

Проблемы лабораторной диагностики паразитарных инфекций на аналитическом этапе микроскопических исследований и их решения

ООО «ГЕМ»

Чугунов Дмитрий Леонидович



Лабораторная диагностика паразитарных заболеваний

АКТУАЛЬНОСТЬ – ВО ВСЕ ВРЕМЕНА

Всего на планете паразитический образ жизни ведут:

Более 50 тысяч – разных видов членистоногих

Около 3 тысяч – видов простейших

Около 8 тысяч – видов гельминтов



Лабораторная диагностика паразитарных заболеваний

Методы лабораторной диагностики паразитозов

Прямые - визуальное определение паразита:

- Макроскопические
- Микроскопические



Косвенные – положительные результаты подтверждающие наличие паразита:

- Специфические - ИФА, ИХТ, ПЦР

Этапы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний

Ошибки на этапах исследования

Преаналитический **45-70%**

- Недостаточный объем пробы
- Неправильный забор биоматериала
- Транспортировка образцов
- Хранение образцов

Аналитический **5-15%**

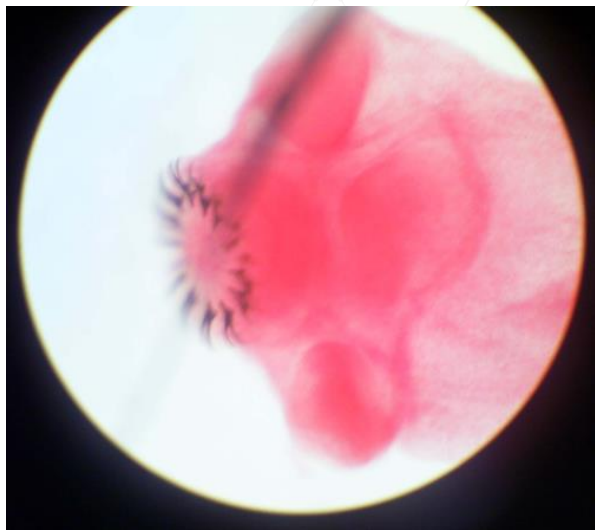
- **Субъективность**
- **Ошибки аналитики**
- **Нарушения проведения методики**
- **Неправильно выбранная методика**

Постаналитический **20-50%**

- Ошибка ввода данных
- Сообщение результатов

Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Отсутствие контрольных материалов



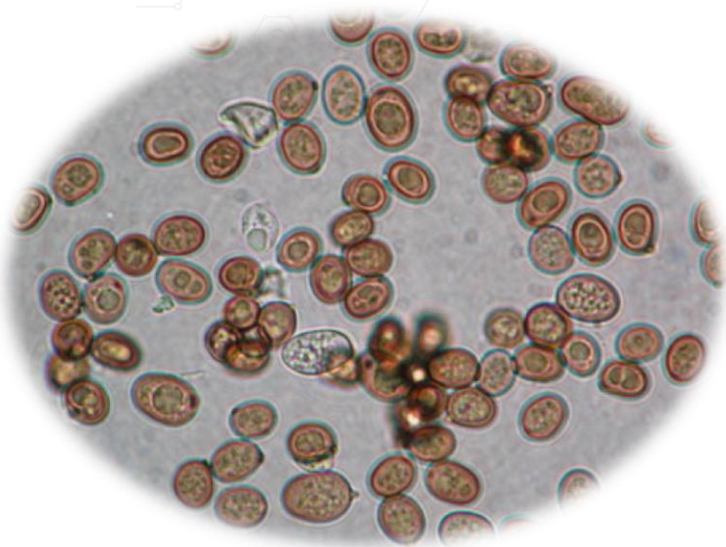
Головка
финны
свиной
цепень



Головка
финны
бычий
цепень

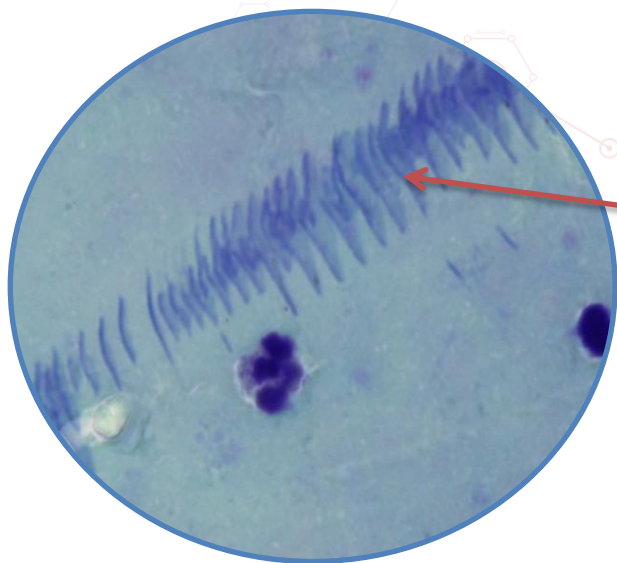
Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Отсутствие оценки размеров объекта при идентификации паразитоза



Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Дефекты расходных материалов

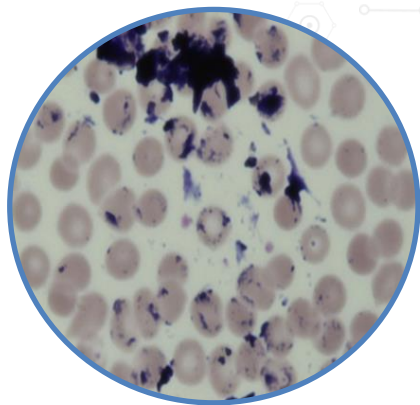


многократное использование
стёкол (сколы, царапины и пр.
дефекты)

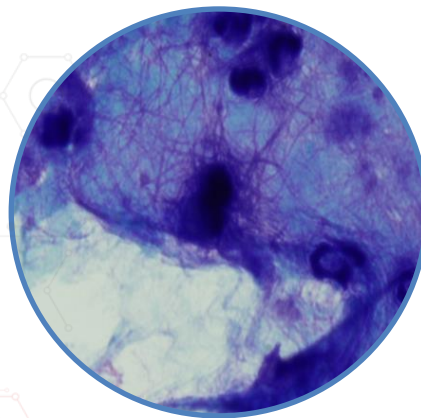
Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Дефекты расходных материалов, пробы

некачественные реактивы и красители (осадок, мицелии грибов в рабочих растворах), гемолиз



осадок краски



гемолиз

Проблемы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний на аналитическом этапе и их решения

Микроскопия соскоба (смыва, отпечатка) с перианальных складок



Преимущества:

- быстрый
- прост при взятии пробы



Ограничения:

- подходит только к нескольким кишечным гельминтозам (энтеробиоз, тениоз, тениаринхоз)
- достоверный диагноз после 3-х кратного исследования

Пробоотбор для исследования перианальных отпечатков

Метод	Преимущества	Ограничения
Грехема (липкая лента)	Доступность метода; Плоская поверхность ленты; Не требуется перенос образца на предметное стекло.	Лента слипается; Прилипают объекты при пробоотборе (волоски и частички кожи); Яйца могут деформироваться; Маркировка.
Рабиновича (стеклянные глазные палочки)	Доступность метода; Удобная транспортировка в одном штативе.	Процесс подготовки к пробоотбору; Проведение пробоотбора (несколько раз прикладывать); Неудобство маркировки; Неудобство при микроскопии
Торгушина (ватный тампон+глицерин)	Доступность метода	Подготовка к пробоотбору; Перенос пробы на стекло; Маркировка
Комплект изделий компании ГЕМ (модифицированный метод Рабиновича)	Доступность метода Не требуется подготовка Плоский шпатель Транспортный контейнер с этикеткой для маркировки	 

Методы исследования перианальных отпечатков

Стеклянные глазные палочки

Взятие пробы	ВРЕМЯ, МИН:С
Приготовить клей	10:00
Нанести на палочку клей, сушить 2-4ч.	00:04
Установить палочки в штативе	00:02
Приложить клей на палочке к коже перианальных складок	00:10
Разместить палочку в штативе для транспортировки в лабораторию	00:02
ИТОГ	10:18

В лаборатории	ВРЕМЯ, МИН:С
Укрепить глазную палочку в держателе	00:04
<u>Микроскопировать образец</u>	<u>07:30</u>
Очистить/обработать использованные палочки	05:00+
Промыть и обработать штатив	05:00
ИТОГ	17:34

Методы исследования перианальных отпечатков

Комплект изделий ГЕМ

Взятие пробы	ВРЕМЯ, МИН:С
Промаркировать контейнер	00:10
Достать шпатель из контейнера	00:02
Приложить шпатель клеейкой стороной к коже перианальных складок	00:10
Поместить шпатель в контейнер для транспортировки в лабораторию	00:02
ИТОГ	00:24

В лаборатории	ВРЕМЯ, МИН:С
Достать шпатель из контейнера	00:02
Установить шпатель на предметном столике	00:05
<u>Микроскопировать образец</u>	<u>07:30</u>
Поместить шпатель в контейнер	00:02
Утилизировать набор	00:01
ИТОГ	07:40

Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Микроскопия соскоба с использованием изделий ГЕМ

- Комплект изделий ГЕМ на энтеробиоз **не требует предварительной подготовки**
- **Удобное микроскопирование** образца благодаря оптической прозрачности, ровной и плоской форме шпателя
- Транспортный контейнер с областью для записей **защищает образец в процессе транспортировки и хранения**
- Срок годности – **3 года**, в течении которого **свойства клея не теряются.**



Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Метод пробоподготовки для микроскопирования - флотация/седиментация



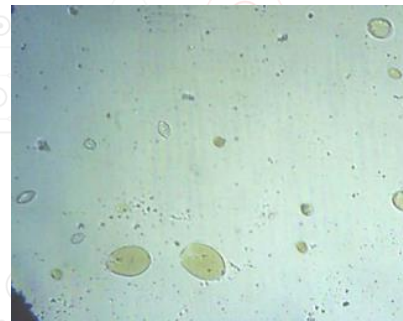
Преимущества:

- позволяет выявлять большинство паразитов
- эффективен при низкой инвазии



Ограничения:

- использование летучих реактивов (эфир, формалин)
- флотация малоэффективна для выявления описторхоза



Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Метод пробоподготовки – седиментация

ТРАДИЦИОННЫЙ ПРОТОКОЛ	ВРЕМЯ, МИН:С
Взять 1 г фекалий и поместить в пробирку	00:15
Добавить 2 мл формалина в пробирку	00:25
Закрыть пробирку и эмульгировать образец путем встряхивания	00:30
Фильтровать через сито/марлю	00:20
Промыть фильтр и удалить остатки образца/выбросить кусок марли	01:30
Поместить на водяную баню, добавить 3 мл эфира и перемешать на вортексе	00:45
Центрифугировать при 3000 об/мин	01:00
Удалить пробку и слить надосадочную жидкость	00:25
Нанести образец на предметное стекло	00:05
Вымыть все пробирки	01:00
ИТОГ	06:15

Проблемы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний на аналитическом этапе и их решения

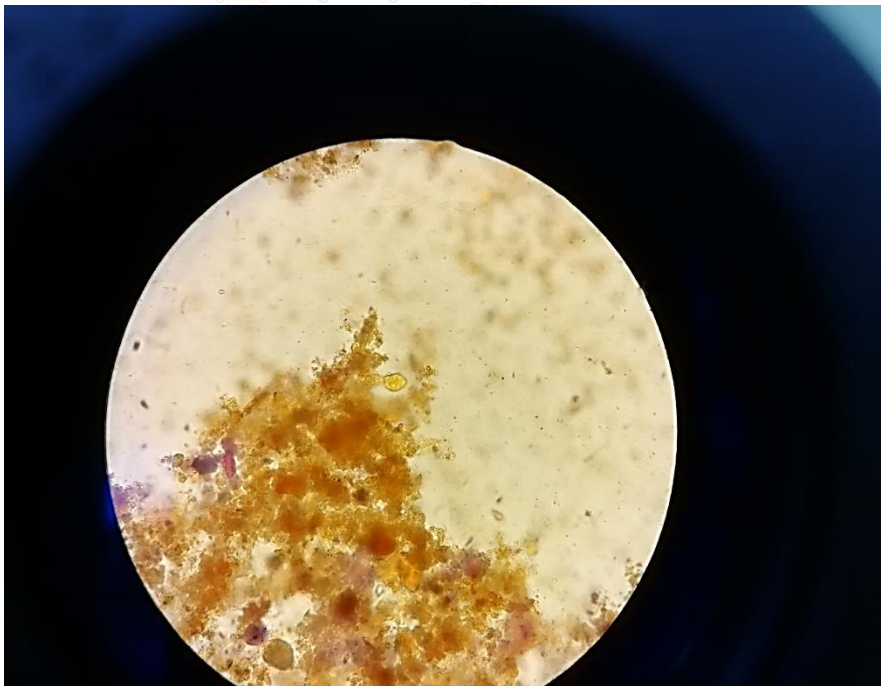
Стандартизация метода седиментации при пробоподготовке:



ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОНЦЕНТРАТОРОВ	ВРЕМЯ, МИН:С
Взять 1 г фекалий и поместить в пробирку	00:15
Закреть пробирку и эмульгировать образец путем встряхивания	00:30
Центрифугировать при 3000 об/мин	01:00
Удалить пробку и слить надосадочную жидкость	00:25
Нанести образец на предметное стекло	00:05
Закреть пробирку и выбросить	00:05
ИТОГ	02:20

Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

С использованием концентратора и без



Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Метод седиментации с использованием концентраторов кишечных паразитов от ГЕМ



- **Увеличение выявляемости**
- **Одноразовая система** исключает повторные подготовку и мойку изделия
- **Уменьшенный риск контаминации**, поскольку контакт персонала с исследуемыми образцами минимизирован
- **Сокращение времени** необходимого для проведения исследования

Проблемы на аналитическом этапе микроскопической диагностики

Выводы:

- Нет универсального метода лабораторной диагностики кишечных паразитозов
- Для достоверного подтверждения/исключения паразитозов порой необходимо проведения исследований 2-3 различными методами
- **Для достоверного исследования квалификация врачей должна быть на высоком уровне**
- Достоверный результат – качественная работа на всех этапах!

Благодарю за внимание.

