

Лабораторная диагностика гельминтозов



к. м. н., Н. Л. Самусева



«По заболеваемости населения паразитами можно судить о культуре и здоровье нации...» К. И. Скрабин

К актуальным проблемам современной гельминтологии можно отнести:

- Рост заболеваемости в популяции и расширение ареала обитания гельминтов.



- С 90-х годов отмечена устойчивая тенденция к увеличению пораженности некоторыми гельминтозами — и прежде всего нематодозами: энтеробиозом и аскаридозом, также растет число зарегистрированных больных токсокарозом, трихинеллезом; не улучшается эпидемическая обстановка в очагах распространения биогельминтозов: описторхоза и цестодозов — дифиллоботриоза, тениидозов, эхинококкозов
- В последние годы, Для учебных целей наряду с токсокарозом, стали чаще регистрироваться некоторые другие тканевые гельминтозы, вызываемые паразитами животных. Особое внимание привлекает нарастание случаев дирофиляриоза — инвазии нитевидными нематодами *Dirofilaria repens*, облигатными «хозяевами» которых являются собаки и другие плотоядные животные
- из семейства псовых.

- В последние годы широкое распространение получили кулинарные традиции Японии, Кореи, Китая и других стран Юго-Восточной Азии, где многие блюда готовят из сырой или полусырой рыбы (суши), ракообразных, кальмаров. Однако многие морские животные заражены личинками **анизакид**. Так, например, ими поражены от 25 до 100% популяций терпуга, палтуса, камбалы, кеты, трески, мойвы, сельди и других рыб Охотского моря, не ниже и уровень заражения рыб Тихого и Атлантического океанов. Пораженность кальмаров Тихого океана достигает 28%. Заболеваемость людей анизакидозом имеет стойкую тенденцию к росту в связи с увеличением потребления в пищу населением многих стран морских рыб, креветок, кальмаров, осьминогов и других продуктов моря.

- **Существенной проблемой**

в диагностике паразитарных заболеваний, в том числе паразитарных заболеваний органов пищеварения, является **неспецифичность симптоматики**, частое бессимптомное течение инвазии в течение нескольких лет-в результате отсутствие мотивации к обследованию и поздняя диагностика

Для учебных целей

Таблица 2. Временной интервал между первичным и заключительным диагнозом

Первичный диагноз	Время между первичным и заключительным диагнозом	Заключительный диагноз
Острая кишечная инфекция Острый гастроэнтероколит	1 мес.	Стронгилоидоз Острая кишечная инфекция [2]
Острый холецистит Эозинофильный лейкоз Лихорадка неясной этиологии	2 мес.	Острый описторхоз
Хронический холецистит	5 лет	Описторхоз, хроническая стадия Хронический холецистит
Хронический колит Бактериальный вагиноз	2 года	Энтеробиоз Хронический проктосигмоидит Бактериальный вагиноз
Хронический гастрит	6 мес.	Анизакидоз
Киста печени	3 мес.	Эхинококкоз печени
Хронический энтероколит В ₁₂ -дефицитная анемия	10 лет	Дифиллоботриоз В ₁₂ дефицитная анемия
Хронический холангит Портальная гипертензия Билиарный цирроз	6 лет	Фасциолез, хроническая стадия Хронический холангит Портальная гипертензия
Множественные абсцессы печени	1 год	Фасциолез, хроническая стадия

Для учебных целей

Механизмы патогенного действия гельминтов

1. Механическое повреждающее воздействие на слизистые оболочки
2. Токсико-аллергическое действие продуктов обмена гельминтов
3. Использование питательных веществ организма человека
4. Миграция гельминтов и их личинок в органы и ткани, формирование тканевых и органных осложнений (Возможные осложнения: абсцессы печени и поджелудочной железы, кишечная непроходимость, перфорация кишечника, закупорка желчных протоков с последующим развитием механической желтухи, а в дальнейшем цирроза, амилоидоза, закупорка протоков поджелудочной железы, железодефицитная анемия. Более 40 видов паразитов являются канцерогенными для человека и животных).
5. Хронизация и удлинение сроков лечения сочетанных заболеваний. Длительное хроническое течение инвазии вызывает истощение иммунной системы.

Методы выявления возбудителей паразитарных инвазий

- 1. Прямые паразитологические методы** – выявление возбудителей гельминтозов, их фрагментов, яиц и личинок гельминтов, цистных и вегетативных форм простейших) непосредственно в исследуемом материале (кал, дуоденальное содержимое, моча, кровь, послеоперационный материал, содержимое язв и т.п.)

Микроскопические методы – направлены на поиск яиц и личинок гельминтов.

- 2. Непрямые паразитологические методы** – выявление специфических антител к антигенам паразитов и непосредственно самих паразитарных антигенов в биологическом материале

Правила взятия материала (кала)

- Перед взятием материала нежелательно использовать свечи, клизму и употреблять слабительные, рентгеноконтрастные средства;
- Нельзя допускать попадания на образец материала мочи, выделений, воды, предметов личной гигиены;
- Свежевыделенный кал (взять необходимо материал из 5-6 участков) помещается в промаркированный контейнер с крышкой (кал не должен занимать более трети объема контейнера);
- При невозможности немедленного исследования хранить материал необходимо при температуре 4-5 С° с применением консерванта (например, жидкость Барбагалло - 3 мл 40% формалина+ 97 мл физ.раствора);
- При подозрении на стронгилоидоз, анкилостомидозы, трихостронгилоидозы материал необходимо исследовать не позднее 1ч после получения.

Для учебных целей

Прямые паразитологические методы

1. **Макроскопические методы** – применяются для обнаружения взрослых особей (нематоды, трематоды) паразитов и их фрагментов (сколексы, членики и части стробилы цестод).

- **Отмучивание**

Метод отмучивания заключается в просмотре разжиженных до состояния суспензии каловых масс на предмет наличия фрагментов гельминтов.

Для учебных целей

- **Отстаивание**

Метод отстаивания включает трехкратное отстаивание суспензии каловых масс.

Подозрительные частицы помещают пинцетом на предметное стекло в капле 50 % глицерина или воды, покрывают покровным стеклом и изучают под лупой.

Микроскопические методы – направлены на поиск яиц и личинок гельминтов

Метод нативного мазка

- Небольшие частицы фекалий (размером со спичечную головку) тщательно растирают на предметном стекле с 50% глицерином, физ.раствором или водой;
- Из подготовленного материала делают тонкий мазок на 2/3 стекла, покрывают покровным стеклом и микроскопируют;
- Исследуется не менее 2-х препаратов.

Для учебных целей

Метод толстого мазка Като – основан на обнаружении яиц гельминтов в просветленных глицерином и подкрашенных малахитовым зеленым толстом мазке фекалий.

В толстом мазке по Като чаще всего обнаруживаются:

яйца аскариды, власоглава, анкилостомид, лентецов, трематод.

В процессе исследования необходимо:

строгое соблюдение оптимальных сроков экспозиции

толстого мазка в зависимости от консистенции, массы фекалий и температуры, при которой производится просветление препарата (иногда срок экспозиции составляет 24-48 ч, прежде чем препарат просветлеет).

Ошибки при проведении исследования связаны с:

• «недопроявлением» толстого мазка - световой поток микроскопа будет недостаточен для просмотра препарата - видна лишь темная масса фекалий;

• «перепроявлением» - толстый мазок будет чрезмерно прозрачен, при этом обесцвечиваются и яйца гельминтов, что затруднит, а в ряде случаев сделает невозможным их выявление

• ошибками визуализации - небольшие капли жира, элементы непереваренной пищи могут напоминать цисты простейших и яйца гельминтов.

Метод рекомендуется как скрининг - тест при массовых обследованиях!

Для учебных целей

При малом количестве яиц паразитов требуется использование методов пробоподготовки - концентрации (обогащения) паразитарных форм:

- метод флотации (Калантарян и Фюллеборна)
- метод седиментации

Методы флотации

Для учебных целей

закключаются в накоплении яиц гельминтов в поверхностной пленке при суспензировании каловых масс с насыщенным раствором поваренной соли (метод Фюллеборна) или насыщенным раствором селитры (метод Калантарян). Флотационные методы дают хорошие результаты для обнаружения легких яиц власоглава, аскариды, анкилостом, карликового цепня.

Осадок после удаления надосадочного слоя можно использовать для приготовления нативных мазков на предмет выявления крупных и тяжелых яиц (трематод), которые не всплывают и скапливаются в осадке.

Недостатки:

- длительность отстаивания (и проведения всего исследования),
- при использовании метода флотации всплывает только часть яиц (клонорхов, описторхов и цисты лямблий)

Седиментационные методы

основаны на оседании яиц и личинок в осадке на дне пробирки в легкой инкубационной среде (содержащей эфир, этилацетат, бензин). Концентрация яиц в получившемся осадке возрастает в несколько раз.

Для учебных целей

Эфиро!-формалиновый метод

На сегодняшний день вместо эфира используется этилацетат

Ход исследования:

- В пробирке растирается около 1г кала и 2 мл раствора Барбагалло
- Доливается 6 мл раствора Барбагалло и 2 мл этилацетата, закрывается резиновой пробкой и перемешивается встряхиванием в течение 2 мин
- Пробка осторожно вынимается, пробирка центрифугируется в течение 10 мин при 1500 оборотах
- После центрифугирования образуется 4 слоя:
- Этилацетат, пробка из калового детрита, жидкий надосадочный слой
- Каловая пробка убирается, надосадочная жидкость сливается
- Осадок размешивается, капля осадка помещается на предметное стекло (можно добавить каплю раствора Люголя), покрывается покровным и микроскопируется.

Недостатки:

- длительность и трудоемкость технологического процесса
- при седиментации тонут далеко не все яйца гельминтов

Для учебных целей

Методы исследования материала, полученного с перианальной области (специальные методы)

Методы предназначены для обнаружения остриц в перианальных складках.

Исследование проводят:

- только утром
- до проведения гигиенических процедур и до дефекации

Методы:

Для учебных целей

- Соскоб с кожи перианальной области
- Метод отпечатка на клейкую ленту (стикер)
 - препарат исследуется не позднее 1 часа после исследования
- Метод перианального отпечатка по Б. Е. Рабиновичу - для обследования больших групп детей - с помощью глазных лопаток с нанесенным на них клеевым раствором. Лопатка с нанесенным материалом помещается в промаркированный флакончик и закрепляется пробкой, затем микроскопируется на малом увеличении с двух сторон.



Для учебных целей

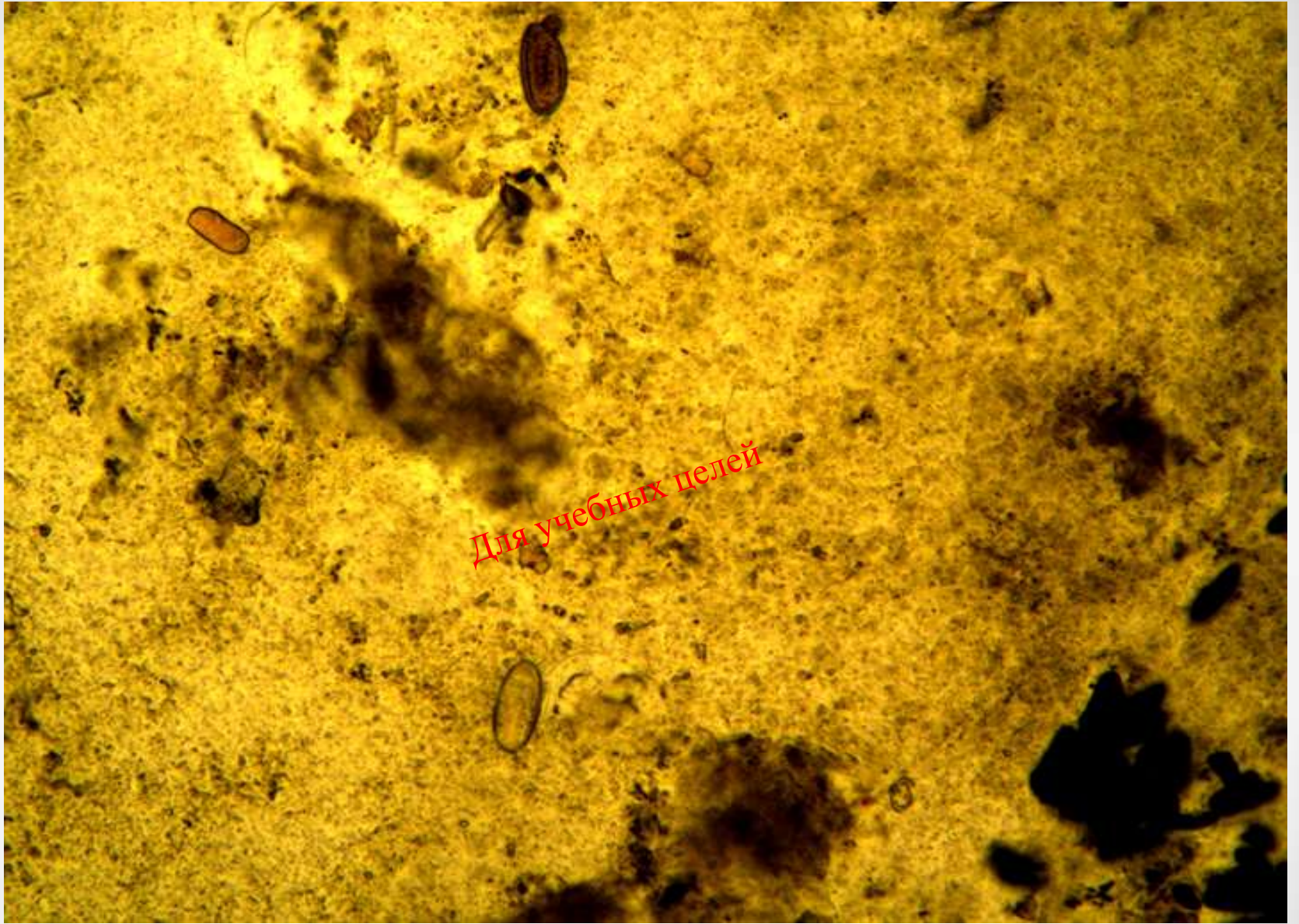




Для учебных целей



Для учебных целей



Для учебных целей



Для учебных целей



Для учебных целей

Проблемы использования методов прямого выявления гельминтов - «золотого стандарта» диагностики

Методы прямого выявления гельминтов являются «золотым стандартом» диагностики и абсолютно доказательны для постановки диагноза. Однако в реальных клинических условиях их диагностическая эффективность невелика, поскольку:

1. *Преобладание* на территории России малоинтенсивные инвазий (до 80%)

2. *Четко выраженная* периодичность продукции яиц гельминтами

3. *Низкая чувствительность* методов при малоинтенсивной инвазии

Почти невозможно при микроскопии 0,1 г кала обнаружить 5-6-яиц гельминта. Для повышения порога чувствительности используют методы концентрирования: седиментацию или флотацию. **Но эти методы не лишены недостатков:** при использовании метода флотации всплывает только часть яиц (клонорхов, описторхов и цисты лямблий), при седиментации тонут тоже далеко не все яйца гельминтов.

Для учебных целей

Разработанные методики прямого визуального обнаружения (микроскопические исследования) требуют:

1. Минимальной экспозиции диагностического материала.
2. Многократных повторных исследований.

**Достоверность методов не превышает
15-20 %**

Результат зависит от:

- стадии гельминтной инвазии, времени активности гельминтов,
- концентрации гельминтов или их яиц и личинок в исследуемом материале,
- профессионализма лаборанта.

Для учебных целей

В итоге иногда положительного результата можно достичь с **8-10-го !** исследования.

Непосредственное выявление паразита *не всегда возможно* ввиду его тканевой локализации (трихинеллез, эхинококкоз, токсокароз).

Иммунологические методы в борьбе с гельминтозами.

Можно выделить три основных иммунологических направления в борьбе с гельминтозами:

- 1) иммунодиагностика;
- 2) иммунотерапия;
- 3) иммунопрофилактика.

Для учебных целей

В рамках иммунодиагностического направления - индивидуальное обследование больных и лиц с подозрением на ту или иную инвазию, а также массовое обследование населения эндемичных районов с помощью методов ИФА.

Иммунологические методы диагностики гельминтозов

позволяют определить наличие антигенов и антител к гельминтам, достоверность зависит от количества и жизненного цикла гельминтов в организме

Серологические исследования

• Реакция иммунофлюоресценции (РИФ)

Иммунофлюоресцентный метод (непрямой вариант) представлен двухэтапной реакцией, при которой обнаружение искомого антитела в комплексе антиген-антитело (АГ-АТ) происходит с помощью конъюгата - антиглобулина, гомологичного по отношению к белкам иммунной сыворотки, меченного флюоресцеин-изотиоцианатом.

Для учебных целей

• Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА)

Реакция непрямой гемагглютинации основана на способности эритроцитов адсорбировать на своей поверхности антиген и при контакте со специфическими антителами склеиваться и образовывать осадок, видимый невооруженным глазом. Метод обладает высокой чувствительностью (до 90 - 98 %) в острой фазе описторхоза, трихинеллеза и хронической - трихинеллеза и эхинококкоза. В хронической фазе описторхоза чувствительность РНГА не превышает 45 %.

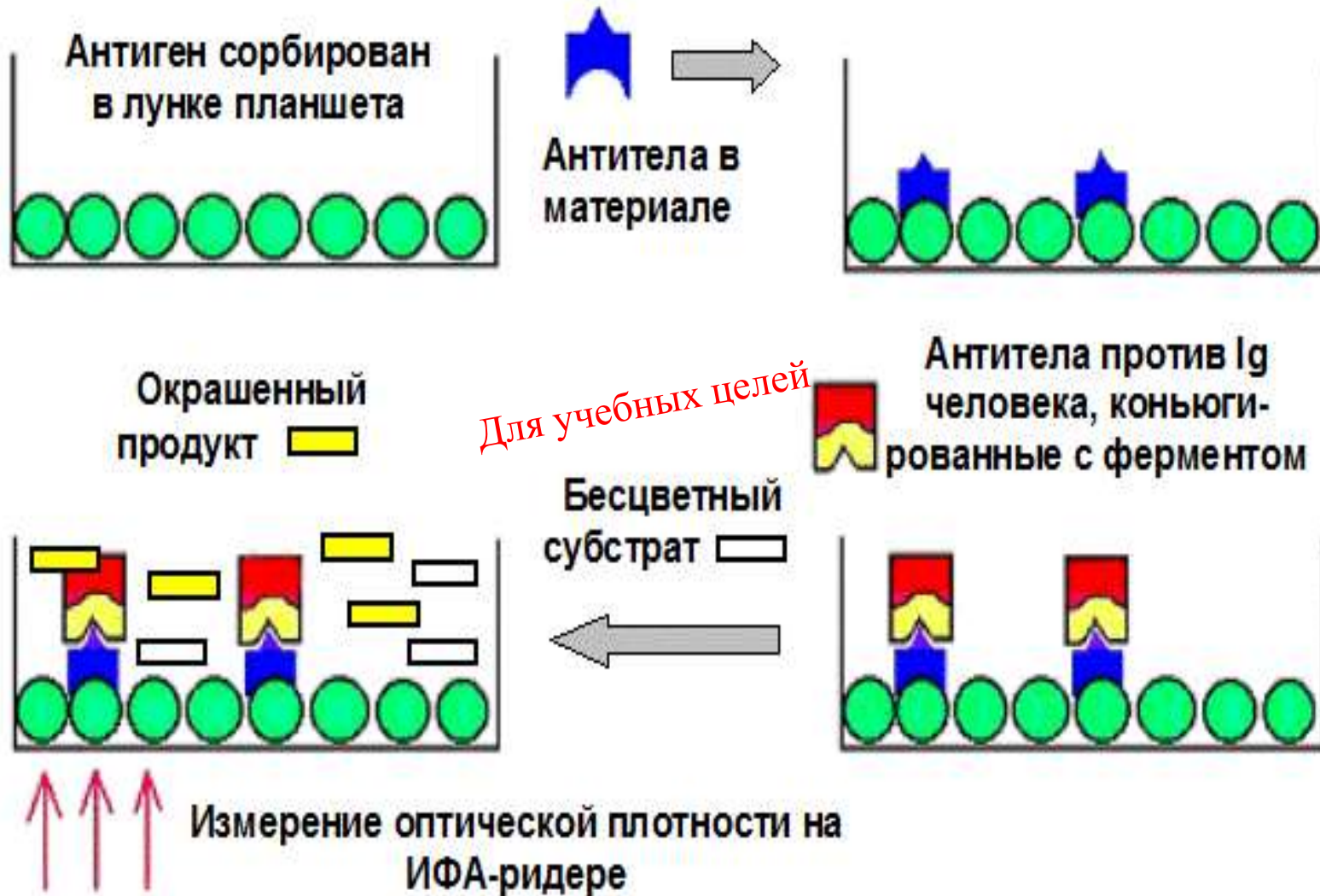
- **Иммуноферментный анализ (ИФА)**

Реакция иммуноферментного анализа (ИФА) основана на специфическом взаимодействии антигена и антитела с предварительной иммобилизацией (фиксацией) одного из компонентов реакции (антигена или антител) на твердофазном носителе и выявления образовавшегося комплекса АГ-АТ посредством ферментной метки.

Выявление образовавшегося комплекса осуществляется по изменению интенсивности окраски (оптической плотности) субстратной смеси, содержащей вещество, с которым реагирует фермент, и индикатор, изменяющий цвет под действием продуктов реакции фермент-субстрат.

Для учебных целей

Схема проведения иммуноферментного анализа



Преимущества иммуноферментного анализа:

- обладает высокой чувствительностью и специфичностью (90 %)
- возможность использования универсальных реагентов и отконтролированных диагностических тест-систем; высокая стабильность реагентов (не менее 6 месяцев);
- возможность стандартизации проведения анализа и учета его результатов за счет автоматизации процесса.
- возможность определения *двух учебных целей* вида гельминтов
- возможность определения интенсивности инвазии, прослеживания динамики развития процесса
- единственный доступный метод при невозможности использования прижизненно прямых методов

НО! Методы определения специфических антител **не всегда** обладают достаточной специфичностью и достоверностью!

Возможные причины:

- **Изменение антигенного состава** гельминта в течение цикла развития;
- Наличие **неспецифической сенсibilизации** организма;
- При большинстве гельминтозов, особенно гельминтозах, вызываемых кишечными немигрирующими гельминтами (тениаринхоз, энтеробиоз), **иммунитет характеризуется относительно слабой степенью напряженности** и существенно зависит от особенностей морфологии и биологии гельминтов;
- **Не абсолютная специфичность**, обусловленная гетерогенностью антигенов гельминтов и наличием у них наряду с видо- и стадийспецифическими антигенами, множества антигенов, перекрестно реагирующих с антигенами других, таксономически не только близких, но и далеких видов, а также с антигенами хозяина;
- **Факт перекрестной иммунизации** затрудняет специфическую иммунологическую диагностику гельминтозов.

5. Факт иммуносупрессивного действия на организм хозяина.

Основные механизмы:

- 1. Феномен конкуренции антигенов, при котором Т-лимфоциты, активированные антигенами одного вида гельминтов, подавляют способность В-лимфоцитов вырабатывать антитела к антигенам второго инфицирующего агента.**
- 2. Появление в организме хозяина под влиянием антигенов гельминтов большого количества Т-лимфоцитов-супрессоров, подавляющих другие субпопуляции Т-лимфоцитов - развивается иммунологическая толерантность.**
- 3. Подавление пролиферации Т- и В-лимфоцитов особыми цитотоксическими веществами, продуцируемыми гельминтами.**
- 4. Состояние иммунодефицита при гельминтозах отрицательно влияет на резистентность человека к бактериальным, вирусным и другим инфекциям. Некоторые гельминтозы (стронгилоидоз) в настоящее время рассматривают как ВИЧ-ассоциированные болезни.**
- 5. Подавление механизмов иммунной защиты организма-хозяина - риск канцерогенеза при некоторых гельминтозах (шистосомозы, описторхоз, клонорхоз)**

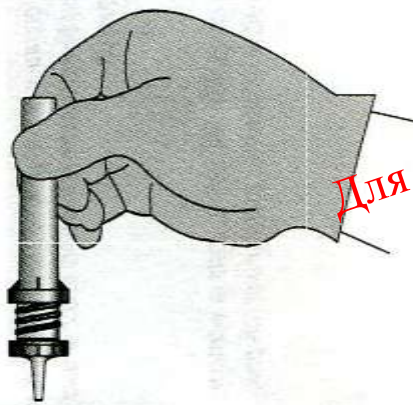
Одним из современных методов, обладающих высоким диагностическим потенциалом, является метод копроиммунодиагностики (на примере лямблиоза), который выявляет в водных экстрактах фекалий специфический антиген лямблий. Этот копроантиген представляет собой молекулу гликопротеина с молекулярным весом 65,00, продуцируемого простейшим в кишечнике хозяина. Копроантиген выявляется тест-системой как в «немые периоды» *для детей* — когда численность паразитов в кишечнике ниже порога паразитологического метода, так и в прелатентный период. Это обеспечивает раннюю диагностику лямблиоза и снижает долю ложноотрицательных результатов. После удаления паразита антиген GSA-65 исчезает в течение 2 недель. Эффективность метода высокая: чувствительность и специфичность — 98 %.

Метод копроиммунодиагностики (иммунохроматографические тесты)

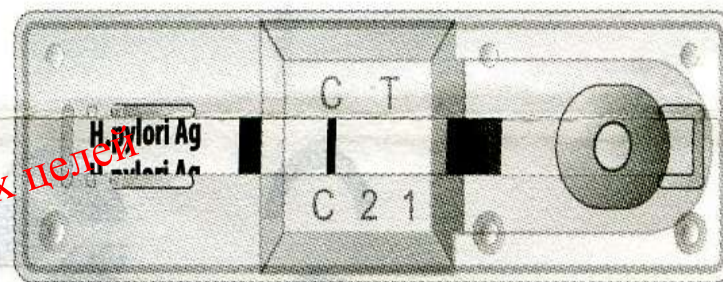
-копроантигена лямблий

-копроантигена *Helicobacter pylori*

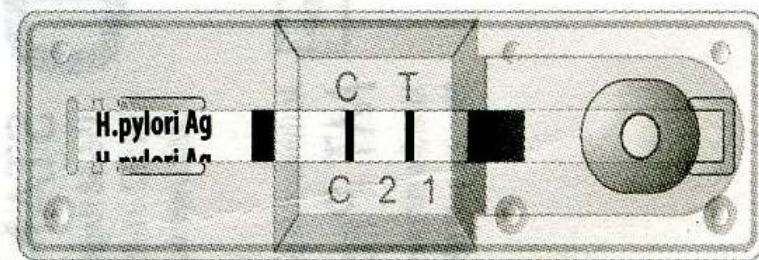
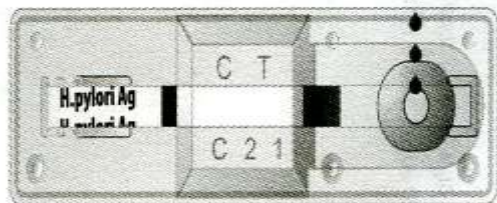
отрицательный результат



Для учебных целей



положительный результат



- **Метод определения гельминтов с помощью *полимеразной цепной реакции* является высокоспецифичным и высокочувствительным, но из-за дороговизны и сложности не может быть скрининговым, когда, например, нужно обследовать группу детей из детского учреждения.**



Для учебных целей

Пути решения проблем:

- Тщательный географический и пищевой анамнез!
- Совершенствование методов копроовоскопического исследования:
 - 1)использование комбинированных методов исследования фекалий, сочетающим как седиментационный этап, так и флотационный (с применением флотационных растворов, состоящих из нескольких ингредиентов, каждый из которых увеличивает удельную плотность смеси);
 - 2) использование готовых систем для концентрирования яиц гельминтов. Благодаря разработке фирмы Parasep — фильтру для концентрирования яиц гельминтов — произошёл серьёзный сдвиг в области прямых методов микроскопии;
 - 3) использование для копроовоскопии автоматизированных аппаратных комплексов.

Система Paraser (модифицированный седиментационный эфир-формалиновый метод)



- В смешивающую камеру помещают смесь формалина, тритона Х-100 и этилацетата. Затем вносят фекалии, вставляют фильтр, герметично закрывают, тщательно перемешивают на вортексе и помещают в центрифугу фильтром вверх.
- В ходе центрифугирования имеющиеся в пробе паразиты проходят через фильтр и скапливаются в нижнем отсеке пробирки.
- Благодаря тому, что сетка в пробирке расположена вертикально, происходит горизонтальная (латеральная) фильтрация пробы. Размер ячейки сетки фильтра (425 μm) специально подобран таким образом, чтобы грубые частицы непереваренной пищи и клетчатка оседали в смесительной камере, а жидкая часть с выделившимися в неё паразитами и яйцами паразитов (размеры которых не превышают размеров ячейки) под давлением фильтруется и концентрируется в конической пробирке.
- В результате в нижнюю часть пробирки попадает **минимум твердых компонентов и максимум содержащихся в пробе паразитов и яиц**. Благодаря такой процедуре достигается значительное концентрирование яиц гельминтов и облегчение процесса копроовоскопии.

Семейство комплексов автоматизированной микроскопии МЕКОС-Ц2

Методика PARAS для анализов на гельминты и простейшие



Для учебных целей

- Методика МЕКОС-Ц2 PARAS применяется для паразитологических анализов фекалий, смывов, почвы, стоков, воды при использовании методик подготовки препарата под покровным стеклом или в герметичных средах.
- Методика МЕКОС-Ц2-PARAS автоматически изготавливает 3-мерную цифровую копию препарата (виртуальный слайд) с разрешением, необходимым для обнаружения яиц гельминтов и простейших. Просмотр ВС на экране компьютера выполняется врачом аналогично просмотру карт в Интернете, что значительно ускоряет анализ. Одновременно выполняется автоматическое обнаружение и сортировка по типам яиц гельминтов.
- Технология методики МЕКОС-Ц2-PARAS введена в состав МУК 4.2.3145-13.

Автоматическое обнаружение и сортировка яиц гельминтов в виртуальном слайде с формированием Галереи объектов анализа, вероятность обнаружения при/без применения Parasep до 0,95/0,9



Паразитологический анализ: архив препаратов

Помощь (F1) Печать Следующий препарат(End) Предыдущий препарат(Home) Удалить все, кроме отмеченных ВЫХОД (ESC)

Рег. номер 301



ВНИМАНИЕ! найдено 115
ОРИСТНОРХИС ФЕЛИН.
ОНКОСФЕРА ТАЕНИЯ

Паразитологический анализ: архив препаратов

Помощь (F1) Печать Следующий препарат(End) Предыдущий препарат(Home) Удалить все, кроме отмеченных ВЫХОД (ESC)

Рег. номер 3337



ВНИМАНИЕ! найдено 5
ОРИСТНОРХИС ФЕЛИН.
ОНКОСФЕРА ТАЕНИЯ
ГИМЕНОЛЕПИС НАНА
ЕНТЕРОБИУС ВЕРМИКУЛ.
ТРИХУРИС ТРИХИУРА

Паразитологический анализ: архив препаратов

Помощь (F1) Печать Следующий препарат(End) Предыдущий препарат(Home) Удалить все, кроме отмеченных ВЫХОД (ESC)

Рег. номер 40

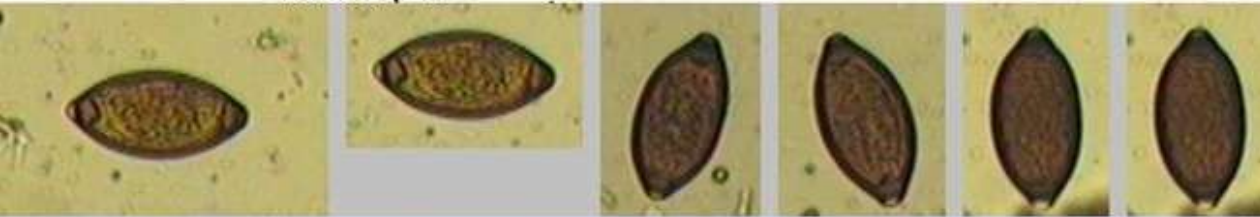


ВНИМАНИЕ! найдено 22
ОРИСТНОРХИС ФЕЛИН.
ОНКОСФЕРА ТАЕНИЯ
ГИМЕНОЛЕПИС НАНА

Паразитологический анализ: архив препаратов

Помощь (F1) Печать Следующий препарат(End) Предыдущий препарат(Home) Удалить все, кроме отмеченных ВЫХОД (ESC)

Рег. номер 42



ВНИМАНИЕ! найдено 9
ОРИСТНОРХИС ФЕЛИН.
ОНКОСФЕРА ТАЕНИЯ
ГИМЕНОЛЕПИС НАНА
ЕНТЕРОБИУС ВЕРМИКУЛ.
ТРИХИРИС ТРИХИУРА

Паразитологический анализ: архив препаратов

Помощь (F1) Печать Следующий препарат(End) Предыдущий препарат(Home) Удалить все, кроме отмеченных ВЫХОД (ESC)

Рег. номер 306



ВНИМАНИЕ! найдено 6
ОРИСТНОРХИС ФЕЛИН.

Для учебных целей

Аппаратный комплекс «МЕКОС-Ц» и разработанная программа «Паразитология» позволяет:

- уменьшить затраты времени на проведение анализа в среднем на 13 минут;
- снизить нагрузку на специалистов, повысить интенсивность труда и пропускную способность лаборатории в 2 раза;
- снизить контакт оператора с материалом, содержащем вредные для здоровья ингредиенты;
- освободить лаборанта от монотонной работы просмотра;
- получить возможность разделения во времени оценки и контроля галереи возможных объектов паразитарной природы, сохраняющихся в фототеке компьютера;
- провести демонстрацию и *Для учебных целей* возможную консультацию, не сохраняя первичный биологический материал и не повторяя этапа подготовки препарата;
- архивировать результаты исследований, документировать и предъявлять их в случае необходимости;
- фототека находок является уникальным пособием для обучения специалистов.

Описторхоз

является биогельминтозом, вызываемым трематодой семейства *Opisthorhidae* (*Opisthorchis felineus*).



Для учебных целей

- **Описторхоз является пероральным биогельминтозом, вызываемый трематодой семейства Opisthorhidae (*Opisthorchis felineus* и *Opisthorchis viverrini*). Зрелая особь-мелкая трематода (0, 4-1,3 см) с вытянутым листовидным телом и двумя присосками (ротовой и брюшной). Обский бассейн - эндемичный очаг описторхоза.**

цикл развития *Opisthorchis felineus*



- Важным звеном цикла развития *O. felineus* является попадание выделенных с фекалиями яиц гельминта в пресные водоемы, в которых имеются заглатывающие их моллюски рода *Vithynia*. В организме этих промежуточных хозяев из яиц появляются личинки гельминта мирацидии, которые за 2 месяца превращаются в церкарии. Церкарии, выходя в воду и активно внедряются в тело пресноводных карповых рыб и превращаются в следующие личинки метацеркарии, покрытых защитной оболочкой. Заражение человека, кошек, собак (окончательных хозяев данного паразита) происходит при употреблении в пищу инвазированной личинками описторхисов рыбы семейства карповых (сазан, карась, язь, елец, чебак, вобла, линь, лещ, и др.).
- При попадании в желудочно-кишечный тракт личинки (метацеркарии) эксцистируются в двенадцатиперстной кишке и мигрируют через желчный пузырь во внутрипеченочные желчные протоки. В течение 3-4 недель с момента попадания в организм хозяина гельминты достигают половой зрелости и начинают откладывать яйца.

Диагностика описторхоза

Достоверным критерием инвазии описторхисами является обнаружение яиц гельминта в фекалиях, образце дуоденального содержимого

Отсутствие яиц в пробах, полученных от пациентов, может быть обусловлено:

- невозможностью обнаружения яиц у людей на ранней стадии заболевания, когда еще отсутствуют половозрелые формы;
- цикличностью яйцепродукции гельминтов;
- неравномерным распределением яиц по содержимому толстой кишки;
- невысокой вероятностью обнаружения яиц паразитов при низкой интенсивности инвазии. Поэтому для достоверного исключения описторхоза при обследовании больных может оказаться недостаточно даже многократной копроовоскопии

яйца *Opisthorchis felineus*

(нативный препарат кала)



Для учебных целей



Для учебных целей



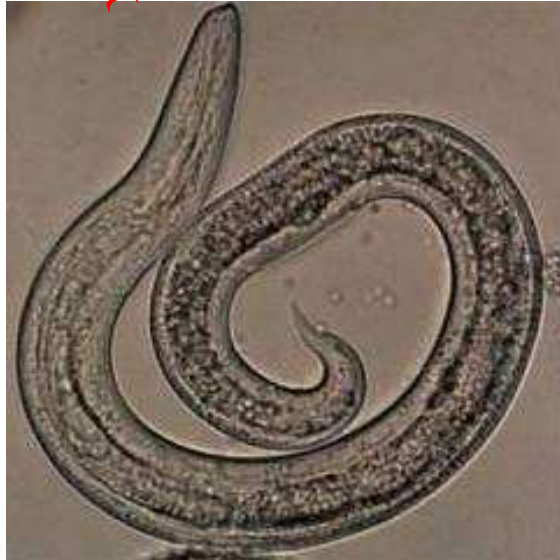
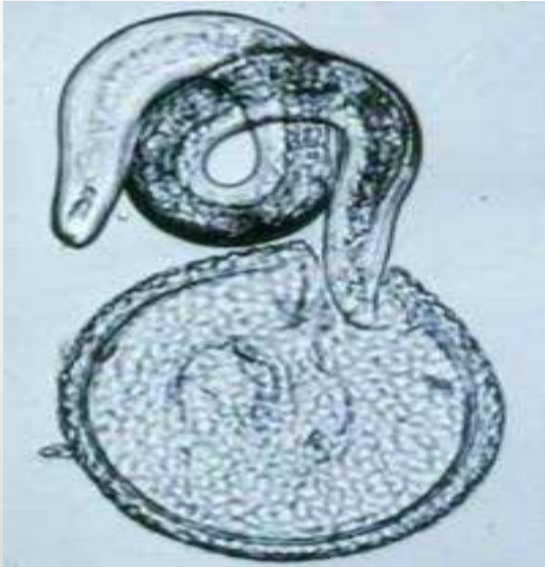
Для учебных целей

ТОКСОКАРОЗ

Различают две разновидности паразитов:

1. *Toxocara canis* – распространяется представителями семейства псовых.
2. *Toxocara mystax (cati)* – развивается в организме животных семейства кошачьих.

Для учебных целей



- Возбудитель токсокароза - нематода семейства Anisakidae рода Toxocara. Роль *T. canis* в патологии человека доказана, а роль *T. mystax* еще обсуждается, поэтому в настоящее время термин "токсокароз" подразумевает только заболевание человека, вызываемое **Toxocara canis**.
- *Toxocara canis* - нематода, самка которой имеет длину 6-8 см, самец - 4-10 см.
- *T. canis* обычно паразитирует у собак, волков, лисиц, песцов и других представителей семейства ПСОВЫХ.
- Взрослые паразиты локализуются в тонком кишечнике и желудке облигатных хозяев. Средняя продолжительность жизни половозрелых особей составляет 4 мес., максимальная 6 мес.

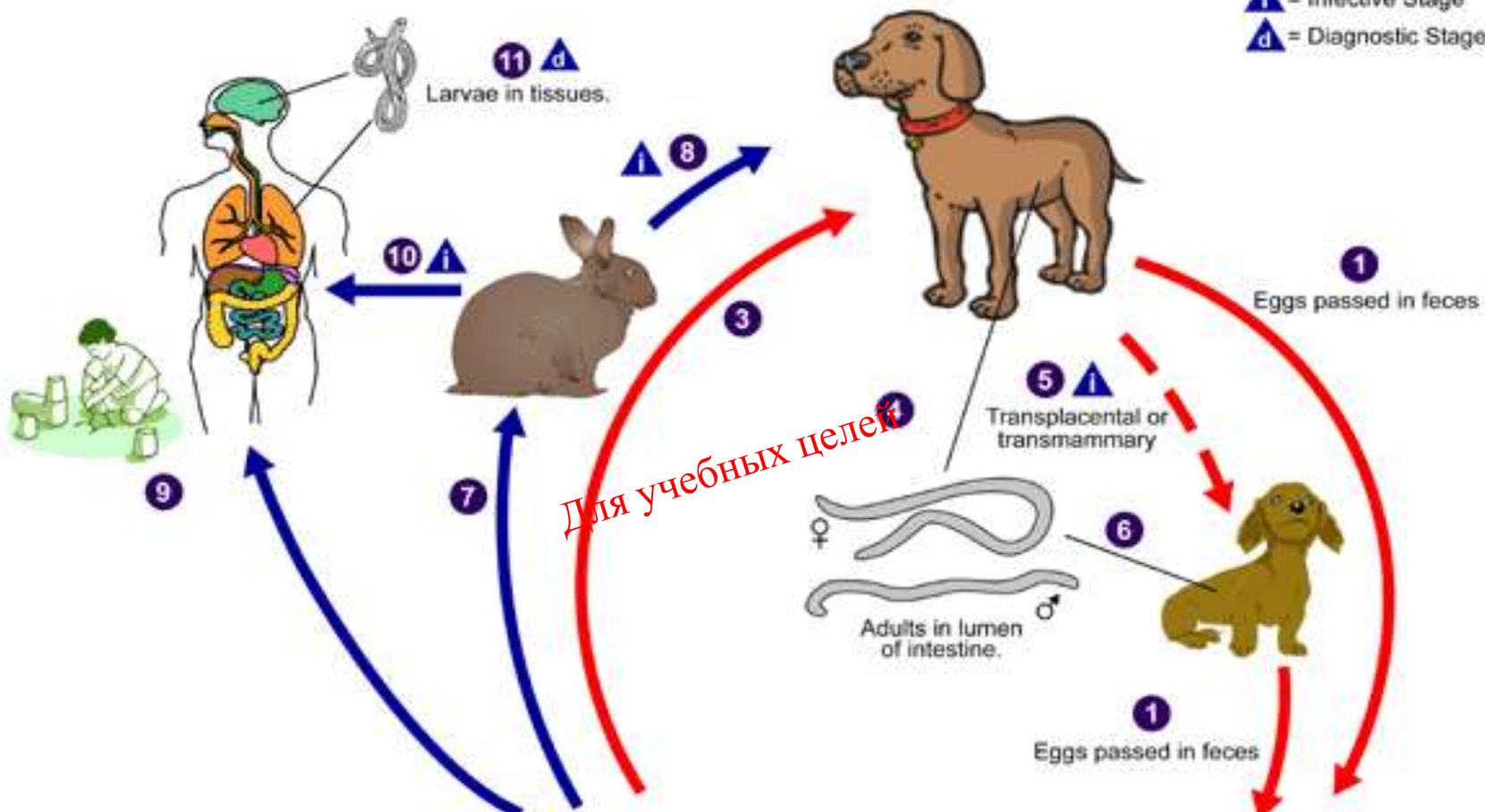
Для учебных целей

- Самка *T. canis* откладывает **более 200 тыс. яиц** в сутки. Поскольку интенсивность инвазии у животных достигает сотен особей, они загрязняют окружающую среду ежедневно **миллионами яиц в сутки**. Яйца выделяются незрелыми и неинвазионными.
- Срок созревания яиц *Для учебных целей* зависит от температуры окружающей среды и влажности. Инвазионное яйцо содержит личинку, совершившую две линьки. В почве яйца **длительное время сохраняют жизнеспособность и инвазионность**.

- Инвазия человека происходит при контакте с **больными собаками** (личинки токсокар могут быть в испражнениях, на шерсти животного), а также **с зараженным грунтом**.
- Попадание к человеку грозит паразиту гибелью, так как нет оптимальных условий для развития полноценной личинки и продолжения жизненного цикла. *Потому заболевание не может быть передано от одного человека к другому.*
- Заразиться токсокарозом человек может в любое время года, *так как личинки паразита чрезвычайно устойчивы к негативным факторам окружающей среды.* Чаще всего инвазия происходит летом и осенью.

Цикл развития токсокар

i = Infective Stage
d = Diagnostic Stage



Для учебных целей



<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

Особенности инвазии:

1. человек для их возбудителя - несвойственный хозяин;
2. возбудители в организме человека не достигают половозрелого состояния;
3. симптомокомплекс обусловлен миграцией личинок или взрослых гельминтов в коже или внутренних органах человека.

Для учебных целей

- Заражение человека происходит при проглатывании инвазионных яиц токсокар. В проксимальном отделе тонкого кишечника из яиц выходят личинки, которые через слизистую оболочку проникают в кровоток, затем разносятся кровью по разным органам и тканям.
- Мигрируя, они достигают пункта, где диаметр сосуда их не пропускает (диаметр личинки 0,02 мм), и здесь они покидают кровяное русло. Личинки токсокар оседают в печени, легких, сердце, почках, поджелудочной железе, головном мозге, глазах и других органах и тканях. Здесь они сохраняют жизнеспособность в течение длительного времени (месяцы, годы).
- Личинки, осевшие в тканях, пребывают в "дремлющем" состоянии, а затем под влиянием каких-то факторов активизируются и продолжают миграцию. С течением времени часть личинок инкапсулируется и постепенно разрушается внутри капсулы.

Токсокароз характеризуется длительным рецидивирующим течением (от нескольких месяцев до нескольких лет), что связано с периодическим возобновлением миграции личинок токсокар.

Существует в двух формах:

- **Висцеральный токсокароз** с поражением легких, печени, миокарда, лимфаденопатией и высыпаниями на коже
- **Глазной токсокароз** (эндофтальмит, увеит)

- Гистоморфологически токсокароз представляет собой диссеминированный эозинофильный гранулематоз. В печени при этом образуется много гранул с личинками и без них. Позднее по периферии клеточного слоя гранулемы с личинкой образуется фиброзная капсула.
- Гранулемы могут формироваться в легких, что приводит к возникновению пневмонии и альвеолита. В течение первых дней после заражения личинки попадают в головной мозг, почки, мышцы и другие органы и ткани. В корковом слое почек образуются лейкоцитарные скопления с наличием множества эозинофилов, паразитарные гранулемы.
- Личинки сохраняют жизнеспособность многие месяцы и годы (до 10 лет), а их распределение в органах и тканях продолжает меняться.

Критерии лабораторной диагностики

•Стойкая длительная эозинофилия вплоть до развития эозинофильно-лейкемоидных реакций крови. Обычно относительный уровень эозинофилов превышает 30%, а в отдельных случаях может достигать 90%.Общее количество лейкоцитов также повышается до $15-20 \cdot 10^9/\text{л}$, а в некоторых случаях - до $80 \cdot 10^9/\text{л}$. Эозинофилия может сохраняться в течение нескольких месяцев и даже лет.

•Ведущими в диагностике токсокароза являются иммунологические тесты:

титр специфических антител $1:800$ и выше с большой степенью вероятности свидетельствует о заболевании, а титры $1:200$, $1:400$ - о вероятном носительстве токсокар при висцеральном токсокарозе и патологическом процессе при токсокарозе глаза.

3. За лицами с низкими титрами противотоксокарных антител при наличии показаний следует установить диспансерное наблюдение.

Прижизненный паразитологический диагноз токсокароза практически невозможен, поскольку обнаружить мигрирующие личинки трудно, а идентифицировать их по гистологическим срезам непросто. Тем не менее, окончательный паразитологический диагноз токсокароза ставят без сомнений *только при обнаружении личинок в биоптатах тканей.*

- **Анизакидоз (anisakiasis)** — заболевание, иногда с летальным исходом, возникающее при попадании живых личинок анизокид в пищеварительный тракт человека.
- Впервые у человека анизакидоз (болезнь сельдяных червей, болезнь тресковых червей) зарегистрирован в Голландии в 1955 г. после употребления в пищу слабосоленой сельди. А затем сообщения о заражении людей этими гельминтами стали появляться чаще, и к настоящему времени зарегистрированы тысячи случаев анизакидоза в странах Европы, Северной и Южной Америки, Юго-Восточной Азии. В Японии выявлено 8264 случая анизакиоза. Среди источников инвазии на 1-ом месте стоит макрель, на 2-ом - сардины. Единичные случаи данного гельминтоза зарегистрированы в России (на Камчатке, в Москве).
- **Возбудитель -личинки нематод семейства *Anisakidae* родов *Anisakis*, *Contracaecum* *Pseudoterranova*, *Porrocaecum*.**

- Личинки патогенных анизакид могут быть в свернутом состоянии (форма спирали, широкого кольца) или вытянутыми, в полупрозрачных капсулах или без них. Цисты имеют поперечник 3,5 - 5 мм в толщину 1 - 1,5 мм. Извлеченная из цисты личинка достигает в длину до 4 см при толщине 0,4 - 0,9 мм (*A. simplex*). Личинки родов *Anisakis* и *Contracaecum* беловатого или желтоватого цвета, а рода *Pseudoterranova* - красновато-коричневого.
- Окончательными хозяевами гельминтов, в кишечнике которых обитают половозрелые особи, являются китообразные и ластоногие млекопитающие, хрящевые рыбы (акулы и скаты), рыбоядные птицы (цапля и др.).

- В результате исследования разных видов рыб установлена такая инвазированность анизакидами: 41% атлантической сельди, 25% трески, 41% путасу, 20,5% салаки, 34% минтая, 35,6% мерлузы, 28,1% скумбрии, 21,4% терпуга, 46,4% нототении, 15,6% шпрот, 28% сайды, 31,4% барабульки, 27,2% лиманды. Тихоокеанская скумбрия у побережья Японии заражена на 100%, серебристый хек на 53%.



Anisakiasis

(*Anisakis simplex*, *Pseudoterranova decipiens*)

▲ = Infective Stage

▲_d = Diagnostic Stage

7 Humans become incidental hosts through eating infected raw or undercooked seafood.



Diagnosis of anisakiasis can be made by gastroscopic examination during which the 2 cm larvae can be removed. ▲_d

6 When fish or squid containing L3 larvae are ingested by marine mammals, the larvae molt twice and develop into adult worms. Adult worms produce eggs that are shed by marine mammals.



1 Marine mammals excrete unembryonated eggs.



2a Eggs become embryonated in water and L2 larvae form in the eggs.



2b After the L2 larvae hatch from eggs, they become free-swimming.



5 Fish and squid maintain ▲ L3 larvae that are infective to humans and marine mammals.



4 Infected crustaceans are eaten by fish and squid. Upon the host's death, larvae migrate to the muscle tissues, and through predation, the larvae are transferred from fish to fish.



3 Free-swimming larvae are ingested by crustaceans and they mature into L3 larvae.

Для учебных целей

Особенности инвазии:

- Личинки анизакид. не развиваются у человека до половозрелой формы
- Личинки чаще локализуются в полости тела и на печени, значительно реже в мускулатуре рыб.
- Заражение происходит при употреблении в пищу сырой и полусырой морской рыбы, креветок, кальмаров, осьминогов, **попутотовых** рыбопродуктов. Способствуют заражению пищевые привычки, обычаи кулинарной обработки рыбы - употребление икры слабого посола, национальных блюд, не требующих тщательной термической обработки - «хе», «тела», «сацими»

- Живые личинки анизакид, проглоченные с рыбой или рыбопродуктами активно внедряются головным концом в подслизистую любого отдела - от желудка до толстого кишечника, но чаще - желудка и тонкой кишки. Возникающее воспаление сопровождается эозинофильной инфильтрацией, отеком, геморрагиями, изъязвлением до развития эозинофильного флегмонозного энтерита.
- Анизакидоз протекает как острое заболевание. Инкубационный период при желудочной локализации процесса от 1 до 12 часов, при кишечной локализации - 1-2 недели. Инвазия может проходить под диагнозами аппендицита, язвенной болезни, гастрита, перитонита, холецистита, непроходимости кишечника, рака поджелудочной железы и др.

- Личинки анизакид очень стойки к воздействию различных факторов и могут долго жить в мертвой рыбе. Они стойки к низким температурам. Охлаждение рыбы до -4°C длительное время не вызывает гибели личинок. Показано, что и после гибели рыбы они могут долго находиться в воде и свободно плавать. Личинки рода *Anisakis* при слабом посоле сельди и охлаждении до -3°C остаются живыми около 1 месяца! Личинки гибнут при температуре -18 градусов через 14 суток, при температуре -20°C за 24 ч, при -30 — в течение 10 минут. Также личинки не выдерживают температур более $+60$ градусов.

Диагностика анизакидоза:

- Сбор анамнеза. На этом этапе важной информацией также является возможность пребывания больного в географических эндемичных очагах.
- Анализ клинических данных (симптомов, которые характерны для кишечной и желудочной форм заболевания).
- Исследование рвотных и каловых масс на наличие личинок. Идентификация паразита до рода и вида возможна при исследовании личинок, удаленных при эндоскопии или хирургическом вмешательстве
- Контрастная рентгенография и эндоскопия

Для учебных целей

- Исследование резецированных при хирургических операциях участков желудка и кишечника.
- Фиброгастродуоденоскопия, которая позволяет выявить наличие отеков и эрозий слизистой оболочки ЖКТ.
- Исследование крови - умеренный лейкоцитоз и эозинофилия
- Определение иммуноглобулинов класса G, специфических к антигенам анизакид (ИФА - диагностика).

Для учебных целей