят на предметные стекла.
7. От одного пациента готовят не менее 3 стекол с толстыми каплями и 3 тонких мазка крови. Рекомендуется первоначально окрасить по одному стеклу, чтобы иметь возможность исправить дефекты окраски.

Приготовление препаратов крови.

Препарат толстая капля готовится следующим образом:

- на предметное стекло наносят 2 капли крови диаметром около 5 мм, кровь – распределяют в равномерные диски диаметром 1,0—1,5 см с помощью угла чистого стекла или в прямоугольники с помощью скарификатора, которым прокалывали кожу;
- между каплями делается мазок в виде полоски для маркировки препарата отдельного пациента, при массовых обследованиях делают две полоски: на одной полоске указывается Ф., И., О. и дата взятия крови, на другой – название лечебно-профилактического учреждения (код), где проводилось обследование;
- на предметном стекле готовят мазок крови более толстый, чем требуемый – для исследования на малярию;
- сразу после приготовления мазка, пока он не высох, наносят кровь из капилляра или влажной поверхностью мазка прикасаются к выступившей капле крови;
- приготовленный препарат кладут на горизонтальную поверхность, капля – крови распределяется по влажному мазку, величина капель зависит от количества крови и ее реологических свойств (вязкость).

Толщина толстой капли должна быть такой, чтобы через нее после высыхания просматривался газетный текст. Слишком толстая капля может оторваться от стекла при высушивании; такой препарат не пригоден для исследования. Маркировка препарата производится на мазке крови между каплями. Капля крови, нанесенная на мазок, более прочно прикрепляется, чем нанесенная непосредственно на предметное стекло.

Препарат тонкий мазок делают так же, как для подсчета формулы крови.

Высохшие препараты крови маркируют простым карандашом (он не смывается во время фиксации и окрашивания) или маркером, устойчивым к спирту. Маркировка включает фамилию и инициалы, номер истории болезни или порядковый номер по списку об-

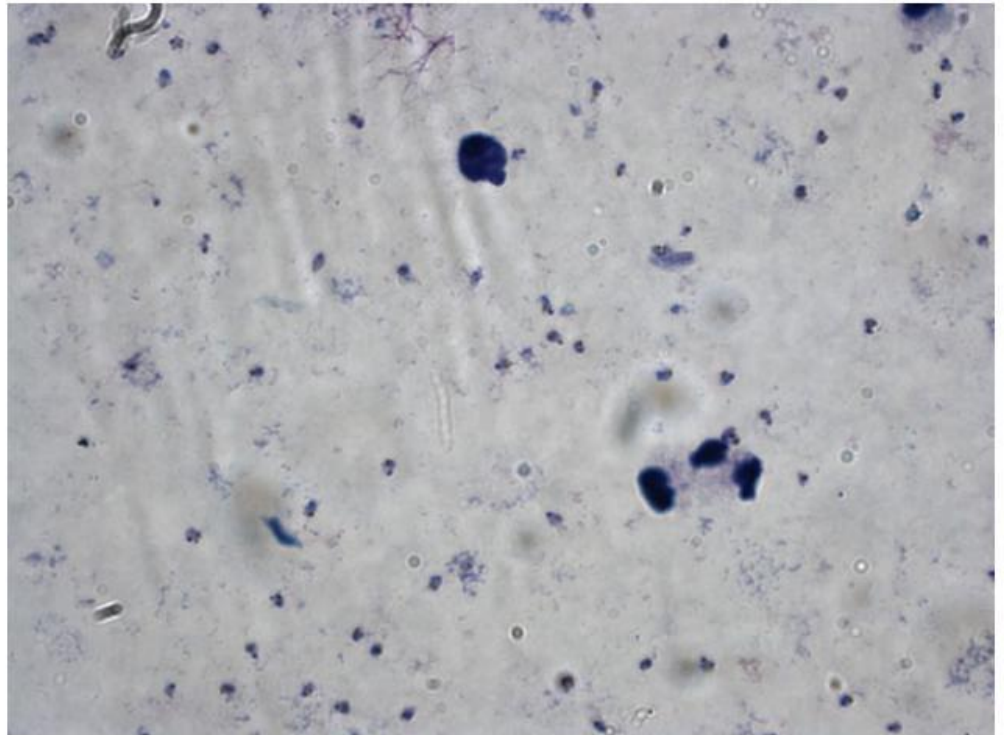
следуемого, дату и время взятия крови. Препарат толстая капля, приготовленный непосредственно на предметном стекле, маркируют на полоске крови.

Тонкие мазки фиксируют. Препарат толстая капля не фиксируют.

Одним из основных условий правильной паразитологической диагностики малярии является качественная окраска препаратов крови. Окрашивание препаратов проводят по Романовскому–Гимзе. Препараты крови на малярию окрашивают и исследуют немедленно после взятия в режиме «СІТО!»

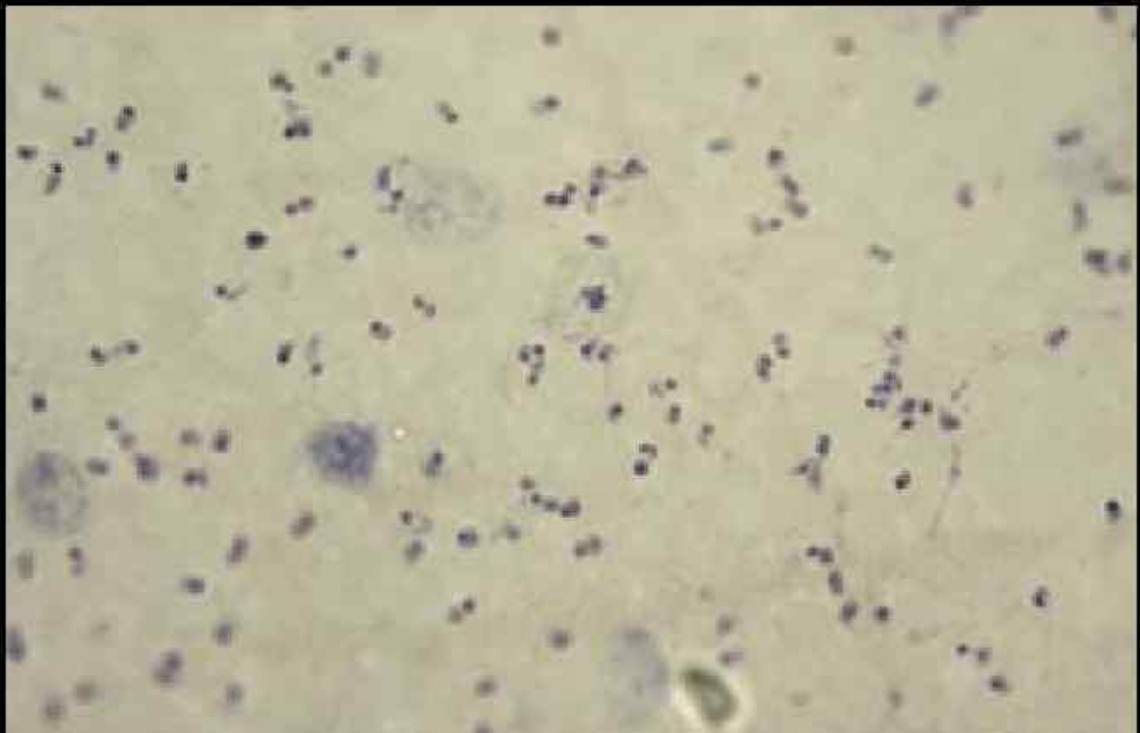
Микроскопия окрашенных препаратов крови.

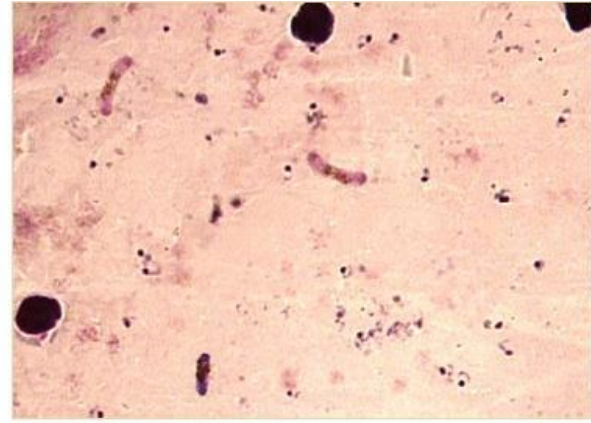
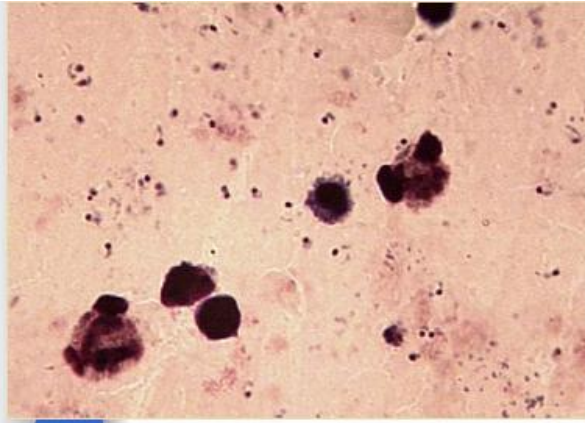
Препараты крови исследуют под микроскопом с применением масляной иммерсии: объектив $\times 90$ или $\times 100$, окуляр $\times 7$, $\times 8$ или $\times 10$, с поднятым конденсором и полностью открытой диафрагмой. С диагностической целью сначала микроскопируют толстую каплю, затем, при необходимости, для уточнения вида возбудителя – тонкий мазок. Правильно приготовленная и окрашенная толстая капля должна иметь светлый фон без нитей фибрина и осадка краски. При нормальной толщине капли в каждом поле зрения должно быть 10—15 лейкоцитов. Если вероятность малярии у пациента велика, а паразиты не выявляются, повысить эффективность выявления паразитов лучше просмотрев вторую каплю, не увеличивая время просмотра той же самой капли. Унифицировать время просмотра толстой капли невозможно, так как оно зависит от опыта микроскописта, качества препарата и др. Препарат считается отрицательным, если паразиты не обнаружены после просмотра 100 полей зрения толстой капли. Отрицательный диагноз не может считаться достоверным, если исследован только тонкий мазок. При плохом качестве приготовления толстой капли исследование крови повторить немедленно. После первого обнаружения паразитов исследование продолжают для того чтобы определить видовую принадлежность паразитов.



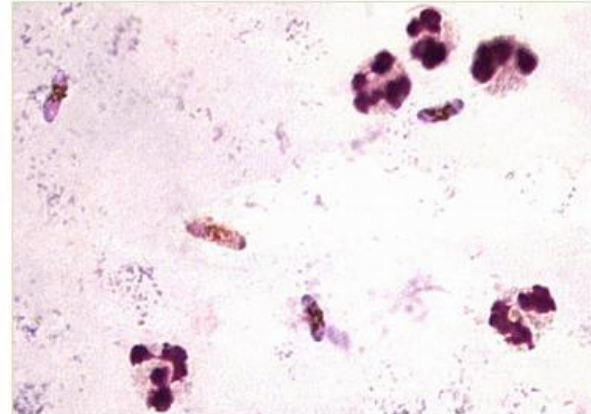
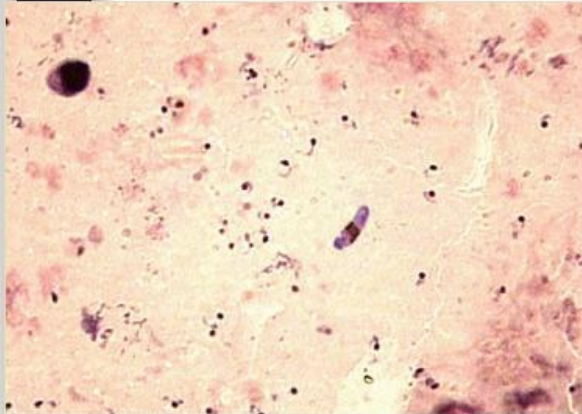
Кольцевидные трофозонты *Plasmodium falciparum* в толстой капле.
Окраска по Романовскому-Гимза. ©

**Толстая капля крови больного
тропической малярией.**



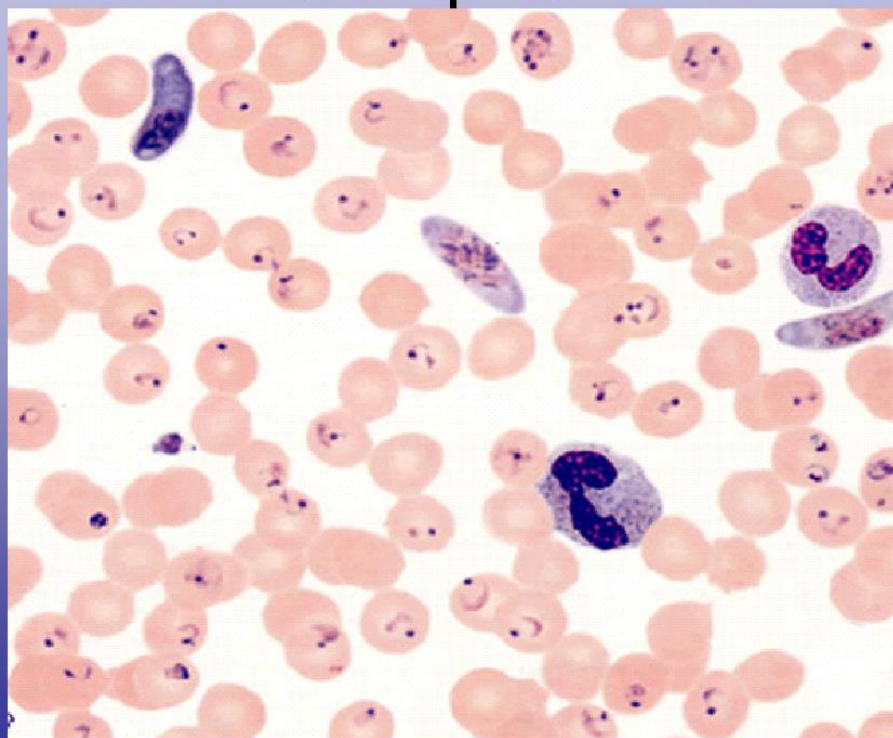


Толстая капля

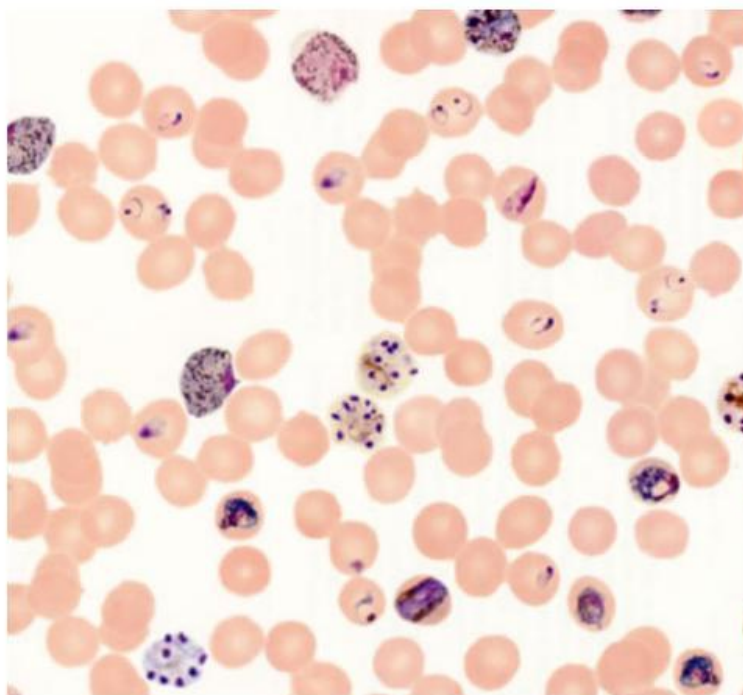
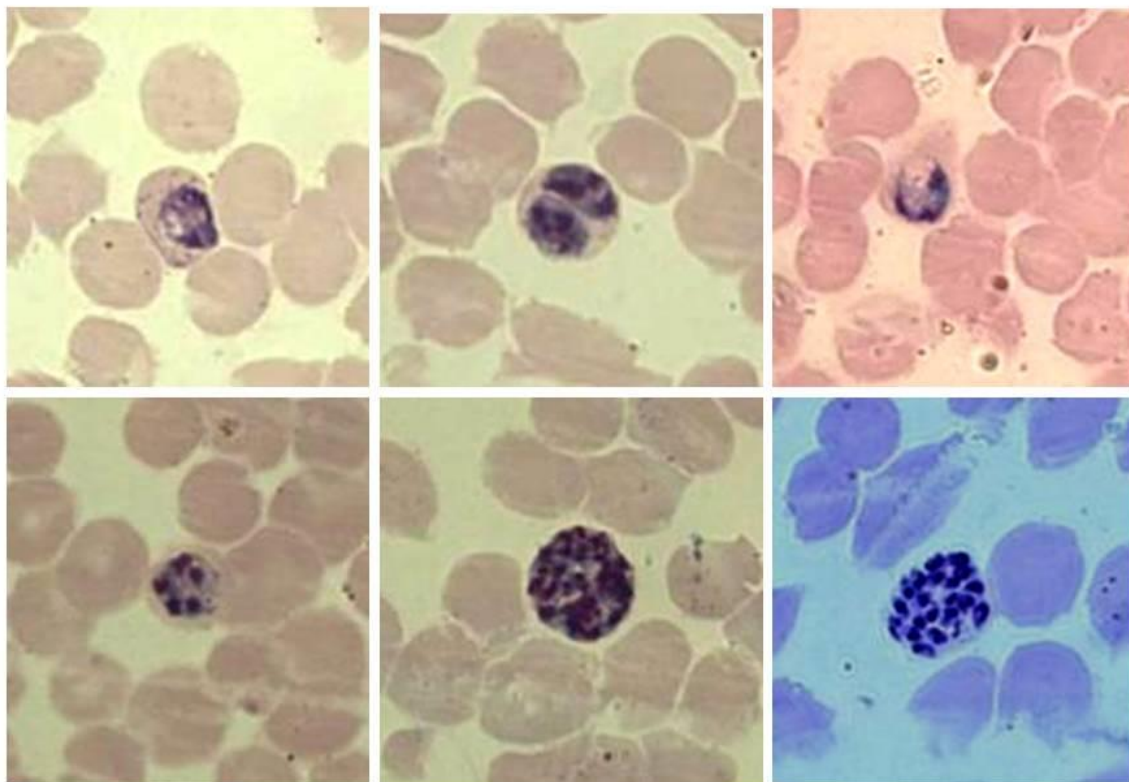


В тонком мазке для обнаружения малярийных паразитов исследуют участок, где эритроциты расположены в один слой – бахромчатую и прилегающую к ней зону – так называемый хвост препарата. При просмотре тонкого мазка используется метод «зубчатая стена»: просмотр края мазка последовательными вертикально-горизонтальными передвижениями препарата.

Кровь больного тропической малярией.



МАЗКИ КРОВИ БОЛЬНОГО МАЛЯРИЕЙ



Тонкий мазок крови больного четырехдневной малярией. Видны различные стадии развития.

Если паразиты не найдены, следует указать: «Малярийные паразиты не обнаружены». При положительном ответе – указать родовое латинское название *Plasmodium* (допускается сокращение до буквы «P.»), видовое пишется полностью: «vivax», «falciparum», «ovale», «malariae». Необходимо указывать также интенсивность паразитемии, наличие или отсутствие половых форм в случае *P. falciparum*.

Токсоплазмоз

Возбудитель токсоплазмоза (*Toxoplasma gondii*) является внутриклеточным паразитом, поражающим практически все органы и ткани теплокровных животных, птиц и человека.

Исследованию на токсоплазмоз подвергают пунктат лимфатических узлов, спинномозговую жидкость, кровь, гистологические срезы лимфатических узлов, миндалин, кусочки органов трупа, головной мозг, печень, селезенку, легкие, плаценту и околоплодную жидкость.

Микроскопический метод – обнаружение токсоплазм в мазках из материала от больного, окрашенных по Романовскому-Гимзе. Токсоплазмы имеют полулунную или аркообразную форму, размеры 4-7х 2-4 мкм, один из концов простейшего заострен, другой закруглен. Цитоплазма токсоплазм голубого цвета, ядро рубиново-красного цвета располагается в центре паразита, занимая 1/3-1/4 цитоплазмы.

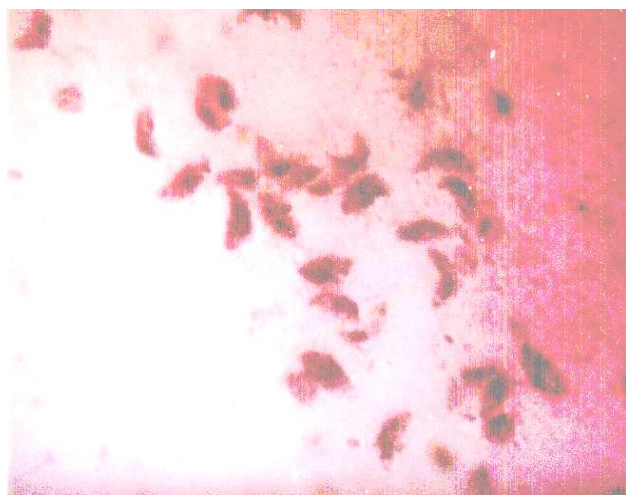


Рис. Возбудитель токсоплазмоза (*Toxoplasma gondii*)

Лейшманиоз

Возбудителем кожного лейшманиоза является *Leishmania tropica*, висцерального лейшманиоза - *Leishmania donovani*.

Микроскопический метод (микроскопия мазков костного мозга, пунктата лимфатических узлов и селезенки, окрашенных по Романовскому—Гимзе) диагностики является наиболее информативным в диагностике висцерального лейшманиоза.

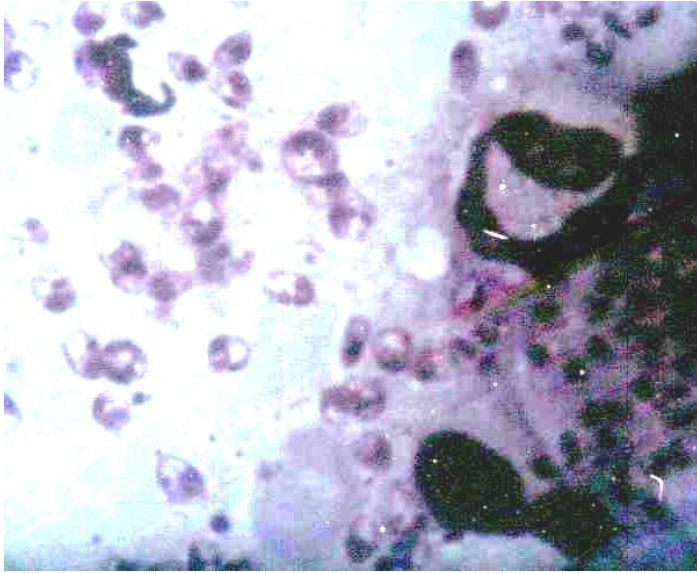


Рис. Возбудитель лейшманиоза - *Leishmania donovani*