

Министерство здравоохранения Республики Казахстан
Комитет государственного санитарно-эпидемиологического надзора
Республиканская санитарно-эпидемиологическая станция

«Согласовано»

начальник отдела науки
и новых технологий

_____ К.Иманбаев
28 ноября 2006г.

«Утверждаю»

директор Департамента
образования, науки и
международного сотрудничества

_____ Н.Хамзина
29 ноября 2006г.

Диагностика и лечение гельминтозов
(методические рекомендации)

Астана, 2006 год

В методических рекомендациях представлены современные подходы в диагностике и лечении гельминтозов.

Рекомендации предназначены для практических врачей всех специальностей, лаборантов, студентов высших медицинских учебных заведений.

Составители: д.м.н., профессор Куттыкажанова Г.Г., Абдирова Б.М., Шапиева Ж.Ж., Гриценко Е.Н., Нагашибаева Н.А., Лихоманова Р.В.

Рецензенты:

- Сапарбеков М.К., д.м.н., профессор кафедры эпидемиологии Алматинского государственного института усовершенствования врачей.

- Дмитровский А.М., д.м.н., профессор кафедры инфекционных болезней Казахского национального медицинского университета им.С.Д.Асфендиярова.

Введение

Паразитарные заболевания являются наиболее распространенной патологией человека. По данным Всемирной Организации Здравоохранения в настоящее время паразитарными болезнями поражено более половины населения планеты (около 4,5 млрд человек).

Актуальность проблемы паразитарных заболеваний связана с широкой распространенностью, многообразием негативных воздействий их возбудителей на организм человека и выраженным полиморфизмом клинических проявлений, затрудняющим дифференциальную диагностику болезней, отсутствием стерильного иммунитета и специфических методов профилактики.

Наиболее широко паразитарные болезни распространены среди жителей стран тропического и субтропического поясов Азии, Африки и Латинской Америки.

В Казахстане проблема паразитарных болезней также является актуальной. Ежегодно регистрируется около 80 тысяч паразитозов, что не отражает истинной картины паразитарной заболеваемости. Более 93% заболеваний связано с заражением гельминтами, из которых в республике постоянно регистрируются энтеробиоз, гименолепидоз, аскаридоз, трихоцефалез, эхинококкоз, описторхоз, тениидозы, трихинеллез и другие. Кроме того, в последние годы выявляются редкие инвазии, такие как дирофиляриоз, стронгилоидоз.

Гельминтозы в большинстве случаев протекают без выраженных симптомов и признаков и не могут быть диагностированы только на основе их клинического проявления. Поэтому важным моментом является качество лабораторной диагностики, зависящее от тщательного соблюдения требований методик, правильности выбора материала для исследования, знаний циклов развития гельминтов, путей выделения их из организма человека, морфологического строения яиц гельминтов. На результат анализа влияет: неправильный забор материала или длительное его хранение, а также отсутствие подготовки больного лечащим врачом перед лабораторным обследованием.

Специфическое лечение является основой борьбы с большинством гельминтозов человека. В последние два десятилетия в химиотерапии этих болезней достигнуты значительные успехи. В медицинскую практику были введены ряд высокоактивных и малотоксичных противогельминтных препаратов таких как албендазол, левамизол, тиабендазол, мебендазол, медамин, пирантел, празиквантел. Для лечения больных филяриатозами был введен диэтилкарбамазин. В настоящее время завершены клинические испытания ивермектина.

1. Диагностика гельминтозов

Окончательный диагноз гельминтозов устанавливается только с учетом результатов лабораторных исследований. Основным методом лабораторной диагностики гельминтозов является обнаружение при микроскопическом исследовании яиц или личинок гельминтов в фекалиях, крови, моче, дуоденальном содержимом, желчи, спинномозговой жидкости, мокроте.

Для гельминтологических исследований требуется соответствующее оборудование и материалы (приложение 1 к настоящим методическим указаниям).

В фекалиях могут быть обнаружены яйца и/или личинки многих видов гельминтов, относящихся к трем классам: нематодам, цестодам и трематодам. Идентификацию яиц гельминтов проводят в соответствии с приложением 2 к настоящим методическим указаниям.

2. Сбор, доставка и консервирование проб

Сбор проб фекалий проводится в сухую чистую посуду из стекла или полимеров. Взятие проб нежелательно проводить у пациентов, принимающих антигельминтные лекарственные препараты, подвергавшихся до обследования рентгеноскопии с применением бария или после масляных клизм.

Доставка проб фекалий на лабораторное исследование должна быть по возможности немедленной, то есть в теплом виде. Для обнаружения яиц стронгилоида и анкилостомы исследуется материал не позднее 4 часов после дефекации.

Оформленные пробы фекалий, подлежащие исследованию, в течение рабочего дня могут храниться в вытяжном шкафу при комнатной температуре или в холодильнике при 4°C. При невозможности немедленного исследования пробы должны храниться в консервирующей жидкости (приложение 3 к настоящим методическим указаниям), обеспечивающей надежные результаты.

При исследовании фекалий применяют макро- и микроскопические методы.

Макроскопический метод служит для обнаружения в фекалиях целых гельминтов или их фрагментов (сколексы, членики и части стробилы) невооруженным глазом или с помощью ручной лупы. Для этого небольшие порции фекалий перемешивают с водой в чашке Петри и просматривают при хорошем освещении на темном фоне. Образования, подозрительные на фрагменты гельминтов, помещают на предметное стекло в каплю 50% раствора глицерина или воды, покрывают другим предметным стеклом и исследуют под лупой, а в случае необходимости – под микроскопом.

При идентификации нематод (аскарида, власоглав) гельминты рассматривают визуально или под лупой (острица).

Ленточных гельминтов определяют по строению членика. Для бычьего и свиного цепней характерен узкий и длинный членик, для лентеца широкого – короткий и плоский. Вид ленточного гельминта устанавливают по строению матки: если она имеет форму розетки – это лентец широкий, если имеет 20-30 боковых ответвлений – это цепень бычий, если 8-12 – цепень свиной.

Установить факт полного отхождения крупных цестод после дегельминтизации можно, исследуя под малым увеличением узкий головной конец: наличие четырех присосок с крючьями – свиной, без крючьев – бычий цепень, с двумя щелями (ботриями) – лентец широкий.

Целью микроскопических исследований является обнаружение яиц и личинок гельминтов. Для широкого применения рекомендован метод Като. Эффективность диагностики значительно повышается при использовании методов обогащения.

Диагноз энтеробиоза устанавливают на основании исследования материала, полученного с перианальных складок. Метод Бермана используют для диагностики стронгилоидоза, метод Харада-Мори – для обнаружения личинок анкилостомы и некатора.

Количественные методы применяют для определения интенсивности инвазии, оценки эффективности дегельминтизации, контроля проводимых массовых лечебно-профилактических мероприятий. Для исследования количества яиц гельминтов, выделяемых из кишечника с фекалиями, может быть использован метод Столла.

Для диагностики филяриатозов исследуют кровь (лимфатические филяриатозы, лоаоз) и срезы кожи (онхоцеркоз).

В диагностике острой фазы гельминтозов и болезней, вызванных тканевыми гельминтами или личиночными стадиями (эхинококкозы, цистицеркоз, трихинеллез, токсокароз), используют серологические методы: РНГА, РСК, РАЛ, РИФ, ИФА и другие.

3.Способы приготовления препаратов

Нативный (свежий, неокрашенный мазок) – представляет собой взвесь фекалий в капле воды, физиологического раствора или 50% раствора глицерина. При исследовании нативного мазка возможно обнаружение яиц гельминтов и вегетативных стадий простейших.

Процедура приготовления мазка: на предметное стекло наносят по 2 капли физиологического раствора; стеклянной (деревянной) палочкой берут частички исследуемого материала (3-5 мг) и размешивают в капле жидкости. Смесь накрывают покровным стеклом и исследуют под микроскопом. Мазок должен быть средней толщины, чтобы сквозь него можно было свободно прочесть газетный текст.

Для метода толстого мазка фекалий по Като необходимы следующие материалы: целлофановые покровные пластинки, 3% водный раствор малахитовой зелени, 6% водный раствор фенола.

Ход исследования: готовят смесь Като из 500 мл 6% раствора фенола, 50 мл глицерина и 6 мл 3% водного раствора малахитовой зелени. Затем кусочки гидрофильного целлофана размером 2x4 см замачивают в смеси Като на 24 час. На предметное стекло наносят комочек фекалий величиной с горошину, покрывают замоченной в смеси целлофановой пластинкой, придавливают резиновой пробкой для получения равномерной толщины мазка.

Препарат оставляют для просветления на 1 час при комнатной температуре и затем проводят исследование мазка под микроскопом.

Результат: в толстом мазке по Като обнаруживаются яйца аскариды, власоглава, анкилостоматид, лентецов, трематод.

4. Методы обогащения

Эти методы основаны на концентрации яиц, личинок гельминтов или цист простейших в пробе благодаря отделению собственно фекальных частиц и накоплению паразитологических объектов в препаратах. Используются два способа обогащения: осаждение - метод формалин-эфирного осаждения и флотация - методы по Фюллеборну и по Калантарян.

Метод формалин-эфирного осаждения

Материал: центрифуга, пробирки центрифужные на 15 мл, бутылки на 250 мл или 500 мл, деревянные шпатели 145x2,0 мм, химический стакан на 25, 50 или 100 мл, 400 мкм пластиковый или металлический фильтр или хирургическая марля, предметные стекла, покровные стекла, Пастеровские пипетки с резиновой грушей, резиновые пробки для центрифужных пробирок, штатив для пробирок; формалин, 10%; эфир, этилацетат или бензин; изотонический солевой раствор (0,85%, 8,5г/л); раствор Люголя.

Ход исследования:

- в центрифужную пробирку с 10 мл формалина добавить с помощью деревянного шпателя 1,0-1,5 г фекалий и перемешать до образования гомогенной суспензии;

- процедить суспензию через 400-мкм фильтр или два слоя влажной хирургической марли прямо в другую центрифужную пробирку или в маленький химический стакан. Марлю после использования выбросить;

-добавить к суспензии необходимое количество 10% формалина так, чтобы общий объем составил 10 мл;

- добавить к суспензии 3 мл эфира (или этилацетата, или бензина) и тщательно перемешать, заткнув пробирку пробкой и энергично встряхивая в течение 10 секунд;

- удалить пробку и поместить пробирку в центрифугу; уравновесить пробирки и центрифугировать со скоростью 400-500 об/мин в течение 2-3 мин;
 - в результате центрифугирования содержимое пробирки распределяется в 4 слоя: верхний слой эфира, слой жирных остатков, прилипших к стенке пробирки, слой формалина и осадок;
 - спиральным движением с помощью деревянного шпателя мягко разрыхлить слой жирных остатков; вылить верхние три слоя в одно движение и дать надосадочной жидкости стечь из перевернутой пробирки как минимум в течение 5 секунд;
 - перемешать жидкость с осадком (иногда необходимо добавить каплю изотонического раствора, чтобы иметь достаточно жидкости для суспендирования осадка) одноразовой стеклянной пипеткой. Нанести каплю суспензии на предметное стекло, накрыть покровным стеклом. Препарат, окрашенный раствором Люголя, также может быть приготовлен;
 - препарат исследуется под микроскопом с объективом x10.
- Метод применяется для обнаружения яиц гельминтов и цист кишечных простейших.

Методы по Калантарян и Фюллеборну

Принцип: фекалии суспензируются во флотационном растворе, имеющем больший удельный вес, чем яйца гельминтов. Последние, всплывая в поверхностную пленку, могут быть обнаружены при исследовании под микроскопом.

Материал: стеклянные баночки объемом мл с вертикальными стенками, предметные стекла (обезжиренные), деревянные шпатели, стеклянные или деревянные палочки, флотационный раствор, 50% раствор глицерина. Раствор NaNO_3 (удельный вес 1,38) готовят из расчета: горячей воды - 1 л, NaNO_3 - 0,9 кг; раствор NaCl (удельный вес 1,2): 400 г поваренной соли растворяют в 1 л воды, нагревают и фильтруют.

Ход исследования:

- 2,5-5 г фекалий смешивают в баночке с солевым раствором (1:20);
- на баночку с суспензией кладут предметное стекло и доливают раствор так, чтобы он коснулся его нижней поверхности. Всплывшие яйца концентрируются на предметном стекле;
- через 45 мин при использовании раствора NaCl и через 25 мин при использовании NaNO_3 предметное стекло снимают, быстро переворачивая от себя;
- оставшуюся на предметном стекле пленку исследуют под микроскопом, нанеся каплю глицерина.

Результат: время экспозиции зависит от флотационной жидкости. В первые 10 мин всплывают яйца анкилостомид и карликового цепня, до 40-50% яиц власоглава и до 50-80% яиц аскарид. Максимальное число их выявляется после экспозиции в 2-3 часа. Для обнаружения «тяжелых», не всплывающих

яиц трематод и цестод можно из осадка (после удаления жидкости из баночки) приготовить дополнительно нативные мазки.

4. Специальные методы

Специальные методы используются для выявления яиц остриц, кроме того могут быть обнаружены онкосферы тениид и личинки стронгилоида.

Перианальный соскоб

Материал: 50% раствор глицерина или 1% раствор двууглекислого натрия (NaHCO₃), микроскоп, предметные и покровные стекла, деревянные шпатели (можно использовать отточенные в виде шпателя спички).

Ход исследования:

- соскоб с перианальных складок делают поздно вечером или утром, до дефекации, без проведения мероприятий по личной гигиене, а у женщин и до мочеиспускания;

- соскабливание проводят осторожно, с поверхности складок в окружности ануса деревянным шпателем, смоченным в 50% растворе глицерина;

- на предметное стекло наносят каплю этого же раствора. Полученный материал тщательно счищают со шпателя краем покровного стекла так, чтобы он попадал непосредственно в каплю раствора на предметном стекле;

- каплю накрывают тем же покровным стеклом и исследуют под микроскопом.

Результат: в материале, помимо яиц остриц, могут быть обнаружены онкосферы тениид и личинки *Strongyloides stercoralis*

Перианальный соскоб липкой лентой по Грэхэм

Для данного метода должна использоваться операционная пленка ЛПО-1, ЛПО-2 или полиэтиленовая прозрачная пленка с липким слоем (для детского технического творчества). Подготовить отрезок липкой ленты длиной 8-10 см, предварительно наклеить его на предметное стекло.

Ход исследования:

- перед взятием соскоба следует отклеить полоску липкой ленты от предметного стекла, держа полоску за концы, плотно прижать всей липкой поверхностью к анусу и перианальным складкам, стараясь пальцами рук не касаться перианальной области;

- отклеить полоску и перенести на предметное стекло липким слоем вниз, приклеить к стеклу равномерно для избежания образования воздушных пузырьков, мешающих микроскопии;

- концы ленты, выходящие за края стекла, отрезать и микроскопировать

Перианальный соскоб по Рабиновичу

Принцип метода. Яйца гельминтов, находящиеся в перианальных кожных складках, счищают деревянным шпателем и исследуют под микроскопом.

Материал: глазные стеклянные палочки, специальный клей (клеол – 10г, касторовое масло – 2,5г, этиловый эфир 96,5% - 2,5г).

Ход исследования:

- стеклянные палочки обмакивают в клей, высушивают на воздухе до получения прозрачной клейкой пленки;

- палочкой прикасаются к перианальным складкам и затем исследуют ее с обеих сторон под малым увеличением (10x8), уложив на предметное стекло.

Метод в 2-2,5 раза чувствительнее, 3-5 раз менее трудоемок и значительно дешевле, чем метод липкой ленты.

Примечание: Коммерческий набор для исследования состоит из стеклянных глазных палочек со стержнем 3,5-5 мм, длиной 75-80 мм и диаметром плоской части 8-10 мм, уложенных в пенал.

5. Диагностика возбудителей редких гельминтозов

Метод Бермана (обнаружение личинок *Strongyloides stercoralis*)

Принцип. Выделяющиеся с фекалиями личинки стронгилоида обнаруживают используя термотропизм личинок – выход их из остывающих фекалий в среду (воду с более высокой температурой, чем фекалии).

Материал: воронка, резиновая трубка, центрифуга, микроскоп.

Ход исследования:

- собирают установку Бермана – на узкий конец воронки надевают резиновую трубку с зажимом на конце. Воронку заливают почти доверху теплой (45-50°C) водой и ставят в штатив;

- 5-10 г свежесделанных фекалий на металлической сетке помещают в воронку так, чтобы нижняя поверхность сетки соприкасалась с жидкостью;

- оставляют на 3-4 часа при комнатной температуре;

- открывают зажим и выпускают в центрифужную пробирку 10-15 мл нижнего слоя жидкости из узкого конца воронки;

- центрифугируют в течение 1-2 мин при 1000 об/мин;

- осадок микроскопируют с целью обнаружения подвижных личинок стронгилоида.

Модификация метода Бермана по В.Н.Супряге (1976)

Данный метод более прост в применении, не уступает в эффективности оригинальному методу Бермана, не требует никакого дополнительного оборудования.

Принцип: методика позволяет обнаружить личинки стронгилоида не только в свежесделанных, но и охлажденных фекалиях.

Материал: дистиллированная вода, химические стаканчики, стеклянные палочки, чашки Петри, пробирки центрифужные, стереомикроскоп.

Ход исследования:

- порцию фекалий 10-15 г заливают теплой (40°C) водой, чтобы фекалии были полностью покрыты;
- через 20-30 мин эту жидкость сливают в пробирку, отстаивают в течение 10-15 мин или центрифугируют 1 мин при 1500 об/мин;
- слить надосадочную жидкость, осадок микроскопируют в чашке Петри, отмечая наличие подвижных, слабоподвижных и совсем неподвижных личинок. Последние должны быть исследованы под большим увеличением микроскопа.

Метод Харада-Мори (идентификация анкилостоматид)

Принцип: культивирование яиц анкилостоматид на влажной фильтровальной бумаге с целью получения из них личинок, позволяющих дифференцировать анкилостому от некатора.

Ход исследования:

- около 0,5г фекалий намазывают на полоску фильтровальной бумаги (размером 15x150 мм), оставляя свободными по 20 мм с каждого конца;
- полоску вставляют в пробирку, наполненную на 1/4 водой, закрывают ее пробкой (свободный конец полоски наружу) и оставляют на 5-6 дней при температуре 28-30°C;
- затем полоску удаляют, жидкость центрифугируют, осадок исследуют на наличие личинок.

Результат: по обнаруженным рабдитовидным или филяриевидным личинкам определяют их видовую принадлежность. У филяриевидных личинок некатора диаметр начального отдела кишечной трубки и диаметр бульбуса равны, у анкилостомы – первый значительно меньше второго.

Примечание. Филяриевидные личинки инвазионны и потому работать надо в резиновых перчатках. Полезно также перед микроскопированием прогреть воду с личинками до 60°C, чтобы они погибли.

6. Определение числа яиц гельминтов в исследуемом материале и оформление результата

Учет яиц можно проводить только для тех гельминтов, которые откладывают их в кишечнике или желчевыводящих путях. Количественные методы выявления яиц гельминтов дают ориентировочное представление об интенсивности инвазии. Определение числа яиц гельминтов в 1г фекалий до и после лечения, например, описторхоза, клонорхоза, фасциолеза, позволяет судить об эффективности терапии. Число яиц, выделяемых самкой, подвержено колебаниям и зависит от многих причин, в том числе от возраста гельминтов,

состояния организма хозяина, которые можно рассчитать различными методами.

Подсчет яиц и запись результатов исследования в фекалиях можно провести следующим образом:

ОБНАРУЖЕНО ЯИЦ В ПРЕПАРАТЕ	ЗАПИСЬ
1-3	Единичные
4-10	Небольшое количество
11-20	Среднее количество
21-40	Большое количество
более 40	Очень много

7. Возможные ошибки при лабораторной диагностике гельминтов

При исследовании фекалий на яйца гельминтов, могут быть ошибки, вызванные присутствием в препарате напоминающих их элементов: растительные клетки (приложение 4 к настоящим методическим указаниям), капельки жира, пузырьки воздуха.

Основными отличительными признаками яиц гельминтов являются правильная, большей частью овальная или округлая форма, наличие ясно выраженной оболочки, определенный размер, характерное внутреннее содержимое.

Пузырьки воздуха отличаются от яиц гельминтов резкими контурами и прозрачной серединой.

Капли жира при легком прижатии покровного стекла меняют свою форму, в то время как яйца гельминтов не изменяются.

Растительные клетки иногда по величине и наличию двухконтурной оболочки могут напоминать яйца гельминтов, но контуры их обычно неправильные, а отдельные клетки, встречающиеся в препарате, имеют различную величину и форму.

Одинаковыми по размеру и форме, похожими на яйца гельминтов, оказываются споры некоторых грибов, которые хорошо сохраняются в фекалиях. Споры сморчка по форме похожи на яйца власоглава, споры подберезовика и подосиновика напоминают яйца острицы, крупные споры некоторых растений похожи на онкосферы цепней. Тем не менее, все споры грибов значительно меньшего размера, чем яйца гельминтов и не имеют характерного содержимого (например, крючья в онкосферах цепней).

8. Исследование крови

В крови могут паразитировать простейшие (малярийные плазмодии, трипаносомы, лейшмании, бабезии) и гельминты (филярии, шистосомы). Лабораторный диагноз микрофилярий основывается на их обнаружении в определенное время суток в препаратах крови.

Методы исследования микрофилярий:

- исследование толстой капли;
- концентрация микрофилярий по методу Knott.

Исследование толстой капли

Толстая капля готовится из крови, получаемой из пальца (20-60 мкл). Необходимо дать препарату высохнуть в течение 12-48 часов, затем провести дегемоглобинизацию, поместив препарат на 3-5 минут в водопроводную или дистиллированную воду. Тщательно высушить на воздухе, поместить в этиловый спирт на 30-60 сек. и вновь высушить. Поместить зафиксированный препарат в раствор краски Романовского-Гимза (рН 6,8-7,2) на 20-45 минут в зависимости от концентрации рабочего раствора. Промыть препарат в буферной воде (3-5 мин.), высушить стекло в вертикальном положении и микроскопировать.

Концентрация микрофилярий по методу Knott

Метод очень чувствителен и недорог. Берут из вены 1 мл крови и помещают ее в центрифужную пробирку с 10 мл 2% формалина. Энергично встряхивают, эритроциты лизируются. Центрифугируют пробирку при 300 об/мин в течение 2 мин. Удаляют надосадочную жидкость, осадок исследуют под покровным стеклом при малом увеличении микроскопа. Из оставшейся порции осадка готовят толстую каплю на предметном стекле, тщательно высушивают и окрашивают по Романовскому-Гимза

Идентификация микрофилярий. В нативных препаратах устанавливается наличие микрофилярий по их характерной подвижности. Основные факторы видовой идентификации: наличие чехлика, расположение ядер, форма хвостовой части, размер (приложение 5 к настоящим методическим указаниям).

9. Исследование спинномозговой жидкости

В спинномозговой жидкости (СМЖ) возможно обнаружение таких гельминтов, как трихинеллы, стронгилоид и эхинококк.

Трихинелла на стадии личинки иногда проникает в СМЖ (у больных с тяжелыми течением трихинеллеза). 5-15 мл СМЖ центрифугируют в течение 5 мин при 1000 об/мин. Удаляют надосадочную жидкость и исследуют осадок непосредственно на наличие трихинелл под малым увеличением микроскопа.

10. Исследование дуоденального содержимого и желчи

Принцип метода паразитологического исследования: яйца гельминтов, паразитирующих в печени, желчных ходах, 12-перстной кишке, могут быть обнаружены не только в фекалиях, но также в желчи и осадке дуоденального содержимого после центрифугирования.

Сбор проб и приготовление препаратов.

Полученную при дуоденальном зондировании желчь подвергают немедленному микроскопическому исследованию, так как через 30 мин состав ее меняется. Для приготовления препаратов желчь выливают в чашки Петри и исследуют под малым и большим увеличением микроскопа. Из дуоденального содержимого отбирают хлопьевидную слизь и просматривают под микроскопом.

В нативных мазках обращают внимание на увеличение числа эпителиальных клеток желчных протоков, лейкоцитов, могут обнаруживаться эозинофилы (свидетельство паразитарной этиологии), трофозоиты простейших, яйца и личинки гельминтов.

Ход исследования:

- дуоденальное содержимое и желчь (порции А, В и С) смешивают с равным объемом серного эфира и центрифугируют в течение 5 минут со скоростью 1000-1500 об/мин;

- из осадка готовят и исследуют нативный препарат под микроскопом.

В случае если желчь густая и вязкая, то перед центрифугированием с целью изменения плотности желчи ее смешивают с равным объемом 0,5% раствора едкой щелочи.

11. Исследование мочи

Паразитологическое исследование мочи направлено на выявление яиц *Shistosoma haematobium* и *Dioctophyme renale*. Изредка в ней могут быть обнаружены трофозоиты *Trichomonas vaginalis*, цисты *Entamoeba histolytica* и микрофилярии *Wuchereria bancrofti* и *Onchocerca volvulus*.

Сбор проб. Для исследования пробы мочи центрифугируют и из осадка готовят препараты на покровных стеклах. Препараты исследуют в нативном или окрашенном виде.

Методы исследования. Для обнаружения яиц или личинок гельминтов применяют два метода: осаждение и фильтрацию. Метод осаждения менее чувствительный, но более дешевый и простой в выполнении. Метод фильтрации, благодаря его высокой чувствительности также используется для количественной оценки инвазии.

Принцип метода осаждения – центрифугирование порции мочи и исследование осадка. Для исследования необходимы: центрифуга, центрифужные пробирки, пастеровские пипетки, предметные и покровные стекла, стеклянные палочки, штатив для пробирок, дистиллированная вода, 10% раствор едкого натра.

Ход исследования:

- мочу собирают в период наибольшей активности обследуемого - с 11 до 17 часов дня (в качестве пробы для исследования используется терминальная порция мочи объемом до 10 мл);

- исследуют только свежую мочу. В тех случаях, когда это невозможно, в мочу рекомендуют добавлять консерванты (5% формалин), способствующие длительному сохранению яиц *S.haematobium* (несколько суток).

Принцип метода фильтрации – концентрация яиц *S.haematobium* путем фильтрации мочи через фильтр, пропускающий яйца и личинки.

Ход исследования для обнаружения яиц шистосом:

- помещают в держатель фильтра поликарбонатный или нейлоновый фильтр с ячейками 12-20 мкм (могут быть использованы бумажные фильтры) и перемешивают пробу мочи;
- набирают в шприц 10 мл мочи и прикрепляют к основанию шприца держатель фильтра;
- фильтруют мочу из шприца через держатель фильтра над лотком;
- отвинчивают держатель фильтра, вынимают пинцетом фильтр и кладут его верхней поверхностью вверх на предметное стекло;
- наносят на предметное стекло каплю раствора Люголя и ждут 15 сек для окрашивания яиц.

При малом увеличении (объектив х40) исследуют весь фильтр. Яйца шистосом окрашиваются в оранжевый цвет и их легко обнаружить. Интенсивность инвазии определяют по числу яиц на 10 мл мочи. Для этого общее число обнаруженных яиц делят на 10. Если объем исследуемой мочи был меньше 10 мл, применяют следующее уравнение:

$$a = (п/у) \times 10, \text{ где}$$

a – число яиц на 10 мл мочи,

п - число обнаруженных яиц,

у – объем исследований профильтрованной мочи.

В соответствии с числом обнаруженных яиц можно определить степень инвазии: слабая инвазия – 1-49 яиц на 10 мл мочи, тяжелая инвазия – 50 яиц на 50 мл мочи.

12. Исследование мокроты

Целенаправленно мокроту исследуют на наличие в ней цист пневмоцист и яиц парагонима.

Порядок исследования. Мокроту разливают в чашки Петри тонким слоем, рассматривают на светлом и черном фоне. Отбирают частицы из «ржавых» образований, обрывки ткани и другое на предметное стекло, расправляют осторожно препаровальной иглой, накрывают покровным стеклом и просматривают нативные мазки под микроскопом.

Гельминты, обнаруживаемые при микроскопическом исследовании мокроты – это *Paragonimus westermani* (яйца), *Echinococcus granulosus* (сколексы, крючья, обрывки наружной оболочки), *Strongyloides stercoralis* (личинки), *Ascaris lumbricoides* (личинки, редко), *Toxocara canis* (личинки, редко), *Ancylostoma duodenale* (личинки, редко).

13. Лечение гельминтозов

- Общие принципы лечения глистных инвазий заключаются в следующем:
- лечение должно быть строго индивидуальным. «Профилактический» прием антигельминтных препаратов, как и прием их без установления вида гельминта недопустимы;
 - терапия должна быть комплексной. Необходимо не только уничтожить паразитов, но и нивелировать последствия их деятельности (аллергизацию, анемию, дискинезию желчевыводящих путей и т.д.);
 - лечение должно быть контролируемым с использованием паразитологических методов.

При выборе средства для специфической терапии больных гельминтозами учитывают спектр антигельминтной активности препаратов, что важно при полиинвазиях.

Лечение клинически легких бессимптомных форм гельминтозов, как правило, требует только дегельминтизации. Методы применения наиболее эффективных и доступных из антигельминтиков приводятся ниже (приложение б к настоящим методическим указаниям).

В остром периоде основу лечения составляют десенсибилизация и дезинтоксикация. Глюкокортикоидные средства применяют по показаниям только при тяжелом течении некоторых гельминтозов (трихинеллез, шистосомозы, трематодозы печени) или с целью предупреждения аллергических осложнений химиотерапии (онхоцеркоз, лоаоз). Следует учитывать, что при неправильном их использовании может произойти генерализация инвазии (стронгилоидоз) или переход острой фазы в длительно текущую подострую (описторхоз, трихинеллез и др.)

Как было отмечено выше лечение больных не ограничивается назначением антигельминтных средств, а проводится комплекс терапевтических мероприятий в соответствии с особенностями патологического воздействия конкретного возбудителя и особенностей течения гельминтоза.

Так, при аскаридозе рекомендуется дополнительное лечение поливитаминами, ферментами, использование симптоматических средств и полноценного питания. При тяжелой анемии в случае анкилостомидоза и некатороза – в начале проводится патогенетическая терапия, а затем противогельминтная терапия. При стронгилоидозе специфическое лечение в миграционной фазе не назначают, в этот период проводится патогенетическая терапия (десенсибилизирующие средства, антипиретики, сердечные, седативные). В случае токсокароза дополнительно назначают антигистаминные и симптоматические средства. При тяжелой форме трихинеллеза показан преднизолон 0,5-1 мг в течение 3-5 дней, для купирования миалгии и болей в животе – ибупрофен или индометацин (не более 10-14 дней).

Заключение

Разработка данного методического документа связана с тем, что на сегодня в лабораторной службе здравоохранения нет единого методологического подхода в диагностике паразитарных заболеваний, что ведет к несоблюдению применяемых методик и искажению результатов исследований. Назрела необходимость подготовки настоящих методических рекомендаций со стандартным определением технологии сбора, доставки, хода исследования материала, указания принципа и эффективности методик. Аналогичный, то есть стандартный подход, соблюден и в отношении дозировок и схем лечения гельминтозов.

Данное направление позволит решить актуальные задачи по востребованности, достоверности и эффективности методов диагностики и лечения паразитарных заболеваний.

Список литературы:

1. Лысенко А.Я., Красильников А.А. Лабораторные методы диагностики паразитарных болезней, Москва, 1999.
2. Паразитарные инвазии в практике детского врача, Санкт-Петербург, 2005.
3. Основные методы лабораторной диагностики паразитарных болезней, ВОЗ, Женева, 1994.
4. Бронштейн А.М., Токмолаев А.К. Паразитарные болезни человека. Протозоозы и гельминтозы, Москва, 2002.

Необходимое оборудование и материалы для диагностики паразитарных
болезней

Оборудование

Микроскопы: должны иметь желательно встроенное освещение, окулярный микрометр винтовой или окулярную линейку, регулируемую ирисовую диафрагму, конденсор под предметным столиком, окуляры x10, а также объективы x10, x40 и масляные иммерсионные объективы.

Центрифуга

Стерилизатор

Термостат

Холодильник с градусником, 4-5°C.

Материалы

Липкая прозрачная лента

Складная и штативная лупы,

Ареометр,

Гельминтологические петли,

Предметные и покровные стекла,

Целлофановые покровные пластинки по Като,

Лабораторная посуда (пробирки, бутылки, цилиндры, воронки разные, флакончики стеклянные на 100 мл, пипетки, чашки Петри и др.),

Штативы для пробирок, палочки стеклянные и деревянные длиной 10-15 см, толщиной 2-3 мм, деревянные шпатели,

Фильтровальная бумага.

Пинцеты

Воронки

Скальпель

Иммерсионное масло

Хронометр

Спиртовая горелка

Реактивы заготавливаются в соответствии с применяемыми методами исследования.

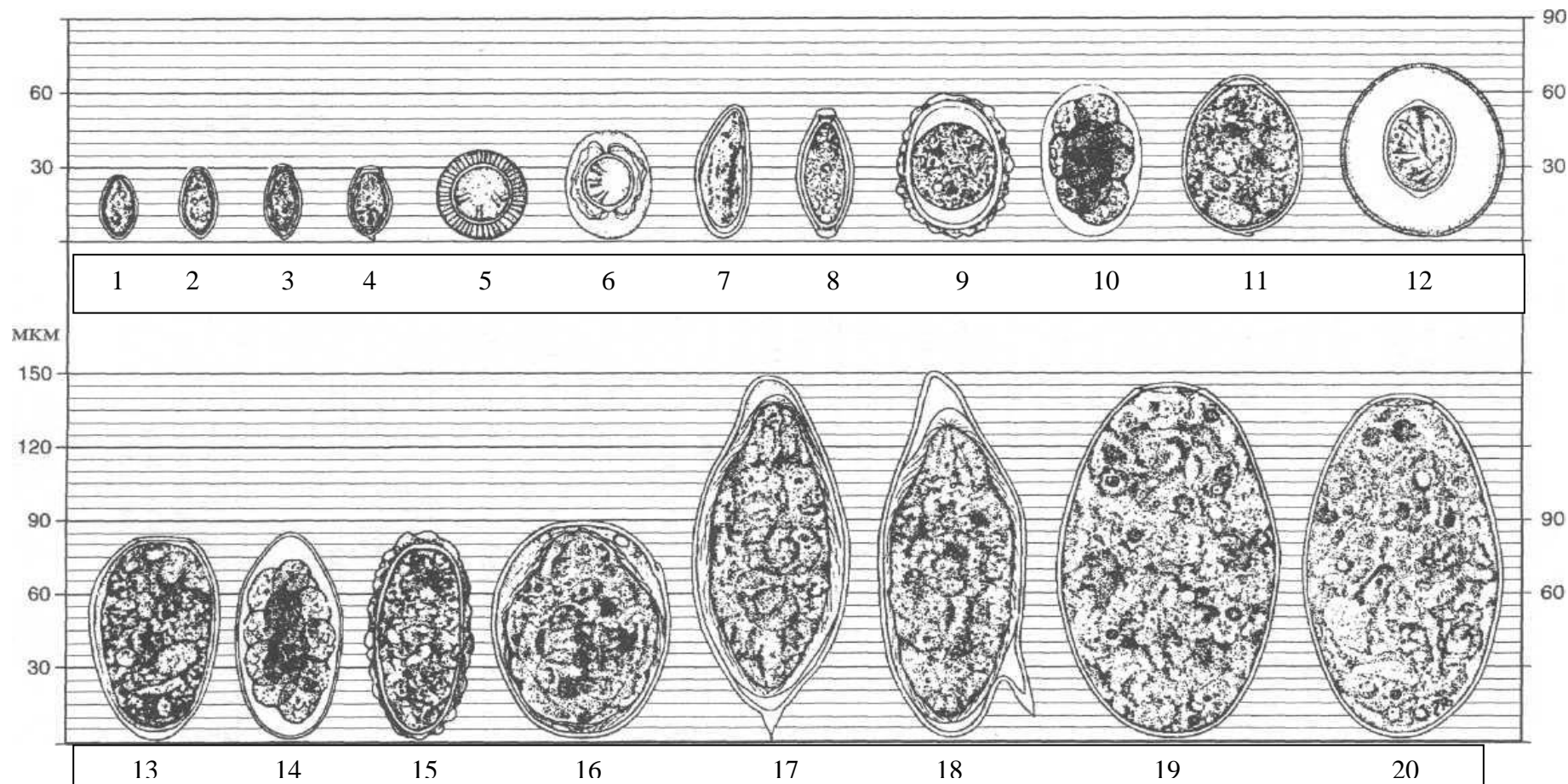


Рисунок – Относительные размеры яиц гельминтов (оригинал ВОЗ, 1994):

- | | | | |
|------------------------------------|--|---|--------------------------------|
| 1 – <i>Metagonimus yokogawai</i> | 7 – <i>Enterobius vermicularis</i> | 13 – <i>Paragonimus westermani</i> | 19 – <i>Fasciola hepatica</i> |
| 2 – <i>Heterophyes heterophyes</i> | 8 – <i>Trichocephalus trichiurus</i> | 14 – <i>Trichostrongylus</i> | 20 – <i>Fasciolopsis buski</i> |
| 3 – <i>Opisthorchis felinus</i> | 9 – <i>Ascaris lumbricoides</i> (опл.) | 15 – <i>Ascaris lumbricoides</i> (неопл.) | |
| 4 – <i>Opisthorchis sinensis</i> | 10 – <i>Ancylostoma</i> | 16 – <i>Schistosoma japonicum</i> | |
| 5 – <i>Taenia</i> | 11 – <i>Diphyllobotrium latum</i> | 17 – <i>Schistosoma haematobium</i> | |
| 6 – <i>Hymenolepis nana</i> | 12 – <i>Hymenolepis diminuta</i> | 18 – <i>Schistosoma mansoni</i> | |

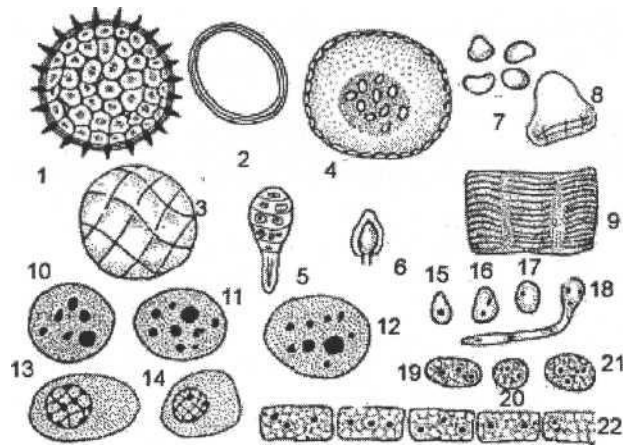
Приложение 3
к методическим рекомендациям
«Диагностика и лечение гельминтозов»

Прописи консервантов различной избирательности действия

Название	Реагенты	Соотношение фекалии/консервант	Объект и длительность сохранения
Консервант Щуренковой	- азотнокислый натрий 0,2% раствор - 1900 мл; - раствор Люголя водный – 250 мл; - формалин 30% - 300 мл; - глицерин – 25 мл.	1:1	Яйца аскариды, власоглава, анкилостомид, лентеца широкого, цепня карликового, двуусток кошачьей, печеночной, ланцетовидной, шистосомы Мансона, онкосфер тениид – до 1 года
Жидкость Барбагалло	- поваренная соль – 8 г; - формалин 30% - 30 мл; - вода дистиллированная – 1000 мл	1:4, 1:6	То же (заливка горячим раствором)
Детергенты (моющие порошки)	Коммерческие, различных фирм	1:5, 1:10	То же+яйца остриц и трихостронгилид – до 6 мес., +личинки стронгилоида и анкилостомид – до 10 суток
Консервант Сафаралиева	- метиленовая синь – 0,5 г; - сернокислый цинк 2% раствор – 82,5 мл; - формалин продажный – 10 мл; - уксусная кислота, концентрированная – 5 мл; - фенол кристалл. – 2,5 г	1:3	Вегетативные и цистные формы простейших – до 1 года
Жидкость Брука и Гольмана (консервант с PVA)	- глицерин – 1,5 мл; - уксусная кислота ледяная – 5 мл; - жидкость Шаудина – 93,5 мл; - поливиниловый алкоголь (порошок) – 5 г	1:3	Вегетативные и цистные формы простейших – длительно

Приложение 4
к методическим рекомендациям
«Диагностика и лечение гельминтозов»

Псевдогельминтные и псевдопротозойные образования из фекалий (по А.Ф.Тумке)



1-4 - хламидоспоры различных видов головни; 5 - спора грибов рода *Fusarium*; 6 -спора фитофоры; 7-9 - мышечные волокна на разных стадиях переваривания; 10-12 -безъядерные макрофаги; 13-14 - тканевые макрофаги с сохранившимися ядрами; 15-18 -бластоспоры дрожжеподобных грибов рода *Candida*; 19-22 -споры различных плесневых грибов.

Приложение 5
к методическим рекомендациям
«Диагностика и лечение гельминтозов»

Определитель микрофилярий (по Ю.А.Березанцеву)

Микрофилярии с чехликами

1. Чехлик далеко выступает за передний и задний концы личинки. Передний конец личинки - тупой, задний - заостренный. В переднем конце личинки отсутствуют ядра (на ширину личинки). Ядерная колонка заканчивается несколькими удлиненными ядрами, не доходя до заднего конца. Размеры 0,13-0,32x0,01 мм. В крови - преимущественно ночью.

.....*Wuchereria bancrofti*

2. Чехлик далеко выступает за передний и задний концы личинки, но менее заметный, чем у *W.bancrofti*. Передний конец личинки тупой, задний - заостренный. В переднем конце личинки отсутствуют ядра (на двойную ширину личинки). Ядерная колонка не доходит до заднего конца. Отдельно от колонки и друг от друга в заднем конце лежат два терминальных ядра. Последнее ядро лежит на самой вершине заднего конца. Размеры - 0,22-0,26x0,005мм. В крови - преимущественно ночью.....*Brugia malayi*

3. Чехлик значительно короче, чем у *W.bancrofti*, окрашивается слабо, вследствие этого его часто совсем не заметно. В переднем конце личинки отсутствуют ядра (на ширину личинки). Задний конец личинки заострен. Ядерная колонка доходит до заднего конца тела. Размеры- 0,25-0,30x0,007 мм. В крови - преимущественно днем.....*Loa Loa*

Микрофилярии без чехликов

4. Задний конец личинки тупой. Компактно расположенные ядра доходят до заднего конца. Размеры - 0,1-0,2x0,005 мм. В крови постоянно.....*Acanthocheilonema perstans*

5. Морфология сходна с *A.perstans*, но задний конец заострен. Ядерная колонка доходит до заднего конца. Размеры - 0,2x0,005мм.В крови – постоянно.

.....*Mansonella ozzardi*

6. Передний и задний концы личинки без ядер. Задний конец заострен. Имеют два размера: 0,3x0,009мм и 0,2x0,006мм. В коже и подкожной клетчатке.

.....*Onchocerca volvulus*

Приложение 6
к методическим рекомендациям
«Диагностика и лечение гельминтозов»

Препараты для лечения гельминтозов человека

Препараты	Показания к применению	Рекомендуемые дозы и схемы лечения	
		для взрослых	для детей
Албендазол (зентел)	Аскаридоз	400 мг 1 раз	Старше 2 лет – 400 мг разовая доза.
	Энтеробиоз		
	Эхинококкоз	10-20 мг на 1 кг массы тела в сутки; длительность – от 21 дня до нескольких месяцев; число циклов – от 1 до 20 и более; интервалы между циклами – 21-28 дней	
	Трихинеллез	Взрослым и детям 400 мг дважды в сутки в течение 5-10 дней	
	Токсокароз		
	Трихоцефалез	400 мг 1 раз в день – 1-3 дня	Детям от 1 до 2 лет разовая доза 200 мг. Старше 2 лет – 400 мг разовая доза.
	Стронгилоидоз, тениоз, гименолепидоз	Взрослые и дети старше 2 лет 400 мг 1 раз в сутки в течение 3 дней. Повторное лечение от 10 до 21 дня	
	Анкилостомидоз, некатороз	400 мг 1 раз	Детям от 1 до 2 лет разовая доза 200 мг. Старше 2 лет – 400 мг разовая доза.
Описторхоз, клонорхоз	Взрослые и дети старше 2 лет 400 мг 2 раза сутки в течение 3 дней		
Левамизол (декарис)	Аскаридоз	150 мг 1 раз	2,5 мг/кг 1 раз
	Энтеробиоз	150 мг 1 раз (повторный прием через 7-10 дней)	2,5 мг/кг 1 раз (повторный прием через 7-10 дней)

Препараты	Показания к применению	Рекомендуемые дозы и схемы лечения	
		для взрослых	для детей
Пирантел (гельминтокс, комбантрин)	Аскаридоз	10 мг/кг 1 раз	Разовая доза: детям до 2 лет – 125 мг; 2-6 лет – 250 мг; 6-12 лет – 500 мг.
	Анкилостомидоз	10 мг/кг 1 раз в день – 3 дня	
	Энтеробиоз	10 мг/кг 1 раз (повторный прием через 1 нед.)	
Мебендазол (вермокс)	Энтеробиоз	100 мг 1 раз	Разовая доза: до 3-х лет 25 мг, 3-6 лет – 50 мг, старше 7 – 100 мг.
	Аскаридоз	100 мг 1 раз в день – 3 дня	
	Трихоцефалез	100 мг 2 раза в день 3-6 дней	
	Анкилостомидоз	100 мг 2 раза в день 3 дня	
	Трихинеллез	300-600 мг/сут в 3 приема – 7-10 (до 14) дней	
Празиквантел (билтрицид)	Описторхоз Клонорхоз Парагонимоз	75 мг/кг/сут. в 3 приема – 1 день	Суточные дозы на кг массы тела те же, что и для взрослых. Нет указаний о безопасности применения препарата у детей до 4 лет
	Шистосомозы	40-75 мг/кг/сут. В 2-3 приема – 1 день	
	Гименолепидоз	20-25 мг/кг в один прием, повторно в той же дозе через 10 дней	
	Дифиллоботриоз Тениаринхоз Тениоз	20-25 мг/кг в один прием	
Тиабендазол (минтезол)	Анкилостомидоз, некатороз, трихоцефалез	25 мг/кг в 2 приема 2 дня	10-15 мг/кг
	Стронгилоидоз	25 мг/кг в 2 приема 2-4 дня	

Продолжение

Тиабендазол (минтезол)	Токсокароз	25-50 мг/кг 2-3 раза 5-10 дней	10-15 мг/кг
Пиперазин	Энтеробиоз	Разовая доза: до 1 года 0,2г., 2-3 года – 0,3г., 4-6 лет – 0,5г., 10-14 лет – 1,0г., старше 15 лет – 2,0г. Курс лечения из 2-х пятидневных циклов с интервалом 7 дней. При упорной инвазии назначается третий цикл.	
Феносал (никлозамид)	Гименолепидоз*	2,0 г в 4 приема – 1 день (всего 5-7 двухдневных циклов)	Для детей до 3 лет – 0,5 г/сут., 3-5 лет – до 1,0 г/сут., 5-12 лет – 1,5 г/сут., старше 12 лет – 2,0 г.
	Дифиллоботриоз Тениаринхоз Тениоз	2,0-3,0 г	
Ивермектин	Стронгилоидоз	200 мкг/кг однократно	Детям до 5 лет не рекомендуется; после 5 лет – как взрослым
	Онхоцеркоз	150 мкг/кг однократно	
Диэтилкарбамазин	Филяриатозы	6 мг/кг/сут. в 3 приема – 10-14 (до 28) дней	Детям до 6 лет не рекомендуется

* Существуют и другие схемы лечения. Тактику лечения больного определяет лечащий врач.