

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра
здравоохранения –
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь
_____И.В. Гаевский
25.03.2014 г.
Регистрационный № 019-1213

**МЕТОДЫ ПАРАЗИТОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ
БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СЕДИМЕНТАЦИИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК:

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр
эпидемиологии и микробиологии»

Автор: Скрипова Л.В.

Минск 2014

Настоящая инструкция по применению «Методы паразитологического исследования биологического материала с использованием седиментации» разработана с целью обследования населения на паразитарные заболевания

Показания: методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний применяются:

- с диагностической целью;
- для контроля эффективности лечения паразитарных заболеваний;
- для оценки качества проведения комплекса противопаразитарных мероприятий;
- с целью выявления источников заражения;
- для установления уровня инвазированности населения.

Инструкция разработана для врачей лаборантов паразитологических, клиничко-диагностических лабораторий, специалистов научно-исследовательских учреждений.

Исследование мочи

1. Отбор проб и условия доставки материала в лабораторию для паразитологического исследования

Материалом для лабораторного паразитологического исследования на гельминтозы и протозоозы является содержимое мочевого пузыря (моча).

1.1 Отбор проб и доставка мочи

В стеклянную посуду (банка объемом 3 л.), в течение суток собирают все порции мочи. Перед сбором 2-ой порции, отстоявшийся надосадочный слой мочи 1-ой порции сливают, оставляя осадок, и так далее, собирают следующие порции. Полученный материал хранить на холоде. Весь осадок суточного сбора мочи доставляют в лабораторию.

2. Микроскопический метод исследования

Посуда, оборудование и реактивы

1. Пинцеты.
2. Ножницы.
3. Шпатель.
4. Скальпель.
5. Пробирки центрифужные.
6. Стекла предметные, покровные.
7. Стеклянные палочки, стаканы (200, 500 мл).
8. Пипетки градуированные.
9. Микроскоп для микробиологического исследования (МБИ).
10. Центрифуга ОПН-3.
11. Набор для обнаружения яиц гельминтов и цист простейших (РНЦЭМ).
12. Дистиллированная или кипяченая вода.

Ход исследования.

Доставленную мочу центрифугируют при 1500 об/мин. Надосадочный слой сливают, оставляют осадок. К осадку добавляют 100 мл воды и помещают диск-контейнер с концентрирующей смесью из набора для обнаружения яиц гельминтов и цист простейших на 2 минуты. Диск-контейнер извлекают и вскрывают. Собирают содержимое с внутренней стороны диска, помещают в центрифужную пробирку. Для отделения возбудителей добавляют десорбент в количестве 6-8 мл и стеклянной палочкой смешивают, оставляют на 5 минут. Надосадочный слой выливают в чистую пробирку и добавляют такое же количество воды, через 5 минут центрифугируют в течение 2 минут при 1500 об/мин. Полученный осадок наносят на предметные стекла покрывают покровными, и микроскопируют, сканируя всю площадь с использованием 100-600-кратного увеличения (объективы – 10х, 40х, окуляры – 10х, 15х) сухой оптической системы.

Исследование мокроты

1. Отбор проб и условия доставки мокроты в лабораторию для паразитологического исследования

Материалом для лабораторных паразитологических исследований на гельминтозы является мокрота. Мокрота – отделяемое дыхательных органов – легких, бронхов, трахеи, гортани, выделяется при кашле или отхаркивании.

1.1 Отбор проб и доставка мокроты

Выделенную мокроту, путем откашливания, собирают в чистую сухую широкогорлую склянку. Мокроту начинают собирать с утра до приема пищи и продолжают в течение суток. Мокроту сохраняют в прохладном месте, лучше в холодильнике. Доставляют мокроту в лабораторию.

2. Микроскопический метод исследования

Посуда, оборудование и реактивы

1. Чашки Петри.
2. Пинцеты, препаровальные иглы.
3. Скальпель, ножницы.
4. Пробирки центрифужные.
5. Стекла предметные, покровные.
6. Стеклянные палочки, стаканы (200, 500 мл).
7. Пипетки градуированные.
8. Микроскоп для микробиологического исследования (МБИ).
9. Центрифуга ОПН-3.
10. Электрическая плитка.
11. Набор для обнаружения яиц гельминтов и цист простейших (РНЦЭМ).
12. Едкий натрий 0,5%.
13. Дистиллированная или кипяченая вода.

Ход исследования.

Собранную мокроту разжижают, путем смешивания с 0,5% раствором едкого натрия и нагревают при 80°C, до полного растворения слизи. В разжиженную мокроту добавляют 100 мл воды. На 2 минуты помещают диск-контейнер с концентрирующей смесью из набора для обнаружения яиц гельминтов. Диск-контейнер извлекают, вскрывают ножницами. Скальпелем, с внутренней стороны диска, собирают содержимое в центрифужную пробирку. Для отделения возбудителей вливают приготовленный десорбент в количестве 6-8 мл. Смешивают стеклянной палочкой в течение 5 минут. Надосадочный слой выливают в чистую центрифужную пробирку и к нему добавляют такое же количество воды, оставляют на 5 минут. Центрифугируют в течение 2 минут при 1500 об/мин. Полученный осадок наносят на предметные стекла покрывают покровными и микроскопируют, сканируя всю площадь с использованием 100-600-кратного увеличения (объективы – 10x, 40x, окуляры – 10x, 15x) сухой оптической системы.

Исследование копроматериала

1. Отбор проб и условия доставки копроматериала в лабораторию для паразитологического исследования

Материалом для лабораторных паразитологических исследований на гельминтозы и протозоозы является содержимое кишечника – копроматериал.

1.1 Отбор проб и доставка копроматериала

После дефекации копроматериал (фекалии, кал) отбирают из разных участков в чистую, сухую, бесцветную, по возможности широкогорлую, стеклянную с крышками посуду достаточной емкости без примеси воды, мочи. Сохраняют в прохладном месте, лучше в холодильнике. Собранный кал должен быть доставлен в лабораторию свежим, не менее 20 г (столовая ложка) и исследован в тот же день.

2. Микроскопический метод исследования

Посуда, оборудование, реактивы

1. Пинцет.
2. Стеклянные палочки.
3. Пробирки центрифужные 10 мл.
4. Стекла предметные, покровные.
5. Пипетки градуированные 1, 5 мл.
6. Пенфлаконт 10 мл.
7. Выпарительная чашка фарфоровая 10x10.
8. Пестик.
9. Воронка стеклянная 5x5 см.
10. Сито металлическое (чайное) 5x5 см.

11. Пробка резиновая №14-14,5.
12. Микроскоп МБИ.
13. Центрифуга ОПН-3.
14. Дистиллированная или кипяченая вода.
15. Формалин 10%.
16. Соляная кислота 19%.
17. Эфир диэтиловый.

Ход исследования.

Копроматериал в количестве 5 г помещают в пенфлаконт, заливают 4 мл 10% р-р формалина, закрывают резиновой пробкой, тщательно взбалтывают ½ минуты и отстаивают от 3-х до 168 часов (можно до 2-х мес. в холодильнике при $t^{\circ} 4^{\circ}\text{C}$).

Верхний слой из пенфлакона сливают, оставляя 4 г осадка, добавляют 5 мл 19% HCl, ½ минуты энергично встряхивают, выливают в выпарительную чашку с дальнейшим растиранием комочков детрита пестиком. Полученную смесь пропускают через металлическое сито с воронкой в центрифужную (10 мл) пробирку, добавляют 4 мл диэтиловый эфира. Закрыв пробирку резиновой пробкой, встряхивают, центрифугируют при 1500 об/мин. 2 минуты. Образуются 2 слоя и осадок. Пипеткой, осторожно, осадок извлекают в чистую центрифужную пробирку. К осадку добавляют 5-6 мл воды, центрифугируют 1 минуту. Надосадочную жидкость сливают, осадок микроскопируют, сканируя всю площадь покровного стекла, с использованием 100-600-кратного увеличения (объективы – 10х, 40х, окуляры – 10х, 15х) сухой оптической системы.

Оценка результатов исследования

При микроскопировании подсчитывают число паразитарных патогенов во всем осадке, а ооцист криптоспоридий в мазках, окрашенных по методу Циля-Нильсена, что соответствует их числу во всей исследованной пробе, одновременно определяют систематическую принадлежность обнаруживаемых паразитических организмов. Отрицательный результат анализа не гарантирует отсутствие паразитарных патогенов в пробе, поэтому результат исследования представляется термином «не обнаружены».

Применение метода

Лабораторная диагностика паразитарных заболеваний.