

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Северный государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

**ОСНОВЫ
ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ПРОТОЗОЙНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Учебное пособие

Архангельск
2018

УДК 616.993.1 (075)
ББК 55.1
О 75

Рецензенты:

заведующий кафедрой медицинской биологии Северо-Западного государственного медицинского университета, доктор медицинских наук ***С.В. Костюкевич***;

заведующая кафедрой клинической биохимии, микробиологии и лабораторной диагностики Северного государственного медицинского университета, доктор медицинских наук, профессор ***Т.А. Бажукова***

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Северного государственного медицинского университета

Основы лабораторной диагностики протозойных заболеваний: учебное пособие / сост. Н.А. Бебякова, Ю.М. Никонова, А.В. Хромова, И.А. Шабалина. – Архангельск: Изд-во Северного государственного медицинского университета, 2018. – 98 с.
ISBN 978-5-91702-289-5

Учебное пособие содержит информацию об особенностях лабораторной диагностики распространенных протозоозов человека и биологии возбудителей данных болезней, а также краткую информацию об эпидемиологии и клинических проявлениях протозойных заболеваний. В пособии размещены задания для самоконтроля в виде тестов, ситуационных задач и немых микрофотографий.

Предназначено для студентов, обучающихся по специальности 30.05.01. «Медицинская биохимия».

УДК 616.993.1 (075)
ББК 55.1

ISBN 978-5-91702-289-5

© Северный государственный
медицинский университет, 2018

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	4
Список сокращений	5

РАЗДЕЛ 1

1.1. Лабораторная диагностика протозойных заболеваний	6
1.2. Микроскопические методы лабораторной диагностики	7
1.3. Серологические методы лабораторной диагностики	11

РАЗДЕЛ 2

2.1. Общая характеристика паразитических простейших	12
2.2. Лямблия кишечная (<i>Lamblia intestinalis</i> , <i>Gardia Intestinalis</i> , <i>Gardia Lamblia</i>)	16
2.3. Трихомонада урогенитальная (<i>Trichomonas vaginalis</i>)	20
2.4. Трихомонада кишечная (<i>Trichomonas hominis</i>)	24
2.5. Лейшмании (<i>Leishmania</i> sp.)	27
2.6. Трипаносомы (<i>Trypanosoma</i> sp.)	31
2.7. Амеба дизентерийная (<i>Entamoeba histolytica</i>)	38
2.8. Блостоцистис (<i>Blastocystis hominis</i>)	44
2.9. Балантидий кишечный (<i>Balantidium coli</i>)	47
2.10. Крипоспоридии (<i>Cryptosporidium</i> sp.)	49
2.11. Токсоплазма (<i>Toxoplasma gondii</i>)	51
2.12. Малярийный плазмодий (<i>Plasmodium</i> sp.)	56

РАЗДЕЛ 3

3.1. Тестовые вопросы	70
3.2. Ситуационные задачи	85
3.3. Идентификация простейших по микрофотографиям	91
Ответы к тестовым заданиям	93
Краткие ответы на ситуационные задачи	93
Краткие ответы к заданию по идентификации микрофотографий	94
Список литературы	95

ПРЕДИСЛОВИЕ

Одним из направлений клинической лабораторной диагностики является диагностика паразитарных заболеваний человека. Большинство паразитарных заболеваний не имеет собственной клинической картины, поэтому окончательный диагноз ставят на основании результатов различных лабораторных исследований. Одной из широко распространенных групп паразитарных заболеваний являются протозоозы.

Учебное пособие посвящено особенностям лабораторной диагностики протозоозов и содержит три раздела. Первый раздел раскрывает основные принципы и методы лабораторной диагностики протозойных заболеваний. При этом акцент в учебном пособии сделан на традиционных методах микроскопии. Второй раздел включает общую характеристику и систематику основных паразитических простейших и комменсалов организма человека. Характеристика каждого простейшего содержит информацию о морфологии, основных особенностях жизненного цикла, краткую информацию о вызываемом заболевании и эпидемиологии протозооза, а также содержит материал об особенностях лабораторной диагностики. В данном разделе размещено большое количество фотографий с комментариями и рисунков, которые иллюстрируют диагностические признаки простейших. Третий раздел включает задания для самоконтроля: тесты с выбором одного правильного ответа, ситуационные задачи и задания по идентификации микрофотографий простейших. Все задания имеют краткие ответы.

Учебное пособие предназначено для обучающихся по специальности 30.05.01. «Медицинская биохимия» и может быть использовано в преподавании дисциплин, включающих элементы клинической лабораторной диагностики протозойных заболеваний.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВИЧ – вирус иммунодефицита человека

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ИФА – иммуноферментный анализ

МУК – методические указания

РИФ – реакция иммунофлюоресценции

СПИД – синдром приобретенного иммунодефицита

ЦНС – центральная нервная система

Ig – иммуноглобулины

SP – сокращенно от «speciales» – виды

ПЦР – полимеразная цепная реакция

♀ – символ, использующийся для обозначения женского организма

♂ – символ, использующийся для обозначения мужского организма

РАЗДЕЛ 1

1.1. Лабораторная диагностика протозойных заболеваний

Большинство паразитарных заболеваний человека не имеет четко выраженной собственной клинической картины, поэтому, как правило, окончательный диагноз ставят на основании результатов лабораторных исследований. Особенности лабораторной диагностики паразитарных заболеваний описаны в нескольких методических указаниях, утвержденных Главным государственным врачом РФ.

Методические указания «Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов» (МУК 4.2.3145-13) устанавливают порядок методов отбора проб, методов лабораторных исследований биологического материала для обнаружения возбудителей гельминтозов и протозоозов, определения их видовой принадлежности.

Методические указания «Лабораторная диагностика малярии и бабаезиозов» (МУК 4.2.3222-14) регулируют порядок применения метода отбора проб и методов лабораторных исследований биологического материала с целью обнаружения возбудителей малярии и бабезиозов, определения их видовой принадлежности. Особенности лабораторной диагностики малярии более подробно рассматриваются в соответствующем разделе.

Методические указания «Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний» (МУК 3.2.1173-02) включают информацию об отборе проб, хранении и транспортировке материала для серологических исследований; общие сведения об инвазиях, выявляемых серологическими методами; основные принципы проведения серологических методов исследования и др.

Методы, используемые для лабораторной диагностики паразитарных заболеваний, в том числе протозоозов, можно разделить на несколько групп:

- микроскопические методы позволяют визуально выявить паразита в биологическом материале;
- экспресс-диагностика на основе иммунохроматографической реакции позволяет определять антигены паразита в пробах кала;

- полимеразная цепная реакция (ПЦР-диагностика) позволяет идентифицировать ДНК паразита в различном биологическом материале;
- серологические методы позволяют выявлять специфические антитела к данному паразиту в крови.

1.2. Микроскопические методы лабораторной диагностики

В зависимости от места локализации простейшего в организме человека материалом для микроскопического исследования может быть кал, кровь, дуоденальное содержимое (проба А), спинно-мозговая жидкость, отделяемое мочеполовых путей, образцы пунктатов лимфатических узлов и костного мозга, материал из язв кожи и слизистых (табл. 1).

В практической деятельности врача клинико-лабораторной диагностики часто используются **копрологические методы**. Среди данных методов выделяют основные и специальные методы. Основным методом лабораторного исследования является *седиментация* (осаждение), которое предполагает предварительную обработку фекалий химическими реактивами, в результате чего паразитарные объекты выпадают в осадок, т.к. их удельный вес больше веса реагентов. Осадок исследуют под микроскопом. Существуют несколько разновидностей данного метода: формалин-эфирная, уксусная седиментация.

Подготовка к исследованию методом седиментации включает следующие этапы:

1) в центрифужные пробирки, содержащие 10% раствор формалина, помещают пробу кала весом 1 г (формалин можно заменить 5% водным раствором уксусной кислоты); 2) перемешивают; 3) фильтруют; 4) доливают эфир; 5) энергично встряхивают; 6) центрифугируют, в результате центрифугирования образуется 4 слоя: осадок, раствор формалина, коагулированный белок и фекальный детрит – «пробка», сверху эфир с жирами (рис. 1); 7) верхние 3 слоя удаляют (резко опрокидывают пробирку); 8) осадок суспендируют, 1–2 капли помещают на предметное стекло в каплю 2% раствора Люголя; 9) микроскопируют (окуляр х10, объектив х40).

Методы седиментации позволяют обнаружить почти всех кишечных простейших: цисты и трофозоиты жгутиковых и амёб, балантидия, основные формы бластоцист, ооцисты изоспор. При условии 2–3-кратного исследования кала или сбора в консервант трех порций кала методы седиментации являются наиболее информативными из всех существующих методов для микроскопической диагностики простейших кишечника.

К **специальным методам** копрологических исследований относят методы влажного мазка с физиологическим раствором, раствором Люголя или метиленовым синим; методы приготовления постоянных окрашенных препаратов (трихромовый метод, модифицированный метод окраски по Цилю-Нильсену).

Для приготовления **влажного мазка** свежего кала на предметное стекло предварительно наносят 1–2 капли физиологического раствора, раствора Люголя или метиленового синего, порцию кала смешивают с раствором на предмете стекле, накрывают покровным стеклом, микроскопируют (сначала с увеличением окуляра $\times 10$, объектива $\times 10$; затем меняют окуляр с увеличением $\times 40$, при необходимости можно осторожно использовать водную иммерсию с окуляром $\times 100$). Препарат должен быть почти прозрачным, чтобы можно было через препарат просмотреть газетный шрифт.

Данный метод позволяет проследить типичное движение трофозоитов кишечных простейших, но для этого материал необходимо доставить в лабораторию в течение 30–40 минут после забора, т.к. в дальнейшем трофозоиты жгутиковых, амёб и ресничных теряют подвижность и дегенерируют. Окраска раствором Люголя, метиленовым синим позволяет выявить особенности строения клетки (особенности оболочки, наличие вакуолей, гликогена, строение ядер и др.) и тем самым отличить простейшее от различных включений кала, дифференцировать цисты и трофозоиты амёб.

Постоянные окрашенные препараты нативного кала изготавливаются с применением фиксации и окрашиванием трихромовой краской или по Цилю-Нильсену. В результате окраски трихромом цитоплазма приобретает зеленовато-голубой или зеленый цвет; ядра, хроматоидные тела в цистах амёб окрашиваются в красный или фиолетовый цвет (рис. 2). Окраска по Цилю-Нильсену применяется для

специфической окраски ооцист кокцидий (криптоспоридиев и изоспор). Данные объекты окрашиваются в красный цвет.

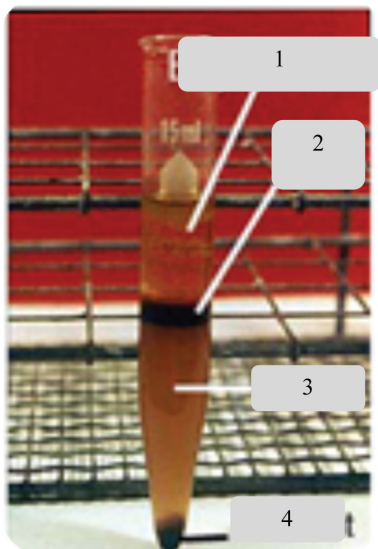


Рис. 1. Формирование слоев в пробирке после центрифугирования: 1 – эфир с жирами, 2 – «пробка», 3 – раствор формалина, 4 – осадок

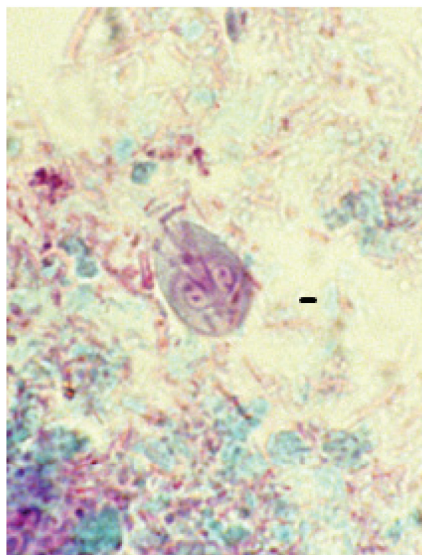


Рис. 2. Трофозоит лямблии кишечной, окраска трихромом

Таблица 1

Особенности микроскопической диагностики простейших

Материал	Простейшие	Метод исследования	Особенности забора/ доставки/хранения материала
Кровь	Трипаносомы	Нативный препарат крови (микроскопия с окуляром x10, объективом x40) Толстая капля (микроскопия с масляной иммерсией)	Забор крови из пальца
	Малярийный плазмодий	Толстая капля, тонкий мазок (микроскопия препаратов с масляной иммерсией)	Забор крови из пальца При подозрении на малярию кровь забирают вне зависимости от приступа и исследуют сразу

Продолжение таблицы 1

Материал	Простейшие	Метод исследования	Особенности забора/ доставки/хранения материала
Спинно-мозговая жидкость	Трипаносомы	Неокрашенный мазок спинномозговой жидкости микроскопируют сначала с объективом x10, окуляром x10, затем с окуляром x10, объективом x40)	Препарат исследуют сразу после забора для выявления подвижных клеток паразита
Костный мозг	Лейшмания общая	Окрашенный мазок костного мозга	Пунктат костного мозга забирают чаще всего из грудины (особенно у взрослых). Мазки готовят сразу после взятия пунктата
Инфильтрат кожных язв	Лейшмания кожная	Окрашенный мазок	Отбирают инфильтрат вокруг язвы кожи, содержимое из центральной зоны непригодно для диагностического исследования
Пунктаты лимфатических узлов	Трипаносомы	Неокрашенный мазок (микроскопию начинают с периферических участков, т.к. туда стремятся проникнуть трипаносомы, используют окуляр x10, объектив x40)	Препарат исследуют сразу после забора для выявления подвижных клеток паразита
Дуоденальное содержимое	Лямблии, изоспоры, криптоспоридии	Нативный мазок	Материал доставляют сразу после зондирования пациента. Проводят исследование порции «А»
Отделяемое мочеполовых путей	Трихомонада уrogenитальная	Нативный мазок, постоянный окрашенный препарат	Нативный мазок исследуют сразу, т.к. клетки паразита быстро теряют подвижность
Кал	Лямблии, криптоспоридии, изоспоры, амебы, балантидий, бластоцисты, жгутиковые кишечника	Методы седиментации, влажный мазок нативного кала, постоянные окрашенные препараты, окрашенные мазки по Цилю-Нильсену	Проба отбирается из разных участков в количестве не менее 50 г, помещается в сухую чистую посуду с крышкой. Проба доставляется и исследуется в день забора, если невозможно исследовать пробу сразу, ее можно хранить при температуре от 0 до 4°C не более суток или собрать в консервант

1.3. Серологические методы лабораторной диагностики

В клинической практике серологические методы исследования являются дополняющими к комплексу клинико-инструментальных и паразитологических методов диагностики паразитарных заболеваний. Серологические исследования проводят для дифференциальной диагностики паразитарного заболевания от заболевания со сходной клинической картиной другого генеза.

Назначение серологической диагностики:

- выявление инвазированных,
- оценка эффективности специфической терапии,
- выявление рецидива заболевания.

Основные протозоозы, выявляемые серологическими методами, – токсоплазмоз, амебиаз, лямблиоз (МУК 3.2.1173-02).

Для выявления антител к антигенам паразитов иммунологическими методами используют сыворотку крови обследуемого человека.

Кровь доставляют в лабораторию в день взятия и в тот же день готовят сыворотку. **Правила хранения** сыворотки допускают содержание образцов в холодильнике до исследования при 2–4 °С не более 4–6 дней. При длительном хранении (более 2 недель) сыворотку необходимо хранить в замороженном виде при температуре -20 – -25 °С (допускается глубокое замораживание до -70 °С). При хранении сыворотки в течение года необходимо содержать образцы в глубоком холоде, при температуре не выше -20 – -40 °С. Длительное хранение сывороток приводит к частичной потере активности антител, особенно иммуноглобулинов класса М (IgM).

Транспортируют сыворотку в замороженном виде (в сумках-холодильниках или термосах со льдом, можно использовать сухой лёд).

Подготовка сыворотки к исследованию предполагает полное размораживание, тщательное перемешивание, чтобы избежать потери концентрации антител. Нельзя замораживать и размораживать сыворотку более 1 раза.

Среди серологических методов часто используется иммуноферментный анализ (ИФА). **Принцип ИФА** заключается в специфическом взаимодействии антигена и антитела и выявлении образовавшегося комплекса антиген-антитело посредством ферментной метки (конъюгат).

Для проведения реакции один из компонентов (антигены или антитела) предварительно фиксируют на твердофазном носителе (в лунках полистироловых планшетов, стрипов и др.). Выявление образовавшегося комплекса осуществляется по изменению интенсивности окраски или оптической плотности субстратной смеси, содержащей вещество, с которым реагирует фермент, и индикатор, изменяющий цвет под действием продуктов реакции фермент – субстрат.

Преимущества ИФА:

- высокая специфичность и чувствительность,
- возможность использовать универсальные реагенты и отконтролированные диагностические тест-системы,
- возможность стандартизации проведения анализа и учета его результатов за счет автоматизации процесса.

РАЗДЕЛ 2

2.1. Общая характеристика паразитических простейших

Протозойные заболевания (протозоозы) обусловлены паразитированием представителей подцарства Простейшие (Protozoa) (табл. 2). Среди простейших около 50 видов являются специфическими паразитами и десятки видов факультативными паразитами человека. Условно простейших можно поделить на три группы: 1) непатогенные (вреда не приносят); 2) патогенные – возбудители протозойных заболеваний; 3) условно патогенные (вызывают заболевания в определенных условиях или у определенной категории лиц).

Представители подцарства Простейшие – типичные эукариоты. Клетка простейшего – одноклеточный организм, который выполняет все функции целостного организма.

Оболочка клетки представлена цитоплазматической мембраной, **форма тела** – непостоянная (саркодовые), постоянная – за счет пелликулы, которая образована белковыми фибриллами, располагающимися в периферическом слое цитоплазмы (жгутиковые).

Ядро. Большинство простейших содержит 1 ядро, но имеются виды с двумя или несколькими ядрами. Среди паразитических ви-

дов наблюдается ядерный дуализм (ядра отличаются по структуре и функциям) у инфузорий. Хроматин в ядре распределен в виде мелких глыбок по периферии ядерной оболочки или внутри ядра. В ядре располагается 1 или несколько кариосом. В процессе митоза они не дезинтегрируются. Способность хромосом во время деления компактизоваться связана с белками гистонами. У простейших эти белки неоднородны. Например, трипаносомиды не конденсируют линейные хромосомы в течение жизненного цикла, у этих простейших ДНК связана с гистоноподобными белками (возможно, эти белки еще не способны конденсировать хромосомы). Наиболее близки к типичным эукариотам по содержанию основных ядерных белков инфузории.

Органоиды клетки представлены органоидами общего назначения, которые присутствуют в любой эукариотической клетке, и специального назначения. В связи с анаэробным типом дыхания у многих паразитических простейших отсутствуют митохондрии. Например, они отсутствуют у лямблий, трихомонад, дизентерийной амебы. В остальных случаях митохондрии простейших аналогичны по структуре митохондриям большинства эукариот, особенность строения – трубчатая форма крист, число митохондрий от одной и более. Представители типа Апикомплексы содержат апикопласт (кроме криптоспоридий). Наиболее подробно изучен данный органоид у малярийного плазмодия. Апикопласт – многомембранная пластидоподобная органелла, расположенная вблизи ядра, содержащая кольцевую ДНК с реликтовым пластидным геномом. Предполагается, что в апикопласте происходят важные биосинтетические процессы (синтез важных аминокислот, липидов и др.).

Органоиды движения – жгутики, реснички, псевдоподии, ундулирующие мембраны. Рядом с основанием жгутиков (базальным тельцем) у некоторых простейших располагается **кинетоласт** – органелла, содержащая ДНК в виде большой кольцевидной молекулы и большого числа мелких кольцевидных молекул, имеющих видовую специфичность. **Коста и аксостиль** – образования, начинающиеся от базального тельца. Коста проходит вдоль основания ундулирующей мембраны. Аксостиль состоит из пучков микротрубочек, проходит вдоль клетки и может выпячиваться за пределы плазматической мембраны.

По *способу питания* простейшие – гетеротрофы, при этом одни виды поглощают пищу осмотически (растворенные вещества всей поверхностью тела), другие фагоцитируют твердые частицы.

Жизненный цикл простейших – последовательная смена жизненных форм. Жизненные формы: 1) трофозоит – основная форма, 2) генеративная форма – обеспечивает половое размножение, 3) циста – обеспечивает защиту и расселение. Процесс образования цисты – инцистирование, освобождение простейшего от оболочки цисты – эксцистирование.

Размножение. Среди простейших широко распространено бесполое размножение. Варианты бесполого размножения, характерные для простейших: 1) бинарное деление, 2) шизогония – множественное деление, 3) эндополигония – внутреннее почкование, 4) спорогония – деление зиготы с образованием спорозоитов. Ряд простейших (например, представители типа Апикомплексы) способны к половому размножению. Половое размножение начинается с гаметогонии – образования половых клеток, после чего происходит их слияние с образованием зиготы. Конъюгация – специализированный половой процесс у инфузорий, заключающийся в обмене генетической информацией между двумя клетками без последующего увеличения численности особей.

Таблица 2

Царство Животные, Подцарство Protozoa (Простейшие)*

Общая характеристика систематической группы	Некоторые представители
Тип Sarcomastigophora Подтип Sarcodina	
Отряд Amoebida Характеризуются наличием псевдоподий, обычно одноядерные, отсутствуют жгутиковые стадии, имеется стадия цисты, большинство представителей – свободноживущие	Entamoeba histolytica Entamoeba coli Jodamoeba buetschlii Endolimax nana Acanthamoeba sp
Отряд Schizopyrenida Обычно одноядерные клетки, быстро формирующие псевдоподии, у большинства видов имеются временные жгутиковые стадии	Naegleria sp.
Подтип Mastigophora	
Подтип Mastigophora, класс Zoomastigophora характеризуются наличием одного или нескольких жгутиков, отсутствием хлоропластов	

Общая характеристика систематической группы	Некоторые представители
<p>Отряд Kinetoplastida Представители имеют свободный жгутик или прикрепленный к телу с помощью ундулирующей мембраны, кинетосому, кинетопласт, среди представителей много паразитических видов</p>	<p><i>Trypanosoma cruzi</i> <i>Trypanosoma gambiense</i> <i>Leishmania tropica</i> <i>Leishmania donovani</i></p>
<p>Отряд Retortomonadida Представители имеют два или четыре жгутика, один из жгутиков направлен назад и ассоциирован с цитостомом; отсутствуют митохондрии и комплекс Гольджи; имеют одно ядро, имеется стадия цисты</p>	<p><i>Chilomastix mesnili</i></p>
<p>Отряд Diplomonadida Некоторые представители имеют билатеральную симметрию, несколько жгутиков, отсутствуют митохондрии и комплекс Гольджи, цисты имеются</p>	<p><i>Lamblia intestinalis</i> (<i>Gardia intestinalis</i>, <i>Gardia lamblia</i>)</p>
<p>Отряд Trichomonadida Представители обычно имеют четыре-шесть жгутиков, один из жгутиков может быть прикреплен к клетке ундулирующей мембраной, у большинства имеется аксостиль, цисты встречаются редко, большинство представителей – паразиты</p>	<p><i>Trichomonas vaginalis</i> <i>Trichomonas hominis</i> <i>Dientamoeba fragilis</i></p>
Тип Apicomplexa	
<p>Представители снабжены апикальным комплексом, который обычно состоит из полярных колец, роптрий, микронем, коноида, субпелликулярных микротрубочек. В жизненном цикле наблюдается чередования полового и бесполого поколения. Все виды являются паразитами</p>	
<p>Класс Sporozoasida, подкласс Coccidiasina В жизненном цикле присутствуют стадии шизогонии, гаметогонии, спорогонии. Жгутики присутствуют у микрогамет некоторых представителей, псевдоподии, при их наличии, используются только для питания. Характерен гетероксанный или моноксанный жизненный цикл. Большинство видов – паразиты позвоночных</p>	
<p>Подотряд Eimeriorina Неподвижная зигота, спорозоиты обычно заключены в спороцисту, микрогамонт образует много микрогамет. Жизненный цикл гетероксанный или моноксанный</p>	<p><i>Isospora belli</i> <i>Toxoplasma gondii</i> <i>Cryptosporidium parvum</i></p>
<p>Подотряд Haemosporina Микрогамонты образуют восемь жгутиковых микрогамет, зигота подвижная (оокинета), жизненный цикл гетероксанный (со спорогонией у беспозвоночных и шизогонией у позвоночных). Передача простейших происходит через кровососущих насекомых</p>	<p><i>Plasmodium vivax</i> <i>Plasmodium ovale</i> <i>Plasmodium falciparum</i> <i>Plasmodium malariae</i></p>

Общая характеристика систематической группы	Некоторые представители
Тип Ciliophora	
Представители типа имеют два ядра, органоидом движения являются реснички, обычно присутствуют сократительные вакуоли	
Отряд Vestibuliferida Среди представителей встречаются свободноживущие или паразиты (часто в пищеварительном тракте позвоночных или беспозвоночных)	Balantidium coli

*В таблицу включены основные систематические группы и виды, имеющие медицинское значение.

2.2. Лямблия кишечная (*Lamblia intestinalis*, *Gardia intestinalis*, *Gardia lamblia*)

Морфология

Трофозоит имеет грушевидную форму, в боковой проекции – ковшеобразную, на вентральной стороне имеется «присасывательный» диск, по средней линии проходят аксонемы. В задней части цитоплазмы располагаются парабазальные тела – поперечные изогнутые стержни (их присутствие указывает на предцистную форму паразита). В передней части клетки находятся два ядра с крупной кариосомой. Органоиды движения – четыре пары жгутиков (передние, средние боковые) (рис. 5).

Циста овальной, эллипсоидной формы, длина составляет 12–14 мкм, ширина – 6–10 мкм. Ядра располагаются на одном из полюсов цисты, зрелая циста содержит 4 ядра, незрелая – 2 ядра. Вдоль оси цисты проходят аксонемы (рис. 3, 4).

Жизненный цикл

Цисты лямблий (инвазионная стадия) попадают в организм человека алиментарным способом (перорально). В двенадцатиперстной кишке из каждой цисты образуется два трофозоида, способных к бесполому размножению. Далее лямблии делятся продольным способом. Удвоение числа паразитов происходит каждые 8–12 часов. Они закрепляются на ворсинках тонкой кишки и используют питательные вещества с поверхности клеток кишечного эпителия. Продолжитель-



Рис. 3. Циста *Lambliа intestinalis*, окраска раствором Люголя. Хорошо просматриваются два ядра, аксонемы. Заметно, что содержимое цисты на более широком полюсе отделено от оболочки (видна серповидная щель)

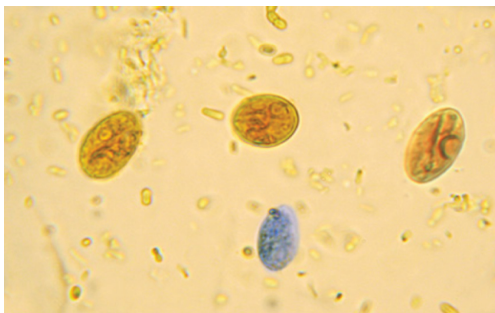


Рис. 4. Цисты *Lambliа intestinalis*, окраска раствором Люголя: сверху три цисты типичной структуры, внизу нежизнеспособная циста, такие цисты окрашиваются раствором Люголя в серо-голубой цвет. Нежизнеспособные цисты в небольшом количестве могут появляться после лечения

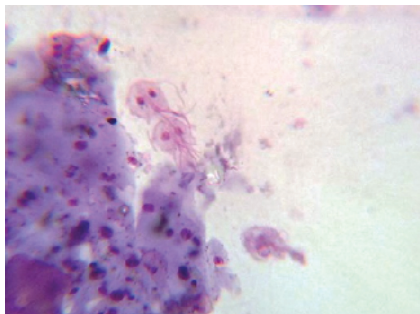


Рис. 5. Трофозоит *Lambliа intestinalis*

ность жизни лямблий в организме человека при отсутствии реинвазии колеблется от 3 до 40 дней, в среднем 4 недели. При прохождении через толстую кишку происходит инцистирование части трофозоитов. Цисты и трофозоиты лямблий выходят из организма хозяина с фекалиями. Их выделение происходит с периодичностью каждые 8–10-е сутки. Вне организма хозяина выживают только цисты. Они остаются жизнеспособными в воде при температуре 4–20 °С в течение 3 месяцев.

Лямблиоз распространен повсеместно: инвазированность лямблиями взрослого населения развитых стран составляет 3–5 %, развивающихся стран – 10–15 %; детей в организованных коллективах – 30–40 %. В РФ лямблиоз – наиболее массовое протозойное заболевание из числа учитываемых официальной статистикой. Ежегодно в России регистрируют 150 000 новых случаев. **Источник инвазии** – человек. **Механизм передачи** лямблиоза – фекально-оральный, **пути распространения** – водный (основной), контактный и пищевой. **Факторами передачи** чаще являются: некачественно очищенная водопроводная вода или помытые ею же фрукты и овощи, заглывание стоячей воды при купании или родниковой, содержащей цисты лямблии, реже – загрязнённые цистами руки.

Клинические проявления лямблиоза

Инкубационный период продолжается 10–15 дней. В большинстве случаев (у 80–85 % инвазированных) клиника заболевания отсутствует, то есть наблюдается бессимптомное паразитонительство. В ряде случаев возможны диспепсические проявления: снижение аппетита, тошнота, боли в животе, неустойчивый стул, метеоризм. Общее состояние больных остается хорошим, температура тела нормальная. Во всех возрастных группах на фоне лямблиоза вне зависимости от тяжести и остроты процесса часто отмечаются такие аллергические реакции, как аллергодерматит, экзема, бронхообструктивные синдромы (в том числе бронхиальная астма) и др. При этом длительно проводимая стандартная терапия не дает хорошего эффекта в отношении этой патологии, в то время как назначенное противолямблиозное лечение после проведенного обследования и диагностики лямблиоза приводит к уменьшению аллергических реакций вплоть до полного их исчезновения.

Лабораторная диагностика

Материал для исследования на лямблиоз – кал, дуоденальное содержимое (чаще порция А). В образцах оформленного и полуоформленного кала обнаруживаются преимущественно цисты простейшего, а трофозоиты – в жидком «стуле» и дуоденальном содержимом. Чтобы повысить эффективность диагностики, необходимо проводить многократное исследование проб кала, так как в большинстве случаев цисты выделяются периодически, и длительность «немых промежут-

ков» может составлять 8–12 дней. Поэтому рекомендуют проводить копрологические исследования с интервалом в одну неделю в течение 4–5 недель. Основные методы диагностики лямблиоза основаны на микроскопии инвазионного материала с целью обнаружения цист или трофозоитов лямблий.

Копрологические методы диагностики:

1. Основные – формалин-эфирная, уксусная седиментация (позволяет обнаружить только цисты паразита).

2. Специальные – нативный мазок с физиологическим раствором и раствором Люголя (позволяет обнаружить вегетативные формы, цисты). В препарате, приготовленном из свежевыделенного материала, можно наблюдать подвижные трофозоиты простейшего (движение вокруг своей оси, напоминающее падающий лист).

3. Экспресс-диагностика предполагает использование экспресс-тестов для определения антигенов лямблий в образцах кала с использованием коммерческих тест-систем (рис. 6). Преимущества экспресс-метода: прост в применении, не требует дорогостоящего оборудования. К недостаткам можно отнести снижение чувствительности метода при использовании материала из консерванта, при низкой интенсивности инвазии отмечается слабоположительный результат.



А



Б

Рис. 6. Набор для экспресс-диагностики антигенов лямблии в образцах кала (А), тестовое устройство (Б). Перед проведением теста навеску кала суспендируют в буферном растворе, затем несколько капель наносят на тест-полоску, через небольшой промежуток времени регистрируют результат. Появление контрольной полосы свидетельствует об отрицательном результате, появление контрольной и диагностической полосы указывает на положительный результат

Испытание таких тест-систем свидетельствует о высокой специфичности и чувствительности методики поиска антигенов лямблий в фекалиях, что позволяет рекомендовать её для применения в паразитологической лаборатории, в том числе при рутинном обследовании больших контингентов людей (Ириков О.А., 2008).

Среди *серологических методов* наиболее часто используют ИФА. В первый месяц после начала заболевания обнаруживаются специфические IgM, а IgG могут сохраняться в течение 12–15 месяцев после выздоровления. ИФА используют в качестве дополнительного метода в комплексе с основными методами лабораторной диагностики лямблиоза.

2.3. Трихомонада урогенитальная (*Trichomonas vaginalis*)

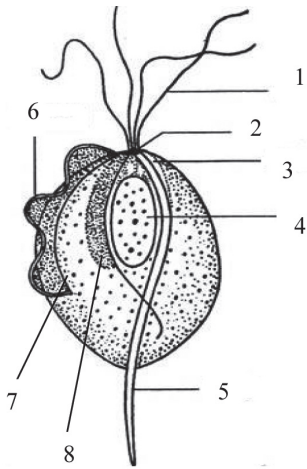
Морфология

Трофозоит имеет грушевидную форму, реже эллипсоидную или овоидную, размеры клетки – $4-32 \times 2-14$ мкм. Ядро крупное, продолговато-овальное, располагается в передней части клетки. Хроматин в ядре рассеян диффузно. Трофозоит имеет четыре свободных жгутика, а пятый жгутик, так называемый возвратный, располагается внутри ундулирующей мембраны (занимает 3/4 длины клетки). В цитоплазме жгутики прикрепляются к специальным структурам – блефаропластам. В неблагоприятных условиях *T. vaginalis* «прячет» жгутики в цитоплазму и трансформируется в овальную форму. Опорная структура ундулирующей мембраны – коста. Аксостиль – опорный органоид, который тянется через всю клетку и выходит за ее пределы на заднем конце в виде «острого хвоста» (рис. 7).

Циста у трихомонады отсутствует.

Жизненный цикл

Вегетативные формы урогенитальной трихомонады прочно прикрепляются к слизистой оболочке органов мочевыделительной системы мужчин и женщин, иногда могут проникать в подслизистый слой. Питаются в основном эндоосмотически, но могут фагоцитировать бактерии и лейкоциты. Размножение бесполое, продольным делением. Цист не образуют. *Trichomonas vaginalis* у мужчин поражает уре-



А

Б

Рис. 7. *Trichomonas vaginalis*

А – схема строения тропозоида: 1 – свободные жгутики, 2 – блефаропласты, 3 – цитостом, 4 – ядро, 5 – аксостиль, 6 – ундулирующая мембрана, 7 – коста (базальная нить), 8 – парабазальное тело. Б – тропозоиты *T. vaginalis* (из культуры), окрашенные по Романовскому-Гимзе

тру, предстательную железу, мочевой пузырь. У женщин паразитирует во влагалище, в цервикальном канале и реже – уретре, мочевом пузыре.

По данным ВОЗ, урогенитальным трихомонозом болеют 10 % населения земного шара. В России, начиная с 90-х гг. XX в., наблюдают стабильно высокий уровень заболеваемости мочеполовым трихомонозом – в среднем около 340 случаев на 100 тыс. населения, он занимает первое место среди всех заболеваний, передаваемых половым путем.

Источник инвазии – только человек. Основной и практически единственный путь передачи – половой. Трихомонадами заражаются женщины и мужчины преимущественно в возрасте 15–50 лет. Главную роль в распространении инвазии играют трихомонадоносители и больные латентной формой урогенитального (мочеполового) трихомоноза. **Группа риска** – люди, ведущие интенсивную половую жизнь и допускающие случайные половые связи. Край-

не редко возможно заражение через унитаз, общее полотенце, постельное белье.

Клинические проявления урогенитального трихомоноза (трихоманиаза)

Трихоманиаз может протекать бессимптомно длительное время. При клинически выраженном трихоманиазе у женщин наблюдаются обильные пенистые серо-зеленые выделения, часто с примесью крови, зуд и жжение в области наружных половых органов. Воспалительные изменения влагалища и шейки матки могут быть различной интенсивности, вплоть до обширных эрозий. У мужчин наблюдается картина уретрита и реже – простатита.

У женщин периоды острого течения трихомоноза иногда сменяются длительными периодами бессимптомного носительства. У мужчин заболевание обычно завершается спонтанным выздоровлением примерно через 1 месяц.

Лабораторная диагностика

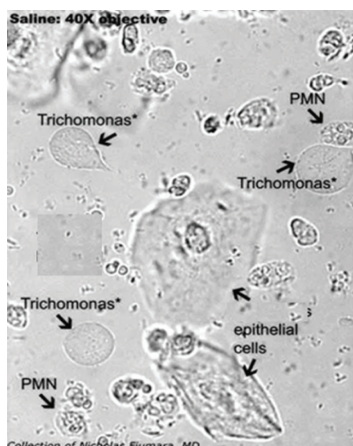
Методы, используемые в диагностике трихомоноза, подразделяют на микроскопические, культуральные, серологические, молекулярно-биологические (молекулярно-генетические) (рис. 8). Первые две методики на протяжении многих лет широко применяются в практике.



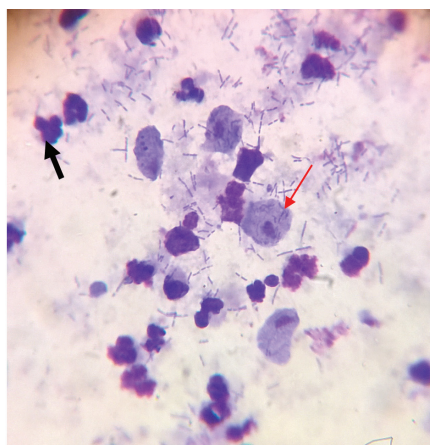
Рис. 8. Лабораторная диагностика мочеполового трихомоноза (Дмитриев Г.А., Сюч Н.И., 2005)

Основной метод – **микроскопия** вагинальных выделений женщин, отделяемого уретры мужчин. На основании полученного материала готовят нативные мазки или постоянные микропрепараты.

Нативный мазок. Материал смешивают с изотоническим раствором на предметном стекле, накрывают покровным стеклом, микрофотографируют при общем увеличении $\times 400$, возможно использование темнопольного конденсора. Трихомонады отличаются от других клеточных элементов своей подвижностью (толчкообразные движения с выбрасыванием жгутиков и движением ундулирующей мембраны), более сильной светопреломляемостью, размерами: трофозоиты по размерам меньше эпителиальных клеток и крупнее лейкоцитов. У живых трихомонад ядро не просматривается, в цитоплазме видна зернистость, вакуоли (рис. 9а). Ограничения метода: препарат необходимо изучать немедленно, так как трихомонады теряют подвижность.



А



Б

Рис. 9. *Trichomonas vaginalis* в нативном мазке из влагалища (А), в мазке, окрашенном по Романовскому-Гимзе (Б) (общее увеличение $\times 1000$)

А – видны крупные эпителиальные клетки с ядром в центре (epithelial cells), сегментоядерные лейкоциты (PMN), трофозоиты трихомонад (trichomonas).
Б. – в центре клетка трихомонады (красная, тонкая стрелка), в клетках хорошо заметно продолговатое ядро; вокруг трофозоитов располагаются лейкоциты (черная, толстая стрелка).

Требуется соблюдать правила исследования материала – использовать подогретые предметные стекла и изотонический раствор. Перегрев и подсыхание препарата приводят к гибели клеток, что затрудняет идентификацию паразита.

Возможные ошибки идентификации при микроскопии нативного мазка:

- если в препарате находятся подвижные бактерии, они могут приводить в движение лейкоциты, такие лейкоциты могут быть приняты за подвижные трофозои трихомонад. В таком случае следует обратить внимание на форму, в отличие от трихомонад, у лейкоцитов форма округлая, овальная, а размеры, как правило, не превышают 10 мкм. Цитоплазма лейкоцитов прозрачная, у трихомонад – зернистая, вакуолизированная, у сегментоядерных лейкоцитов, как правило, хорошо различимое ядро характерной формы.

- округлые, неподвижные и слабоподвижные, амебоидные трофозои трудноотличимы от других клеточных элементов. Основными дифференциально-диагностическими признаками в этом случае служат особенности цитоплазмы (наличие зернистости, вакуолей, отсутствие хорошо различимого ядра у клеток трихомонады), относительные размеры (атипичные трихомонады крупнее сегментоядерных лейкоцитов – наиболее часто встречающихся форменных элементов).

Постоянный микропрепарат окрашивают метиленовым синим, бриллиантовым зеленым, по Романовскому-Гимзе, по Грамму и др. На окрашенных препаратах просматривается ярко окрашенное ядро, оболочка паразита (рис. 9Б).

2.4. Трихомонада кишечная (*Trichomonas hominis*)

Морфология

Трофозоит грушевидной формы, его длина составляет 10–15 мкм, ширина – 7–10 мкм. В передней части клетки располагается ядро с небольшой кариосомой в центре. В цитоплазме клетки выявляются пищеварительные вакуоли (могут содержать бактерии, дрожжи), темные гранулы размером 1 мкм – гидрогеносомы. По всей длине клетки проходит аксостиль и заостренным концом выдается за пределы клет-

ки, в передней части тела располагается цитостом. Органоиды движения – 3–5 свободных жгутика, направленных вперед (основание жгутика – блефаропласт). Еще один жгутик образует ундулирующую мембрану вдоль всего тела простейшего и выходит за его пределы (рис. 10, рис. 11). *Циста* у трихомонады отсутствует.

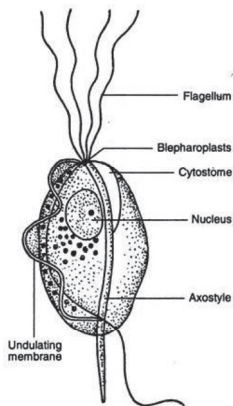


Рис. 10. Схема строения *Trichomonas hominis*

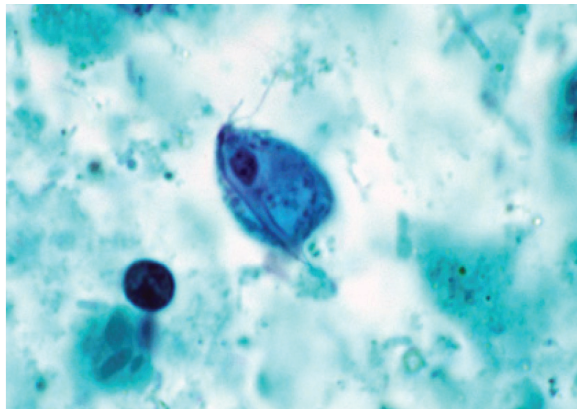


Рис. 11. Трофозоит *Trichomonas hominis*: на переднем конце видны жгутики, ядро; острый аккостиль выдается за пределы задней части клетки

Жизненный цикл

Вегетативные формы *Trichomonas hominis* локализуются в толстой кишке человека, питаются бактериями, иногда фагоцитируют эритроциты, размножаются продольным делением. Размножение кишечной трихомонады усиливается при диете, богатой клетчаткой и другими углеводами, при различных заболеваниях, сопровождаемых диареей. Цисты не обнаружены. *Trichomonas hominis* – условно патогенный организм. Под действием ряда факторов эти жгутиконосцы приобретают патогенные свойства и вызывают манифестные формы кишечного трихомоноза.

Устойчивость кишечных трихомонад во внешней среде довольно значительна. В жидких фекалиях при температуре 16–22 °С они сохраняются 100 ч, при температуре от -2 до +4 °С – 50–79 ч. В водопроводной воде трихомонады погибают обычно в течение 15–30 мин, но в комочках слизи могут оставаться живыми 2 суток.

Источник инвазии – человек. **Механизм передачи** кишечного трихомоноза – фекально-оральный, **пути передачи** – пищевой, водный и через бытовые предметы. **Факторы передачи** – невымытые овощи, фрукты, грязные руки и некипяченая вода, содержащие трофозоиты.

Клинические проявления кишечного трихомоноза (трихоманиаза) наблюдаются очень редко (преимущественно кратковременный неустойчивый стул).

Лабораторная диагностика

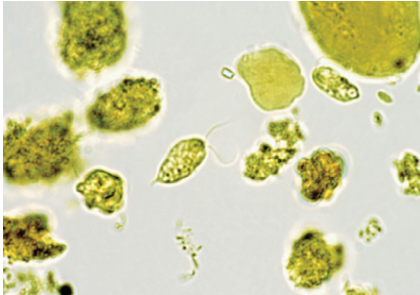
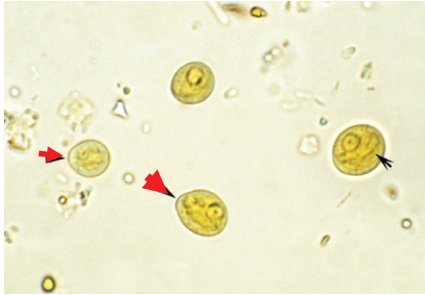
Метод *нативного мазка* жидких испражнений позволяет идентифицировать трофозоиты трихомонад. Движения клеток характеризуются как энергичные, толчкообразные, с поворотами вокруг продольной оси тела. В цитоплазме видны бактерии иногда эритроциты (в случае наличия крови в кишечнике). Трихомонад в нативном мазке дифференцируют от непатогенных жгутиков кишечника – *Chilomastix mesnili* и *Enteromonas hominis* (табл. 3).

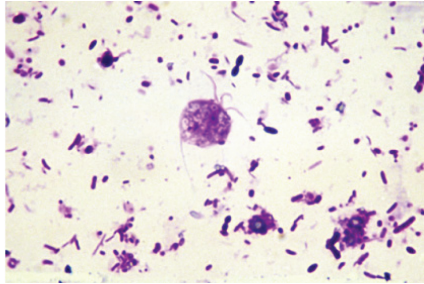
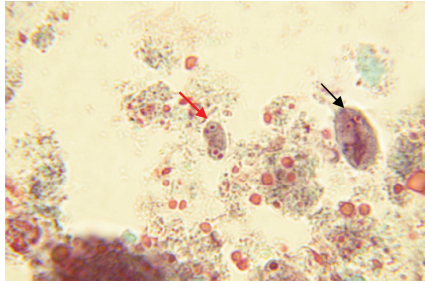
На препаратах, окрашенных по Гейденгайну, у трофозоитов просматриваются ундулирующая мембрана, жгутики.

Для диагностики может применяться *метод культивирования* на питательных средах.

Таблица 3

Сравнительная характеристика жгутиковых, локализирующих в толстом отделе кишечника

Вегетативная форма	Циста
<i>Chilomastix mesnili</i> (окраска Люголем)	
	
<p>Размер: 12-20×5-6 мкм. Форма тела вытянутая, по поверхности клетки проходит спиральная борозда. В передней части</p>	<p>Размер: длина 6-9 мкм. Форма: грушевидная или лимоновидная. Циста имеет выступ (красная стрелка), ядро прилегает</p>

Вегетативная форма	Циста
клетки расположено ядро с небольшой кариосомой, на уровне ядра расположена ротовая щель. Содержит четыре жгутика: три свободных жгутика лежат впереди, один лежит внутри ротовой щели	к стенке, в цитоплазме просматривается цитостом (черная стрелка)
Enteromonas hominis	
Окраска по Романовскому-Гимзе	
	
Размер: 4-8×3-6 мкм. Ядро расположено в передней части клетки, имеет эндосому. В передней части клетки три свободных жгутика	Размер: 4-8×3-6 мкм, форма овальная. Ядер 1, 2 или 4, которые располагаются у противоположных полюсов. На фотографии циста <i>Enteromonas hominis</i> (красная стрелка), <i>Lamblia intestinalis</i> (чёрная стрелка)

2.5. Лейшмании (*Leishmania* sp.)

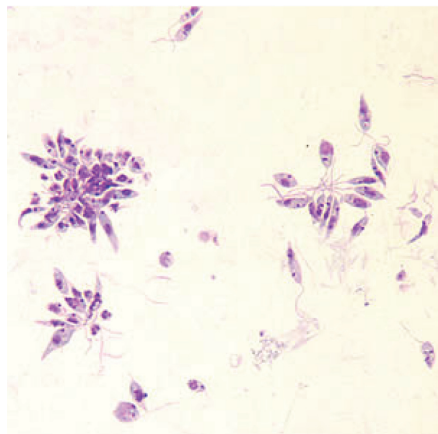
Паразитические простейшие рода *Leishmania* образуют группу морфологически близких видов. Классификация лейшманий основана на ряде характеристик: антигенных, изоферментных, биохимических признаках, по экологии возбудителя и др.

Морфология

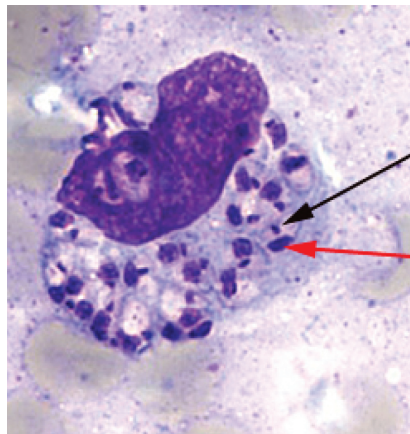
Основные морфологические типы лейшманий:

- промастигота – жгутиковая форма простейшего, которая образуется в организме переносчика и на питательных средах;
- амастигота – безжгутиковая внутриклеточная форма, которая образуется в клетках теплокровного хозяина (макрофаги, фагоциты, клетки ретикулоэндотелиальной системы, способные к фагоцитозу).

Жгутиковая форма простейшего продолговатой формы, размеры – 10–20 мкм. В центре клетки располагается ядро, а впереди лежит кинетопласт. Жгутик начинается от кинетосомы, которая располагается рядом с кинетопластом (рис. 12А). *Безжгутиковая форма* имеет округлую, продоговатую формы, размер – 2–5 мкм. Ядро располагается в центре или смещено к оболочке, рядом с ядром располагается кинетопласт (рис. 12Б).



А



Б

Рис. 12. *Leishmania* sp.: А – промастигота из культуры, Б – амастиготы в макрофаге, окраска по Романовскому-Гимзе (красная стрелка – ядро, черная стрелка – кинетопласт)

Жизненный цикл лейшманий протекает со сменой хозяев: позвоночного животного (представители семейства псовых, грызуны) или человека – окончательных хозяев и переносчика – москита (промежуточного хозяина).

Москит заражается амастиготами при кровососании инфицированного позвоночного животного или человека. В кишечнике москита лейшмании переходят в промастиготную стадию, размножаются продольным делением, развиваются в течение недели и превращаются в инвазионные формы, которые концентрируются в передних отделах кишечника и в хоботке москита. При повторном кровососании промастиготы от москита попадают в кровь и лимфу позвоночного хо-

зияна, фагоцитируются клетками ретикулоэндотелиальной системы, превращаются в амастиготы и размножаются простым делением надвое. Клетки, переполненные паразитами (100–200 шт. в одной), разрушаются. Амастиготы захватываются другими клетками, в которых процесс размножения повторяется.

Путь заражения – облигатно-трансмиссивный, **механизм** – инокуляция (непосредственно через укус москита). Наибольшую заболеваемость регистрируют у детей 5–9 лет. Переболевшие лица приобретают стойкий и длительный иммунитет. Повторные заболевания практически не регистрируют. У больных СПИДом лейшманиоз приобретает злокачественное течение и является причиной гибели больного. В России в 1999 г. диагностирован первый случай коинфекции «висцеральный лейшманиоз-ВИЧ».

Висцеральный лейшманиоз (возбудитель – *Leishmania donovani*) – природно-очаговое трансмиссивное заболевание. **Источник инвазии**, а также резервуар возбудителя – больной человек или инфицированные представители семейства псовых (шакалы, лисицы). Переносчики – москиты рода *Phlebotomus*. **Распространение:** Казахстан, Средняя Азия, Закавказье, Индия, Бангладеш, Непал, северо-восточная часть Китая, Северная и центральная Африка (Кения, Судан и др.), центральная и южная Америка. Ежегодно висцеральным лейшманиозом заболевает около полумиллиона человек, а умирает – около 50000.

Клинические проявления висцерального лейшманиоза

Инкубационный период длится от нескольких недель до нескольких месяцев. Заболевание проявляется повышением температуры тела до 39–40 °С. Характерно увеличение печени и селезенки, лимфатических узлов. Происходит значительное угнетение иммунитета, на фоне чего присоединяется вторичная инфекция, часто приводящая к пневмонии. Пневмония обуславливает высокую смертность больных висцеральным лейшманиозом.

Кожный лейшманиоз (возбудитель – *Leishmania tropica*) – природно-очаговое трансмиссивное заболевание. Установлено наличие двух клинических разновидностей болезни: остронекротизирующий (сельский, или зоонозный, тип) и поздно-изъязвляющийся (городской антропонозный тип). Возбудителем первой разновидности является *Leishmania tropica major*, второй – *Leishmania tropica minor*. Оба

возбудителя отличаются по биологическим особенностям и эпидемиологией процесса.

Так, *L. tropica major*, обуславливающая остронекротизирующий (сельский) тип заболевания, паразитирует на грызунах песчаных полей (суслики, песчанки, ежи, крысы), а также собаках и человеке. Переносчиками являются москиты рода *Phlebotomus*. Для сельского типа характерна сезонность, связанная с наличием москитов в теплое время года. Заболеваемость начинает отмечаться весной, возрастает летом и снижается к зиме.

L. tropica minor паразитирует только на человеке, но переносчиками являются те же москиты из рода *Phlebotomus*. Городской тип характеризуется отсутствием сезонности и длительным течением. Он может обнаружиться в любое время года. Заболевание носит спорадический характер. Эпидемические вспышки редки. Среди местного населения болеют преимущественно дети, среди приезжих – люди всех возрастов.

Распространение: страны Европы (Средиземноморский регион), Азии (Турция, Туркмения, Узбекистан и др.), Центральной и Южной Америки, Африки, Закавказье.

Клинические проявления кожного лейшманиоза

После укуса москита через 2-6 недель в месте укуса появляются небольшие эритематозные папулы, сопровождаемые зудом. В дальнейшем на коже формируются язвы. Процесс длится несколько месяцев и обычно заканчивается самопроизвольным заживлением язвы с образованием рубца.

Лабораторная диагностика

Микроскопические методы исследования основаны на обнаружении лейшманий в мазках пунктатов костного мозга, мазках кожных инфильтратов (или язв). Препараты микроскопируют с применением масляной иммерсии: окуляр x7 или x10, объектив x90 или 100. В мазке паразиты могут располагаться неравномерно, поэтому необходимо проводить перекрестный просмотр всего мазка. Если паразиты в препарате не обнаруживаются, но вероятность лейшманиоза высока, рекомендуют не увеличивать время просмотра одного препарата, а просмотреть следующий препарат. Препарат считают отрицательным, если паразиты не обнаружены после просмотра всего мазка.

Диагностические признаки возбудителей лейшманиозов в окрашенном препарате:

– в окрашенных мазках амастиготы обнаруживаются в макрофагах или вне клеток;

– паразиты имеют форму округлых, овальных, рисовидных телец длиной 3–5 мкм, шириной 1–3 мкм;

– цитоплазма окрашивается в серовато-голубоватый цвет, ядро в красно-фиолетовый (окраска по Романовскому–Гимзе), рядом с ядром хорошо просматривается кинетопласт (палочковидное образование, по размерам меньше ядра, но более интенсивно окрашено). Наличие кинетопласта – важный дифференциальный признак (рис. 12Б).

Метод культивирования предполагает посев клеточного материала: пунктата костного мозга, лимфатического узла в случае висцерального лейшманиоза, соскоба со стенок разреза края поражения при наличии язвы или папулы. Культуру просматривают через 5–10 дней. Результат считают положительным, если обнаруживаются промастиготы. В этом случае штамму дают наименование согласно международной классификации. Если через 10–15 дней промастиготы не обнаруживаются, результат считают отрицательным.

Иммунологические методы. Экспресс-метод диагностики висцерального лейшманиоза Kalazar detect (гК39) может быть использован для быстрой диагностики (особенно в полевых условиях).

ПЦР-диагностика позволяет обнаружить лейшманий в биологическом материале и идентифицировать их до вида.

2.6. Трипаносомы (*Trypanosoma* sp.)

Морфология

В жизненном цикле трипаносом встречаются разные морфологические типы:

- трипомастигота (трипаносомная форма) – имеет наиболее удлиненную форму, размер – до 20 мкм, в цитоплазме просматривается ядро, кинетопласт, рядом с кинетопластом расположена кинетосома, от которой отходит жгутик, он тянется вдоль тела и соединен с клеткой ундулирующей мембраной;

- метациклическая трипомастигота – морфологически почти идентична трипомастиготе, является инвазионной стадией для позвоночного;
- эпимастигота (критидиальная форма) – имеет продолговатую форму, размер – до 20 мкм, кинетопласт и кинетосома располагаются впереди ядра, жгутик и ундулирующая мембрана проходят вдоль передней половины тела;
- амастигота (внутриклеточная форма) – имеет круглую или продолговатую форму, размер – 2–5 мкм, ядро располагается в центре или смещено к оболочке, рядом с ядром находится кинетопласт (рис. 13).

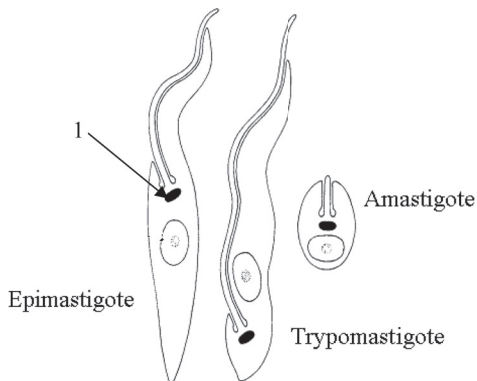


Рис. 13. Схема строения морфологических типов трипаносом: 1 – кинетопласт

Трипаносома африканская (*Trypanosoma brucei gambiense*, *Trypanosoma brucei rhodesiense*)

Жизненный цикл

В процессе смены фаз жизненного цикла паразиты меняют форму тела (у разных видов от 2 до 5 раз).

Цикл развития в организме позвоночного (человек, домашние свиньи, антилопы). Трипаносомы попадают в организм человека трансмиссивно при укусе (инокуляция) инвазированной мухи цеце в форме метациклической тримастиготы. После проникновения в кожу трипаносомы сохраняются несколько дней в подкожной клетчатке, а затем

проникают в кровяное русло, лимфу, спинно-мозговую жидкость, где, превратившись в трипомастигот, размножаются бинарным делением.

Цикл развития в переносчике. Попадая в желудок мухи цеце после кровососания, трипомастиготы к 3–4-му дню изменяются морфологически, становятся более узкими (эпимастиготы), интенсивно размножаются путем бинарного деления. К 10-му дню эпимастиготы проникают за перитрофическую мембрану желудка и мигрируют в сторону пищевода. К 20-му дню трипаносомы концентрируются в слюнных железах, где многократно делятся и переходят в короткую метациклическую инвазионную стадию. Развитие трипаносом в переносчике продолжается в среднем 15–35 дней в зависимости от температуры среды. Эффективное заражение мух происходит при температуре от 24 до 37 °С. После заражения муха цеце способна передавать трипаносом на протяжении всей жизни.

Локализация в организме теплокровных животных – плазма крови, лимфа, лимфатические узлы, ликвор, ткани спинного и головного мозга; в организме переносчика – слюнные железы.

Гамбийская форма африканского трипаносомоза (сонной болезни) – антропоноз. Основным **источник инвазии** – человек, дополнительный – свинья. Возбудитель передается от человека к человеку видами кровососущей мухи цеце (чаще *Glossina palpalis*.), которые тенелюбивы, активны в светлое время суток, обитают в зарослях растительности по берегам рек и ручьев. Достаточно одного укуса зараженной мухи, чтобы человек заболел сонной болезнью, поскольку минимальная инвазирующая доза трипаносом – 300–400 паразитов, а муха со слюной за один укус выделяет их около 400 тыс. Больной становится источником инвазии примерно с 10-го дня после заражения и остается им на протяжении всей болезни.

Родезийская форма африканского трипаносомоза (сонной болезни) – типичный зооноз. Основным **источник инвазии** в природе – антилопы. Многие другие виды диких животных и домашний рогатый скот – второстепенный резервуар инвазии. Домашний скот, особенно завозимый с других территорий, погибает от трипаносомоза. Переносчик – муха цеце (*Glossina morsitans*). Человек заражается обычно во время работ вне населенного пункта.

Распространение. Африканский трипаносомоз гамбийской формы встречается в ряде экваториальных районов Центральной и Запад-

ной Африки в антропогенных очагах культурных ландшафтов. Ежегодно регистрируется 10000 новых случаев заражения. Африканский трипаносомоз родензийской формы распространен в Восточной и Южной Африке, в основном в естественной среде. Им заболевают туристы, охотники, сезонные рабочие, каждый год около 1500 человек.

Клинические проявления африканского трипаносомоза

Инкубационный период продолжается от 1–3 недель до 2-х и более лет. Болезнь развивается постепенно и длится при гамбийской форме 6–10 лет, при родензийской – несколько месяцев. В месте укуса мухи цеце появляется очаг воспаления около 10 см в диаметре. Заболевание проявляется значительным повышением температуры тела. Характерно увеличение печени и селезенки, лимфатических узлов. Наиболее типично увеличение лимфоузлов на задней поверхности шеи. На поздней стадии наблюдается менингоэнцефалит, сопровождающийся нарастающей сонливостью и прогрессирующим слабоумием. Без лечения болезнь обычно заканчивается летально.

Трипаносома американская (*Trypanosoma cruzi*)

Жизненный цикл

Trypanosoma cruzi существует в четырех формах: амастиготах, эпимастиготах, промастиготах и трипомастиготах.

При питании триатомовых (поцелуйных) клопов кровью инвазированного человека или позвоночного животного (броненосцы, опоссумы, грызуны, обезьяны, собаки, кошки, кролики, свиньи и др.) попавшие в их кишечник трипомастиготные формы, размножающиеся бинарным делением, превращаются в эпимастиготы. На 3–4-й день после кровососания они локализуются в прямой кишке, где прикрепляются к эпителиальным клеткам. На 5-й день они округляются и дают начало сферомастиготам, которые трансформируются в трипомастиготы и через 6–15 дней после заражения превращаются в тонкие метациклические стадии трипаносом. С их появлением клопы приобретают способность заражать позвоночных.

Во время кровососания по мере заполнения кишечника насекомого происходит акт дефекации. В его испражнениях содержатся *Trypanosoma cruzi*, которые во время расчесывания места укуса попадают в микротравмы кожи и в место укуса. Попав в организм человека, метациклические формы (инвазионная стадия) трипаносом

внедряются в клетки его тканей, где превращаются в круглые или овальные амастиготы. В течение 1,5–2 месяцев они интенсивно размножаются простым делением и, заполняя всю клетку, образуют псевдоцисту. Вне клеток трипаносомы не размножаются. В кровеносном русле встречаются молодые, быстро движущиеся тонкие трипаносомы с продолговатым ядром и короткой свободной частью жгутика, и зрелые, медленно движущиеся широкие трипаносомы с овальным ядром и длинной частью жгутика.

Американский трипаносомоз (болезнь Шагаса) – трансмиссивная природно-очаговая протозойная болезнь, антропооноз. **Резервуаром и источником инвазии** в синантропных и природных очагах являются человек и некоторые дикие и домашние животные: броненосцы, опоссумы, грызуны, обезьяны, собаки, кошки, кролики, свиньи и др. **Основной путь передачи** американского трипаносомоза – трансмиссивный. Заражение человека происходит путем специфической контаминации – загрязнения ранки или слизистой оболочки глаз при укусе экскрементами клопов, в которых содержатся трипаносомы. укусы клопов вызывают сильный зуд и воспаление, что облегчает попадание паразита в организм человека. В кишечнике насекомого трипаносомы развиваются и сохраняются в течение всей его жизни – до 2 лет.

Распространение. Американский трипаносомоз распространен в Центральной и Южной Америке. В других частях света инвазия не встречается. В зоне возможного заражения *T. cruzi* живут более 35 млн человек. По предварительным оценкам среди них инфицировано не менее 16–18 млн.

Клинические проявления американского трипаносомоза

Инкубационный период продолжается 7–14 дней. В зоне укуса появляется очаг воспаления около 10–15 см в диаметре. Позже (через 1–2 недели) появляются головная боль, мышечные боли, значительно повышается температура тела, воспаляются лимфатические узлы. Паразиты поражают все ткани, но наибольшее их количество наблюдается в миокарде и мышцах толстого кишечника, что и обуславливает картину миокардита (боли в области сердца, аритмии, признаки сердечной недостаточности, дилатации толстого кишечника (запоры). Через 4–6 недель болезнь переходит в хроническую форму, при кото-

рой симптомы выражены слабо, но нарастает сердечная недостаточность, являющаяся основной причиной смерти больных американским трипаносомозом.

Лабораторная диагностика

Микроскопические методы диагностики основаны на обнаружении трипаносом в препаратах крови, спинно-мозговой жидкости, пунктатах лимфатических узлов.

Для приготовления *нативного препарата* кровь из пальца наносят на предметное стекло, добавляют каплю изотонического раствора, перемешивают, закрывают покровным стеклом и микроскопируют (окуляр х10, объектив х40).

Метод исследования толстой капли предполагает приготовление препарата «толстая капля» на стекле или на мазке, окрашивание по Романовскому–Гимзе и микроскопию с масляной иммерсией (окуляр х7, объектив х90 или х100).

Для исследования *неокрашенных мазков из лимфатических узлов* пунктат лимфатического узла наносят на середину предметного стекла, накрывают покровным стеклом и микроскопируют (окуляр х10, объектив х40).

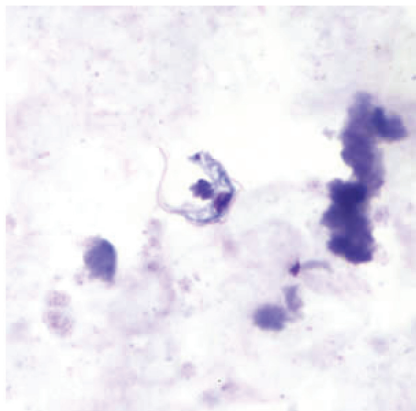
Для приготовления *неокрашенного мазка спинно-мозговой жидкости* материал центрифугируют, наносят каплю осадка на предметное стекло, накрывают покровным стеклом и микроскопируют сначала на малом (окуляр х10, объектив х10), затем на большом (окуляр х10, объектив х40) увеличении. Спинно-мозговую жидкость исследуют в терминальной стадии болезни. Забор материала проводят в случае уверенности, в том, что в крови паразиты отсутствуют, т.к. можно спровоцировать проникновение паразита в ЦНС.

Диагностические признаки возбудителей трипаносомоза:

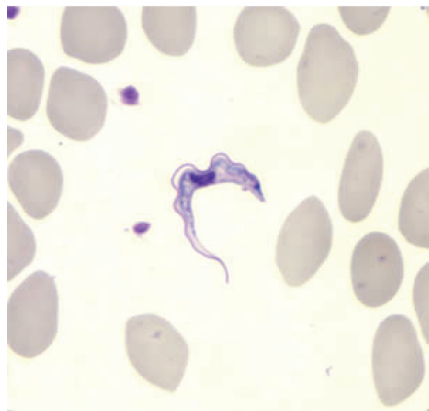
- В нативных мазках признаком наличия трипаносом служит активное передвижение паразита, а также пассивное перемещение эритроцитов или других клеток, вызванное энергичными движениями трипаносомы. Просмотр нативных мазков рекомендуется проводить при опущенном конденсоре.

- В окрашенных мазках по Романовскому–Гимзе цитоплазма паразита окрашивается в голубой цвет, а ядро, кинетопласт и базальное тело – в рубиново-красный цвет. Для дифференцировки видов обра-

щают внимание на форму и расположение ядра, размеры и локализацию кинетопласта (рис.14, 15).

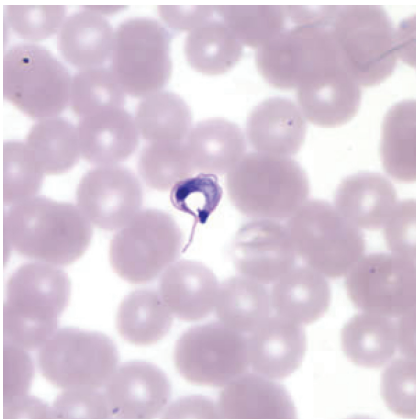


А

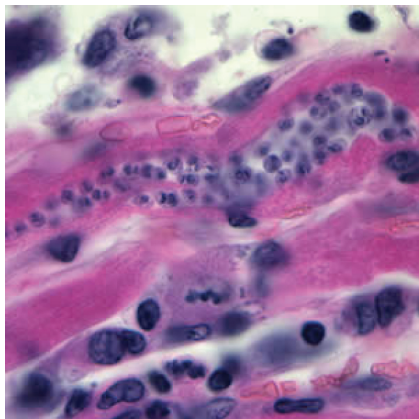


Б

Рис. 14. *Truansosoma brucei* spp: А – препарат «толстая капля», окрашенный по Гимза, Б – препарат «тонкий мазок», окрашенный по Гимза. Крупное ядро располагается вблизи середины тела, небольшой кинетопласт находится ближе к концу тела



А



Б

Рис. 15. *Truansosoma cruzi*: А – препарат «тонкий мазок», окрашенный по Гимза, в клетке хорошо заметно ядро и крупный кинетопласт; Б – амastиготы *Truansosoma cruzi* в ткани сердца, окраска гематоксилин и эозин

Кроме микроскопических методов для диагностики трипаносомозов используют серологические методы, методы культивирования, ксенодиагностику (когда исследуют насекомых, питавшихся на больном человеке, на содержание трипаносом).

2.7. Амеба дизентерийная (*Entamoeba histolytica*)

Морфология

Известны три формы существования дизентерийной амебы: 1) большая вегетативная форма (*magna*) – патогенная; 2) малая вегетативная форма (*minuta*, просветная форма) – непатогенная; 3) циста.

Большая вегетативная форма. Форма тела амебовидная, во время движения меняет свои очертания. Средний размер клетки составляет 23 мкм (15 – 45 мкм, в вытянутом состоянии до 60 мкм). Цитоплазма четко разделяется на 2 части – периферическую эктоплазму, внутреннюю эндоплазму. Данная форма фагоцитирует эритроциты, поэтому в цитоплазме скапливаются эритроциты на разных стадиях переваривания. Эритрофаги обнаруживаются в острой стадии болезни (рис. 16).

Малая вегетативная форма (просветная) имеет амебовидную (округлую, овальную) форму, размеры 13 – 20 мкм. В цитоплазме могут содержаться вакуоли с включениями в виде бактерий, детрита. Эритроциты данная форма не фагоцитирует.

Циста округлая, реже овальная, размер составляет 8 – 15 мкм. Незрелая циста содержит 2 ядра, зрелая – 4. В незрелых цистах могут содержаться хроматоидные тела (бруски с закругленными краями), гликогеновая вакуоль (видна при окрашивании). Цисты выявляются у здоровых носителей амебиаза (рис. 17).

Ядро у всех форм дизентерийной амебы имеет одинаковое строение: пузырьковидное, размер 3 – 7 мкм, хроматин в виде мелких глыбок сконцентрирован по периферии ядра так, что при микроскопии выглядит в виде сплошного кольца, в центре точечная кариосома. У живых клеток ядро не просматривается, заметно лишь в окрашенных препаратах (окраска Люголем или по Генденгайну).

Морфологический двойник *E. histolytica* (просветной формы и цисты) – *E. dispar*.

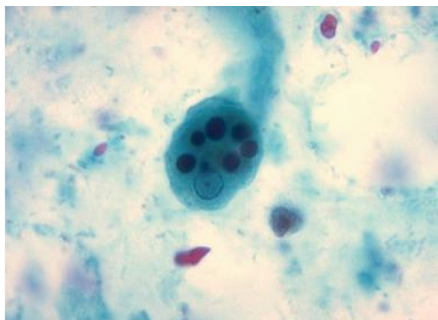


Рис. 16. *Entamoeba histolytica*, эритрофаг. В клетке хорошо просматривается ядро с периферическим хроматином и точечной кариосомой в центре. В цитоплазме находятся многочисленные эритроциты

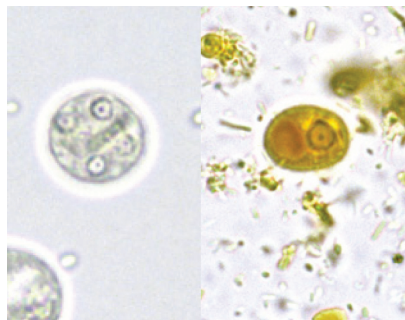


Рис. 17. Циста *Entamoeba histolytica/dispar*. Слева у зрелой цисты в фокальной плоскости заметны 4 ядра, хроматоидное тело. Справа одноядерная циста с гликогеновой вакуолью (окраска йодидом)

Жизненный цикл

Цисты *E. histolytica* с водой, с пищевыми продуктами (особенно овощами и зеленью), через руки, загрязненные цистами, попадают в ЖКТ. В тонком отделе кишечника под действием кишечных ферментов оболочка цисты растворяется и образуется восемь одноядерных амёб. В результате последующих делений они превращаются в **малые вегетативные, просветные формы** (f. minuta). Место обитания данных форм – просвет верхних отделов толстой кишки. По мере продвижения по кишечнику малые вегетативные формы инцистируются и выделяются с фекалиями.

Под влиянием неблагоприятных факторов, таких как высокая интенсивность инвазии; физико-химическая среда кишечника (характер секрета слизистой, нарушения перистальтики кишечника); иммунодефицит; голодание; стресс и др., происходит трансформация малых вегетативных (не патогенных) форм в **большие вегетативные формы** (способные к выделению протеолитических ферментов и эритрофагии), которые обитают в просвете нисходящей и сигмовидной кишки. В глубине пораженных тканей располагаются **тканевые формы** амёбы, которые в особо тяжелых случаях могут попадать в кровь и разноситься по всему организму.

Амебиоз – антропонозный кишечный протозооз. **Источником инвазии** является человек, больной амебиозом, или носитель дизентерийных амёб. **Механизм заражения** – фекально-оральный, реализуемый водным, пищевым и контактно-бытовым путями. **Факторами передачи** могут быть вода, продукты питания, контаминированные цистами (особенно сырые овощи и зелень), руки, загрязненные цистами амёб.

Распространение: манифестные формы заболевания амебиозом чаще наблюдаются в странах с тропическим и субтропическим климатом. Здесь его распространенность в общей популяции составляет от 4 до 21 %. В СНГ болезнь регистрируется преимущественно в Средней Азии и Закавказье. В северных широтах встречаются лишь паразитоносители, у которых в кишечнике обитает *f. minuta*, не обладающая способностью к гистолизу тканей.

Клинические проявления амебиоза

По клиническому течению амебиоз подразделяется на кишечный (амёбная дизентерия) и внекишечный с поражением (образованием абсцессов) печени, реже легких и головного мозга. Для амёбной дизентерии характерен частый до 10–15 раз в сутки стул с примесью крови и слизи и постоянная или приступообразная боль в животе. При этом у большинства больных температура тела остаётся нормальной или незначительно повышается.

Лабораторная диагностика кишечного амебиоза

1. Метод *нативного мазка* кроваво-слизистых испражнений позволяет обнаружить эритрофаги *E. histolytica*. Материал необходимо просмотреть не позднее 15–20 мин. после его получения. Желательно применять нагревательный столик, т.к. при охлаждении амёбы теряют подвижность и округляются, что затруднит их дифференцировку от других клеточных элементов. В свежем нативном мазке амёбы совершают активные поступательные движения, толчкообразно выбрасывают псевдоподии. Такой характер движения отличает дизентерийную амёбу от большинства других видов амёб кишечника (кроме *E. hartmanni*), у которых движение гораздо более медленное или почти незаметное. Наряду с особенностями движения, наличие эритроцитов в цитоплазме – главный признак крупной вегетативной формы *E. histolytica* (рис. 16).

У живых неокрашенных дизентерийных амёб ядра не видны. Это служит одним из важных дифференциальных признаков, позволяющих отличать их от сходных по размерам и форме кишечных амёб (*E. coli*), у которых в неокрашенных препаратах просматривается ядро с эксцентричной кариосомой. Нативный мазок можно окрасить прижизненным красителем, например, метиленовым синим, благодаря чему будут просматриваться особенности строения ядра дизентерийной амёбы.

Если невозможно провести исследование сразу после забора, материал можно поместить в консервант (Турдыева, Сафаралиева, Барроуза и др.), где амёбы могут сохраняться длительное время.

При лабораторной диагностике дизентерийных амёб необходимо отличать их от других видов амёб, обитающих в кишечнике. Морфологическое описание нескольких видов непатогенных амёб кишечника приведено в таблицах 4 и 5.


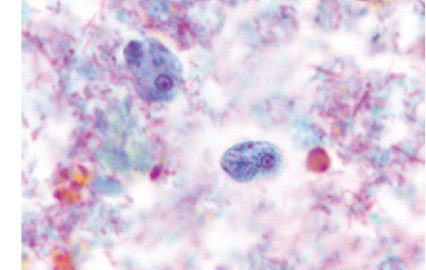
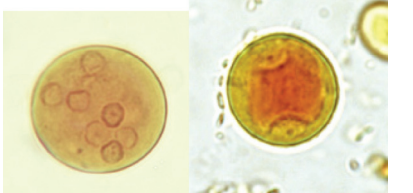
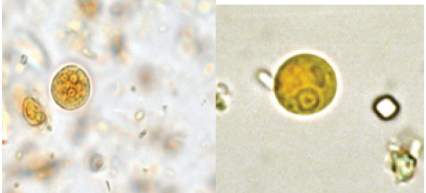
В случае обнаружения крупной вегетативной формы в заключении по результатам лабораторного исследования можно написать: обнаружена вегетативная стадия *E. histolytica* (эритрофаг). Если обнаружена просветная форма или циста, то в заключении по результатам исследования правильно будет указать: обнаружена вегетативная форма *E. histolytica*/*E. dispar* (просветная форма) или обнаружена циста *E. histolytica*/*E. dispar*, т.к. отличаются данные формы данных видов только на молекулярно-генетическом уровне.

2. Микроскопия *постоянных окрашенных препаратов* кала позволяет рассмотреть характерные особенности строения ядра и компоненты цитоплазмы амёбы.


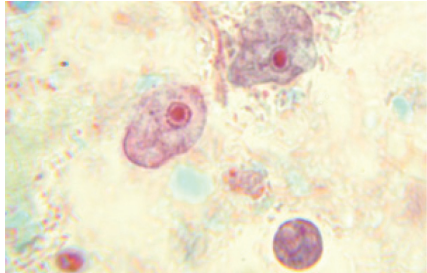
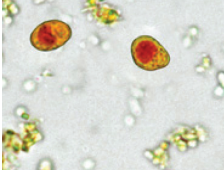
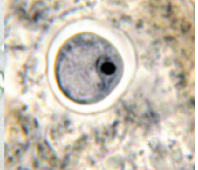
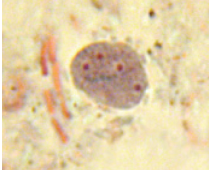
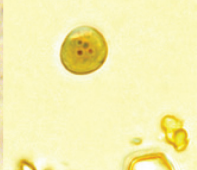
3. *Серологические методы*, применяемые для диагностики амёбиаза – ИФА, НРИФ. Данные методы позволяют в 75–80 % случаев подтвердить кишечный амёбиаз и в 95 % – внекишечный амёбиаз.

4. *ПЦР-анализ* позволяет провести дифференциальную диагностику *E. histolytica* с непатогенной *E. dispar*.

Сравнительная характеристика непатогенных амёб толстого отдела кишечника

Кишечная амёба (<i>Entamoeba coli</i>)	Амёба Гартманна (<i>Entamoeba hartmanni</i>)
<i>Вегетативная форма</i>	
<p>Форма клетки округлая, овальная, размер – 15–50 мкм. Деление на экто- и эндоплазму отсутствует, в цитоплазме содержатся множественные вакуоли с бактериями, грибами, детритом. В ядре периферический хроматин имеет вид крупных глыбок, которые распределены неравномерно. Точечная кариосома расположена эксцентрично</p>	<p>Форма клетки круглая, овальная, неправильная, размер – 5–10 мкм. Ядро имеет сходное строение с ядром дизентерийной амёбы. В цитоплазме содержатся вакуоли с бактериями, детритом</p>
	
<i>Циста</i>	
<p>Форма – округлая, овальная, реже неправильная, размер – 15–20 мкм. Зрелая циста содержит 8 ядер, незрелая – 1–6 ядер. Незрелые цисты могут содержать гликогеновую вакуоль с четкими границами, хроматидные тела с расщепленными концами</p>	<p>Форма – округлая, размер – 5–9 мкм. Содержит от 1 до 4 ядер. В центре цисты может содержаться гликоген, хроматидные тела, что затрудняет обнаружение ядер</p>
	
<i>Частота встречаемости</i>	
<p>У людей обнаруживается часто, инфицированность может достигать 50 %</p>	<p>Обнаруживается у 2–3 % обследованных</p>

Сравнительная характеристика непатогенных амieb толстого отдела кишечника

Йодамеба Бючли (<i>Jodamoeba buetschlii</i>)	Карликовая амeba (<i>Endolimax nana</i>)
<i>Вегетативная форма</i>	
<p>Может иметь круглую, овальную форму или неопределенные очертания. Размер составляет 8–16 мкм. На окрашенных препаратах видно пузырьковидное ядро, которое содержит крупную центральную эндосому, периферический ядерный хроматин, как правило, отсутствует, поэтому ядерная оболочка плохо заметна. В неокрашенном состоянии ядро выглядит в виде компактной массы, преломляющей свет. Цитоплазма содержит вакуоли</p>	<p>Имеет круглую, овальную форму, размер составляет 6–12 мкм, реже до 20 мкм. В цитоплазме отсутствует деление на экто- и эндоплазму, вакуоли содержат бактерии, детрит. В ядре содержится крупная кариосома (занимает 1/3 ядра)</p>
	
<i>Циста</i>	
<p>Может иметь округлую, овальную неправильную форму, размер – 8–16 мкм. Имеется крупная гликогеновая вакуоль, которая раствором Люголя окрашивается в бурый цвет. Вакуоль оттесняет ядро к оболочке</p>	<p>Имеет овальную, округлую форму, размер – 5–10 мкм. Зрелая циста содержит 4 ядра (напоминает пуговицу), незрелая – 2</p>
 	 
<i>Частота встречаемости</i>	
<p>Распространены повсеместно, обнаруживаются у 2–5 % обследованных</p>	

2.8. Блостоцистис (*Blastocystis hominis*)

Блостоцистис – представитель кишечных простейших, который наиболее часто встречается у человека. В настоящее время блостоцистоз относят к оппортунистическим заболеваниям (т.е. заболеваниям, которые развиваются на фоне значительного снижения иммунитета, например, у ВИЧ-инфицированных).

Морфология

Блостоцистис – простейшее, которое обладает широким полиморфизмом. Признают наличие не менее четырех морфотипов простейшего:

- *Вакуолярная форма* наиболее часто встречается при копрологических обследованиях. Форма сферическая, овальная, неправильная полигональная, средний размер 11–15 мкм. Центральная вакуоль занимает большую часть клетки (90 %) и оттесняет к периферии цитоплазму (располагается в виде тонко слоя). Ядра чаще от одного до четырех располагаются в цитоплазме, иногда хроматин собирается в виде полумесяца на одном из полюсов (рис. 18А, 18Б).

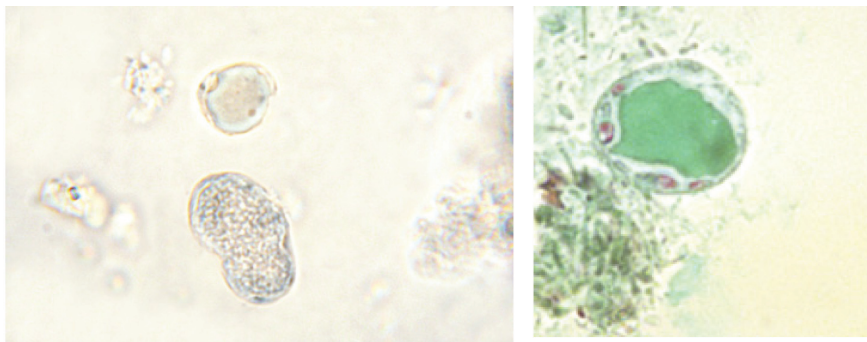
- *Амебоидная форма* содержит одну – две псевдоподии, которые медленно формируются и не участвуют в поступательном движении. Эта стадия содержит центральную вакуоль, которая занимает большую часть клетки. Размер варьирует от 5 до 15 мкм.

- *Гранулярная форма* в центральной вакуоли содержит гранулы разной формы и размеров, размеры – 5–10 мкм (рис. 18А).

- *Циста* имеет небольшие размеры – 2–5 мкм, округлую или овальную форму, от 1 до 4 ядер.

Жизненный цикл *B. hominis* полностью не изучен. Инвазирование человека и животных осуществляется цистами, которые оказавшись в толстой кишке, развиваются в вакуолярную форму. Вакуолярная форма делится митозом и может развиваться в амебоидную либо в гранулярную форму. Из вакуолярных форм так же формируются цисты, которые могут попадать в окружающую среду и инфицировать нового хозяина.

Механизм заражения человека *B. hominis* фекально-оральный, реализуемый преимущественно водным и контактно-бытовым путями (вода, предметы обихода), реже пищевым (фактором передачи в



А

Б

Рис. 18. Blastocystis sp. А – сверху вакуолярная форма, снизу гранулярная форма. Б – вакуолярная форма, окраска трихромом, центральная вакуоль окрашивается в зеленый цвет, четыре ядра окрашены в красно-фиолетовый цвет

таким случае будут служить продукты питания, загрязненные цистами). Имеются данные о способности цист выживать до 19 дней в воде при нормальной температуре, однако они очень чувствительны к экстремальным температурам и средствам дезинфекции.

Распространение: бластоцистоз широко распространён среди населения всех континентов, особенно в странах с жарким климатом, где регистрируют до 40 % инвазированных. На сегодняшний день бластоцистная инвазия, на территории РФ не подлежит регистрации, не входит в формы государственной статистической отчетности.

Клинические проявления бластоцистоза: симптомы энтероколита (боли в животе, диарея). У большинства инвазированных клиника бластоцистоза легкая и лишь у пациентов с иммунодефицитными состояниями развивается тяжёлая клиническая картина заболевания.

Лабораторная диагностика

Лабораторная диагностика бластоцистоза затруднена, т.к. простейшее обладает выраженным полиморфизмом, способностью имитировать других простейших. В ходе микроскопического исследования чаще всего обнаруживаются типичные вакуолярные или гранулярные формы простейшего. Диагностическое значение может иметь обнаружение более 5 паразитов в поле зрения при большом увеличении (общее увеличение x400). В этом случае рекомендуется указать в заключении об обнаружении простейшего.

Для выявления простейшего рекомендуют применять комплексный подход, который предполагает последовательное или параллельное выполнение всех доступных для лаборатории методов диагностики на клеточном уровне: исследование влажного мазка с физраствором и раствором Люголя, приготовление постоянных окрашенных препаратов, формалин-эфирное осаждение, культивирование *in vitro* на питательных средах (Федянина Л.В. и соавт., 2012).

Для *влажного мазка с физиологическим раствором* используют свежий кал. Микроскопия препарата проводится при обычном или фазово-контрастном освещении. Внутренние структуры простейших выявляются за счет различия в преломлении света. Для *влажного мазка с добавлением раствора Люголя 2%* используют свежий кал. Раствор Люголя контрастирует внутренние структуры простейшего. Если доставка материала в лабораторию требует времени, его можно фиксировать различными смесями (смесь Турдыева и др.). Такой материал подходит для *проведения формалин-эфирного осаждения, приготовления постоянных окрашенных препаратов*.

Для *выявления антигенов паразита* в кале разработаны коммерческие тест-системы (Copro ELISA Blastocystis). Для анализа можно использовать как свежий материал, так и фиксированный (например, формалином). Разработчики метода заявляют о высокой чувствительности (96,1 %) и специфичности (96,1 %) метода.

Метод *культивирования in vitro на питательных средах* позволяет выявить бластоцист в течение 3–4 дней, констатировать наличие или отсутствие амебоидных форм (данные формы ассоциируют с патогенным воздействием простейшего). Высказывается мнение, что данный метод является наиболее чувствительным методом детектирования бластоцистисов.

ПЦР-диагностика позволяет идентифицировать простейшего в кале, в культуре. Исследование генотипов бластоцистиса показало наличие у человека 9 субтипов, которые обладают разным патогенным потенциалом.

2.9. Балантидий кишечный (*Balantidium coli*)

Морфология

Вегетативные формы достигают крупных размеров: длина – 50–150 мкм, ширина 40–70 мкм. Форма яйцевидная, передний конец сужен и содержит клеточный рот (цитостом), который ведет в клеточную глотку (цитофаринкс). На заднем конце тела расположена анальная пора (цитопрокт). Ядерный аппарат – бобовидный макронуклеус и микронуклеус (часто не виден). В эндоплазме содержатся пищеварительные вакуоли с бактериями, грибами, зернами крахмала и др., могут содержаться эритроциты, лейкоциты. В передней и задней части находятся сократительные вакуоли. Тело покрыто ресничками, в области цитостома содержатся более сильно развитые реснички. Реснички обеспечивают вращательно-поступательное движение (рис.19).

Цисты сферической или овальной формы, покрыты двухслойной оболочкой, размер составляет 50–70 мкм. В цистах из окрашенных препаратов просматривается макронуклеус (рис. 20).

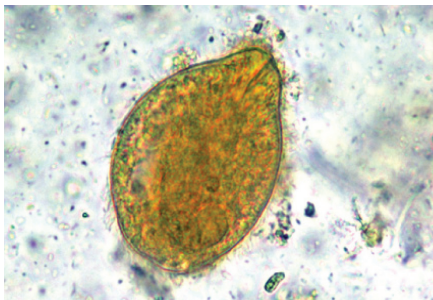


Рис. 19. *Balantidium coli*, трофозоит, окраска йодидом

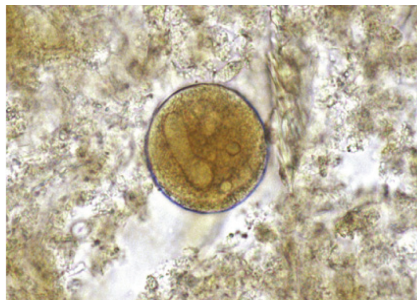


Рис. 20. *Balantidium coli*, циста, окраска – железный гематоксилин

Жизненный цикл

При несоблюдении правил личной гигиены в организм человека попадают цисты. В начальных отделах толстой кишки происходит экцистирование, и в просвет кишечника выходят вегетативные формы, которые обычно паразитируют в слепой, сигмовидной и прямой кишке. Паразит может выделять фермент гиалуронидазу, благодаря которому проникает в стенку толстого отдела кишечника и вызывает язвы.

При попадании трофозоитов в нижние отделы толстой кишки происходит инцистирование, вызываемое дегидратацией кала по мере продвижения к заднему концу прямой кишки. Зрелые цисты вместе с фекалиями выходят из организма. В испражнениях сохраняют жизнеспособность до 3-х часов

Балантидиаз – зоонозный кишечный протозооз. Основным **источником инвазии** являются свиньи, для которых балантидии, обитающие в их кишечнике, малопатогенны, реже мышевидные грызуны. Человек как источник инвазии играет незначительную роль, так как балантидии у людей обнаруживают редко. **Механизм заражения** – фекально-оральный, реализуемый водным и пищевым путями, а также при зоонозном контакте. Обычно инвазируется сельское население, контактирующее со свиньями или использующее загрязненную цистами балантидия воду и овощи. Несмотря на то, что инвазированность населения в сельских районах может быть довольно высокой, достигающей 4–5 %, манифестные формы заболевания встречаются редко, как правило, в виде спорадических случаев. *V. coli* погибает при pH ниже 5, поэтому заражение более вероятно у плохо питающихся людей с пониженной кислотностью желудка.

Распространение: балантидиаз встречается повсеместно, но чаще в зонах с влажным жарким климатом, особенно на территориях с развитым свиноводством.

Клинические проявления балантидиаза

В организме человека балантидии способны длительно существовать как комменсалы, не вызывая заболевания. При балантидиазе в толстом отделе кишечника развивается воспалительно-язвенный процесс. Различают острый и хронический балантидиаз. Для острой формы характерны боли в животе, длительные поносы с кровью и гноем, повышение температуры тела. Хроническая форма болезни встречается значительно чаще. При хронической форме периоды обострений, клиника которых совпадает с симптомами острой формы, чередуются с периодами ремиссий, во время которых клиника, как правило, отсутствует. При тяжёлой форме балантидиаза возможен летальный исход вследствие перфорации кишечника с развитием перитонита или возникновением балантидиозных абсцессов в печени, легких и других органах.

Лабораторная диагностика

Основной метод лабораторной диагностики – копрологический. Применяют *метод нативного мазка* свежевыделенных фекалий пациента на наличие вегетативных форм или цист. В таком препарате обращают внимание на крупные размеры клетки паразита. Цисты в фекалиях человека обнаруживаются редко. В случае отрицательного результата микроскопию мазков рекомендуют многократно повторять в течение 10–12 дней.

2.10. Крипоспоридии (*Cryptosporidium* sp.)

Патогенным для человека видом считается *Cryptosporidium parvum*.

Жизненный цикл

C. parvum локализуется чаще всего в тонкой кишке человека, где одновременно проходят два пути развития: половой (гаметогония) и бесполой (мерогония/шизогония). Заражение происходит перорально при проглатывании цисты. Затем цисты проникают в проксимальный отдел тонкой кишки, где разрушается оболочка цисты и освобождаются 4 подвижных спорозоида. Спорозоиты попадают в зону микроворсинок и задерживаются на границе эпителиальных клеток, не проникая в их цитоплазму, формируют паразитоформную вакуоль, внутри которой происходит развитие трофозоитов.

Трофозоиты растут и превращаются в меронты (шизонты) I типа, которые делятся на 6–8 мерозоитов, которые повторяют этот бесполой цикл развития (шизогония), образуя снова меронты I типа. Меронты II типа дают начало половому циклу развития (гаметогония). При их делении образуется 4 мерозоида, которые превращаются в микрогаметоциты и макрогаметоциты. Макрогаметоциты трансформируются в зрелые половые клетки (гаметы), способные к оплодотворению. При слиянии микрогаметоцитов и гамет образуется зигота, которая покрывается тонкой или толстой оболочкой и становится ооцистой. Тонкостенные цисты способны вызвать аутоинвазию, а толстостенные выделяются во внешнюю среду и способны заразить нового хозяина.

Весь цикл развития криптоспоридий от момента попадания цист в организм хозяина до выделения ооцист нового поколения – длится 4–7 дней.

Криптоспоридиоз – зоонозный кишечный протозооз. **Источником инвазии** *C. parvum* для человека являются домашние (собаки, кошки) и сельскохозяйственные (поросята, ягнята, телята) животные, грызуны и др., из желудочно-кишечного тракта которых ооцисты паразита вместе с калом попадают наружу и контаминируют почву и воду. Возбудитель болезни найден у домашних и диких птиц, грызунов. Возможна передача от человека к человеку. Полный цикл развития происходит в организме одного хозяина.

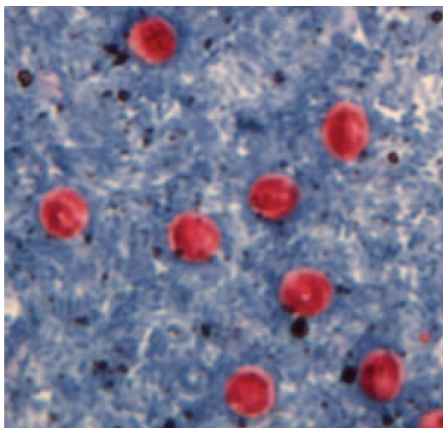
Механизм заражения – фекально-оральный, допускается возможность аэрогенной передачи и половым путем (у гомосексуалистов). **Факторами передачи** инфекции могут быть вода (в том числе плавательных бассейнов), пища (чаще молоко), грязные руки. Это одна из основных причин диареи в детских учреждениях. Криптоспоридиоз развивается чаще на фоне иммунодефицита (оппортунистическая инфекция). Заболевание относится к группе диареи путешественников.

Распространение: криптоспоридиоз распространен повсеместно.

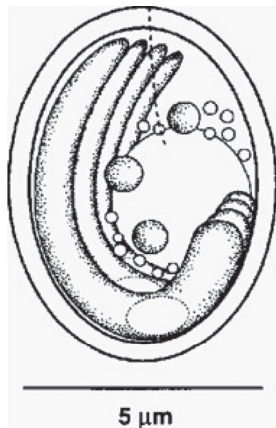
Клинические проявления криптоспоридиоза. Инкубационный период длится 3–5 суток. Обычно заболевание начинается остро: повышается температура тела до 38 °С и выше, наблюдается диарея (стул учащён до 10–12 раз в сутки, при этом в стуле отсутствуют слизь и кровь), боли в животе. У большинства пациентов заболевание длится 5–7 суток и заканчивается самопроизвольным выздоровлением. Однако у лиц с иммунодефицитом криптоспоридиоз протекает как тяжелое хроническое заболевание с длительной диареей и может привести к летальному исходу. У таких больных криптоспоридии поражают не только весь пищеварительный тракт, но и легкие, вызывая криптоспоридиозную пневмонию.

Лабораторная диагностика

Лабораторная диагностика криптоспоридиоза основывается на обнаружении ооцист криптоспоридий. *Ооциста* имеет округлую форму, размер 5–4,5 мкм, внутри содержатся четыре спорозоида и остаточное тело. Оболочка гладкая, двуслойная, от одного полюса к другому проходит линия – «шов», который раскрывается в момент эксцистирования (рис. 21Б).



А



Б

Рис. 21. Ооцисты *Cryptosporidium* sp.: А – окраска по Цилю–Нильсену, Б – схема строения

Ведущий метод обнаружения ооцист – микроскопия *препаратов, окрашенных по Цилю–Нильсену*. Для приготовления препарата используют жидкие нефиксированные фекалии, осадок после формалин-эфирной седиментации. При использовании методов седиментации ооцисты криптоспоридий могут остаться в слое эфира или этилацетата и не оседать в процессе центрифугирования, т.к. имеют небольшие размеры и массу. Поэтому рекомендуют увеличивать скорость или время центрифугирования.

В результате окрашивания ооцисты криптоспоридий окрашиваются в красный цвет (рис. 21А).

Доступны для применения *экспресс-тесты* для обнаружения антигенов *S. parvum* на основе иммунохроматографического принципа.

ПЦР-анализ позволяет обнаружить инвазию, если в материале содержатся единичные клетки.

2.11. Токсоплазма (*Toxoplasma gondii*)

В **жизненном цикле** токсоплазмы выделяют две фазы: кишечную – развитие паразита в клетках слизистой кишечника окончательного хозяина (представители семейства Кошачьи) и внекишечную – раз-

витие в тканях промежуточных хозяев. Промежуточные хозяева токсоплазмы – широкий круг позвоночных животных (млекопитающие, птицы, рептилии, всего около 400 видов, в том числе человек). В жизненном цикле паразита происходит чередование полового и бесполого размножения.

Кишечная фаза протекает в эпителии кишечника кошки. Окончательный хозяин заражается алиментарно при заглатывании как зрелых ооцист из внешней среды, так и тканевыми цистами, заключенными с тканями промежуточных хозяев. В эпителиальных клетках кишечника паразит размножается сначала бесполом путем (путем шизогонии). В результате из одной клетки паразита может образоваться до 30 мерозоитов, которые вновь внедряются в эпителиальные клетки и снова размножаются путем шизогонии. После нескольких последовательных циклов бесполого размножения начинается половое размножение. При этом мерозоиты в клетках эпителия образуют гаметы (макро- и микрогаметы), происходит оплодотворение с образованием зиготы. Зигота формирует оболочку и переходит в незрелую ооцисту. Под оболочкой ооцисты начинается спорогония – процесс, который заканчивается образованием зрелой ооцисты. Данный процесс начинается в кишечнике кошки, а завершается во внешней среде. Кошки начинают выделять незрелые ооцисты на 3–24-й день после инвазирования, а экскреция может продолжаться от 7 до 20 дней. Далее во внешней среде при доступе кислорода, температуре воздуха 4–37 °С и достаточной влажности спорогония завершается и образуется зрелая ооциста (содержит две спороцисты с четырьмя спорозоитами в каждой). При благоприятных условиях (температура 24 °С) процесс созревания во внешней среде может занять 2–3 дня, в дальнейшем инвазионную способность ооциста может сохранять на протяжении нескольких месяцев, иногда до 2 лет.

Внекишечная фаза происходит в организме промежуточных хозяев, а также окончательных хозяев. Промежуточные хозяева заражаются зрелыми ооцистами или тканевыми цистами алиментарно. С током крови и лимфы паразит попадает в клетки различных органов и тканей (ЦНС, поперечно-полосатой мускулатуры, печени и др.), где происходит бесполое размножение токсоплазмы путем эндодиогонии (т.е. образование двух дочерних клеток внутри материнской). Циклы

бесполого размножения повторяются. В конечном итоге внекишечная фаза заканчивается образованием тканевых цист, когда вокруг скоплений клеток паразита образуется оболочка. Такая циста может содержать до нескольких тысяч цистозоитов и сохранять жизнеспособность в организме хозяина много лет. Размножение паразита в тканях различных органов соответствует *острой стадии заболевания*. После прекращения процесса активного размножения в клетках и формирования тканевых цист острая стадия переходит в *хроническую стадию*, которая протекает латентно.

Распространение. Токсоплазмоз встречается повсеместно. Иммунологические исследования показали, что на Земле токсоплазмами заражено более 500 млн человек. Считается, что в настоящее время токсоплазмами инвазированы не менее 2 млрд человек, но у большинства из них инвазия протекает бессимптомно. Уровень инвазированности населения в различных странах увеличивается пропорционально возрасту и варьирует от 5–10 до 50–80 %.

Эпидемиология. Окончательные хозяева *Toxoplasma gondii* – представители семейства кошачьих, выделяющие с фекалиями во внешнюю среду ооцисты возбудителей, промежуточные – более 300 видов млекопитающих, включая человека, более 60 видов птиц, некоторые виды рептилий, рыб.

Основной путь заражения человека – *алиментарный*. В течение жизни значительное количество людей инфицируются ооцистами токсоплазмы через загрязненные продукты питания (овощи, зелень), через сырое мясо или яйца инвазированных животных, содержащее тканевые цисты. Ведущие факторы передачи: мясные продукты, свежие овощи и фрукты, непастеризованное молоко и молочные продукты. Дети младшего возраста легко инфицируются при контакте с почвой и песком, загрязненными фекалиями кошек. Второй путь передачи – *трансплацентарный*. Трансплацентарное поражение плода наступает при заражении матери во время беременности. Риск передачи инфекции резко возрастает с увеличением срока гестации: с 6 % при сроке 13 недель до 72 % при сроке беременности 36 недель. Возможен *гемоконтактный путь* (у ветеринарных работников, работников цехов мясопереработки), редко – *трансфузионный*, при трансплантации органов инфицированного донора.

Клинические проявления токсоплазмоза. По способу заражения различают приобретённый токсоплазмоз и врождённый (трансплацентарное инвазирование). Врождённый токсоплазмоз приводит к самопроизвольному прерыванию беременности или рождению ребёнка с патологией ЦНС (умственная отсталость, гидроцефалия) и глаз (ретинит). Приобретённый токсоплазмоз проявляется незначительным повышением температуры тела и слабым увеличением лимфатических узлов. Специфические симптомы отсутствуют. Острая стадия заболевания через 1–2 недели переходит в скрытую (латентную) форму хронического токсоплазмоза (паразитоносительство), которая протекает бессимптомно фактически в течение всей жизни человека. При нарушении нормальной работы иммунной системы, например, у больных СПИДом, хронический латентный токсоплазмоз переходит в активную, манифестную форму. В данном случае манифестный токсоплазмоз протекает в тяжелой форме (повышение температуры тела, увеличение лимфатических узлов, печени, селезенки, поражение глаз, нарушений функций сердечно-сосудистой системы), вплоть до септической, и может закончиться летально.

Лабораторная диагностика

Серологические методы являются основными в диагностике токсоплазмоза. Серологическая диагностика токсоплазмоза осуществляется с помощью ИФА для выявления IgM- и IgG-антител и реакции иммунофлюоресценции (РИФ). Сроки выявления специфических антител и динамика смены концентраций иммуноглобулинов обоих классов индивидуальны и зависят от интенсивности инвазии и иммунного статуса инвазированных.

Положительный результат однократного исследования свидетельствует о том, что обследуемый был инвазирован токсоплазмами. При наличии положительных титров на токсоплазму рекомендуется повторное обследование через 10–12 суток для установления давности инфицирования и активности процесса. О хроническом токсоплазмозе будет свидетельствовать отсутствие увеличения титров антител. Активное течение инвазии будет подтверждаться увеличением титров на 3–4 разведения сыворотки. Возможна другая схема динамики выявления в РИФ и ИФА иммуноглобулинов классов M и G.

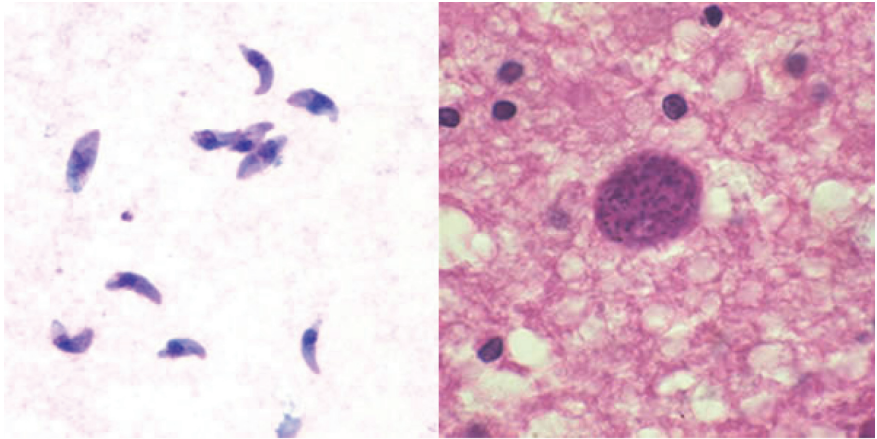
Высокие титры IgM свидетельствуют об острой стадии болезни. Высокие титры IgG могут свидетельствовать об обострении хронической инфекции, если есть клинические проявления, характерные для токсоплазмоза. Низкие титры IgG указывают на субклиническую, латентно протекающую инфекцию. Повышение и понижение титров антител можно считать достоверными, если разница предыдущего и последующего исследования различается по крайней мере на 4 разведения.

Таблица 6

Серологическая диагностика токсоплазмоза

Результат исследования на Ig		Интерпретация результата
IgG	IgM	
–	–	Серологические доказательства заражения токсоплазмозом отсутствуют
–	+	Возможно острая стадия или ложно-положительный результат. Необходимо снова провести исследование. Если результаты остаются теми же, вероятно, результат является ложно-положительным
+	–	Результат указывает на факт заражения токсоплазмозом в прошлом. Возможный показатель латентной формы токсоплазмоза
+	+	Вероятный показатель острой стадии заболевания

Микроскопия препаратов, приготовленных из сыворотки крови, пунктатов спинно-мозговой жидкости, тканей плаценты, биоптатов лимфатических узлов применяется при остром и врожденном токсоплазмозе. В препаратах, окрашенных по Романовскому–Гимзе, токсоплазмы имеют полулунную или аркообразную форму. Один конец их клетки заострен, а другой закруглен. Относительно крупное ядро, как правило, располагается в центре клетки, занимая от 1/4 до 1/3 ее площади. Ядро окрашивается в различные оттенки рубиново-красного цвета, а цитоплазма – в голубые тона. Типичные размеры токсоплазм – 4-7 x 2-4 мкм (рис. 22А, 22Б). Обнаружение в препаратах токсоплазм, расположенных внутри макрофагов или внеклеточно, имеет бесспорное диагностическое значение.



А

Б

Рис. 22. *Toxoplasma gondii*: А – тахизоид в мазке спинно-мозговой жидкости от лабораторного животного, окраска по Гимзе, Б – циста в ткани мозга, окраска гематоксилином и эозином. Тканевые цисты имеют округлую форму, диаметр 5–50 мкм, чаще всего располагаются в ткани ЦНС, скелетных мышцах

ПЦР-анализ позволяют выявить паразита при наличии 1–10 клеток в исследуемом образце. Для ПЦР-анализа используют образцы тканей инфицированного пациента (Гончаров Д.Б., 2005).

2.12. Малярийный плазмодий (*Plasmodium* sp.)

У человека паразитирует 4 вида плазмодиев: *Plasmodium vivax* – возбудитель трехдневной малярии, *Plasmodium ovale* – возбудитель малярии типа трехдневной (или овале-малярии), *Plasmodium falciparum* – возбудитель тропической малярии, *Plasmodium malariae* – возбудитель четырехдневной малярии.

Жизненный цикл. Развитие плазмодиев происходит со сменой хозяев и чередованием форм паразитов, размножающихся половым путем в теле окончательного хозяина – самок комара рода *Anopheles*, и бесполом путем (шизогонией) в теле промежуточного хозяина – человека.

После укуса комара инвазионная стадия – спорозит с током крови проникает в клетки печени, где начинается цикл **тканевой** или **внеэритроцитарной** шизогонии. Спорозит превращается в трофозоит, а затем в шизонт, который активно делится **в клетках печени** шизогонией и образует несколько тысяч тканевых мерозоитов. Время цикла тканевой шизогонии (скрытый инкубационный период болезни) составляет в среднем от 10–15 дней до 1,5 месяцев и протекает бессимптомно.

После разрыва клеток печени мерозоиты поступают в кровь, начинается **эндоэритроцитарный цикл** развития – мерозоит проникает в *эритроциты*, где проходит несколько стадий развития.

Мерозоиты проникают в новые эритроциты и эндоэритроцитарный цикл повторяется и составляет для *P. vivax*, *P. falciparum*, *P. ovale* – 48 часов, а для *P. malariae* – 72 часа. Завершение каждого последующего цикла эритроцитарного развития приводит к прогрессивному увеличению количества паразитов, циркулирующих в крови.

Часть мерозоитов после прохождения нескольких циклов эритроцитарной шизогонии могут превращаться в макро- и микрогаметоциты (мужские и женские гаметоциты или гамонты).

В организм самки малярийного комара паразиты проникают при питании кровью больного или паразитоносителя. В желудке комара бесполое формы плазмодиев погибают. Мужские микрогаметоциты делятся образуя 6–8 подвижных микрогамет. Женские гаметоциты, находящиеся в эритроцитах, превращаются в неподвижные женские гаметы. В результате слияния мужских и женских половых клеток образуется подвижная зигота (оокинета).

Оокинета активно проникает через стенку желудка комара. На наружной поверхности желудка оокинета инкапсулируется, формируя ооцисту, внутри которой в процессе спорогонии образуется много спорозоитов. После разрушения ооцисты они с током гемолимфы разносятся по органам и тканям переносчика, накапливаясь в слюнных железах.

Малярия – группа антропонозных протозойных трансмиссивных болезней человека, возбудители которых передаются комарами рода *Anopheles*. Кроме основного, трансмиссивного, пути передачи, возможны трансплацентарное, трансфузионное и парентеральное заражение.

Источник инвазии – больной человек или паразитоноситель, в крови которого имеются зрелые половые формы плазмодиев (гаметоциты).

Распространение: в основном малярия распространена в странах с тропическим климатом, но возможна и в умеренных широтах: в странах Африки, Ближнего и Среднего Востока, Юго-Восточной Азии, Латинской Америки. По малярии эндемичны 90 из 180 стран. Общее число зараженных в мире – 300–400 млн человек. Ежегодно малярией заболевают 120 млн, из них погибают 1–2 млн человек, причем дети – в 80 % случаев.

Клинические проявления малярии. Инкубационный период составляет от 10–12 дней до 30 месяцев в зависимости от вида паразита. Этот период соответствует экзоэритроцитарной шизогонии и начальному накоплению паразитов в крови. Малярия начинается остро. Приступы лихорадки с быстрым повышением температуры тела до 40 °С и выше соответствуют времени выхода мерозоитов из эритроцитов. Появляются резкая слабость, тахикардия, гипотония, головная боль. Через 2–6 ч. температура снижается до нормального уровня, в это же время наблюдается обильное потоотделение. Последовательно возникающие озноб, жар и пот называют малярийной триадой. Приступы повторяются при 3-дневной малярии и малярии-овале через 48 ч., при 4-дневной малярии – через 72 ч. При тропической малярии регулярность приступов может нарушаться, и они повторяются ежедневно. Также при инвазировании человека одновременно несколькими видами малярийных плазмодиев периодичность малярийных приступов исчезает, и клинически диагноз поставить затруднительно.

Самой тяжелой формой заболевания, приводящей к наибольшей летальности, является тропическая малярия, которая может осложниться малярийной комой, связанной с поражением головного мозга.

Если больной не получил адекватного лечения, то в течение 3–5 лет инвазия может вновь активизироваться (рецидив малярии) за счет находящихся в латентном состоянии в печени экзоэритроцитарных шизонтов, которые могут начать делиться, гепатоциты при этом разрушаются и мерозоиты внедряются в эритроциты. При 4-дневной малярии паразиты могут длительно сохраняться в эритроцитах и вызывать рецидивы заболевания через 10–40 лет после первичного заболевания.

Лабораторная диагностика

Методы лабораторной диагностики малярии (рис. 23):

- Микроскопия препаратов крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе;

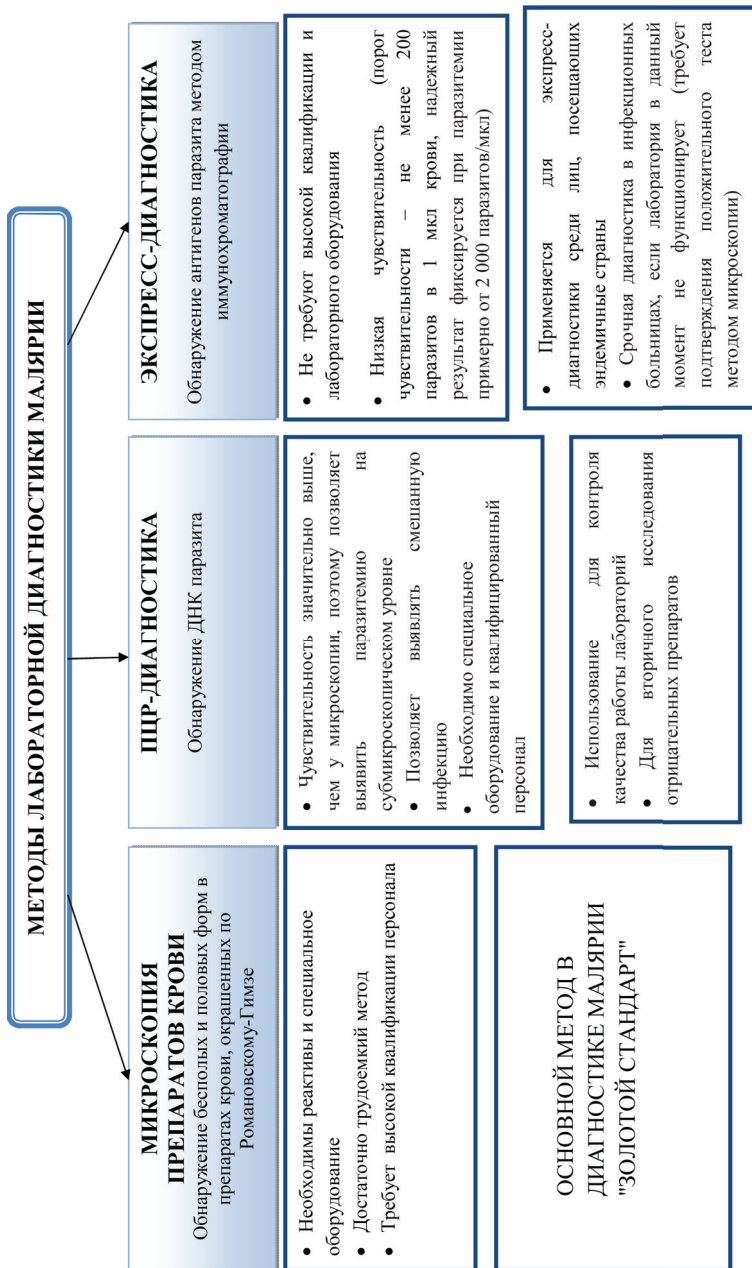


Рис. 23. Методы лабораторной диагностики малярии

- Экспресс-метод на основе иммунохроматографической реакции;
- ПЦР-диагностика.



Основной метод лабораторной диагностики малярии – микроскопия окрашенных препаратов крови. Подробное описание метода приведено в МУК 4.2.3222-14– Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов.


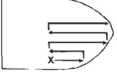
Принцип метода – обнаружение бесполой и половой форм в период их развития в эритроците. Для обнаружения эритроцитарных форм плазмодиев и определения их вида используют препараты крови, приготовленные методом тонкого мазка и толстой капли, окрашенные по методу Романовского–Гимзы (табл.7).

При подозрении на малярию кровь забирают в любое время, а приготовленные препараты исследуют в день забора и приготовления!

Таблица 7

Сравнительная характеристика методов толстая капля и тонкий мазок

Толстая капля	Тонкий мазок
1. Подготовка предметных стекол	
Используют новые стекла, очищенные при изготовлении и готовые к употреблению. Если новые стёкла неочищенные, их необходимо заранее подготовить к использованию	
2. Приготовление препарата	
<p>На предметное стекло наносят 2 капли крови диаметром около 5 мм, кровь распределяют в равномерные диски диаметром 1,0–1,5 см с помощью угла чистого стекла или в прямоугольники с помощью скарификатора, которым прокалывали кожу</p> 	<p>На край предметного стекла, отступив 0,5–1 см, наносят небольшую каплю крови. Шлифовальное стекло под углом 45° быстрым движением продвигают к противоположному краю предметного стекла</p> 
Толщина толстой капли должна быть такой, чтобы через нее после высыхания просматривался газетный текст. Слишком толстая капля может оторваться от стекла при высушивании	Мазок крови должен быть тонким, равномерным, не доходить приблизительно на 1/3 стекла до конца и краев предметного стекла

Толстая капля	Тонкий мазок
Маркировка препаратов включает фамилию и инициалы, номер истории болезни или порядковый номер по списку обследуемого, дату и время взятия крови	
Препарат <i>не фиксируют</i> (высушивают на воздухе вдали от солнечных лучей, нагревательных приборов)	Препарат <i>фиксируют</i> (например, 96% этиловый спирт – 10 мин.)
Окрашивание препаратов проводится по Романовскому – Гимза	
У одного пациента берут не менее 3 комплектов препаратов (1 комплект – толстая капля и тонкий мазок)	
3. Микроскопия препаратов	
Препараты крови исследуют под микроскопом с применением масляной иммерсии: объектив $\times 90$ или $\times 100$, окуляр $\times 7$, $\times 8$ или $\times 10$, с поднятым конденсором и полностью открытой диафрагмой	
Основной метод , используется для диагностики, поэтому просмотр всегда начинают с толстой капли	Проводится для уточнения вида возбудителя
Шанс обнаружения паразитов более высокий, т.к. в толстой капле форменные элементы располагаются многослойно. В результате за один и тот же промежуток времени просматривается количество крови в 30–40 раз большее, чем в тонком мазке. Чувствительность метода – 8 паразитов в 1 мкл крови	В тонком мазке (фиксированный препарат) сохраняются морфологические особенности данного вида паразита и характерные изменения пораженного эритроцита. Тонкий мазок крови делают в дополнение к толстой капле
Начинают просмотр препарата, отступив от края капли примерно на 1/3 радиуса. Исследуют обе капли продольно-поперечными перемещениями (до 100 полей зрения). Обязательно просматривают краевую зону, более тонкую часть толстой капли, где эритроциты не полностью гемолизированы и может сохраниться неизменная морфология паразита и пораженного эритроцита	В тонком мазке для обнаружения малярийных паразитов исследуют участок, где эритроциты расположены в один слой – бахромчатую и прилегающую к нейзону – так называемый хвост препарата. При просмотре тонкого мазка используется метод «зубчатая стена»: просмотр края мазка последовательными вертикально-горизонтальными передвижениями препарата
	
Отрицательные препараты хранят в лаборатории в течение 3 месяцев, положительные – бессрочно и используют для пополнения лабораторного музея	

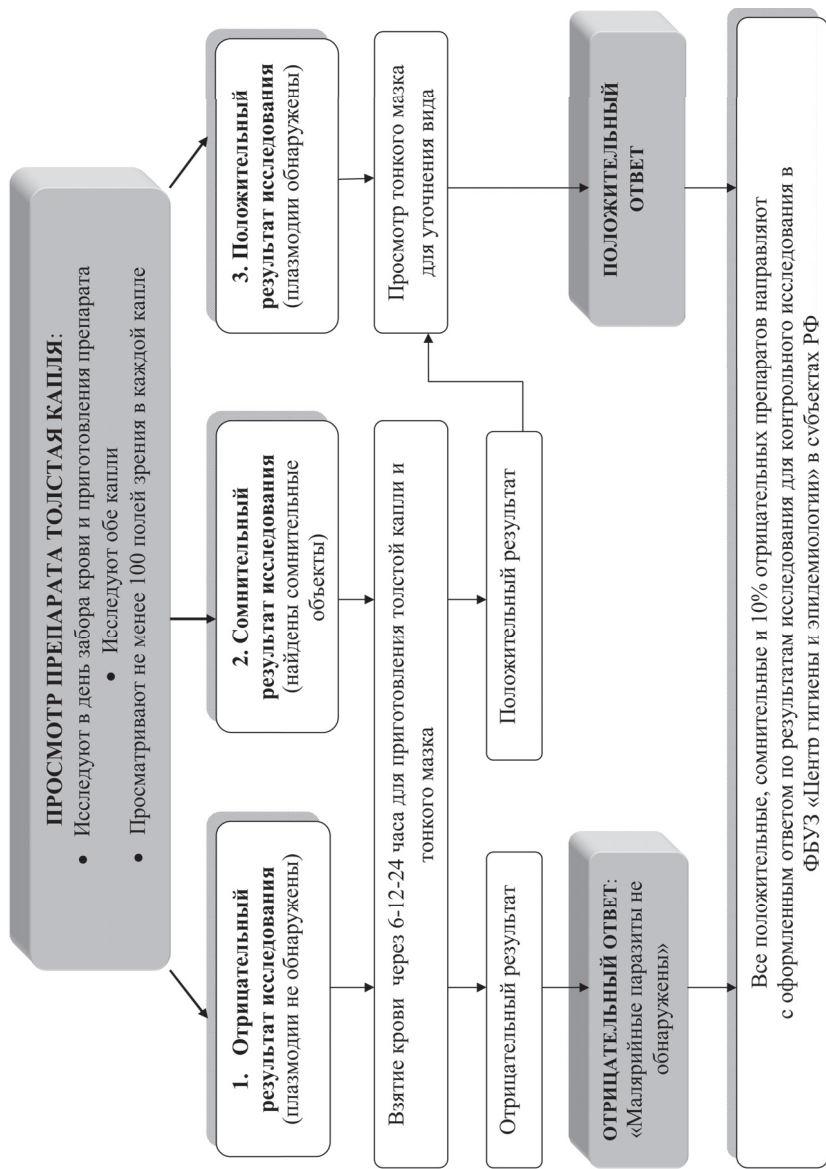


Рис. 24. Порядок исследования препаратов крови на малярию

Дифференциальное определение вида малярийного плазмодия проводят по совокупности признаков (табл. 8, 9, рис. 25, 26, 27, 28):

- морфология паразита
- состояние пораженных эритроцитов
- соотношение стадий паразита, обнаруженных в периферической крови.

Оформление результатов паразитологического исследования. Если паразиты не выявлены, в заключении указывают: «Малярийные паразиты не обнаружены».

В случае выявления малярийных плазмодиев указывают:

- вид возбудителя (латинское название, родовое название можно сокращать, например, *P. vivax*)
- обнаруженные возрастные стадии
- интенсивность паразитемии.

Таблица 8

Некоторые признаки плазмодиев и пораженных эритроцитов, используемые для дифференциальной диагностики

	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>
Стадия кольца	Юные кольца занимают 1/6 пораженного эритроцита, более взрослые – 3/4	Сходны с <i>P. vivax</i> и в большей степени с <i>P. malariae</i> . Ядро более крупное, как у <i>P. malariae</i> , иногда «вдавлено» в вакуоль
Трофозоиты	Для развивающихся трофозоитов характерна амёбовидность – цитоплазма разнообразной формы с псевдоподиями	Амёбовидные трофозоиты занимают 1/2–2/3 эритроцита. Псевдоподии выражены слабо. Развивающиеся трофозоиты округляются
Шизонты	В зрелом шизонте 14–18 (в среднем 16) мерозоитов, расположенных асимметрично по отношению к пигменту, собранному в одно плотное скопление	В основном сходны с <i>P. malariae</i> . Расположение мерозоитов менее упорядочено, чем в типичной «моруре» <i>P. malariae</i>
Гаметоциты	Округлые или овальные. ♀ гаметоцит с относительно плотным ядром у периферии клетки, цитоплазма голубая. ♂ гаметоцит с крупным рыхлым, диффузным ядром, цитоплазма с розовым оттенком	♀ гаметоциты имеют компактное ядро, сходны с таковыми у <i>P. vivax</i> и <i>P. malariae</i> . ♂ гаметоциты имеют диффузное ядро, сходны с таковыми у <i>P. vivax</i> и <i>P. malariae</i>

	<i>P. vivax</i>	<i>P. ovale</i>
Формы паразита, обнаруживаемые в периферической крови	В периферической крови могут быть обнаружены все формы эритроцитарной шизогонии	В периферической крови обнаруживаются все формы эритроцитарной шизогонии. Выраженная синхронность развития, обуславливает однообразие определенных стадий
Особенности пораженного эритроцита	Пораженные эритроциты увеличиваются (увеличение может достигнуть 1,5 раз). Чем старше паразит, тем больше эритроцит	Пораженные эритроциты часто вытянутые, овальные с бахромчатым краем
Зернистость	На поверхности эритроцита появляется мелкая, обильная, неравномерная зернистость (зернистость Шюффнера)	В цитоплазме пораженных эритроцитов появляется крупная, равномерная, менее обильная, чем в эритроцитах, пораженных <i>P. vivax</i> , зернистость Джеймса

Таблица 9

Некоторые признаки плазмодиев и пораженных эритроцитов, используемые для дифференциальной диагностики

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>
Стадия кольца	Кольца меньшего размера, чем кольца других видов паразитов. Занимают 1/5–1/10 пораженного эритроцита	Сходны по размеру с <i>P. vivax</i> , в большей степени с <i>P. ovale</i> , чаще правильной формы
Трофозоиты	Зрелые трофозоиты занимают 3/4 пораженного эритроцита. Характерно расположение пигмента в виде одного-двух плотных скоплений	Иногда могут вытягиваться по диаметру эритроцита, образуя так называемые «ленточные формы»
Шизонты	В зрелом шизонте 12–24 (в среднем 18) мелких мерозоитов (более мелких, чем у <i>P. vivax</i> , и расположенных асимметрично к скоплению пигмента)	В зрелом шизонте 6–12 (в среднем 8) мерозоитов, расположенных симметрично по отношению к пигменту
Гаметоциты	♀ гаметоциты полукруглой формы с несколько заостренными полюсами. Ядро компактное, в центре клетки, цитоплазма синевато-голубого цвета	♀ гаметоциты в сравнении с <i>P. vivax</i> и <i>P. ovale</i> меньшего размера.

Продолжение таблицы 9

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. malariae</i>
	♂ гаметоциты полулунной формы с закругленными полюсами. Ядро расположено в центре, рыхлое, диффузное, иногда без четких границ. Цитоплазма бледно-голубая с розовым оттенком	♂ гаметоциты имеют диффузное ядро, сходное с <i>P. vivax</i> и <i>P. ovale</i> , однако меньшего размера
Формы паразита, обнаруживаемые в периферической крови	При неосложненном течении в периферической крови обнаруживаются только мелкие кольцевидные трофозоиты и зрелые гаметоциты	В периферической крови обнаруживаются все формы эритроцитарной шизогонии. Выраженная синхронность развития, обуславливает преобладание определенных стадий шизогонии
Особенности пораженного эритроцита	Пораженные эритроциты не увеличиваются в размере. Часто встречается множественное поражение эритроцитов – двумя и более паразитами	Пораженные эритроциты не увеличены в размере, иногда несколько сжаты
Зернистость	Зернистость в эритроцитах, содержащая мелкие кольца, отсутствует. В эритроцитах, содержащих крупные кольца и последующие возрастные стадии, иногда обнаруживается (пятнистость Маурера) в виде крупных, неодинаковых по размеру элементов	При обычной окраске не выявляется

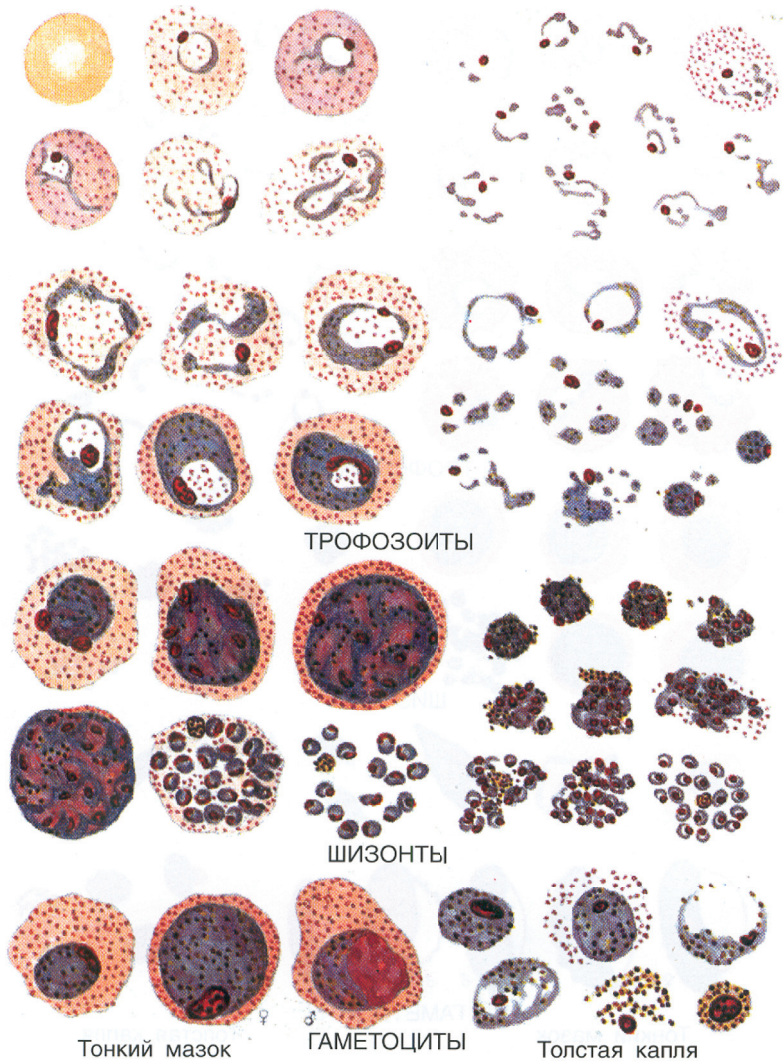
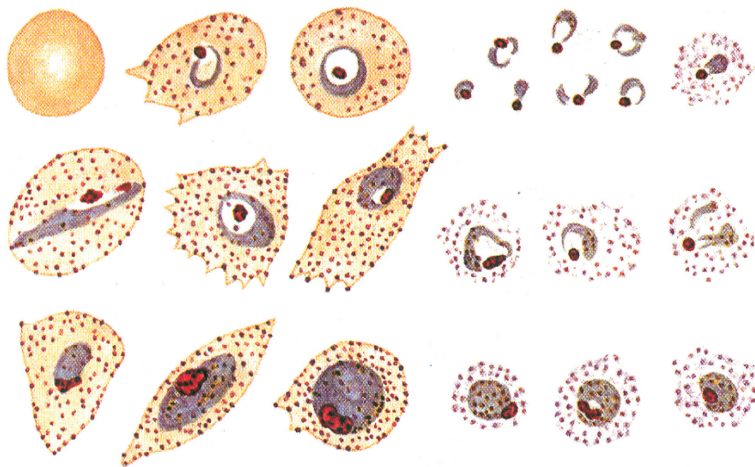
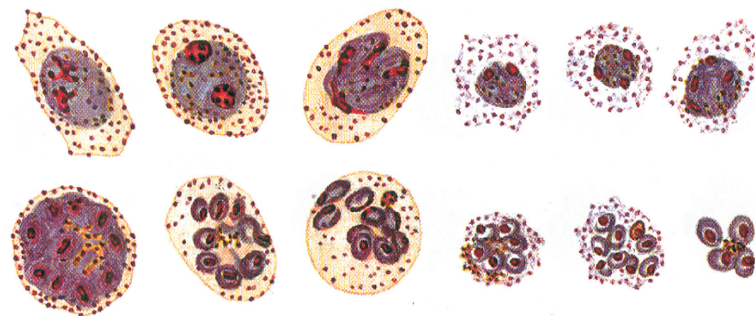


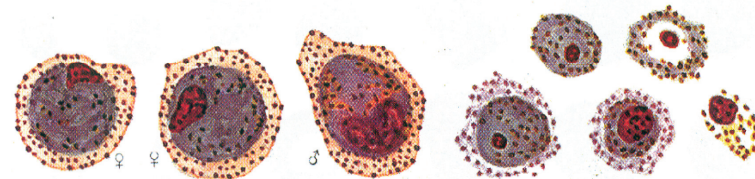
Рис. 25. Стадии развития *P. vivax* в препаратах крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе



ТРОФОЗОИТЫ



ШИЗОНТЫ



ГАМЕТОЦИТЫ

Тонкий мазок

Толстая капля

Рис. 26. Стадии развития *P. ovale* в препаратах крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе



Рис. 27. Стадии развития *P. falciparum* в препаратах крови, окрашенных по Романовскому-Гимзе

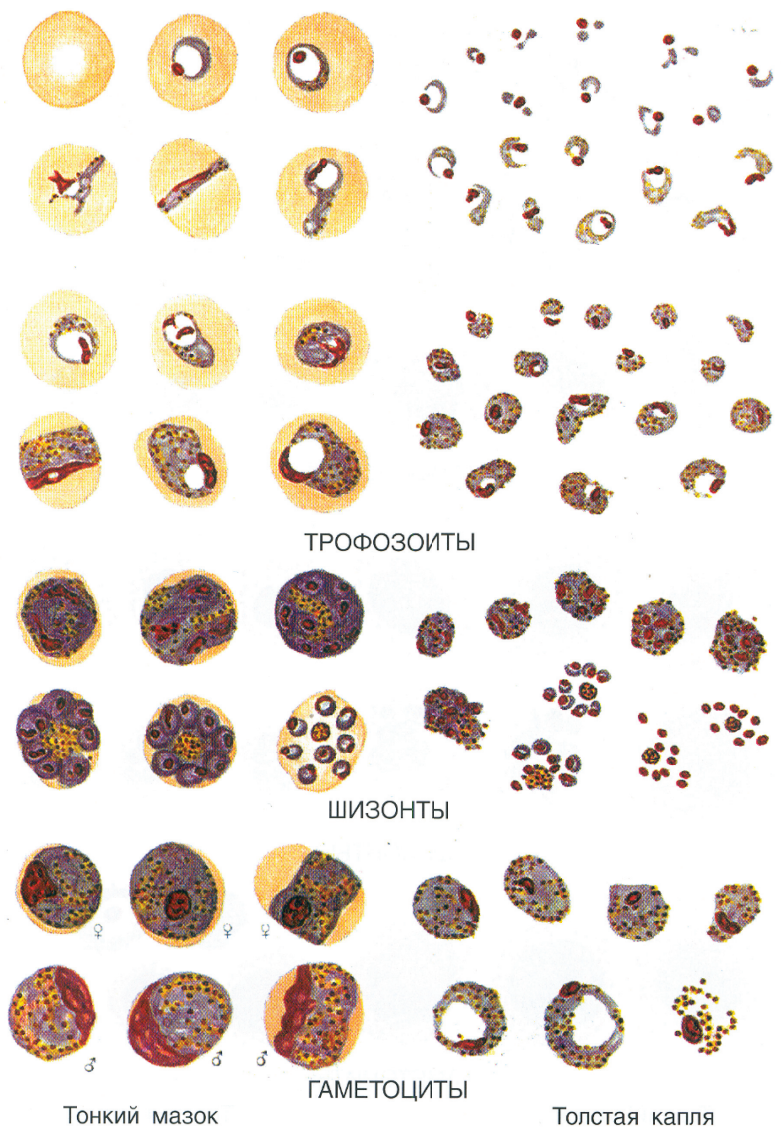


Рис. 28. Стадии развития *P. malagiae* в препаратах крови, окрашенных по Романовскому–Гимзе

РАЗДЕЛ 3. ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОКОНТРОЛЯ

3.1. Тестовые вопросы

Выберите один правильный ответ.

Жгутиковые

1. К морфологическим признакам трофозитов *Lamblia intestinalis* не относят:

- 1) четыре ядра
- 2) тело грушевидной формы
- 3) четыре пары жгутиков
- 4) аксонемы

2. Главный признак цист *Lamblia intestinalis*, отличающий их от цист других простейших, – наличие:

- 1) двух ядер
- 2) овальной формы
- 3) продольных аксонем
- 4) четырех ядер

3. На предцистную форму *Lamblia intestinalis* указывают:

- 1) овальная форма
- 2) три ядра
- 3) парабазальные тела
- 4) наличие ресничек

4. Нежизнеспособные цисты *Lamblia intestinalis* при окрасе раствором Люголя:

- 1) имеют коричневый цвет
- 2) имеют серо-голубой цвет
- 3) остаются бесцветными
- 4) приобретают разные оттенки коричневого

5. Для подтверждения диагноза в случае хронического лямблиоза копрологические исследования рекомендуют проводить:

- 1) однократно

- 2) ежедневно в течение недели
- 3) несколько раз в неделю
- 4) несколько раз на протяжении 2–4 недель

6. К основным методам диагностики лямблиоза относят:

- 1) ИФА с обнаружением специфических IgM
- 2) методы седиментации
- 3) ПЦР-анализ
- 4) экспресс-метод

7. Способ заражения человека лямблиозом:

- 1) трансмиссивный
- 2) воздушно-капельный
- 3) контактно-бытовой
- 4) алиментарный

8. Основной путь распространения лямблиоза:

- 1) водный
- 2) контактно-бытовой
- 3) контактно-половой
- 4) пищевой

9. Наибольшее число лямблий локализуется:

- 1) в верхней части тонкой кишки
- 2) в средней части тонкой кишки
- 3) в нижней части тонкой кишки
- 4) на границе тонкой и толстой кишки

10. Заражение урогенитальным трихомониазом возможно при:

- 1) купании в естественных водоемах и бассейнах
- 2) половом контакте с больным
- 3) питье некипяченой воды
- 4) пользовании чужими предметами личной гигиены

11. Способ заражения *Trichomonas vaginalis*:

- 1) контактно-половой

- 2) трансмиссивный
- 3) перкутанный
- 4) алиментарный

12. Количество жгутиков у *Trichomonas vaginalis*:

- 1) 1 свободный и 1 образует ундулирующую мембрану
- 2) 4 свободных жгутика и 1 жгутик образует ундулирующую мембрану
- 3) 2 свободных жгутика и 1 образует ундулирующую мембрану
- 4) 4 пары жгутиков и 1 образует ундулирующую мембрану

13. Размеры *Trichomonas vaginalis*:

- 1) $5-7 \times 5-6$ мкм
- 2) $4-32 \times 2-14$
- 3) $10-12 \times 5-7$ мкм
- 4) $8-50 \times 2-79$ мкм

14. В неблагоприятных условиях *T.vaginalis* имеет форму:

- 1) грушевидную
- 2) овальную
- 3) круглую
- 4) палочковидную

15. Блефаропласт – это структура в клетке трихомонады, которая:

- 1) служит опорой для клетки
- 2) является местом прикрепления жгутиков
- 3) является выделительной структурой
- 4) участвует в делении клетки

16. Трофозоиты *Trichomonas vaginalis* по размерам:

- 1) меньше эпителиальных клеток и крупнее лейкоцитов
- 2) имеют одинаковые размеры с эпителиальными клетками и лейкоцитами
- 3) больше эпителиальных клеток и лейкоцитов
- 4) меньше эпителиальных клеток и лейкоцитов

17. Основной метод диагностики урогенитального трихомониаза:

- 1) ИФА крови инвазированных
- 2) микроскопия вагинальных выделений женщин, отделяемого уретры мужчин
- 3) ИФА вагинальных выделений женщин, отделяемого уретры мужчин
- 4) микроскопия мочи

18. Для приготовления нативного препарата с целью диагностики урогенитального трихомониаза необходимо использовать:

- 1) подогретые предметные стекла и изотонический раствор
- 2) охлажденные предметные стекла и изотонический раствор
- 3) охлажденные предметные стекла и гипертонический раствор
- 4) подогретые предметные стекла и гипотонический раствор

19. На препарате «нативный мазок» трофозоиты *Trichomonas vaginalis* можно отличить от лейкоцитов по следующим признакам:

- 1) отсутствие зернистости у клеток трихомонады
- 2) наличие зернистости, вакуолей, отсутствие хорошо различимого ядра у клеток трихомонады
- 3) большое количество вакуолей и сегментированное ядро у клеток трихомонады
- 4) яркая зернистость, вакуоли, два ядра

20. Способ заражения *Trichomonas hominis*:

- 1) трансмиссивный
- 2) алиментарный
- 3) перкутанный
- 4) контактно-бытовой

21. Размеры *Trichomonas hominis*:

- 1) 10–30 × 10–30 мкм
- 2) 100–120 × 50–70 мкм
- 3) 10–15 × 7–10 мкм
- 4) 0,5–1 × 0,1–1,5 мкм

22. Трофозоит *Trichomonas hominis* имеет:

- 1) 2 свободных жгутика, один жгутик, образующий ундулирующую мембрану вдоль всего тела, нет цитостома
- 2) 3–5 свободных жгутика, один жгутик, образующий ундулирующую мембрану вдоль всего тела, цитостом
- 3) 1–2 свободных жгутика, один жгутик, образующий ундулирующую мембрану вдоль всего тела, цитостом
- 4) 3–5 свободных жгутика, один жгутик, образующий ундулирующую мембрану до середины тела, цитостом

23. Локализация *Trichomonas hominis*:

- 1) средняя часть тонкой кишки
- 2) нижняя часть тонкой кишки
- 3) на границе тонкой и толстой кишки
- 4) толстая кишка

24. Основной метод диагностики кишечного трихомоноза:

- 1) нативный мазок жидких испражнений
- 2) метод культивирования на питательных средах жидких испражнений
- 3) ИФА крови инвазированного
- 4) фиксированный мазок жидких испражнений

25. Размеры жгутиковой формы лейшмании:

- 1) 5–10 мкм
- 2) 10–20 мкм
- 3) 30–40 мкм
- 4) 40–50 мкм

26. Размеры безжгутиковой формы лейшмании:

- 1) 2–5 мкм
- 2) 10–20 мкм
- 3) 50–70 мкм
- 4) 100–120 мкм

27. Для жгутиковой формы лейшманий характерно:

- 1) продолговатая форма, ядро смещено к оболочке, под ядром располагается кинетопласт
- 2) продолговатая форма, ядро располагается в центре клетки, впереди ядра лежит кинетопласт
- 3) округлая форма, ядро располагается в центре, кинетопласт располагается рядом с ядром
- 4) округлая форма, ядро располагается в центре, кинетопласт располагается впереди ядра

28. Для амастиготы лейшманий характерно:

- 1) продолговатая форма, ядро смещено к оболочке, под ядром располагается кинетопласт
- 2) продолговатая форма, ядро располагается в центре клетки, впереди ядра лежит кинетопласт
- 3) округлая форма, ядро располагается в центре, кинетопласт располагается рядом с ядром
- 4) округлая форма клетки, в центре расположено ядро

29. Важный дифференциальный признак амастигот лейшманий при микроскопии:

- 1) наличие вакуолей в цитоплазме
- 2) цитоплазма зернистая
- 3) наличие кинетопласта
- 4) ядро с кариосомой

30. Инвазионная форма *Leishmania tropica* для человека:

- 1) амстигота
- 2) эпимастигота
- 3) промастигота
- 4) циста

31. Промастигота в цикле развития лейшманий обнаруживается в организме:

- 1) человека
- 2) собак

- 3) грызунов
- 4) москитов

32. Инвазионная форма *Tripanosoma brucei rhodosiense* для человека:

- 1) трипаносомная трипомастигота
- 2) критидиальная (эпимастигота)
- 3) внутриклеточная (амастигота)
- 4) метациклическая трипомастигота

33. Инвазионная форма *Tripanosoma cruzi* для человека:

- 1) метациклическая трипомастигота
- 2) трипаносомная трипомастигота
- 3) критидиальная (эпимастигота)
- 4) внутриклеточная (амастигота)

34. Стадия трипаномы, способная к делению в организме человека, больного сонной болезнью:

- 1) амастигота
- 2) промастигота
- 3) трипомастигота
- 4) метациклическая трипомастигота

35. Продолговатая форма, размер до 20 мкм, кинетопласт и кинетосома располагаются впереди ядра, жгутик и ундулирующая мембрана проходят вдоль передней половины тела – это характерно для следующего морфологического типа трипаносом:

- 1) трипомастиготы
- 2) метациклической трипомастиготы
- 3) эпимастиготы
- 4) амастиготы

36. Материал, который не используют для диагностики трипаномоза:

- 1) кровь
- 2) спинно-мозговую жидкость

- 3) пунктат лимфатических узлов
- 4) мочу

37. Нативный препарат для диагностики трипаносомоза микрокопируют при увеличении:

- 1) окуляр x10, объектив x40
- 2) окуляр x10, объектив x10
- 3) окуляр x10, объектив x4
- 4) окуляр x10, объектив x90

38. Исследование крови на трипаносомоз методом «толстой капли» микрокопируют при увеличении:

- 1) окуляр x7, объектив 20
- 2) окуляр x7, объектив x90
- 3) окуляр x10, объектив 10
- 4) окуляр x10, объектив 40

39. В мазках, окрашенных по Романовскому–Гимзе, трипаносомы имеют следующие диагностические признаки:

- 1) фиолетовая цитоплазма, кинетопласт и базальное тело окрашены в рубиново-красный цвет
- 2) голубая цитоплазма, ядро, кинетопласт и базальное тело окрашены в рубиново-красный цвет
- 3) голубая цитоплазма, кинетопласт и базальное тело окрашены в фиолетовый цвет
- 4) фиолетовая цитоплазма, кинетопласт и базальное тело окрашены в фиолетовый цвет

Саркодовые

1. Амебовидная форма, размер клетки 15–45 мкм, цитоплазма разделена на 2 части (периферическую и внутреннюю), одно ядро – это характерные черты следующей формы дизентерийной амебы:

- 1) большой вегетативной формы
- 2) малой вегетативной формы
- 3) зрелой цисты
- 4) незрелой цисты

2. Амебовидная форма, размер клетки 13–20 мкм, в цитоплазме вакуоли с включениями бактерий, одно ядро – это характеристика следующей формы дизентерийной амебы:

- 1) зрелой цисты
- 2) большой вегетативной формы
- 3) малой вегетативной формы
- 4) незрелой цисты

3. Округлая форма, размер 8–15 мкм, 2 ядра, хроматоидные тела, гликогеновая вакуоль – это характеристика следующей формы дизентерийной амебы:

- 1) большой вегетативной формы
- 2) малой вегетативной формы
- 3) зрелой цисты
- 4) незрелой цисты

4. Амебиазом можно заразиться при:

- 1) использовании общего полотенца
- 2) попадании на поврежденную кожу загрязненной воды
- 3) употреблении некипяченой воды
- 4) укусе комара

5. Инвазионная форма *Entamoeba histolytica* для человека:

- 1) большая вегетативная форма
- 2) малая вегетативная форма
- 3) циста с 4 ядрами
- 4) циста с 8 ядрами

6. В нативном мазке дизентерийную амебу от других видов амеб можно отличить:

- 1) по медленным вращательным движениям
- 2) по активным поступательным движениям
- 3) по медленному движению на одном месте
- 4) по активным вращательным движениям

7. Главный признак крупной вегетативной формы *E. histolytica* в нативном неокрашенном мазке:

- 1) наличие эритроцитов в цитоплазме

- 2) наличие псевдоподий
- 3) ядро с эксцентричной кариосомой
- 4) наличие вакуолей с детритом

8. При обнаружении крупной вегетативной формы дизентерийной амёбы в заключении правильно указать:

- 1) обнаружена вегетативная форма *E. histolytica*/*E. dispar*
- 2) обнаружена вегетативная стадия *E. histolytica* (эритрофаг)
- 3) обнаружена вегетативная стадия *E. histolytica*/*E. dispar* (эритрофаг)
- 4) обнаружена вегетативная форма *E. histolytica*/*E. dispar* (просветная форма)

9. Внекишечный амёбиаз в большинстве случаев можно подтвердить:

- 1) методом микроскопии постоянных окрашенных препаратов
- 2) микроскопии нативного неокрашенного мазка
- 3) методом ПЦР
- 4) серологическими методами

10. Дифференциальную диагностику *E. histolytica* с непатогенной *E. dispar* можно провести с помощью:

- 1) серологических методов
- 2) микроскопии постоянных окрашенных препаратов
- 3) ПЦР-анализа
- 4) микроскопии нативного препарата

Инфузории

1. Вегетативные формы *Balantidium coli* имеют следующие размеры:

- 1) длина – 10-20 мкм, ширина 5-10 мкм
- 2) длина – 200-250 мкм, ширина – 100-150 мкм
- 3) длина – 50-150 мкм, ширина 40-70 мкм
- 4) длина – 1-3 мкм, ширина – 2-5 мкм.

2. Размер цисты *Balantidium coli* составляет:

- 1) 50–70 мкм

- 2) 10–20 мкм
- 3) 200–320 мкм
- 4) 0,5–0,8 мкм

3. Вегетативные формы *Balantidium coli* имеют:

- 1) цитофарингс, цитопрокт, базальное тело
- 2) цитостом, цитопрокт, кинетопласт
- 3) цитопрокт, ундулирующую мембрану, кинетопласт
- 4) цитостом, цитофарингс, цитопрокт

4. Основной метод лабораторной диагностики *Balantidium coli*:

- 1) копрологический
- 2) ПЦР-диагностика
- 3) ИФА крови инвазированного
- 4) метод культивирования *in vitro*

5. В нативном мазке свежевыделенных фекалий пациента с балантидиазом обнаруживают:

- 1) только вегетативные формы
- 2) вегетативные формы, реже цисты
- 3) только цисты
- 4) цисты, реже вегетативные формы

6. В случае отрицательного результата при диагностике балантидиаза микроскопию мазков рекомендуют повторять в течении:

- 1) 1–2 дней
- 2) 10–12 дней
- 3) 1–2 месяцев
- 4) 2–30 дней

7. В жизненном цикле балантидия известен тип размножения:

- 1) почкование
- 2) спорогония
- 3) шизогония
- 4) конъюгация

8. Способ заражения человека балантидиазом:

- 1) трансмиссивный
- 2) алиментарный
- 3) перкутаный
- 4) контактно-половой

9. Основными источниками заражения балантидиазом являются:

- 1) домашние и дикие свиньи
- 2) кошки и свиньи
- 3) собаки и кошки:
- 4) крысы и больные люди

10. Особенности клинического проявления балантидиаза:

- 1) воспаление легких
- 2) периодические приступы лихорадки
- 3) язвенное поражение толстого кишечника
- 4) боли в мышцах

11. Меры профилактики балантидиаза:

- 1) борьба с переносчиками
- 2) тщательная кулинарная обработка свинины
- 3) соблюдение правил личной гигиены
- 4) вакцинация людей

Апикомплексы

1. На стадии юного трофозоида псевдоподии более характерны для:

- 1) *Plasmodium ovale*
- 2) *Plasmodium falciparum*
- 3) *Plasmodium malariae*
- 4) *Plasmodium vivax*

2. Лентовидная форма на стадии полувзрослого и взрослого трофозоида наиболее характерна для:

- 1) *Plasmodium ovale*
- 2) *Plasmodium falciparum*

- 3) Plasmodium malaria
- 4) Plasmodium vivax.

3. У возбудителя трехдневной малярии в зрелом шизонте образуется следующее количество мерозоитов:

- 1) 4–12
- 2) 6–12
- 3) 12–24
- 4) 14–18

4. У возбудителя четырехдневной малярии в зрелом шизонте образуется следующее количество мерозоитов:

- 1) 4–12
- 2) 6–12
- 3) 12–24
- 4) 12–18

5. У возбудителя тропической малярии в зрелом шизонте образуется следующее количество мерозоитов:

- 1) 4–12
- 2) 6–12
- 3) 12–24
- 4) 14–18

6. У возбудителей овале-малярии в зрелом шизонте образуется следующее количество мерозоитов:

- 1) 4–12
- 2) 6–12
- 3) 12–24
- 4) 12–18

7. Основной метод в диагностике малярии:

- 1) микроскопирование толстой капли
- 2) микроскопирование тонкого мазка
- 3) ПЦР-диагностика
- 4) экспресс-метод

8. Исключить диагноз «малярия» у пациента при наличии клинических и эпидемиологических данных можно в случае отрицательного ответа после:

- 1) однократного просмотра препаратов «толстая капля», «тонкий мазок»
- 2) просмотра препарата «тонкий мазок» через 6–12–24 час
- 3) однократного просмотра препарата «тонкий мазок»
- 4) просмотра препарата «толстая капля» через 6–12–24 час

9. Кровь при подозрении на малярию берется:

- 1) на высоте приступа лихорадки
- 2) после окончания приступа лихорадки
- 3) независимо от приступа лихорадки
- 4) через 3 часа после приступа лихорадки

10. Для диагностики малярии от одного пациента рекомендовано готовить:

- 1) 1 стекло с «толстой каплей» и 1 «тонкий мазок»
- 2) 1 стекло с «толстой каплей» и 2 «тонких мазка»
- 3) 2 стекла с «толстой каплей» и 2 «тонких мазка»
- 4) 3 стекла с «толстой каплей» и 3 «тонких мазка»

11. В случае выявления малярийных плазмодиев не указывают:

- 1) вид возбудителя
- 2) обнаруженные возрастные стадии
- 3) количество мерозоитов в шизонте
- 4) интенсивность паразитемии

12. Отрицательные препараты при диагностике малярии должны храниться:

- 1) 1 год
- 2) бессрочно
- 3) не хранятся
- 4) 3 месяца

13. Положительные препараты при обнаружении малярийного плазмодия должны храниться:

- 1) 1 год

- 2) бессрочно
- 3) 3 года
- 4) 3 месяца

14. Типичные размеры зонта токсоплазмы:

- 1) $10-15 \times 8-12$ мкм
- 2) $4-7 \times 2-4$ мкм
- 3) $0,5-1,0 \times 1,0-2,1$ мм
- 4) $1,1-2,3 \times 3,1-3,3$ см

15. Ядро токсоплазмы:

- 1) располагается в верхней трети клетки и занимает 1/2 часть площади
- 2) располагается в верхней трети клетки и занимает 1/4–1/3 часть площади
- 3) располагается в центре и занимает от 1/4 до 1/3 ее площади
- 4) располагается в нижней трети клетки и занимает от 1/4 до 1/3 ее площади

16. Минимальное количество клеток токсоплазмы в образце, при котором ПЦР-анализ позволяет выявить паразита:

- 1) 1–10
- 2) 10–50
- 3) 10–100 клеток
- 4) 100–150 клеток

17. Основные методы диагностики токсоплазмоза у иммунокомпетентных лиц:

- 1) ПЦР-диагностика
- 2) культивирование на питательных средах
- 3) серологические методы
- 4) микроскопирование

18. Об острой стадии токсоплазмоза могут свидетельствовать:

- 1) высокие титры IgM
- 2) высокие титры IgG и низкие IgM
- 3) высокие титры IgG
- 4) низкие титры IgM и IgG

19. Дефинитивные хозяева *Toxoplasma gondii*:

- 1) человек
- 2) комар *Anopheles*
- 3) птицы
- 4) семейство кошачьих

20. Факторами передачи ооцист токсоплазмы являются:

- 1) аэрозоли в воздухе
- 2) мясо зараженных животных
- 3) экскременты зараженного человека
- 4) экскременты зараженных кошек

3.2. Ситуационные задачи

1

19-летняя женщина была госпитализирована в больницу с повторяющейся лихорадкой, ознобом, тошнотой, резким повышением температуры. При опросе стало известно, что недавно женщина вернулась из туристической поездки в Кению.

- а) Какое протозойное заболевание можно заподозрить у пациентки?
- б) Какие лабораторные исследования необходимо провести, чтобы подтвердить предварительный диагноз?
- в) Объясните, как могло произойти заражение?
- г) Почему симптомы заболевания появились только после возвращения из поездки?
- д) Возможно ли заражение окружающих от пациентки, ответ объясните?
- е) Назовите меры личной профилактики.
- ж) Укажите систематическое положение простейшего.

2

30-летний мужчина обратился за медицинской помощью с жалобами на боли в животе, усталость, диарею, иногда с примесью крови. При опросе указал, что в последнее время часто посещает южные ре-

гионы страны. При копрологическом исследовании были обнаружены простейшие с фагоцитированными эритроцитами.

- а) Какое заключение следует сделать по данному случаю?
- б) Как могло произойти заражение?
- в) Опишите жизненный цикл простейшего.
- г) В чем заключается патогенное действие данного простейшего?
- д) Назовите адаптации к паразитизму у данного вида простейшего.
- е) Укажите систематическое положение простейшего.

3

29-летний мужчина обратился к врачу с язвенным поражением правой ноги. Попытки самостоятельно залечить язву были безуспешными. В результате опроса было установлено, что мужчина выезжал в Коста-Рику, Никарагуа.

- а) Какое протозойное заболевание можно предположить, на основе каких данных?
- б) Какие лабораторные исследования необходимо провести для подтверждения предварительного диагноза?
- в) Опишите, какие результаты должен получить врач-лаборант для подтверждения протозойного заболевания у данного пациента.
- г) Объясните, как произошло заражение?
- д) Опишите жизненный цикл данного простейшего.
- е) Укажите систематическое положение простейшего.

4

45-летний фермер обратился в больницу с болями в животе, диареей. Пациенту было назначено сдать кал на анализ. При исследовании материала были выявлены крупные простейшие в небольших количествах с ресничками.

- а) Какое заключение можно сделать по результатам микроскопического исследования?
- б) Объясните, как могло произойти заражение.
- в) Укажите систематическое положение простейшего.

5

Девятилетний ребенок вернулся из летнего лагеря с жалобами на боли в животе, прерывистую диарею. На приеме врач назначил сдать

анализ кала. По результатам микроскопии было обнаружено большое количество цист овальной формы с 2-4 ядрами на одном полюсе и небольшое количество грушевидных клеток с несколькими жгутиками и двумя ядрами.

- а) Какое заключение следует сделать по результатам микроскопического исследования, на основании каких критериев?
- б) Объясните, как произошло заражение.
- в) Опишите жизненный цикл простейшего.
- г) В чем заключается патогенное влияние данного простейшего на организм человека?
- д) Объясните, могут ли члены семьи заразиться данным протозойным заболеванием?
- е) Назовите приспособления к паразитическому образу жизни у простейшего.
- ж) Укажите систематическое положение простейшего.

6

При проведении медицинского осмотра группы детей, выезжающих в летний лагерь, у нескольких из них в результате копрологического исследования были обнаружены восьмиядерные цисты в умеренном количестве.

- а) Какое заключение следует сделать в данном случае?
- б) Объясните, необходимо ли данным пациентам назначать лечение.
- в) Укажите систематическое положение простейшего.

7

При обследовании у беременной женщины было обнаружено носительство токсоплазмоза.

- а) Объясните, какие лабораторные методы применялись в данном случае?
- б) Представляет ли опасность для плода заражение матери ещё до беременности, ответ объясните?
- б) Опишите жизненный цикл паразита.
- в) Перечислите способы заражения токсоплазмозом.
- г) Опишите возможные пути циркуляции паразита в природе.

д) Почему для диагностики токсоплазмоза применяют преимущественно непрямые методы?

8

Мужчина 40 лет, постоянно проживающий в Архангельске, был госпитализирован с приступом, сопровождавшимся ознобом, жаром, потоотделением, повышением температуры до 40 °С. При опросе стало известно, что пациент неделю назад вернулся из поездки в Гану. С подозрением на малярию у пациента взяли кровь. При просмотре препаратов «толстая капля» и «тонкий мазок» были обнаружены только кольцевые формы паразита небольшого размера, некоторые кольца были с двумя зёрнами хроматина, наблюдалось множественное поражение эритроцитов.

а) Какое заключение должен сделать врач-лаборант?

б) Назовите факторы, которые способствуют формированию ареалов распространения малярии.

в) Объясните, возможно ли формирование очагов малярии в Архангельской области?

г) Какие рекомендации необходимо дать пациенту в случае дальнейших поездок в страны с тропическим климатом?

9

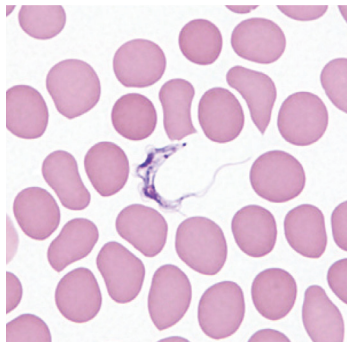


Рис. 29

29-летняя женщина-аспирант вернулась из экспедиции в Демократическую Республику Конго. Примерно через неделю после возвращения домой у женщины поднялась температура, через месяц начались головные боли, кожный зуд, наблюдалось увеличение лимфатических узлов, после чего она обратилась за медицинской помощью. Пациентка отметила, что в поездке она подвергалась многочисленным укусам насекомых, во время поездки проводила профилактику

против малярии. Для проведения лабораторного анализа был взят образец крови, приготовлены мазки. При микроскопии наблюдали объекты

(рис. 29) в умеренных количествах. Какое заключение следует сделать, на основании каких морфологических критериев?

10

Женщина предъявляла жалобы на боли в животе, прерывистую диарею у девятилетнего сына. На приеме врач назначил сдать анализ кала. Идентифицируйте объекты, которые были выявлены в результате микроскопии (рис. 30 а,б,в), назовите их морфологические признаки. Объясните, какой метод окрашивания был применен в данном случае?

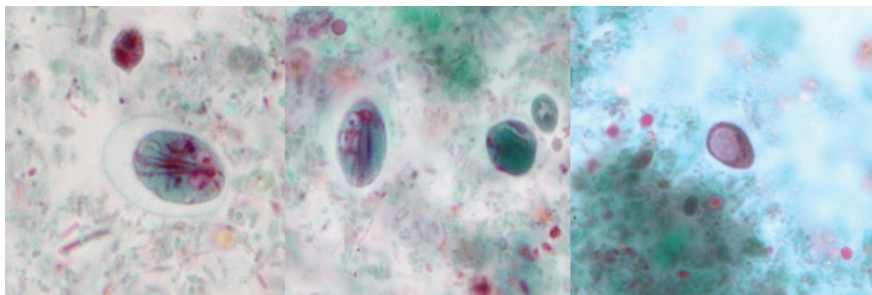


Рис. 30а

Рис. 30б

Рис. 30в

11

30-летний мужчина обратился в больницу с жалобами на боли в животе, диарею, иногда с примесью крови. Пациент недавно вернулся из Армении, где пребывал две недели. Ему было назначено сдать кал на анализ. Материал был собран в консервант. Для микроскопического исследования материала был сделан влажный мазок из консерванта и окрашен трихромом. По результатам иммерсионной микроскопии были выявлены объекты размером в среднем 25 мкм в длину в умеренных количествах (рис. 31). Какое заключение по результатам микроскопического исследования следует сделать, на основании каких морфологических критериев?

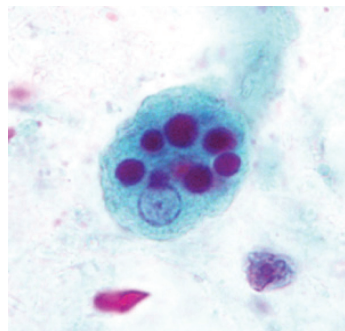


Рис. 31



Рис. 32

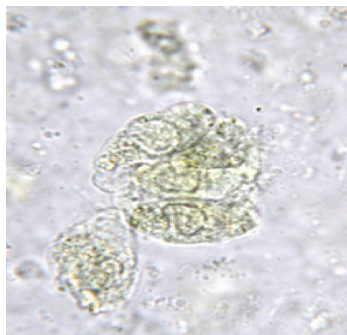


Рис. 33

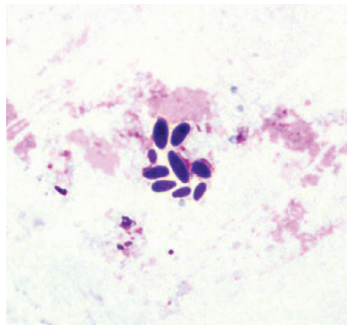


Рис. 34

12

В ходе микроскопического исследования осадка, полученного методом седиментации кала, лаборант обнаружил объект (рис. 32). Проведите идентификацию данного объекта, назовите характерные морфологические признаки.

13

При проведении копрологического исследования лаборант обнаружил объекты, которые он не смог однозначно идентифицировать (рис. 33). Для идентификации потребовалась помощь врача-лаборанта. Определите, какие объекты были найдены при микроскопическом исследовании кала детей (метод седиментации), направляющихся в летний лагерь.

14

Мужчина обратился к врачу с язвенным поражением ноги. Попытки самостоятельно залечить язву были безуспешными. В результате опроса было установлено, что мужчина выезжал в Коста-Рику, Никарагуа. Какое паразитарное заболевание можно предположить у пациента? На рисунке 34 представлены результаты микроскопии отделяемого язвы. Объясните, подтверждают ли результаты лабораторных исследований, предварительный диагноз? Объясните, достаточно ли полученных результатов лабораторной диагностики для подтверждения или исключения паразитарного заболевания.

15

После деловой поездки в Индию, Малайзию и Китай мужчина с симптомами лихорадки обратился в больницу. У пациента была взята кровь на анализ. Результаты микроскопии тонкого мазка представлены на фотографиях (рис.35а,б,в). Какое заключение в этом случае должна дать лаборатория?

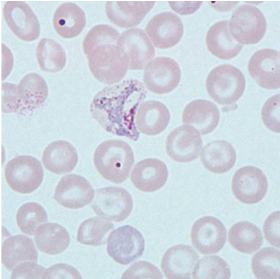


Рис. 35а

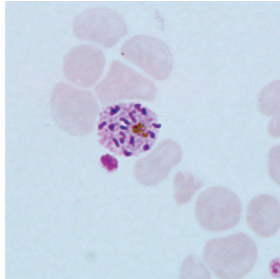


Рис. 35б

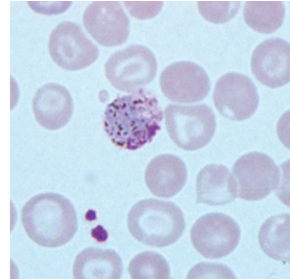


Рис. 35в

3.3. Идентификация простейших по микрофотографиям

Идентифицируйте объекты на микрофотографиях: назовите объект и/или стадию развития простейшего, назовите латинское название вида, назовите основные диагностические признаки.

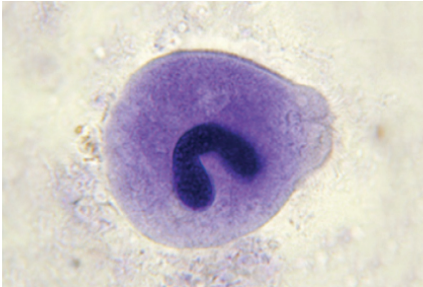


Рис. 36

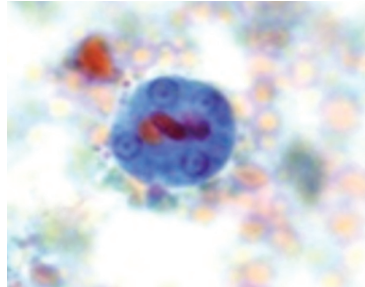


Рис. 37

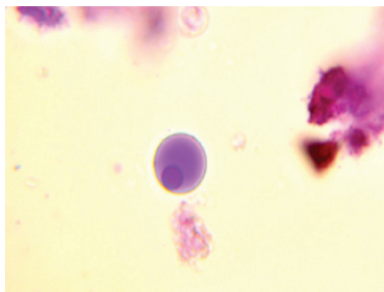


Рис. 38

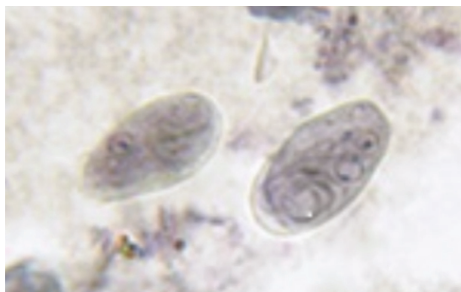


Рис. 39

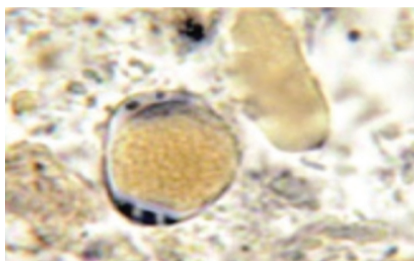


Рис. 40



Рис. 41



Рис. 42

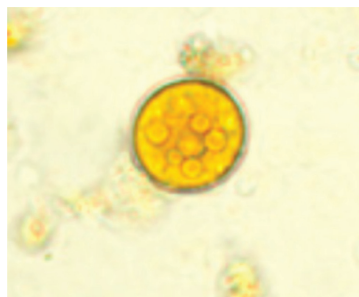


Рис. 43

Ответы к тестовым заданиям

Жгутиковые:

1) 1; 2) 3; 3) 3; 4) 2; 5) 4; 6) 2; 7) 4; 8) 1; 9) 1; 10) 2; 11) 1; 12) 2; 13) 2; 14) 2; 15) 2; 16) 1; 17) 2; 18) 1; 19) 2; 20) 2; 21) 3; 22) 2; 23) 4; 24) 1; 25) 2; 26) 1; 27) 2; 28) 3; 29) 3; 30) 3; 31) 4; 32) 4; 33) 1; 34) 3; 35) 3; 36) 4; 37) 1; 38) 2; 39) 2.

Саркодовые:

1) 1; 2) 3; 3) 4; 4) 3; 5) 3; 6) 2; 7) 1; 8) 2; 9) 4; 10) 3.

Инфузории:

1) 3; 2) 1; 3) 4; 4) 1; 5) 2; 6) 2; 7) 4; 8) 2; 9) 1; 10) 3; 11) 3.

Апикомплексы:

1) 4; 2) 3; 3) 4; 4) 2; 5) 3; 6) 1; 7) 1; 8) 4; 9) 3; 10) 4; 11) 3; 12) 4; 13) 2; 14) 2; 15) 3; 16) 1; 17) 3; 18) 1; 19) 4; 20) 4.

Краткие ответы на ситуационные задачи

1. Случай малярии. **2.** Эритрофаг *E. histolytica*. **3.** Случай кожного лейшманиоза. **4.** Трофозоиты *V. coli*. **5.** Цисты и трофозоиты *Lambliа intestinalis*. **6.** Цисты *E. Coli*. **7.** а) методы серодиагностики. **8.** Случай тропической малярии. **9.** Трипаносома (случай африканского трипаномоза). **10.** Случай смешанной инвазии. Слева – направо: циста *Lambliа intestinalis*, трофозоит *Blastocystis Hominis*, циста *Jodamoeba butschlii*. Окрашивание трихромом. **11.** Эритрофаг *E. histolytica*. **12.** Циста *E. Coli*. **13.** Эпителиальные клетки органов пищеварения. Эти клетки представляют собой одну из наиболее распространенных причин ошибок при определении трофозоитов амёб. Клетки плоского эпителия имеют угловой внешний вид, в результате шелушения. Имеются отличия в соотношении ядра и цитоплазмы. **14.** Овальные объекты напоминают некоторые грибковые элементы, возможно, являются результатом загрязнения. Отсутствие ядра и кинетопласта в овальных структурах позволяют предположить, что они не являются

амастиготами *Leishmania* Sp., но история болезни пациента включает путешествие в страны, которые имеют эндемичные территории по лейшманиозу, поэтому диагноз не может быть подтвержден только на основе, представленных результатов лабораторного исследования. Рекомендуется повторить биопсию и исследование материала.

15. Случай трехдневной малярии (*P. vivax*). Обратите внимание, что для заключения используют толстую каплю, а тонкий мазок для видовой идентификации паразита, если это необходимо.

Краткие ответы к заданию по идентификации микрофотографий

Рис. 36. Трофозоит *Balantidium coli*, просматривается макронуклеус и цитостом. **Рис. 37.** Зрелая циста *Entamoeba histolytica/dispar* с четырьмя ядрами. Внутри цитоплазмы наблюдаются три хромоидных тела. **Рис. 38.** Окрашенная капля – это артефакт, который имеет внешний вид одноядерной цисты амебы. Отсутствие кариосомы и других характерных признаков позволяет отвергнуть сомнения. **Рис. 39.** Цисты лямблии кишечной. **Рис. 40.** *Blastocystis* sp., в кольце цитоплазмы наблюдаются несколько темноокрашенных ядер. **Рис. 41.** Циста *Chilomastix mesnili*. **Рис. 42.** Трофозоит Лямблии кишечной. **Рис. 43.** Зрелая циста Амебы кишечной.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Атлас кишечных простейших человека [Электронный ресурс]. – Режим доступа [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.atlas-protozoa.com>
2. Атлас микропрепаратов [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.medbio-kgmu.ru/cgi-bin/go.pl?i=637>
3. Бронштейн А. М. Паразитарные болезни человека : протозоозы и гельминтозы : учеб. пособие / А. М. Бронштейн, А. К. Токмалаев. – М. : Изд-во РУДН, 2002. – 207 с.
4. Гончаров Д. Б. Токсоплазмоз : роль в инфекционной патологии человека и методы диагностики / Д. Б. Гончаров // Медицинская паразитология и паразитарные заболевания. – 2005. – № 4. – С. 52–58.
5. Дмитриев Г. А. Мочеполовой трихомониаз (клинико-лабораторное обследование и ведение пациентов) [Электронный ресурс] / Г. А. Дмитриев, Н. И. Сюч. – М. : Мед. кн., 2005. – 128 с. – Режим доступа : <http://trichomoniasis.ru/page,2,13-mochepolovojj-trikhomoniaz-kliniko-laboratornoe.html>.
6. Заяц Р. Г. Основы общей и медицинской паразитологии / Р. Г. Заяц, И. В. Рачковская, И. А. Карпов. – Ростов н/Д : [б. и.], 2002. – 224 с.
7. Ириков О. А. Оценка информативности методов лабораторной диагностики лямблийной инфекции / О. А. Ириков // Мед. паразитология и паразитар. заболевания. – 2008. – № 3. – С. 22–24.
8. Кишечные протозойные инвазии [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.infectology.ru/ruk/LABOR/33.aspx>.
9. Корнакова Е. Е. Медицинская паразитология : учеб. для студентов сред. проф. образования / Е. Е. Корнакова. – М. : Академия, 2010. – 224 с.
10. Лабораторная диагностика кишечных простейших : учеб.-метод. пособие для системы послевуз. проф. образования врачей / М-во здравоохранения Хабаров. края, ГОУ ДПО «Ин-т повышения квалификации специалистов здравоохранения» ; сост. : Т. Г. Козырева, Е. В. Звонарева. – Хабаровск : Ред.-издат. центр ИПКСЗ, 2010. – 56 с.
11. Лабораторная диагностика паразитарных заболеваний [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <https://www.cdc.gov/dpdx/>

12. Лысенко А. Я. Клиническая паразитология : руководство / А. Я. Лысенко, М. Г. Владимирова, А. В. Кондрашин. – Женева : ВОЗ, 2002. – 752 с.

13. Лямблии : что это такое? [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://www.invazii.ru/protozoozy/ljamblii/>

14. Медицинская паразитология : учеб. пособие / ред. Е. В. Чебышева. – М. : Медицина, 2012. – 304 с.

15. Медицинская паразитология и паразитарные болезни [Электронный ресурс] : учеб. пособие / ред. : А. Б. Ходжаян, С. С. Козлова, М. В. Голубева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2014. – 448 с. – Режим доступа : <http://www.studmedlib.ru/>.

16. Медицинская протозоология. Паразитические простейшие человека : учеб. пособие / ред. : Н. В. Чебышева, В. П. Сергиева. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 264 с.

17. Методологические особенности выделения ДНК для постановки Nested PCR с целью дифференциальной диагностики малярии / А. Б. Гринев [и др.] // Мед. паразитология и паразитар. заболевания. – 2013. – № 2. – С. 30–33.

18. МУ 3.2.1173-02 Серологические методы лабораторной диагностики паразитарных заболеваний [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://docs.cntd.ru/document/1200031449>.

19. МУК 4.2.3145-13 Лабораторная диагностика гельминтозов и протозоозов : метод. указ. – 2-е изд, испр. и доп. – М. : ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора. – 118 с.

20. МУК 4.2.3222-14 Лабораторная диагностика малярии и бабезиозов : метод. указ. – М. : ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора, 2015. – 43 с.

21. Мяндина Г. И. Медицинская паразитология / Г. И. Мяндина, Е. В. Тарасенко. – М. : Практ. медицина, 2013. – 256 с.

22. Паразитарные болезни человека (протозоозы и гельминтозы) / ред. : В. П. Сергиева, Ю. В. Лобозина, С. С. Козлова. – 2-е изд., испр. и доп. – СПб. : ФОЛИАНТ, 2011. – 608 с.

23. Тестовые задания по биологии для подготовки к практическим занятиям и курсовым экзаменам / ред. Н.В. Чебышев. – М.: Кафедра биологии и общей генетики Первый МГМУ им. И.М. Сеченова, 2011. – 184 с.

24. Федянина Л. В. Лабораторная диагностика BLASTOCYSTIS SPP / Л. В. Федянина, Т. В. Продеус, О. А. Соловьева // Мед. паразитология и паразитар. заболевания. – 2012. – № 4. – С. 52–58.

25. Pinterest [Электронный ресурс]. – Режим доступа [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://ru.pinterest.com/pin/430164201880946218/>

Учебное издание

**ОСНОВЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ПРОТОЗОЙНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

Учебное пособие

Редактор *Н.Н. Коноплева*
Компьютерная верстка *Г.Е. Волковой*

Подписано в печать 16.05.2018.
Формат 60×84^{1/16}. Бумага офсетная.
Гарнитура Times New Roman. Печать цифровая.
Усл. печ. л. 5,8. Уч.-изд. л. 3,3.
Тираж 100 экз. Заказ № 1995

ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет»
163000, г. Архангельск, пр. Троицкий, 51
Телефон (8182) 20-61-90

