

Міністерство охорони здоров'я України
Запорізький державний медичний університет
Кафедра медичної біології, паразитології та генетики

Приходько О.Б., Булик Р.Є., Павліченко В.І., Ємець Т.І

ЛАБОРАТОРНА ДІАГНОСТИКА
ПАРАЗИТАРНИХ ІНВАЗІЙ

НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК

для студентів

4 курсу медичних факультетів

спеціальність „лабораторна діагностика”

Навчально-методичний посібник для аудиторної та позааудиторної роботи студентів 4-го курсу медичного факультету, спеціальність «лабораторна діагностика», з лабораторної діагностики паразитарних інвазій склали:

Приходько Олександр Борисович

зав. каф., доктор біологічних наук, ЗДМУ

Булик Роман Євгенович

зав. каф., професор, доктор медичних наук, БДМУ

Павліченко Віктор Іванович

доцент, кандидат біологічних наук, ЗДМУ

Ємець Тетяна Іванівна

доцент, кандидат фармацевтичних наук, ЗДМУ

Рецензенти:

Завідувач кафедри інфекційних хвороб Запорізького державного медичного університету, доктор медичних наук, професор Рябоконт О.В.

Завідувач кафедри біологічної хімії та лабораторної діагностики

Запорізького державного медичного університету, доктор хімічних наук, професор Александрова К.В.

ПЕРЕДМОВА

Навчально-методичний посібник "Лабораторна діагностика паразитарних інвазій" підготовлено колективом викладачів кафедри медичної біології, паразитології та генетики Запорізького державного медичного університету та Буковинського державного медичного університету, які тривалий час займаються викладанням медичної біології студентам медичного факультету.

Посібник складено відповідно до освітньо-професійної програми підготовки бакалаврів напряму «1201 Медицина» спеціальності «6.120102 Лабораторна діагностика», за навчальним планом, затвердженим наказом МОЗ України і рекомендований студентам 4 курсу (8 семестр).

Навчально-методичний посібник призначений для використання при проведенні практичних занять студентами медичного факультету спеціальності «Лабораторна діагностика», які вивчають лабораторну діагностику паразитарних інвазій за кредитно-модульною системою відповідно до вимог Болонського процесу, що дозволить оптимізувати якість підготовки до занять та здачі тем для присвоєння залікових кредитів.

Актуальність видання посібника зумовлена відсутністю підручника, який би відтворював останні досягнення у вивченні окремих питань з лабораторної діагностики паразитарних інвазій, а також відповідав би вимогам сучасної навчально-методичної літератури.

У посібнику автори намагалися сконцентрувати весь комплекс теоретичних знань з вивчення морфологічних особливостей дорослих паразитів, їхніх личинок та яєць, що необхідні студентам-лаборантам для визначення їх у біологічному матеріалі та оволодіння сучасними методами лабораторної діагностики паразитарних інвазій.

Для оцінювання рівня підготовки студентів можуть бути використані тестові завдання, індивідуальна співбесіда, вирішення ситуаційних задач. Оцінка успішності студента за дисципліною є рейтинговою та виставляється за багатобальною шкалою.

Підсумковий контроль засвоєння модуля здійснюється після його завершення. Матеріали тем, винесених на самостійне вивчення, включені в завершальний тестовий контроль, відповідно до модуля. Самостійна робота студентів (СРС) враховується при завершенні навчального семестру.

ПЛАН ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ

№ п/п	Тема	Кількість годин (28)
1.	Організація роботи лабораторії паразитології	3
2.	Морфологія і цикли розвитку саркодових, кишкових джгутикових і інфузорій, матеріал і методи дослідження амебіазу, лямбліозу та балантидіазу.	3
3.	Морфологія і цикли розвитку джгутикових, матеріал і методи дослідження лейшманіозу, трипаносомозу та трихомонодозу.	3
4.	Тип Apicomplexa, клас Sporozoea Морфологія, цикли розвитку малярійних плазмодіїв і токсоплазми, матеріал і методи досліджень.	3
5.	Тип Плоскі черви (Plathelminthes). Клас Сисуни (Trematodes): Fasciola hepatica, Opisthorchis felinus. Клас Цестоди (Cestoidea): Tenia solium, Echinococcus granulosus, Duophilobotrium latum	3
6.	Тип Круглі черви (Nemathelminthes). Клас Власне круглі черви (Nematoda): Trichocephalus trichiurus, Enterobius vermicularis, Ascaris lumbricoides, Ancylostoma duodenale, Necator americanus, Strongiloides stercoralis, Trichinella spiralis, Toxocara canis, Dirofilaria repens	3
7.	Кліщі – збудники хвороб та мешканці житла людей. Дослідження кліщів - збудників захворювань та їх переносників. Морфологічні особливості та розвиток коростяного кліща, залозника вугрового, собачого кліща. Дослідження пилових кліщів – збудників алергозів. Методи збору і визначення синантропних кліщів.	3
8-9.	Двокрилі комахи (комарі, гедзі, мокреці, мошки) – кровососи, переносники і проміжні хазяїни інфекційних та інвазійних захворювань людини Дослідження кровосисних двокрилих. Методи збору, виготовлення препаратів та визначення гнусу.	6
10.	Модульний контроль	1

**ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ ПРОТОКОЛІВ
ПРАКТИЧНИХ ЗАНЯТЬ**

- *Всі малюнки та схеми треба робити олівцем*
- *При малюванні об'єкта дослідження треба дотримувати його форму, колір, співвідношення розмірів його частин*
- *Позначення на малюнках, які вказані у роботі, потрібно робити цифрами, а потім розшифровувати їх*
- *Заповнювати таблиці, робити підписи під малюнками і схемами треба ручкою*
- *Наприкінці заняття протоколи підписуються викладачем.*
- *Заняття зараховується у тому разі, якщо протокол оформлений своєчасно та за ВСІМА ПРАВИЛАМИ!*

Заняття № 1

1. Тема: Організація роботи лабораторії паразитології.

2. Актуальність теми. Збудники гельмінтозів і протозоозів належать до «патогенних біологічних агентів» (ПБА) III і IV груп патогенності, що визначає режим роботи паразитологічних лабораторій (підрозділів), які виконують діагностичні, виробничі чи експериментальні роботи з патогенними біологічними агентами.

3. Мета заняття. Вивчити вимоги щодо організації паразитологічної лабораторії, забору проб і правила роботи з інвазійним матеріалом та дотримання особистої гігієни.

4. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення заняття.

4.1. Теоретичні питання до заняття:

1. Загальні положення щодо організації паразитологічної лабораторії.
2. Режим і правила роботи з інвазійним матеріалом
3. Особиста гігієна лаборанта
4. Забір проб і умови доставки матеріалу в лабораторію для паразитологічного дослідження.

Організація роботи паразитологічної лабораторії

1. Загальні положення

1) Паразитологічні дослідження біологічного матеріалу від людей на паразитарні захворювання, санітарно-паразитологічні дослідження об'єктів зовнішнього середовища і харчових продуктів, на цисти патогенних найпростіших, яйця і личинкові форми гельмінтів проводять у лабораторіях (підрозділах), ліцензованих чи акредитованих у встановленому порядку на даний вид діяльності.

2) За відсутності акредитації і ліцензії паразитологічні дослідження проводять, згідно з договорами, у лабораторіях інших організацій і установ,

акредитованих у встановленому порядку.

3) Для проведення лабораторних паразитологічних досліджень допускаються метрологічно атестовані методики, що відповідають НТД, Дст, а також методики, затверджені чи допущені до використання Держстандартом, Міністерством охорони здоров'я і держсанепідслужбою.

4) Забір проб для паразитологічних досліджень проводять відповідно до вимог державних стандартів; методичних вказівок, затверджених Департаментом держсанепіднагляду Міністерства охорони здоров'я України.

5) Робота зі збудниками III-IV груп патогенності і біологічним матеріалом (кров, інші рідини й екскрети організму), підозрілим на вміст патогенних найпростіших, гельмінтів і їхніх личинок проводять тільки в лабораторіях, що мають дозвіл, виданий у встановленому порядку Комісією за дотриманням вимог біологічної безпеки центрів держсанепіднагляду адміністративних територій терміном до 5 років.

2. Режим і правила роботи з інвазійним матеріалом

1) Роботу з ПБА III-IV груп патогенності виконують молодші спеціалісти з фаховою освітою, що пройшли спеціалізацію з лабораторної діагностики гельмінтозів і протозоозів. Для центрів держсанепіднагляду і деяких відомчих (виробничих) лабораторій необхідна спеціалізація із санітарно-паразитологічних досліджень харчових продуктів і об'єктів навколишнього середовища.

2) Персонал лабораторії допускають до роботи після проведення інструктажу з дотримання вимог біологічної безпеки.

3) Прилади, устаткування і засоби виміру в лабораторії повинні бути атестовані, технічно справні, проходити метрологічний контроль у встановлений термін і мати технічний паспорт. Кількість устаткування в лабораторії визначається обсягами і характером проведених і планових (відповідно до номенклатури) паразитологічних досліджень.

Знезаражування матеріалу і дезінфекція приміщень:

– Ємності з фекаліями, жовчю, харкотинням тощо поміщають в емальовані кювети чи на окремі столи — стаціонарні чи пересувні (з пластиковим чи іншим покриттям, що легко піддається дезінфекції).

– Пробірки з кров'ю встановлюють у штативи, розміщених в емальованих чи пластикових кюветах.

– За відсутності пластикового покриття на столах для мікроскопії використовують скляні, металеві, пластикові пластини чи емальовані кювети, які легко піддаються дезінфекції, де розкладають мазки, препарати, матеріал для дослідження.

– Відпрацьовані предметні скельця, піпетки, корки, пробірки, скляні палички, хімічні склянки тощо складають впродовж робочого дня в ємності з дезінфікуючим розчином до повного вертикального занурення (вітчизняні: 10% розчин хлораміну, «Велтолен», «Аламінаг», чи імпортовані деззасоби типу «Септодор», «Діанокс», «Віркон» тощо, допущені до застосування у встановленому порядку) для попереднього знезаражування.

– Заключне знезаражування лабораторного посуду проводять шляхом кип'ятіння у воді (з моменту закипання не менш 30 хв) з додаванням господарського мила чи рідкого миючого засобу. При відповідних умовах можна використовувати автоклавування. Після дезінфекції посуд миють і стерилізують.

– Ватно-марлевий матеріал, паперові фільтри і одноразові дерев'яні палички знищують шляхом спалювання чи викидання в контейнер для сміття після експозиції в одному з дезінфікуючих розчинів, чи попередньо засипають сухим порошком хлорного вапна чи хлораміну.

– Проби фекалій, харкотиння, жовчі, сечі засипають сухим хлорним вапном чи білильним термостійким вапном, чи хлораміном перед викиданням у контейнери, чи зливом у загальну каналізаційну мережу (за відповідних умов для знешкодження використовують автоклавування).

– Полістиролові планшети, наконечники, мікропробірки, пробірки, піпетки тощо, використані при роботі з кров'ю чи сироваткою крові, знезаражують у 6% розчині пероксиду водню з експозицією 3 год. у термостаті при 50 °С. Після цього промивають проточною водою, потім промивають 3-5 хв. у дистильованій воді і висушують у термостаті при 50 °С впродовж 15 хв.

– Згустки крові і сироватку крові перед утилізацією в загальну каналізаційну мережу знешкоджують тільки із застосуванням дезінфікуючих розчинів (відповідно до інструкцій із знезаражування).

– Робочі поверхні лабораторних столів знезаражують 70% етанолом, з наступним фламбуванням.

– Дезінфекційну обробку устаткування (центрифуги, мікроскопи, холодильники тощо) проводять розчином 70% етанолу чи із застосуванням відповідних деззасобів.

– Дезінфекцію халатів і рушників проводять методом кип'ятіння.

– Прибирання лабораторних приміщень проводять щодня після закінчення робочого дня шляхом вологого прибирання із застосуванням дезінфікуючих засобів, у «чистій» зоні — із застосуванням миючих засобів.

– Для сміття використовують відра з педальним пристосуванням для підняття кришок і разові поліетиленові пакети для сміття.

– Для дезінфекції повітря лабораторного приміщення і поверхонь використовують бактерицидні лампи чи аерозольні дезінфікуючі речовини.

3. Особиста гігієна лаборанта

1) Робота з фекаліями, жовчю, харкотинням, кров'ю та іншим біологічним матеріалом людей проводять обов'язково в гумових рукавичках, особливо в період підготовки матеріалу і виконання методик;

2) Обробка рук після роботи з інвазійним матеріалом полягає в попередньому митті рук з милом під проточною водою, потім обробці ватним тампоном з 70% етанолом (можна використовувати деззасоби для гігієнічної і хірургічної обробки рук, наприклад, «Велтосепт», «Асептинол 3» тощо);

3) При тривалій мікроскопії лаборантові для профілактики втоми очей необхідно робити вправи:

- по чергово прикривати рукою (руки перед цим ретельно вимити!) одне око, при цьому іншим дивитися вдалечінь — на дерева, будівлі, будинки;
- прикрити очі, покласти пальці рук на повіки і злегка натиснути, переборюючи опір пальців, подивитися вгору, вниз, праворуч і ліворуч (повторити до 6-8 разів);
- швидко поморгати;
- потягнутися нижньою губою до носа для кращого відтоку венозної крові з очей;
- дуже м'яко, обережно подушечками пальців коловими рухами масажуйте очні яблука через повіки, доторкніться до слізних кісточок біля перенісся і масажуйте, начебто миєте, перемістіть пальці до зовнішніх куточків очей і «промийте» їх теж; посидіть так близько хвилини; стисніть кулаки, напружте плечі, руки, потягніться всім тілом, розслабтесь і знову можна приступати до мікроскопування (робота з мікроскопом повинна в лаборанта займати не більше 60% робочого часу в день);

4) Перед виходом з лабораторного приміщення слід знімати лабораторні халати; мати шафи для халатів, змінного взуття і зберігати окремо від особистого одягу.

Дотримання правил дезінфекції, техніки безпеки при роботі з інвазійним і підозрілим на вміст збудників паразитарних хвороб матеріалом як частини протиепідемічного режиму лабораторій, обов'язкове для всіх співробітників лабораторії. Поточний контроль за виконанням вимог техніки безпеки здійснює керівник лабораторії.

4. Забір проб і умови доставки матеріалу в лабораторію для паразитологічного дослідження

Матеріалом для лабораторних паразитологічних досліджень на гельмінтози та протозоози служить різний біологічний матеріал від людини:

дуоденальний вміст, кал, ректальний слиз, сеча, харкотиння, виділення з бронхів, кров, біопсійні тканини тощо.

1) Забір проб і доставка фекалій (калу)

– Фекалії після дефекації відбирають з різних ділянок у кількості не менше 50,0 г (обсяг приблизно від чайної до столової ложки).

– Поміщають у чистий (прокип'ячений), сухий, скляний чи пластмасовий посуд із кришками.

– Стерильний скляний (пластиковий) посуд потрібний при заборі калу для дослідження на амебіаз.

– Кал доставляють у лабораторію і досліджують у день дефекації, тому, здебільшого, доставляють ранковий кал.

– Для виявлення яєць стронгілоїдесу кал доставляють і досліджують не пізніше, ніж через 1 год. після дефекації.

– Для виявлення личинок стронгілоїдесу, яєць анкілостомід і трихостронгілоїду досліджують кал не пізніше, ніж через 4 год. після дефекації.

– Для виявлення вегетативних (рухливих) форм дизентерійної амеби необхідно кал доставити і провести дослідження не пізніше, ніж через 20 хв після дефекації чи 40 хв, якщо цей час кал зберігали при температурі 4 °С.

– Для виявлення вегетативних форм кишкових найпростіших (лямблій, ентамеби тощо) у рідких і напівформлених випорожненнях час від дефекації до дослідження, по можливості, скорочують до мінімуму (не більше 1-1,5 год.).

Відбір проб фекалій у консерванти

Використовують при неможливості дослідження калу одразу ж після дефекації чи в день надходження матеріалу в лабораторію.

Фізичний спосіб збереження фекалій: при низькій температурі від 0 до 4°С, не більше доби.

Хімічні консерванти

• Рідина Барбагалло: розчин формаліну на фізіологічному розчині (3 мл формаліну 40% + 97 мл фізрозчину чи 1 л дистильованої води + 30 мл 40%

розчин формаліну + 8,5 г натрію хлориду).

- Розчин формаліну 4%-ний.
- Суміш 4% розчину формаліну з рівною кількістю гліцерину.
- Розчин оцтової кислоти від 3 до 10%.
- Розчини детергентів 1-1,5% — миючі засоби типу «Лотос», «Екстра» (окрім біо- активних); перед приготуванням розчину з порошку видаляють вологу, витримують у сухожаровій шафі при 100°C впродовж 2 год.

Заливають кал одним із консервантів в обсязі 1:1 чи 1 частина фекалій і 2 частини розчину консерванта, при цьому ретельно перемішують паличкою.

Зберігати фекалії в розчинах консервантів можна від декількох місяців до року, при більш тривалому збереженні можливе зруйнування яєць гельмінтів.

- Для консервації найпростіших кишечнику фекалії можна помістити в консервант Турдієва: 80,0 мл 0,2% розчину натрію азотистокиислого (0,16 г NaOH + 80,0 мл води дистильованої) + 2,0 мл гліцерину + 10 мл концентрованого формаліну (аптечного) + 8,0 мл концентрованого розчину Люголя.

Змішувати в співвідношенні: 1 частина калу і 3 частини консерванта.

- Хімічні консерванти для консервації і збереження дорослих гельмінтів чи їхніх фрагментів:

- формалін 10%;
- спирт 70%;
- рідина Барбагалло;
- гліцерин.

- Для консервації м'язів із личинками трихінел використовують концентрований розчин натрію хлориду (на 100 мл води 40- 50 г CaCl).

2) Відбір зскрібків із періанальних складок

– Зскрібок із періанальних складок можна забирати в обстежуваного в лабораторії, чи заздалегідь видавати пробірки з ватними тампонами, змоченими в гліцерині, на шпателях чи флакони з очними паличками, покритими

спеціальним клейовим шаром, попередньо проінформувавши обстежуваного (якщо обстежують дитину — то батьків дитини) про спосіб забору матеріалу і доставку його в лабораторію.

— Вранці (ввечері і вранці обстежуваному не підмиватися) зібрати зскрібок із періанальних складок методом «змиву» чи «відбитка» приготовленим ватним тампоном, змоченим у гліцерині, чи липкою стрічкою, чи очними скляними паличками зі спеціальним клейовим шаром.

— Після забору зскрібка шпателі вкладають назад у пробірку, липку стрічку наклеюють на предметне скло, а очні палички вкладають у відповідний флакон чи спеціальний контейнер зі штативами. Пробірки, флакони, предметні скельця попередньо маркують (при масових обстеженнях маркують цифрами відповідно до списку обстежуваних).

3) *Забір дуоденального вмісту (жовчі)*

— Матеріал доставляють у лабораторію в чистих хімічних чи центрифужних пробірках відразу після зондування пацієнта натще.

— Доставляють усі три фракції (порції «А», «В», «С») і досліджують відразу після надходження в лабораторію.

— Порцію «А» доставляють для дослідження на патогенні найпростіші дванадцятипалої кишки (лямблії), личинки стронгілоїдесу, трихостронгілоїду, анкілостомід.

— Порції «В» і «С» доставляють для дослідження на яйця гельмінтів, що паразитують у протоках печінки і підшлункової залози.

4) *Відбір проб харкотиння*

— Доставляють у лабораторію харкотиння, виділене при відкашлюванні (не слина і не слиз з носоглотки), у стерильному посуді з кришками (можна в чашках Петрі).

— Досліджують відразу після надходження.

5) *Відбір проб сечі*

— Доставляють у лабораторію сечу ранкового збору в чистих скляних

банках із кришками.

– Досліджують одразу після надходження в лабораторію.

– На шистосомоз - доставляють сечу, зібрану між 10 год ранку і 14 год дня, чи всі порції добової сечі; бажано зібрати сечу після фізичного навантаження (наприклад, 20-30 присідань).

6) Відбір проб епідермісу шкіри

– З ділянок шкіри (де наявні зміни шкіри чи свербіж) проводять кілька зрізів.

– Поверхневі зрізи шкіри діаметром 2-3 мм виконують безкровно, з дотриманням асептики, стерильним лезом бритви чи очним скальпелем, попередньо піднявши шкіру кінчиком стерильної голки.

– Розміщують шматочки шкіри в стерильному скляному посуді (можна чашки Петрі) з фізрозчином.

– Досліджують одразу після забору матеріалу.

7) Біопсія м'язової тканини (поперечнопосмугової мускулатури)

– Хірургічним шляхом одержують біопсійні шматочки двоголового чи литкового м'язів (ближче до сухожилля).

– Розміщують у стерильний скляний посуд з фізрозчином.

– Досліджують одразу після біопсії.

– Якщо лабораторне дослідження відкладають на певний термін, проби м'язів поміщають у консервант чи заморожують. Консервантом може бути концентрований розчин натрію хлориду (30-50%).

8) Відбір проб для контролю ефективності лікування кишкових, печінкових гельмінтозів і протозоозів

– Після лікування геогельмінтозів кишечника кал відбирають через місяць після проведеного лікування, а після лікування протозоозів кишечника кал відбирають залежно від виявленого захворювання: при амебіазі, балантидіазі - одразу після лікування, при лямбліозі - через тиждень.

– Після лікування контактних гельмінтозів: при гіменолепідозі кал

відбирають через 1 і 6 місяців після лікування; при ентеробіозі періанальний зскрібок відбирають через 4-6 днів після лікування.

– Після лікування біогельмінтозів кал відбирають через 3-4 місяці після проведеного курсу лікування.

– При першому негативному результаті (дослідження фекалій), відбір проб проводять ще дворазово з інтервалом 2-4 дні, після чого встановлюють остаточний результат лабораторного аналізу.

Протокол практичного заняття

Дата _____

Робота 1. Забір проб і умови доставки матеріалу в лабораторію для паразитологічного дослідження. (Заповніть таблицю):

Біологічний матеріал	Умови відбору проб
1. Фекалії	
2. Зскрібок із періанальних складок	
3. Дуоденальний вміст	
4. Харкотиння	
5. Сеча	

6. Епідерміс шкіри	
7. М'язова тканина	

Дата і підпис викладача _____

МЕДИЧНА ПРОТОЗООЛОГІЯ

Заняття № 2

1. Тема: Морфологія і цикли розвитку саркодових, кишкових джгутикових і інфузорій, матеріал і методи дослідження амебіазу, лямбліозу та балантидіазу.

2. Актуальність теми. Велика кількість протозойних захворювань досить поширена серед населення нашої країни. Серед паразитарних хвороб в Україні на протозоози припадає 9,8 %.

3. Мета заняття. Вміти класифікувати і визначати амеб, лямблій, балантидій.

4. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення заняття.

4.1. Теоретичні питання до заняття:

1. Підцарство Найпростіші. Тип Саркоджгутикові. Клас Справжні амеби. Характеристика, медичне значення представників .

2. Тип Саркоджгутикові. Клас Тваринні джгутикові. Характеристика лямблій кишкової, патогенність.

3. Тип Війчасті. Клас Ріностомати. Характеристика та визначення балантидія.

4. Матеріал і методи дослідження амебіазу, лямбліозу та балантидіазу.

Підцарство Найпростіші. Тип Саркоджгутикові.

Клас Справжні амеби.

У фекаліях можна знайти такі види амеб: *Entamoeba histolytica*, *Entamoeba coli*, *Entamoeba hartmani*, *Endolimax nana*, *Jodamoeba butsshlii*, *Dientamoeba fragilis*.

У порожнині рота й інколи в легенях знаходять *Entamoeba gingivalis*. Для людини патогенною є *E. histolytica*. Всі інші непатогенні і мають диференційно-діагностичне значення.

Дизентерійна амеба – ***Entamoeba histolytica***, викликає амебну дизентерію (амебіаз). Вона існує у вигляді трьох форм: тканинної, просвітної і цисти.

Веgetативна, тканинна форма (*forma magna*) амеби. Виявляється тільки у свіжовиділених фекаліях, чи в слизово кров'янистих виділеннях з товстої кишки. Розміри її в нативному препараті 15-60 мкм у діаметрі, прозора, ядра не видно. Зовнішній шар цитоплазми (ектоплазма) широкий, склоподібний, прозорий, гомогенний, добре помітний при утворенні несправжніх ніжок. Внутрішній шар (ендоплазма) — дрібнозернистий, блискучий, містить від одного до декількох десятків еритроцитів, або перетравлені фрагменти еритроцитів. Цій формі властивий активний поступальний рух за допомогою коротких і широких несправжніх ніжок (псевдоподій) ектоплазми. Дуже характерно для цієї форми раптове, поштовхоподібне утворення псевдоподій, в момент появи яких добре помітне «переливання» ектоплазми і поступальний рух амеби. У фіксованому стані, на препаратах, забарвлених розчином Люголя, в ядрах знаходять чіткі грудочки хроматину. Ядро лежить в ендоплазмі, малопомітне, розміром 5 мкм, оточене обідком. Цю форму можна виявити у вмісті абсцесу печінки, легень, який надійде в лабораторію під час оперативного втручання. У препаратах, оброблених розчином Люголя, вегетативні форми зберігають вказані морфологічні ознаки, але втрачають рухомість.

У забарвлених препаратах за Гейденгайном виявляються деталі будови

ядра: хроматин, забарвлений у чорний колір, у вигляді дрібних грудочок сконцентрований на внутрішній поверхні ядерної оболонки.

Просвітна форма (*forma minuta*). Це основна форма існування *E. histolytica*. Морфологічні властивості цієї форми подібні до тканинної, але вона менша за розмірами (12-20 мкм), рухи не такі інтенсивні, несправжні ніжки утворюються менш енергійно, не містить еритроцитів, цитоплазма чітко поділена на два шари, містить бактерії. Розміри ядра не перевищують 3-4 мкм.

Ця форма трапляється при стиханні запального процесу та при хронічному перебігу амебіазу. При забарвленні розчином Люголя морфологічні особливості добре помітні, але паразит втрачає рухомість.

Цисти. Утворюються в нижніх відділах товстої кишки із двох попередніх форм. Цисти розміром 10-15 мкм, округлої форми, нерухомі, безбарвні, блискучі, прозорі, мають чітку оболонку, інколи містять блискучі палички — хроматидні тіла (запас поживних речовин). При обробці розчином Люголя стають помітними чотири ядра округлої форми та нерізка обмежені бурого кольору плями (глікоген). Ядра у формі кільця розташовані в різних площинах цитоплазми. У центрі ядра помітна каріосома. Незрілі цисти містять 1 або 2 ядра, велику вакуолю - краплю глікогену, забарвлюються йодом у буровато-червоний колір. Хроматидні тільца не фарбуються.

У відповідях результатів лабораторних досліджень необхідно писати: «Виявлено тканинні форми *E. histolytica*, що вказує на амебне ураження кишечника» або «Виявлено просвітні форми (або цисти) *E. histolytica*. Тканинних форм дизентерійної амеби, що безумовно вказують на амебне ураження кишечника не знайдено».

***Entamoeba hartmani*.** Розмір вегетативних форм 4-12 мкм, малорухомі, в цитоплазмі знаходяться бактерії. Цисти дрібні (4-9 мкм), містять 1-2-4 ядра. Для людини цей вид непатогенний. Носії серед здорових людей складають 5-10% випадків.

Entamoeba coli — кишкова амеба за морфологією схожа на дизентерійну

амебу, тому важливе диференціувальне розпізнання. Розмір 20-30-60 мкм. Ендоплазма грубозерниста, вакуолізована, ектоплазми немає, ядро у вигляді кільця. У цитоплазмі знаходяться різні включення — бактерії, дріжджові клітини, частки харчових залишків тощо. Еритроцити можуть бути в дуже рідких випадках. Характер руху в'алий, несправжні ніжки утворюються повільно. Поступальний рух відсутній, амеба як би «тупцює на місці». У препаратах забарвлених за Гейденгайном ядро схоже на ядро *E. histolytica*, але містить більше хроматину, який у вигляді великих зерен розміщується на внутрішній оболонці ядра. В ядрі ексцентрично розміщена каріосома. Цисти кишкової амеби більші, в нативних препаратах нагадують цисти дизентерійної амеби, але в цитоплазмі ядро має форму кільця. У препараті з розчином Люголя — кількість ядер зрілої цисти 8, інколи 16 або 32, молоді цисти містять 1-2 і зрідка 4 ядра. У молодих цистах може бути глікогенова вакуоля. *E.coli* для людини непатогенна. Носійство серед людей становить 20-30% . Порівняльні ознаки *E. hartmani* і *E.coli*. відображені у таблиці.

**Порівняльні ознаки будови в незабарвлених препаратах
E. histolytica, *E.coli*, *E.hartmani***

Ознаки	<i>E. histolytica</i>	<i>E.coli</i>,	<i>E.hartmani</i>
<i>Вегетативні форми</i>			
<i>Розміри, мкм</i>	15-16	15-16	4-12
<i>Рух</i>	Активний, поступальний	Амеба змінює форму, але не розміщення	Схожа з <i>E. histolytica</i>
<i>Псевдоподії</i>	Прозорі, гіалінові, пальцеподібні, утворюються швидко, поштовхами	Прозорі, широкі, утворюються повільно	Схожі з <i>E. histolytica</i>
<i>Ядро</i>	Малопомітне у свіжих препаратах	Добре помітне	Не помітне
<i>Включення</i>	Еритроцити, мало бактерій	Велика кількість зерен крохмалю, бактерій та інш.	Бактерії

<i>Цисти</i>			
<i>Розміри, мкм</i>	8-15	10-20	4-9
<i>Кількість ядер</i>	4-6 - у зрілих 1,2,4-у молодих	8-у зрілих 1,2,4 – у молодих (зрідка 16.32)	4-6 - у зрілих, 1,2,3-у молодих
<i>Хроматинові тіла</i>	У вигляді брусочків і паличок із заокругленими кінцями	у вигляді паличок з гострими або розщепленими кінцями, трапляється рідко	Велика кількість у вигляді дрібних брусочків
<i>Вакуоль глікогенова</i>	У молодих цистах велика із розпливчастими контурами	У 1-2-ядерних цистах дуже велика, відтісняє ядро до оболонки цисти	Дифузна маса в центрі ядра не в усіх цистах

E. gingivalis міститься в нальоті на зубах. Можна інколи знайти в харкотинні при абсцесах та інших захворюваннях легень. Розміри вегетативних форм 20-40 мкм. Рухомість повільна, ядро схоже з ядром *E. coli*. У цитоплазмі багато бактерій, грибків, лейкоцитів. За одними авторами цисти трапляється рідко, за іншими, *E. coli* цист не утворює. Патогенність не відома.

Endolimax paup — карликова амеба. Розмір вегетативної форми 6-12 мкм. Рух в'ялий, поступального руху не спостерігається. У цитоплазмі багато бактерій, немає еритроцитів, ядро в нативному препараті не помітно. У забарвлених за Гейденгайном препаратах ядро містить велику каріосому. Цисти овальної або округлої форми, розміром 5-14 мкм, у середньому 7 мкм. У препаратах з розчином Люголя цисти забарвлені в жовтий колір, ядра непомітні.

У препаратах, забарвлених за Гейденгайном, можна знайти від 1 до 4 ядер. Амеба не патогенна для людини. Носії складають 15-20 відсотків здорової популяції.

Jodamoeba bitschlii. Розмір вегетативної форми 8-20 мкм, рухи в'ялі, ядро не помітне, в цитоплазмі багато бактерій.

У забарвлених за Гейнденгайном препаратах ядро містить велику каріосому.

Цисти неправильної форми, розміром 5-15 мкм. У препаратах, оброблених розчином Люголя, добре помітна велика, різко обмежена, інтенсивно забарвлена в коричневий колір глікогена вакуоля. Амеба не патогенна для людини.

Dientamoeba fragilis. Відомі тільки вегетативні форми. Розмір 7-12 мкм, рухи активні, поступальні. Цитоплазма вакуолізована, містить бактерії та інші включення. Ядра в нативному препараті не видно. У забарвлених за Гейнденгайном препаратах 2 ядра з великою каріосомою. Патогенність для людини не встановлена.

Тип Саркоджгутикові *Sarcomastigophora*. Клас Тваринні джгутикові *Zoomastigophora*

До кишкових джгутикових відноситься лямблія кишкова - *Lamblia intestinalis* збудник лямбліозу. Існує у вигляді вегетативної форми і цист. Місце паразитування: жовчі ходи, жовчний міхур, дванадцятипала кишка, тонка кишка.

Морфологія. Тіло вегетативної форми грушоподібне, задній кінець тіла загострений. Довжина близько 15 мкм, ширина в передній частині 7-8 мкм. Тіло сплющене у спино-черевному напрямку, витягнуте, розширене в передній частині, у задній – звужений «хвіст», спинна сторона опукла, черевна сплющена. У передній, сплющеній частині тіла, є заглибина (присосок) за допомогою якого лямблія присмоктується до слизової оболонки. Посередині тіла проходить подвійний аксостиль і чотири пари джгутиків. Два ядра які розміщені симетрично відносно поздовжньої осі тіла справа і зліва від аксостіля в ділянці присоска. Рух лямблії поступальний, активний. Лямблія має здатність в нижньому відділі товстої кишки утворювати цисти, які з випорожненнями виділяються у зовнішнє середовище.

Цисти - нерухомі, овальні форми, довжиною 8-14 мкм і шириною близько 8

мкм. Оболонка товста двоконтурна, чітка, прозора. У розчині Люголя забарвлюється в коричневожовтий колір. Циста має 2 чи 4 ядра, які локалізовані біля одного з полюсів і поздовжній пучок джгутиків, який проходить вздовж прокольної осі. Характерною особливістю цисти є те, що внутрішнє тіло завжди на деякій відстані відходить оболонки. При потраплянні на продукти харчування можуть заражати людину.

Тип Війчасті – Ciliophora.

Клас Цітостоматеа – Cytostomatea.

Балантидій кишковий (*Balantidium coli*) – найбільший за розмірами серед паразитичних найпростіших людини. Буває двох форм: вегетативна форма і циста.

Вегетативна форма великих розмірів: у довжину 30-200 мкм, в середньому 75 мкм, у ширину – 30-60 мкм, в середньому 40 мкм. Яйцеподібне тіло світло жовтуватого або сіруватого кольору. Передній кінець тіла звужений, задній більш широкий, заокруглений. Оболонка тіла вкрита паралельними рядами війок, які забезпечують швидке пересування в рідкому середовищі. Біля рота війки довші ті забезпечують захоплення бактерій, еритроцитів, лейкоцитів. На передньому кінці тіла знаходиться ротовий отвір – цитостом, який має лійкоподібну заглибину, продовженням її є вузький стравохід – цитофаринкс. На задньому кінці розміщений анальний отвір. Цитоплазма диференційована на два шари – ектоплазму і ендоплазму. Посередині тіла знаходиться велике ядро (макронуклеус – вегетативне ядро) боноподібне форми, розміром, 10-20мкм. В його заглибині локалізується мале ядро (мікронуклеус – генеративне ядро) кулястої форми у вигляді зернятка. У цитоплазмі багато травних вакуолей, а в задній частині тіла розміщена скоротлива вакуоля. Все тіло вкрите рядами війок, які постійно коливаються. У мазках калу у хворих на балантидіаз всередині балантидія містяться: багато еритроцитів і лейкоцитів, бактерії, грибки, зерна крохмалю.

Циста - рідко утворюється в кишечнику. Форма з чіткою безбарвною,

добре помітно двоконтурною оболонкою, діаметром 50 мкм. Війчастий покрив у цист відсутній. У зернистій цитоплазмі міститься макронуклеус.

Паразитують балантидії в товстій кишці, здебільшого в сліпій кишці. Можуть траплятися в нижньому відділі тонкої кишки. В нижніх відділах кишківника здатний утворювати цисти. Цисти одноядерні, мають овальну або кулясту форму, розміри - 50-60 мкм. Зараження людини відбувається за допомогою цист.

Клінічні форми захворювання на балантидіаз різноманітні і перебігають при симптомах ентероколіту, коліту чи кров'янистого проносу (балантидна дизентерія).

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОГО МАТЕРІАЛУ НА КИШКОВИХ НАЙПРОСТІШИХ

1. Виявлення найпростіших кишечника у фекаліях методом нативного мазка і мазка з розчином Люголя.

Принцип. Живих рухомих найпростіших кишечнику виявляють при дослідженні емульсії фекалій в ізотонічному розчині натрію хлориду під мікроскопом. Забарвлених, але нерухомих найпростіших виявляють в емульсії фекалій в розчині Люголя при дослідженні під мікроскопом.

Реактиви:

- 1) 85% розчин натрію хлориду (фізіологічний розчин).
- 2) Розчин Люголя (йодистий калій-3 г, йод кристалічний — 1,5 г, вода дистильована — 100 мл). Стійкий при зберіганні в темному посуді при кімнатній температурі протягом 1 міс.

Спеціальне обладнання:

- 1) Мікроскоп;
- 2) Предметні скельця;
- 3) Покривні скельця;
- 4) Палички дерев'яні — довжиною 10- 15 см, діаметром 2-3 мм.

Хід дослідження. На предметне скельце наносять 0,1 мл (2 краплі)

фізіологічного розчину і поряд, на відстані 2-3 см стільки ж розчину Люголя. Дерев'яною паличкою беруть частку фекалій (на кінці палички) і емульгують її в краплі фізіологічного розчину. Потім тією ж паличкою беруть другу частку фекалій і емульгують її в краплі розчину Люголя. Обидві краплі накривають покривним скельцем і розглядають спочатку при малому збільшенні мікроскопа, а потім при великому, без імерсії. У препараті з розчином Люголя виявляють більш тонку структуру найпростіших і, в основному, застосовується для диференціювання цист.

Емульсія фекалій має бути середньої консистенції, не густою, але порція фекалій не повинна бути маленькою (мала кількість найпростіших у препараті). Через правильно приготовлений препарат добре помітний печатний шрифт.

Оцінка результату. Досліджують 2 - 3 препарати, відмічають всіх найпростіших. У сумнівних випадках, при отриманні негативного результату, аналіз повторюють — протягом 1-2 тижнів слід зробити три аналізи. Метод дозволяє виявити як вегетативні форми, так і цисти. Цим методом, поряд з непатогенними найпростішими, можна виявити збудників двох основних захворювань кишечника: дизентерійну амебу і балантидію, а також лямблію.

Виявлення вегетативних тканинних форм (*forma magna*) свідчить, що у хворого амебіаз. Вегетативні просвітні форми (*forma minuta*) і цисти можна знайти у здорових носіїв, цього не досить для встановлення діагнозу амебіазу. Проте, вона трапляється і у хворих у період ремісії.

Тканинна форма в нативному препараті активно рухома, довжиною 25-40 мкм, рухається за допомогою широких несправжніх ніжок (псевдоподій), які утворюються поштовхоподібним виливанням цитоплазми. У частини амеб у цитоплазмі помітні еритроцити, що є важливою діагностичною ознакою цієї форми. У мазках, забарвлених розчином Люголя, помітне ядро, діаметром до 5 мкм, оточене по периферії обідком. Маленька каріосома розміщена в центрі ядра. У нативному мазку ядро непомітне.

Просвітна форма менше тканинної, її довжина до 15мкм. Еритроцити в

цитоплазмі відсутні, але остання містить інші включення із вмісту кишки.

Цисти — округлі, зрідка овальні, діаметром — 10-15 мкм. У нативному препараті мають вигляд світлозаломлювальних тілець без чітких внутрішніх деталей. У мазку, забарвленому розчином Люголя, в цисті помітно від 1 до 4 ядер (залежно від зрілості цисти), глікогенову вакуолю і хроматидні тіла.

Балантидій в нативному мазку великих розмірів до 60-80 мкм, активно рухомий. Вся поверхня тіла вкрита чисельними війками.

Лямблії трапляються у вигляді вегетативних форм і цист. У нативному препараті це активно рухомі організми, рух здійснюється за допомогою чотирьох джгутиків. Витягнуте тіло розширене в передній частині і загострене в задній. Передня частина сплющена, має заглибину — присмоктувальний диск. У мазках забарвлених розчином Люголя, в лямблій добре помітні два ядра, розміщені симетрично відносно поздовжньої осі тіла.

Цисти лямблії — утворення овальної форми, довжиною до 12-13 мкм і шириною до 8 мкм. Характерна особливість — внутрішнє тіло завжди на деякій відстані відходить від оболонки. Циста має два або чотири ядра, сконцентрованих на одному з її полюсів і поздовжній пучок джгутиків, які проходять вздовж продольної осі і добре помітні при забарвленні розчином Люголя. Виявлення цист у фекаліях свідчить про наявність у тонкій кишці пацієнта вегетативних форм лямблій.

Примітка:

- 1) Рідкі фекалії для дослідження забираються не пізніше 20 хв, оформлені - не пізніше 2 год після дефекації.
- 2) У фекаліях не повинно бути сторонніх домішок - дезінфікуючих речовин, води, сечі тощо.
- 3) Скляні палички для цього методу не придатні, бо кусочки слизу разом з паразитами з них зісковзують.
- 4) Дерев'яні палички можна використовувати тільки одноразово, а потім їх спалюють.

2. Виявлення найпростіших кишечника у фекаліях із застосуванням консервантів

Принцип. Найпростіших кишечнику фіксують у фекаліях консервуючим розчином. Морфологічні ознаки вегетативних форм і цист найпростіших кишечнику зберігаються незмінними тривалий термін.

Реактиви:

1) Консервант Барроу:

– Консервуючий розчин:

- a) Натрій хлористий – 0,7г
- b) Формалін концентрований – 5 мл
- c) Етанол 96° - 12,5 мл
- d) Фенол кристалічний – 2, 0 г
- e) Вода дистильована – до 100 мл

– Розчин барвника:

- a) 0,01% розчин таніну або азуру

Консервантом Барроу користуються за умов, коли дослідження проводять у термін, що не перевищує 1 міс.

2) Консервант Сафаралієва:

- a) Цинк сірчаноокислий — 1,65 г
- b) Формалін концентрований — 10 мл
- c) Фенол кристалічний -2,5 г
- d) Оцтова кислота концентрована — 5 мл
- e) Метиленовий синій — 0,2 г
- f) Вода дистильована — до 100 мл

Консервантом Сафаралієва користуються за умов, коли дослідження фекалій буде проведене через 1 міс.

Спеціальне обладнання:

- 1) Мікроскоп;
- 2) Пеніцилінові флакони;

3) Дерев'яні палички.

Хід роботи. Консервант розливають у пеніцилінові флакони до половини їх об'єму. Досліджуваний матеріал від кожного хворого терміново після забору переносять у флакон у кількості 1/3 об'єму взятого консерванта. За допомогою палички готують емульсію фекалій. Флакон закривають гумовим корком, який закріплюють липкою стрічкою. На кожному флаконі має бути етикетка, яка містить відомості про хворого. Перед дослідженням консервованій матеріал не перемішують. Краплю осаду з дна, піпеткою переносять на предметне скельце і ретельно розтирають скляною або дерев'яною паличкою до однорідної емульсії. Якщо матеріал зібраний у консервант Барроу, додають краплю барвника. Після цього краплю накривають покривним скельцем і мікроскопують при великому збільшенні.

Оцінка результатів. Досліджують 2-3 препарати, відмічають всіх найпростіших. Диференційну діагностику проводять за ознаками, які описані для мазка з розчином Люголя. Слід пам'ятати, що на відміну від розчину Люголя, барвники консервантів фарбують не глікоген, а хроматидні тіла. Структури найпростіших фарбуються в синій колір. Внутрішня структура балантидіїв у консервованому матеріалі стає непомітною, тому визначають шар війок на периферії клітини.

Примітка:

Замість таніну або азуру можна застосувати 0,01% розчин метиленової синьки.

3. Виявлення найпростіших кишечника у фекаліях методом формалін-ефірного збагачення

Принцип. При формалін-ефірній обробці фекалій здійснюється відокремлення і концентрування цист найпростіших.

Реактиви:

- 1) Розчин формаліну: формалін концентрований 10 мл, натрій хлористий 85 г і вода дистильована до 100 мл.
- 2) 2. Ефір сірчистий.

3) 3. Розчин Люголя: калій йодистий 3,0 г, йод кристалічний 1,5 г і вода дистильована до 100 мл. Зберігають у темному посуді.

Спеціальне обладнання:

- 1) Предметні скельця;
- 2) Покривні скельця;
- 3) Дерев'яні палички.

Хід обстеження. У пробірки розливають по 6 мл розчину формаліну. Частку фекалій, величиною з горошину, дерев'яною паличкою вносять у пробірку і ретельно емульгують у розчині формаліну. Потім у пробірку додають 2 мл ефіру, закривають гумовим корком, енергійно струшують 1хв. і центрифугують 3 хв. при 1500 об/хв. Після центрифугування між шарами формаліну та ефіру утворюється шар фекалій. Дерев'яною паличкою обережно відділяють його від стінок пробірки і виливають вміст (за винятком осаду). Тримаять пробірку отвором донизу обережно ватним тампоном витирають з пробірки рідину. Перевертають пробірку отвором вверху, переносять на предметне скельце осад, додають краплю розчину Люголя, накривають покривним скельцем і мікроскопують. За необхідності зберігають емульсію фекалій у формаліні протягом 1-2 діб.

Оцінка результатів. Виявляють всі вегетативні форми і цисти найпростіших кишечника.

4. Метод збагачення

Цей метод використовують коли кількість цист невелика і їх не можна знайти в нативному мазку.

Беруть 3-5 г фекалій розтирають у невеликій кількості води, емульсію виливають у циліндр, додають 500 мл води, добре перемішують і залишають на 20 хв. Калові частки осідають, а цисти утримуються в товщі води. Верхню, пінисту частину рідини відсмоктують і виливають; середню частину відсмоктують, переносять в інший циліндр і залишають на 18-20 год. За цей час цисти осідають на дно. Осад декілька разів центрифугують, змінюють рідину,

цисти концентруються, а калові частки видаляють. Після цього готують препарати для мікроскопічного дослідження.

Протокол практичного заняття

Дата _____

Робота 1. Морфологічні особливості цист, вегетативних форм дизентерійної та кишкової амеби.

Розглянути по таблицях вегетативну, тканину форми та цисту дизентерійної амеби; цисту і вегетативну форму кишкової амеби. Замалювати цисти амеб.

Робота 2. Життєвий цикл дизентерійної амеби.

Розглянути по таблиці. Замалювати цикл, позначивши стадії розвитку і стан людини (цистоносієство чи захворювання).

Робота 3. Морфологія лямблій та її цисти.

Розглянути під мікроскопом постійні препарати лямблій та її цисти. Зробити малюнки та позначити органоїди.

Робота 4. Будова балантидія та його цисти.

Розгляньте постійний препарат балантидія та його цисти. Замалюйте вегетативну форму та цисту балантидія. Позначте макро- та мікронуклеуси, війки, вакуолі.

Дата і підпис викладача _____

Заняття № 3

1. Тема: Тваринні джгутикові – паразити людини (лейшманії, трипаносоми, трихомонади)

2. Актуальність теми. Представники класу Джгутикові є збудниками тяжких захворювань людини: лейшманіозу, трипаносомозу, які відносяться до трансмісивних та природно-осередкових. Ураження трихомонозом досягає 170 млн. нових випадків щорічно. Інвазійність жінок досягає 20-40 %, а чоловіків – до 15 %. Тому вивчення морфології і біології представників цього класу має велике значення для профілактики та лікування цих захворювань.

3. Мета заняття. Вміти давати визначення трансмісивним та природно-осередковим захворюванням, визначати і давати латинські назви джгутиковим, які мають медичне значення.

4. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення заняття.

4.1. Теоретичні питання до заняття:

1. Клас Zoomastigophora. Характерні риси організації, медичне значення.
2. Лейшманії – збудники лейшманіозів.
3. Трипаносоми - збудники трипаносомозів.
4. Морфологія, локалізація, шляхи зараження, патогенна дія, діагностика та профілактика трихомонадозу.
5. Методи дослідження лейшманіозу, трипаносомозу та трихомонадозу.

Клас Zoomastigophora

Серед чисельної кількості видів, що відносяться до цього класу, патогенними для людини є лейшманії, трипаносоми, трихомонади.

Лейшманії.

У людини паразитує три види лейшманій: *Leishmania tropica*, *Leishmania donovani*, *Leishmania brasiliensis*. У розвитку лейшманії проходять дві стадії: лейшманіальну і лептомонадну.

Безджгутикова форма (лейшманіальна) – овальна, нерухома, не містить джгутиків, розміром 2-6 мкм, ядро округле, велике (займає 1/3 клітини). Розмножуються шляхом поділу. При забарвленні за Романовським цитоплазма блакитна, ядро червоно-фіолетове. Ці форми паразитують у макрофагах, клітинах кісткового мозку, селезінки, печінки. В одній клітині може міститися декілька декілька десятків лейшманій.

Джгутикова форма (лептомонадна) – витягнута, веретеноподібна довжиною до 10-25 мкм, шириною – 5-6 мкм. Ядро знаходиться в середній частині тіла. У передній частині розташований блефаропласт від якого відходить джугтик. Це рухома форма, розвивається в тілі переносника (москіта) або в культуральному середовищі.

При укусі людини зараженим москітом у ранку попадають джгутикові форми і залежно від виду проникають у клітини шкіри або внутрішніх органів. *L.tropica*

викликає шкірний лейшманіоз, *L.donovani* –шкірно-вісцеральний, *L.brasiliensis* – шкірно-слизовий (американський) лейшманіоз.

Збудників виявляють в інфільтрат нх шкіри (шкірний лейшманіоз), у зішкрібі з ураженої шкіри, в мазках кісткового мозку, в пункт атах печінки, селезінки. У крові паразити перебувають короткий проміжок часу і тому вона практично непридатна для лабораторного виявлення лейшманій.

Трипаносоми. Для людини патогенними є три види трипаносом:

Trypanosoma gambiense, *T. rodesiense* та *T. equiperdum*. Викликають захворювання трипаносомоз (сонна хвороба, хвороба Чагаса).

Морфологія. Тіло трипаносоми довгасте, вузьке, на кінцях загострене, характерно зігнуте у вигляді літери «S» або півмісяця. Розміри 15-30 мкм, має джгутик і ундулюючу мембрану. У центрі розміщене одне ядро, а біля заднього кінця округлої форми блефаропласт від якого бере початок нитка і тягнеться вздовж ундулюючої мембрани. Розмножуються трипаносоми поздовжнім поділом.

На початковій стадії хвороби трипаносоми (джгутикова стадія, трипаносомальна форма) знаходяться в периферичній крові. Трипаносомальні форми в крові не розмножуються. Пізніше вони проникають всередину клітин різних тканинах, втрачають джгутик (безджгутикова, лейшманіальна форма). Розміри від 1,5 до 4-5 мкм. У клітинах гістіоцитарної системи печінки, селезінки, нирок, кишечника, шкіри, лімфатичних вузлів інтенсивно розмножуються шляхом простого поділу і утворюють скупчення. При руйнуванні клітини попадають у кров, де знову перетворюються в трипаносомальні форми. Трипаносоми у зовнішнє середовище не виділяються.

Трихомонади.

В організмі людини існують три види трихомонад: *Trichomonas hominis* (кишкова), *T. gingivalis* (ротова), *T. vaginalis* (піхвова). Особливого значення набуває остання, викликає сечостатевий трихомоноз.

Піхвова трихомонада (*Trichomonas vaginalis*)

Морфологія. Тіло *Trichomonas vaginalis* грушоподібної, зрідка кулястої форми, довжиною 5-25мкм (всередньому — 13 мкм), вкрите оболонкою — пелікулою. У забарвлених препаратах ядро довгасто-овальної форми, розміщене в передній частині тіла, має чітку ядерну оболонку. У цитоплазмі багато дрібних зерен хроматину. Спереду від ядра знаходиться група блефаропластів, від яких беруть початок 4 джгутики, рівних довжині тіла, ундулююча мембрана і аксостиль. Ундулююча мембрана займає 2/3 довжини тіла. На вільному краї мембрани розміщена крайова фібрила, а біля основи — базальна, чи опорна фібрила. Аксостиль бере початок від блефаропласта, на передньому кінці тіла, проходить повз ядро і на задньому кінці тіла виступає у вигляді шпички. Між ядром і основою ундулюючої мембрани розміщене парабазальне тіло. Цитостом, або ротовий отвір, у вигляді невеликої щілини знаходиться на передньому кінці тіла, малопомітний. Розмножується трихомонада поздовжнім поділом.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛЕЙШМАНІЙ, ТРИПАНОСОМ ТА ТРИХОМОНАД Лабораторна діагностика лейшманій

Матеріал для дослідження:

- вміст горбиків без виразкових змін;
- виділення з виразки;
- кістковий мозок;
- пунктат селезінки, печінки.

Протозойні методи.

Для приготування мазка необхідно:

- 1) метиловий спирт, абсолютний етиловий спирт, чи суміш Нікіфорова (суміш рівної кількості ефіру і абсолютного етилового спирту);
- 2) фосфорний буфер (рН 6,9 -7,1; приготовлений так: змішують 40 мл розчину KH_2PO_4 (9, 078 г сухої речовини в 1 л води) і 60 мл розчину Na_2HPO_4 (11,876 г сухої речовини в 1 л води);

3) азур-еозин за Романовським.

Виявлення лейшманій у мазках шкірного інфільтрату

Техніка дослідження. Матеріал отримують із горбика (на ранній стадії процесу) або з периферії інфільтрату виразки (на пізніх стадіях) дещо відступивши від її краю. Очистивши ватним тампоном, змоченим у спирту, горбик або ділянку інфільтрату зчавлюють його двома пальцями для знекровлення і не зменшуючи тиску очним скальпелем роблять поверхневий надріз. При появі крові її видаляють ватним тампоном. Із дна і країв надрізу цим же скальпелем отримують роблять поверхневий надріз. При появі крові її видаляють ватним тампоном. Із дна і країв надрізу цим же скальпелем отримують зішкріб ураженої тканини і швидко готують декілька мазків на предметних скельцях. Мазки висушують на повітрі, фіксують метанолом, або сумішшю Нікіфорова і забарвлюють за Романосвським.

Оцінка результатів. У препараті добре видні макрофаги, ендотеліоцити, плазматичні лімфоїдні клітини, фібробласти. Наявність у препараті ендотеліоцитів і безформних грудочок, рівномірно забарвлених у фіолетовий колір свідчить, що зішкріб взято поверхнево і його слід повторити. У мазках не повинно бути багато крові, гною і бактерії.

Лейшманії (*L.tropica*) виявляють у макрофагах, або поза клітинами у вигляді овальних і видовжених тілець розміром 3-5 мкм. При забарвленні за Романовським цитоплазма лейшманій набуває світло-блакитного, чи синюватого кольору, ядро червоно-фіолетового. Чіткий інтенсивно забарвлений кінетопласт. У гнійному вмісті лейшманії деформовані, або зруйновані. Це ускладнює встановлення діагнозу. На стадії за живлення в уражених тканинах лейшманії виявляють зрідка.

Виявлення лейшманій у мазку кісткового мозку

Пунктат кісткового мозку отримують обережно, щоб не зруйнувати і не деформувати клітини. Терміново після взяття готують тонкі мазки. Якщо пунктат щільний, мазки можна готувати як відбитки. При значних домішках

крові в пункт аті, з нього на склі виділяють білуваті жирові клубочки і з них готують мазки. Приготовлений мазок висушують на повітрі, потім фіксують, як мазки крові. Нефіксовані мазки змиваються. В якості фіксатора мазків застосовують метиловий спирт, абсолютний етиловий спирт, ацетон тощо. Найкращі результати отримують при фіксації метиловим спиртом. Препарат заливають або занурюють у кювету, наповнену фіксатором.

Час фіксації окремими фіксаторами такий:

- метиловий спирт – 3-5 хв
- ацетон – 5 хв
- абсолютний етиловий спирт – 20-30 хв
- суміш Нікіфорова (ефір і спирт порівну) – 20-30 хв

Після фіксації препарат заливають робочим (розведеним) розчином барвника Романовського (приблизно 3-5 мл) і залишають на 20-40 хв. Потім його промивають водою, висушують і досліджують під мікроскопом.

Лабораторна діагностика трипаносом

Матеріал для дослідження:

- кров;
- пунктат лімфатичних вузлів;
- спинномозкова рідина.

Протозойні методи.

Для виявлення трипаносом у хворих на трипаносомоз **досліджують кров у нативних мазках, або в мазках і товстій краплі** (через 2-3 години після зараження).

Кров забирають з м'якоті безіменного або середнього пальців лівої руки. Прокол здійснюють скарифікатором одноразового користування. Місце проколу протирають спиртом, а потім ваткою, змоченою ефіром, для швидкого висушування. Якщо кров з ранки виступає погано, то злегка масажують палець у напрямку до місця проколу або пропонують пацієнту зробити декілька енергійних згинальних рухів кистю руки. Якщо на місці проколу з'явився

кров'яний згусток, його видаляють сухою ватою.

При виготовленні мазків палець тримають проколом доверху. До краплі крові доторкуються нижньою поверхнею чистого предметного скельця, відступивши на 2 см від краю. Скло перевертають, беруть у ліву руку, а в праву предметне скельце із шліфованим краєм, торкаються краплі крові під кутом 45° і швидким рухом цього скла вперед роблять мазок. Правильно виготовлений мазок повинен бути тонким, не доходити до бокових країв і до кінця скла.

Мазки висушують на повітрі при кімнатній температурі, після чого фіксують одним із фіксаторів - метиловим спиртом (3-5 хв), етиловим (96°) спиртом (15 хв), сумішшю Нікіфорова (20 хв). Фіксують мазки шляхом занурення їх у стакан з фіксатором або наливають останній на предметне скельце з мазком. Після цього знову висушують мазки на повітрі і приступають до їх забарвлення за методом Романовського-Гімзи.

Готовий розчин фарби розводять перед використанням дистильованою водою у співвідношенні 1:10, попередню визначивши I робочий титр. Отриману робочу фарбу наливають на мазки на 30-45 хв. Після чого їх промивають водою і знову висушують на повітрі.

Для отримання товстої краплі палець повертають проколом донизу. До виступаючої краплі підносять предметне скельце, на яке беруть 2-3 краплі крові, а потім голкою або кутком другого предметного скельця кров розмащують у вигляді овалу діаметром близько 1 см і довжиною до 3 см. Отримані товсті краплі висушують, залишають при кімнатній температурі (для прискорення висихання, скельця можна помістити в термостат при 30-35 $^\circ\text{C}$).

Товсті краплі після висушування на повітрі забарвлюють за Романовським (як зазначено вище) протягом 45 хв без попередньої фіксації. Після забарвлення препарат обережно промивають водою, щоб не змити зі скла забарвлену краплю, і висушують.

Приготовлені мазок і товсту краплю можна мікроскопувати. У хронічній

стадії хвороби трипаносом у крові мало, тому застосовують метод ксенодіагностики — вигодовують тріатомових клопів — переносників на тілі хворого з підозрою на захворювання з наступним дослідженням випорожнень клопа. Клопи починають виділяти паразитів з фекаліями приблизно з 5-го дня вигодовування.

Лабораторна діагностика трихомонад

Матеріал для дослідження:

Матеріалом для дослідження є виділення із сечостатевої шляхів хворої людини.

Протозойні методи.

Досліджують «світлу краплю» піхвових виділень у нативному мазку. Після уведення піхвових дзеркал забирають краплю виділень із заднього склепіння або іншої ділянки слизової оболонки піхви, поміщають у краплю фізіологічного розчину на предметне скельце, накривають покривним скельцем і мікроскопують.

У чоловіків для дослідження забирають виділення з уретри до сечовипускання. Для виявлення трихомонад у сечовому міхурі сечу забирають катетером і досліджують її осад після центрифугування.

Мікроскопію слід проводити одразу, або не пізніше 1 год після забору матеріалу. Не припускати висихання мазків. Перед мікроскопією мазок підігривають над полум'ям спиртівки.

У мазку на фоні безбарвних епітеліальних клітин, лейкоцитів, слизу, трихомонади виділяються більш сильним світлозаломлюванням, активною рухливістю і характерним скороченням ундулюючої мембрани і джгутиків. Не слід діагностувати трихомоніаз за нерухомими об'єктами, а тому при підозрі на захворювання слід повторити дослідження.

Діагностику можна проводити на постійних препаратах попередньо фіксованих рідиною Шаудіна і забарвлених за Гейденгайном.

При сухому методі фіксації, мазок на предметному скельці підсушують на повітрі і фіксують сумішшю етанолу з ефіром або над

полум'ям спиртівки. Потім фарбують за Грамом, чи, краще, фарбою Романовського-Гімзи. За цим забарвленням трихомонади розпізнати легко (ядро червоне, цитоплазма вакуолізована, блакитна, містить бактерії). Добре помітний клітинний фон (нейтрофіли, еозинофіли, епітеліальні клітини). У мазках, забарвлених метиленовим синім, трихомонади легко сплутати зі зміненими клітинами. У «сухих» мазках трихомонади деформовані, структурні особливості слабо помітні, нечіткі. Діагностика за таких умов вимагає навичок і багато часу.

Протокол практичного заняття

Дата_____

Робота 1. Морфологія та життєвий цикл лейшманії.

Розглянути під мікроскопом постійні препарати джгутикової форми лейшманії. Замалювати в практикумі позначивши ядро, джгутик. Вивчити життєвий цикл лейшманії по таблицям та підручнику, замалювати, позначивши основного та резервуарного хазяїв, переносника, життєві форми лейшманії.

Робота 2. Морфологія та життєвий цикл трипаносоми.

Розглянути під мікроскопом постійні препарати джгутикової форми трипаносом. Замалювати в практикумі та позначити: ядро, джгутик, ундулюючу мембрану. Розглянути життєвий цикл трипаносоми по таблицям та

підручнику. Схему замалювати, позначивши основного та резервуарного хазяїв, переносника.

Робота 3. Морфологія трихомонади піхвової.

Розглянути під мікроскопом постійні препарати піхвової трихомонади. Зробити малюнок та позначити органоїди.

Дата і підпис викладача _____

Заняття № 4

1. Тема: Тип Apicomplexa, клас Sporozoea

2. Актуальність теми. Представники класу споровиків є збудниками тяжких та найбільш поширених захворювань у людини. Для профілактики і лікування цих захворювань необхідні знання морфології, фізіології та екології паразитів.

3. Мета заняття. Вміти класифікувати і визначати споровиків – збудників хвороб людини.

4. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення

заняття.

4.1. Теоретичні питання до заняття:

1. Токсоплазма – паразит людини. Морфологія, цикл розвитку. Шляхи зараження, патогенність, діагностика, профілактика токсоплазмозу.
2. Цикл розвитку малярійного плазмодія.
3. Види малярійних плазмодіїв – паразитів людини. Вплив їх на організм людини, профілактика малярії.
4. Матеріал і методи досліджень токсоплазмозу та малярії.

Клас споровики

Це поширена група найпростіших, які ведуть виключно паразитичний спосіб життя. У людини паразитують кров'яні споровики (гемоспоридії) - плазмодії. У родини *Plasmodium*, існують чотири види які викликають малярію (*P.vivax*, *P. malariae*, *P. falciparum*, *P. ovale*). Вони живуть у клітинах, порожнинах і тканинах людини.

Життєвий цикл складається з:

- 1) статевого розмноження в тілі комара (спорогонія);
- 2) безстатевого розмноження в клітинах печінки людини (тканинна шизогонія);
- 3) формування в еритроцитах статевих форм (гаметоцитів або гамонтів).

Для лабораторної діагностики виняткового значення набуває еритроцитарна шизогонія. В еритроцитарному циклі розвитку плазмодіїв розрізняють стадії: кільця, шизонта, меруляції, молодих і сформованих гаметоцитів.

Молоді тканинні мерозоїти мають форму овального клубочка, цитоплазма з одним ядром. Проникнувши в еритроцит округлюються, перетворюються в безстатеві шизонти. У них з'являються вакуолі, оточені цитоплазмою. Паразит набуває форми кільця (перстня). На забарвлених препаратах блакитного кольору однорідна без пігменту цитоплазма оточує вакуолю і невеличких розмірів рубіново-червоне ядро. Поступово кількість цитоплазми збільшується, накопичуються продукти розпаду гемоглобіну

(пігмент у вигляді дрібних темно-коричневих зерен або жовто-золотавих паличок). По мірі росту шизонта кількість пігменту збільшується, шизонт поступово набуває овальної форми і заповнює весь еритроцит. Розпочинається безстатевий поділ шизонта (шизогонія), при цьому утворюється велика кількість ядер, кожне з яких оточене цитоплазмою. Спочатку всі вони прилягають одне до одного (нагадують за формою морулу). По мірі дозрівання мерозоїтів еритроцит збільшується в розмірах і лопається, мерозоїти виходять у кров (меруляція). Частина з них гине, а інші — проникають у нові еритроцити і шизогонія повторюється. Напади малярії у хворого виникають у період масового поділу паразитів. Інтервали між нападами визначаються тривалістю еритроцитарної шизогонії: у *Plasmodium malarie*— 72 год (напади через дві доби), у *Pl. falciparum, ovale*— 48 год (напади через добу). Неправильні проміжки нападів зумовлені формуванням додаткових генерацій в розвитку паразитів.

Методика взяття крові, приготування мазка і товстої краплі

Завчасно готують голки (скарифікатори) одноразового користування, предметні скельця, скельця із шліфованими краями, спирт, ефір, гігроскопічну вату. Предметні скельця кип'ятять у слабкому розчині натрію гідрокарбонату, миють з милом у теплій воді, промивають проточною водою і витирають. Занурюють у посуд із спиртом і тут витримують 1-2 год.

Забір крові і виготовлення мазка М'яку подушечку останньої фаланги III-IV пальців лівої руки протирають етанолом, а потім ваткою, змоченою ефіром для швидкого висушування. Шкіру проколюють гострою голкою одноразового користування. Якщо кров із ранки не виступає, палець розтирають у напрямку до місця проколу, пропонують пацієнтові зробити згинальні рухи пальцями і кистю руки. Інколи роблять повторний прокол. Якщо готують декілька мазків, а крапля крові згортається її витирають сухою ватою. До краплі крові що виступає, доторкуються нижньою поверхнею предметного скельця, відступивши на 1,5-2 см від вузькою краю. Потім скло перевертають, беруть у

ліву руку, а в праву - скельце з шліфованими краями і його вузьким краєм під кутом в 45° доторкуються до краплі крові. Кров розтікається по краю шліфованого скельця, швидким рухом цього скла вперед роблять мазок. Правильно виготовлений мазок має бути тонким, розміщуватися посередині скла, не доходити до країв і до кінця скла. Такий препарат зручний для мікроскопії.

Для приготування товстої краплі палець повертають проколом до низу. До краплі крові що виступає підносять предметне скельце і на нього беруть 2-3 краплі крові. Потім голкою або кутком другого скла кров розмащують, отримують овал діаметром близько 1 см або стрічку довжиною 2-3 см. Шар крові не повинен бути дуже товстим бо в процесі висихання кров утворить кірочку і відстане від скла. Препарат товстої краплі висушують, для чого скло кладуть на горизонтальну площину. Для прискорення цього процесу, препарат можна помістити в термостат (30-35 °С). Препарати захищають від пилу, мух та тарганів, які поїдають вологу і підсохлу кров.

Фіксація і забарвлення мазків крові

Мазки висушені на повітрі фіксують, а потім забарвлюють. Для фіксації використовують метиловий спирт (фіксація 3- 5 хв), етиловий 96° спирт (15 хв) або суміш Нікіфорова — абсолютний етиловий спирт і ефір порівну (20 хв). Фіксатор наливають прямо на скло, яке розміщене в горизонтальній площині, або краще занурюють в спеціальний стаканчик, куди можна помістити декілька препаратів. Фіксовані мазки висушують на повітрі і забарвлюють за методом Романовського-Гімзи.

Готовий розчин барвника розводять перед вживанням дистильованою водою (рН - 7,0-7,2) з розрахунку 1-2 краплі на 1 мл води. Барвник піпеткою наливають на мазки, розмішені на дні скляної кювети. Тривалість забарвлення — 30-45 хв. Після забарвлення препарат промивають повільним струменем води і висушують на повітрі. На склі з мазком простим олівцем записують прізвище пацієнта, номер і дату. Цей підпис добре зберігається.

Забарвлення товстої краплі

Висушені товсті краплі обробляють барвником Романовського-Гімзи без попередньої фіксації. Техніка забарвлення така ж, як і при приготуванні мазка. Тривалість висушування — близько 40-45 хв. При цьому гемоглобін світлішає, забарвлюються лейкоцити, кров'яні пластинки і плазмодії. При тривалому (понад 7 діб) зберіганні товстих крапель незабарвленими, їх спочатку промивають 10-15 хв. дистильованою водою, наливають воду безпосередньо на препарат. Разом з водою змивається гемоглобін. На препарат наливають барвник. Після забарвлення товстої краплі препарат споліскують водою. Краще занурювати препарат у стакан з водою, щоб не змити товстої краплі.

Забарвлені препарати зберігають загорнутими в папір. Краще зберігати в спеціальних папках із гніздами для кожного препарату. Після мікроскопії імерсійну олію видаляють м'якою серветкою.

Плазмодії малярії у мазках крові

Мазки крові розглядають під мікроскопом з об'єктивом x90 і окуляром x7, при достатньому освітленні денним або штучним світлом. Діафрагму відкривають повністю, освітлювач піднімають до рівня столика мікроскопа. Краплю імерсійної олії наносять на тонке місце мазка. Після виявлення в препараті еритроцитів регулюють висоту освітлювача, положення дзеркала.

У мазку крові плазмодії виявляють в еритроцитах, їх цитоплазма блакитного або сірувато-синього кольору, а ядра — різних відтінків червоного кольору.

Для зручності виявлення паразита, умовно виділяють кілька стадій, які мають у кожного виду плазмодія свої видові особливості.

Стадія кільця. Форма кільця (перснєподібна) утворюється через 2-3 год від початку попадання плазмодія (мерозоїта) в еритроцит. У мерозоїті з'являється вакуоля, збільшуючись в розмірах вона відтісняє до периферії ядро і цитоплазму. Паразит набуває перснєподібної форми з вузьким обідком блакитної цитоплазми без пігменту, і червоним ядром.

Стадія поділу шизонта. Відбувається послідовний поділ ядра на 2-4-8 частин (у кожного виду певна їх кількість). Кожне ядро оточене цитоплазмою. Утворені форми називаються мерозоїтами, їх розміри близько 1,5 мкм. Частина мерозоїтів в еритроцитах утворює незрілі статеві клітини — гаметоцити або гамонти, які є інвазійною стадією зараження комарів роду *Anopheles*. Вони не розмножуються, збільшуються в розмірах. У *Plasmodium vivax, malariae, ovale* гаметоцити виявляють у периферичній крові на всіх стадіях розвитку а у *Plasmodium falciparum* - тільки зрілі, характерної (півмісяцевої) форми.

Диференційна діагностика видової приналежності плазмодіїв

1. Для *Plasmodium vivax* властиві збільшених розмірів уражені еритроцити із шюфферівською зернистістю, кількість мерозоїтів 8-24, амебоподібні стадії великі.
2. Для *Plasmodium malariae* зрілий шизонт нагадує за формою стрічку, форма уражених еритроцитів не зазнає змін. Кількість мерозоїтів 6-12.
3. Для *Plasmodium falciparum* властиві в крові дрібні кільцеподібної форми паразити, гаметоцити півмісяцевої форми, уражені еритроцити не збільшуються.
4. У *Plasmodium ovale* виявляється значних розмірів зернистість, уражені еритроцити збільшені, часто набувають овальної форми, безбарвні. У деяких еритроцитах краї зазублені.

При оформленні результатів дослідження крові вказують вид знайденого плазмодія, а при виявленні паразита тропічної малярії уточнюють що знайдено: кільця, гаметоцити чи те й інше.

Помилки лабораторної діагностики

При дослідженні мазків крові і товстої краплі за паразитів можна прийняти тромбоцити. Поодинокі тромбоцити, що лежать на еритроциті можна прийняти за мерозоїт, а їх скупчення за меруляцію. Відмінною рисою тромбоцитів є блідо-рожевий колір із дрібною зернистістю, а мерозоїт містить компактне ядро

і блакитну цитоплазму.

У препараті можуть бути грибки, мікроорганізми, водорості, частки лейкоцитів. Всі вони за формою нагадують малярійних паразитів. Відмінною рисою останніх є ядро, цитоплазма і пігментна зернистість. Наявність тільки ядра або тільки цитоплазми не дає підстав для встановлення діагнозу малярія.

Токсоплазма

Toxoplasma gondii — збудник токсоплазмозу, також відноситься до класу споровиків.

Морфологія. Живі вегетативні форми токсоплазм у світловому мікроскопі мають форму півмісяця, нагадують частку апельсина. Один кінець паразита загострений, другий — заокруглений. Довжина токсоплазми 4-7 мкм, ширина 2- 4 мкм. Розміри і форма можуть коливатися. Токсоплазми мають весь набір органел, властивих різним клітинам. У цитоплазмі знаходяться рибосоми, ендоплазматичний ретикулум, одна чи дві великі мітохондрії, комплекс Гольджі, ядро. На передньому кінці тіла розміщується коноїд. Ядро велике, діаметром 1,5-2,0 мкм розміщується в центрі паразита, займає 1/4 площі тіла. При забарвленні за методом Романовського цитоплазма блакитного кольору, а ядро в центрі паразита у вигляді скупчення гранул або мережива яскраво-червоного кольору. Оболонки ядра не видно. При вологій фіксації ядро пухирцеподібне, містить гранули і хроматинове мереживо. Тип руху в токсоплазми сковзний. В середину клітини вона проникає коловими рухами. Спеціальних органів руху немає, цитоплазма містить утворення, яке нагадує блефаропласт джугутикових.

Скупчення паразита в тканинах мозку і органах при хронічному перебігу хвороби називають цистами (зооїтами). Цисти (зооїти) мають тверду оболонку, розмір їх 20-100 мкм. Трапляються здебільшого в тканинах головного мозку, серця, матки, очей, легень. Форма цист округла, овальна або неправильна. Окремі паразити мають форму округлих тілець з ядром, тісно розміщені всередині цисти, їх прийнято називати зооїтами. Кількість зооїтів у

зрілих цистах досягає багатьох тисяч. Циста — це не стадія спокою, в ній паразит розмножується, що веде до збільшення розмірів. Навколо цисти можуть відкладатися солі кальцію і зберігаються роками. За сприятливих умов оболонка їх руйнується, паразити виходять назовні і проникають у нові клітини. У гострому періоді хвороби токсоплазми знаходяться як у вільному стані, так і у вигляді внутрішньоклітинних скупчень. В одній клітині може бути 10-20 токсоплазм, це утворення називають «псевдоцистою». По мірі росту і дозрівання паразита, псевдоциста руйнується, клітини хазяїна гинуть. Паразити, що звільнилися (трофозоїти) активно проникають у нові клітини і в них продовжують ділитися. В організмі швидко накопичуються токсоплазми. Вони носять назву проліферативних форм.

Лабораторна діагностика

Матеріал для дослідження.

Матеріалом для дослідження є кусочки тканин при біопсії, пунктати органів і лімфатичних вузлів, спинномозкова рідина, кров, ексудати. Від трупа забирають кусочки головного мозку, печінки, селезінки, легень і лімфатичних вузлів.

У гострій стадії захворювання збудника можна знайти і в органах, і в крові.

Протозойні методи.

Для прижиттєвого виявлення збудника токсоплазмозу досліджують спинномозкову рідину, пунктати лімфатичних вузлів та мигдаликів, кров. При паталогії вагітних можна забирати головний мозок і внутрішні органи ембріонів, плодів і мертвонароджених, абразивний матеріал, плаценту, навколоплідну рідину, лохії, менструальну кров, молоко. Від трупа забирають печінку, головний мозок, селезінку, легені, лімфатичні вузли.

Із зазначених рідин і тканин готують мазки і мазки-біоптати. Спинномозкову рідину попередньо центрифугують. Необхідно переглядати велику площу мазка під імерсійною системою мікроскопа.

Біологічні методи

Центрифугат спинномозкової рідини, 10 відсоткову суспензію у фізіологічному розчині біоптату м'язів, або пунктату лімфатичних вузлів в об'ємі 1 мл внутрішньо-черевинно уводять білим мишам, хом'якам, ховрахам та інш. Матеріал для біологічної проби слід використовувати терміново, як виняток можна зберігати у холодильнику при 4 °С не більше 2 діб. Паразитів виявляють у мазках з перитонеального ексудату мишей і, в меншій кількості з печінки, селезінки, легень. Тварин можна забити через 2 тижні і досліджувати головний мозок.

Для біопроб застосовують 6-8 недільного віку курячі ембріони. Результат враховують через 4-5 діб. Необхідною умовою діагностики токсоплазмозу є паралельне обстеження хворого різними методами.

Імунологічні методи

Займають провідне місце в діагностиці токсоплазмозу. Реакція з барвником Себіна-Фельдмана, реакція зв'язування комплементу, реакція непрямой гемаглютинації, метод флуоресцентних антитіл, шкірно-алергійна проба, титраційна проба. Позитивний результат одноразового дослідження свідчить про те, що пацієнт інвазований токсоплазмами.

Оцінка результатів

Для діагностики токсоплазмозу вирішального значення набуває комплекс лабораторних методів дослідження. При поєднаному застосуванні імунобіологічних тестів можна не тільки встановити діагноз, але і визначити фазу токсоплазмозу. У випадку гострого зараження будуть позитивними серологічні реакції, тоді як внутрішньошкірна проба негативна. Важливого значення набуває визначення класів глобулінів. Виявлення свідчить про гостру форму токсоплазмозу. При позитивній РЗК можна запідозрити, що тривалість хвороби не перевищує 2-4 років. Негативний результат РЗК за наявності антитіл, виявлених за реакцією Себіна-Фельдмана, МФА і специфічної алергійної перебудови організму вказує на хронічний перебіг токсоплазмозу.

При позитивному результаті алергічної проби з токсоплазміном і негативних результатах серологічних реакцій можна запідозрити перенесений у минулому токсоплазмоз. При цьому не відкидають можливого хронічного перебігу захворювання.

Виявлення тільки цист не може бути доказом гострого токсоплазмозу і свідчить тільки про інфікування.

Протокол практичного заняття

Дата _____

Робота 1. Диференційна діагностика видової приналежності плазмодіїв різних стадій розвитку. Заповніть таблицю:

Назва виду	Характеристика стадій розвитку
<i>Plasmodium vivax</i>	
<i>Plasmodium malariae</i>	
<i>Plasmodium ovale</i>	
<i>Plasmodium falciparum</i>	

Робота 2. Морфологія та життєвий цикл *Plasmodium vivax*.

Розглянути під мікроскопом мікропрепарат малярійного плазмодію. Вивчити по таблиці та підручнику життєвий цикл паразита, замалювати та зробити

ПОЗНАЧЕННЯ.

Робота 3. Морфологія токсоплазми.

Розглянути під мікроскопом мікропрепарат ендозоїду токсоплазми. Замалювати стадії розвитку паразита у остаточного та проміжного хазяїна.

МЕДИЧНА ГЕЛЬМІНТОЛОГІЯ

Заняття № 5

1. Тема: Тип Плоскі черви (Plathelminthes). Клас Сисуни (Trematodes): Fasciola hepatica, Opisthorchis felinus. Клас Цестоди (Cestoidea): Tenia solium, Echinococcus granulosus, Duphilobotrium latum

2. Актуальність теми. Гельмінтологія – наука, що вивчає захворювання, які викликаються паразитичними червами. Знання питань біології гельмінтів необхідне майбутньому лікарю для розробки і обґрунтування методів діагностики, лікування та профілактики гельмінтозів.

3. Мета заняття. Вміти визначати основні поняття гельмінтології, характеризувати тип плоских червів, класи сисунів та цестод. Вивчити морфологію та життєві цикли сисунів (печінкового, котячого) і цестод (озброєного цип'яка, ехінокока, стьожка широкого) – збудників трематодозів і цестодозів людини, як основу діагностики та профілактики.

4. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення заняття.

4.1. Теоретичні питання до заняття:

1. Тип Плоскі черви. Клас Сисуни. Характеристика.
2. Особливості морфології, цикл розвитку, шляхи зараження, патогенна дія, методи лабораторної діагностики, профілактика сисунів: печінкового, котячого.
3. Клас Цестоди. Характеристика озброєного цип'яка, ехінокока, стьожка широкого.
4. Лабораторна діагностика сисунів та цестод.

ТИП ПЛОСКІ ЧЕРВИ (PLATHELMINTHES)

Відомо понад 7800 видів. Поширені у прісних і морських водоймах, ґрунті. Багато видів ведуть паразитичний спосіб життя. Плоскі черви характеризуються витягнутим чи листкоподібним тілом, сплющеним у дорзовентральному напрямі. Тіло вкрите добре розвинутим шкірно-м'язовим мішком. Порожнини тіла не мають. Проміжки між органами заповнені пухкою

паренхімою. Видільна система побудована за типом протонефридів. Травна система розвинута у сисунів, у стьожкових — відсутня. Гермафродитна статева система має складну будову.

До Плоских червів відносять 6 класів з яких 2 паразитичні: сисуни і стьожкові черви.

Сисуни

Найбільш поширений клас плоских червів — їх понад 4000 видів. Сисуни — виключно ендопаразити людини і різних груп тварин. Їх тіло сплющене в спино-черевному напрямі, не почленоване, листкоподібної форми, вкрите кутикулою. Розміри від 0,1 мм до 7 см. Для паразитів цього класу характерні м'язові присоски, дрібні шпички — органи прикріплення; у більшості їх дві. Майже всі сисуни гермафродити. Кровоносною і дихальною систем не мають. Розвиток із зміною хазяїв (біогельмінти) — вимагають для свого розвитку біологічної істоти. Личинки зазнають перетворень, властивих представникам цього класу червів.

Найнебезпечніші паразити людини:

- 1) Сисун котячий (*Opisthorchis felineus*) — викликає захворювання опісторхоз;
- 2) Сисун китайський (*Clonorchis sinensis*) — зумовлює захворювання клонорхоз;
- 3) Сисун печінковий (*Fasciola hepatica*) — спричиняє захворювання фасціольоз;
- 4) Сисун ланцетоподібний (*Dicrocoelium lanceatum*) — викликає захворювання дікроцельоз;
- 5) Сисун легеневий (*Paragonimus westermani*) — зумовлює захворювання парагоніmoz;
- 6) Шистосома кров'яна (*Schistosoma haematobium*) — спричиняє сечостатевий шистосомоз;
- 7) Шистосома Менсона, кишкова (*Schistosoma mansoni*) — викликає кишковий шистосомоз;

8) Шистосома японська (*Schistosoma japonicum*) є збудником японського шистосомозу.

Печінковий сисун - *Fasciola hepatica*

Місце паразитування: жовчні протоки і жовчний міхур.

Доросла форма. Тіло фасціоли листкоподібне: задній кінець конічної форми, передній кінець розширений, утворює «плечики». Більша частина кутикули вкрита дрібними шпичками. Два присоска розміщені близько один від одного, ротовий присосок меншого діаметра. Травний тракт складається з глотки, короткого стравоходу і двох трубок кишечника, які доходять до заднього кінця тіла. Відхідника не мають. Два галузистих сім'яника розміщуються один за одним, сім'япроводи з'єднуються біля основи цируса, перед черевним присоском. Яєчник невеликих розмірів, лежить асиметрично, попереду від сім'яників. Петлі матки займають невеликий простір позаду черевного присоска між жовтівниковими протоками. Численні жовтівникові фолікули лежать по боках тіла, з'єднуються по середній лінії і утворюють жовтівниковий резервуар. Поряд знаходяться оотип і залоза Меліса. Розміри: 2-3,5 x 0,8-1,2 см.

Морфологія яйця. Яйця правильної овальної, дещо видовженої форми. Оболонка золотаво-жовтого кольору, з кришечкою на одному полюсі і сплющеним горбиком на другому. Яйце заповнено численними жовтковими клітинами. Розміри яйця 125-150x62-81 мкм.

Сисун котячий (сисун сибірський) – *Opisthorchis felineus*

Місце паразитування: жовчні ходи печінки, жовчний міхур і протоки підшлункової залози.

Доросла форма. Тіло видовжене. передній кінець загострений, задній - заокруглений. Колір тіла жовтуватий, або безбарвний. Довжина - 8-13 мм, ширина — 1-3 мм. Кутикула не містить шпичок, гладенька. Ротовий (передній) присосок діаметром 0,25 мм, задній - 0,35 мм. Травна система складається з кулястої глотки, короткого стравоходу від якого відходять дві гілки

кишечнику. Вони не галузяться і доходять до заднього кінця тіла. Два сім'яники розеткоподібної форми і великий цільнокрайній яєчник лежать у задній частині тіла. Середня частина тіла заповнена кишечником, між трубочками якого розмішена трубчаста матка. Перед сім'яниками знаходиться овальний яєчник і великих розмірів сім'яприймач. Латерально від гілок кишечнику з кожного боку локалізуються жовткові тіла. Сумка цируса і простатичні залози відсутні. Жіночий статевий отвір розміщений спереду черевного присоска. У задній частині сисуна по середній лінії проходить звивистий, широкий екскреторний канал із зовнішнім видільним отвором. Розміри: довжина 4-13 мм, ширина — 1,2-3 мм.

Морфологія яйця. Яйця дуже дрібні, овальної форми, дещо асиметричні, звужуються до переднього полюса, блідо-жовтавого кольору, майже безбарвні. На одному полюсі має невисоку кришечку, на другому - добре помітний горбик. Оболонка тонка, двоконтурна. Вміст яйця дрібнозернистий, містить розвиненого мірацидія. Розміри яйця: 23-34 x 10-19 мкм.

Клас Стьошкові черви - цестоиди (Cestoidea)

Об'єднують 11 рядів, близько 500 родів. Представники цього класу мають сплющене стрічкоподібне тіло довжиною від декількох міліметрів до 10-12 м і більше. Розрізняють голівку (сколекс) і стробілу поділену на членики (проглотида). Травної, кровоносної і дихальної систем немає. Статева система гермафродитна, є в кожному членику стробіли. Розвиток складний, як правило із зміною хазяїнів (біогельмінти). У циклі розвитку переважають дві личинкові стадії — онкосфера і фіна. Яйце з онкосферою, в організмі проміжного хазяїна, перетворюється в другу личинкову стадію - фіну (ценур, цистицерк, цистицеркоїд, ехінокок). У кишечнику кінцевого хазяїна фіна за допомогою гачків, щілин прикріплюється до стінки кишки і перетворюється у статевозрілу форму.

Найбільшого значення як паразити людини мають такі види:

1) Ціп'як озброєний (*Taenia solium*)- викликає хворобу теніоз;

- 2) Ціп'як неозброєний (*Taeniarhynchus saginatus*) - спричиняє захворювання теніарінхоз;
- 3) Стьожек широкий (*Diphyllobothrium latum*) - зумовлює хворобу дифілоботріоз;
- 4) Ціп'як карликовий (*Hymenolepis nana*) - викликає захворювання гіменолепідоз;
- 5) Ехінокок (*Echinococcus granulosus*) - спричиняє хворобу ехінококоз;
- 6) Альвеокок (*Alveococcus multilocularis*) - викликає захворювання альвеококоз.

Ціп'як озброєний (ціп'як свинячий) – *Taenia solium*

Місце паразитування: тонка кишка.

Доросла форма. Довжина стробіли 1,5-2 мм. Сколекс кулястої форми довжиною 1 мм, діаметром від 0,6 до 2 мм, має 4 присоска і на верхівці подвійний віночок почергових великих і малих гачечків, кількість яких становить 22-32. Тонка шийка близько 5-10 мм у довжину.

Гермафродитні членики передньої частини дрібні і довжиною менші за ширину. На відстані 1 мм від голівки вони стають квадратними. Довжина зрілих члеників у кінці стробіли — 12 мм і завжди перевищує їх ширину. Загальна кількість члеників — від 800 до 1000.

Статевий апарат повністю міститься тільки в незрілих члениках, спочатку з'являється чоловіча статева система: численні округлі сім'яники, сім'яні каналці і загальна сім'явиносна протока, цирус.

Чоловічий статевий апарат утворений декількома сотнями округлих сім'яників, розкиданих як зернятка по всьому членику між бічними каналами видільної системи: від кожного сім'яника відходить тонкий сім'япровід; сім'япроводи з'єднуються у загальний сім'явидільний канал, який переходить у копулятивний орган (цирус). Пізніше, посередині стробіли до чоловічих статевих органів приєднується жіночий статевий апарат. Він складається з трьох яєчників, які лежать з боків початкового відділу матки і піхви. Позаду від яєчників розташовані жовткові тіла. Між серединою яєчників і жовтковими тілами

знаходиться кулясте тільце Меліса. Вперед від останнього по середній лінії членика продовжується галузиста трубка матки. По мірі накопичення яєць центральна частина матки збільшується і утворює бічні гілки. Розвиток матки спричиняє поступову редукцію інших органів і зрілий членик містить тільки матку. Отвір піхви лежить на дні бічної заглибини (статева клоака). Піхва знаходиться позаду сім'явидільного каналу, розширюється в сім'яприймач і відкривається в тільце Меліса. Копуляція можлива не тільки в кожному гермафродитному членику, але і між члениками однієї і тієї ж стробіли.

Характерна відмінність членика озброєного ціп'яка — трилопатовий яєчник.

Зрілий членик заповнений маткою, яка має центральний стовбур і бічні відгалуження в кількості 7-12. Це друга характерна ознака свинячого ціп'яка. Зрілі членики виділяються назовні тільки пасивно з фекаліями хворого і дуже рідко активно виповзають. Яйця не вимагають розвитку у зовнішньому середовищі, вони містять сформовану личинку (онкосферу).

Морфологія яйця. Яйце кулястої форми, вкрите трьома оболонками. Зовнішня оболонка має два філаменти, які зберігаються тільки в матці дорослої особини. Після виходу яйця з матки, вона руйнується. Друга оболонка, яка вкриває онкосферу, товста, містить радіальні диски, темно-коричневого кольору.

Розміри яйця: 28-44 x 28-38 мкм.

Ехінокок - *Echinococcus granulosus*

Місце паразитування: дорослий паразит живе в кишечнику хижих ссавців. Пухирчаста стадія (фінна) паразитує в печінці, легенях, мозку людини.

Доросла форма. Статевозріла форма мешкає в кишечнику дефінітивного хазяїна (собака, вовк, лисиця), а в личинковій стадії — у тканинах проміжного хазяїна, в тому числі і у людини.

Статевозріла форма повна протилежність стьожаку широкому, свинячому і бичачому ціп'якам. Це дуже дрібна цестода довжиною 2,7-5,4 мм. Стробіла складається зі сколекса, шийки і 3-4 члеників, з яких два безстатеві, третій гермафродитний і четвертий — зрілий. Сколекс шириною 0,25-0,36 мм містить

4 присоска і втягнутий хоботок, оточений двома рядами дрібних гачечків різної форми і розмірів. Кількість гачків — 36-40 шт.

По периферії середнього членика добре помітні численні (до 50), кулястої форми, сім'яники, які розкидані по всій паренхімі. У центральній частині членика знаходяться жіночі статеві органи. Від кожного сім'яника відходить тонкий сім'явиносний канал, який впадає в сім'явидільний канал, останній переходить у цирус, відкривається в клоаку. Безпосередньо позаду нього від клоаки відходить тонкий канал — піхва, дугоподібна, завертається до з'єднання бічних гілок яєчника. Підковоподібний яєчник з двома лопатями розміщується у задній половині членика. По середній лінії міститься тільце Меліса, а ще далі ззаду — жовткове тіло. Іноді, помітна без вивідного отвору коротка матка. Піхва тягнеться паралельно до сім'явиносної протоки. Статеві отвори відкриваються посередині бічної поверхні, ближче до заднього краю зрілого членика. Яйця різко контуровані, добре помітні в матці. В останньому найдовшому (1,27-3,17 мм) членику міститься мішкоподібна матка у вигляді трубки з бічними розгалуженнями, заповненими яйцями. Яєць може бути від 500 до 800.

Морфологія яйця. Яйця ехінокока за будовою схожі на яйця бичачого і свинячого ціп'яків. Це коротко-овальні яйця. Оболонка їх радіально смугаста.

Розміри яйця: 28-33 x 21-30 мкм.

Стъожак широкий - *Diphyllobothrium latum*

Місце паразитування: тонка кишка.

Доросла форма. Це велика цестода, довжиною від 2 до 20 м. Тіло (стробіла) складається з численних члеників (проглотид), коротких і широких на передньому кінці і квадратної форми в напрямку хвостової частини тіла.

Сколекс (голівка) довгасто-овальної форми (3-5 мм), сплющений з боків. На спинній і черевній поверхнях його знаходяться дві глибокі щілини — ботрії. Коротка шийка не почленована.

Гермафродитний членик білого кольору із сірим відтінком, містить велику

кількість округлих сім'яників які занурені в паренхіму, ближче до спинної поверхні. Сім'явиносна протока відкривається на черевній поверхні по середній лінії поблизу переднього кінця членика. Яєчник розміщується біля заднього краю членика, має вигляд дволопатевого утворення із вузькою перетинкою посередині. Між двома його лопатями лежить оотип і невелика залоза — тільце Меліса. Пряма трубка піхви проходить посередині членика і відкривається біля чоловічого статевого отвору. Жовткові тіла китицеподібної форми, розташовані в бічних частинах членика. Петлі матки сконцентровані в середній частині членика, матка має вивідний отвір.

У зрілих члениках матка збільшується, набуває зірчастоподібної форми. З боків проглотида проходять парні вивідні канали. Латеральніше від них розміщуються головні нервові стовбури.

Морфологія яйця. Яйце овальної форми, оболонка гладенька, прозора, двоконтурна, жовтуватого кольору. На одному з полюсів яйця міститься кришечка, на другому — горбик шириною до 5 мкм. Вміст — значних розмірів зернистість. Розміри яйця: 70-83x50-54 мкм.

Лабораторна діагностика сисунів та цестод:

Печінковий сисун

Матеріал для дослідження.

- дуоденальний вміст після зондування;
- випорожнення (фекалії) хворого.

Гельмінтологічні методи.

Для дослідження застосовують гельмінтоовоскопічні методи. Провідним є копрологічний аналіз (метод нативного мазка, методи збагачення: Телемана, Горячева, Фюллеборна, Калантарян). У дуоденальному вмісті досліджують не тільки осад, але і пластівці, що плавають.

Котячий сисун

Матеріал для дослідження. Для дослідження в лабораторію доставляють:

- дуоденальний вміст;
- випорожнення хворого, не пізніше 2-х годин після забору матеріалу.

Гельмінтологічні методи

Необхідно проводити не менше 3-х досліджень, одне з яких після провокації хлорсиллом. Напередодні зондування призначають 1/2-1/3 добової дози хлорсилу. Після провокації аналіз калу повторюють 2-3 рази впродовж тижня. При дослідженні випорожнень готують товстий нативний мазок. Переглядають під мікроскопом не менше двох препаратів при збільшенні 8x10 у затемненому полі, а потім при великому збільшенні (10x10). За цією методикою досліджують малу кількість матеріалу і тому застосовують методи збагачення: Телемана, Горячева тощо.

У дуоденальному вмісті мікроскопують не тільки осад, а і пластівці, що плавають у рідині, в яких можуть знаходитися яйця гельмінта.

Ціп'як озброєний

Матеріал для дослідження. Матеріалом для дослідження є випорожнення; зішкріб чи липка стрічка з періанальних складок від хворої людини.

Гельмінтологічні методи.

Кишковий теніоз розпізнають за знаходженням зрілих члеників у випорожненнях інвазованих.

Проглотиди ціп'яка озброєного білого кольору, прямокутної форми (12-15 x 6-7 мм), відділяються групами по 5-6, зрідка поодинці і не здатні до активного руху. Належність їх до стробіли свинячого ціп'яка визначають за розгалуженнями матки. Як вже вказувалося, матка має 7-12 пар бічних гілок (у ній відсутній вивідний отвір). Членики в кишечнику хворого частково руйнуються і при мікроскопії випорожнень, можна знайти онкосфери.

Ехінокок

Матеріал для дослідження. Матеріалом для дослідження є кров, харкотиння, сеча, промивні води із бронхів хворого.

Гельмінтологічні методи.

З харкотиння, осаду після центрифугування сечі, чи промивних вод бронхів готують мазки за загальноприйнятою методикою і мікроскопують для виявлення елементів ехінококового міхура (гачечків, сколексів).

Діагноз встановлюють за даними клінічного обстеження, рентгеноскопії і результатів імунологічних реакцій.

Стьожек широкий

Матеріал для дослідження. Матеріалом для дослідження є випорожнення хворого.

Гельмінтологічні методи

Для діагностики дифілоботріозу застосовують будь-які гельмінтоовоскопічні методи дослідження. Виявлення яєць стьожака широкого не викликає затруднень. В інвазованих хворих відходять частини стробіли паразита, що також полегшує розпізнавання інвазії - виявлення зрілих проглотид у випорожненнях.

Протокол практичного заняття

Дата _____

Робота 1. Диференційна діагностика печінкового, котячого та ланцетоподібного сисунів.

Розглянути під мікроскопом марити і яйця печінкового, котячого та ланцетоподібного сисунів. Навчитися визначати їх види.

Робота 2. Порівняльна морфологія сисунів (заповнити таблицю)

<i>Вид</i>	<i>Opisthorchis felineus</i>	<i>Fasciola hepatica</i>
<i>Форма і розміри, мм</i>		

<i>Форма Кишечника</i>		
<i>Форма і розміщення сім'яників</i>		
<i>Форма і розміщення матки</i>		
<i>Розміщення жовткових тіл</i>		

Робота 3. Диференційна діагностика озброєного цін'яка, ехінокока та стьожака широкого

Розглянути під мікроскопом сколекси, членики і яйця цін'яків та стьожака. Навчитися визначати їх види.

Робота 4. Відмінності стьожаків і цін'яків у людини (заповнити таблицю).

<i>Ознаки</i>	<i>Стьожак</i>	<i>Цін'як</i>
Сколекс		
Статевий отвір		
Матка		

Яйця		
Личинки		
Розвиток		

Дата і підпис викладача _____

Заняття № 6

1. Тема: Тип Круглі черви (Nemathelminthes). Клас Власне круглі черви (Nematoda): *Trichocephalus trichiurus*, *Enterobius vermicularis*, *Ascaris lumbricoides*, *Ancylostoma duodenale*, *Necator americanus*, *Strongiloides stercoralis*, *Trichinella spiralis*, *Toxocara canis*, *Dirofilaria repens*

2. Актуальність теми. Серед нематод багато видів паразитує в організмі людей, тварин, рослин. Захворювання, що викликаються круглими червами, розповсюджені на всій земній кулі. Майбутні лікарі повинні добре знати нематоди що найбільш розповсюджені в людей, щоб успішно проводити діагностику, лікування, профілактику.

3. Мета заняття. Вивчити морфологічні і біологічні особливості, життєві цикли та визначення волосоголовця, гострика, аскариди, анкілостомід, вугриці кишкової, трихінели, токсокари та дірофілярії.

4. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення заняття.

4.1. Теоретичні питання до заняття:

1. Характеристика типу Круглі черві, класу Власне круглі черви.
2. Біологія і медичне значення волосоголовця, гострика, аскариди, анкілостомід, вугриці кишкової, трихінели, токсокари та дірофілярії.
3. Методи макро- і мікроскопічного дослідження гельмінтів.

Характеристика типу Круглі черві, класу Власне круглі черви.

Тип Круглі черви (Nemathelminthes) характеризується наступними ознаками: первинна порожнина тіла; самці менші за самок.

Тіло нематод вкрите кутикулою, яка нечутлива до дії травних соків, під нею гіподерма, що покриває м'язовий шар, який утворений поздовжніми м'язами і торкається безпосередньо порожнини тіла, яка заповнена рідиною і не вистелена епітелієм.

Волосоголовець людський - *Trichocephalus trichiurus*

Місце паразитування: сліпа кишка, червоподібний відросток, висхідна частка ободової кишки.

Доросла форма. Волосоголовець сіруватого кольору. Це роздільностатеві паразити: самець довжиною 30-45 мм, самка — 30-50 мм. В обох статей передня, більш тонка ділянка тіла, задня — потовщена і на розрізі круглої форми. Зовнішній діаметр переднього відділу де розміщений стравохід, коливається від 0,16 до 0,18 мм, а потовщена задня частина шириною 0,65 мм. У самців задній кінець закручений, у самок дещо зігнутий.

Рот немає губ і відкривається в стравохід. У товстій частині тіла знаходяться непарні статеві органи. Статевий апарат самки утворений хвилеподібно зігнутим трубчастим яєчником, який переходить у товсту матку. Остання відкривається піхвою біля переднього кінця потовщеної частини тіла.

У самців сім'яник також являє собою хвилеподібно зігнуту трубку. На рівні сполучення стравоходу з кишкою, сім'яник переходить у потовщену сім'явиносну протоку, яка з'єднується з сім'явипорскуючим каналом. Спікула в самця одна (2,5 мм довжиною).

Морфологія яйця. Яйце бочкоподібної або лимоноподібної форми, оболонка товста, багатшарова, жовто-коричневого кольору. На полюсах містяться безбарвні коркоподібні утворення — випинання внутрішньої оболонки. Вміст яйця — дрібнозернистий. Розміри яйця: 50-54 x 22-23 мкм.

Гострик - *Enterobius vermicularis*

Місце паразитування: нижній відділ тонкої кишки і верхній відділ товстої кишки (сліпа кишка, червоподібний відросток).

Доросла форма. Дрібні, роздільностатеві нематоди білого кольору із шилоподібно загостреним заднім кінцем тіла. Ротовий отвір оточений трьома маленькими губами. Кутикула на передньому кінці тіла утворює крилоподібні випинання, симетрично розміщені з обох боків. Стравохід паразита має кулясте розширення (бульбус) — це межа між стравоходом і кишечником. Останній закінчується анальним отвором.

Статевий апарат самки подвійний і складається з парних яєчників, яйцеводів і двох маток. Матка дуже розтягнута, виповнює майже всю порожнину тіла і наповнена яйцями. Зовнішній статевий отвір самки (vulva) знаходиться в кінці передньої третини тіла у формі поперечної щілини. Статевий апарат самця непарний і складається з сім'яника, сім'япровода і сім'явипорскувального каналу, який відкривається у задню кишку. Копулятивний апарат утворений спікулою.

Розмір самця 2-3 мм, самиці – 8-13 мм.

Морфологія яйця. Яйце овальної асиметричної форми, одна сторона опукла, друга сплющена. Оболонка гладенька, прозора, безбарвна, багатошарова. Всередині яйця міститься личинка. Розміри яйця: 50-60 x 20-30 мкм.

Аскарида людська – *Ascaris lumbricoides*

Місце паразитування дорослого паразита: тонка кишка.

Доросла форма. Роздільностатеві великі веретеноподібні нематоди. Живі аскариди жовтого кольору із рожевим відтінком, мертві черви — блідно-жовті. Самка 20-40 см довжини і 3 мм товщини.

Тіло вкрите тонким шкірно-м'язовим мішком. Ротовий отвір оточений трьома губами. Стравохід потовщений, не утворює різних випинань, містить три залози і переходить у кишку, яка закінчується анальним отвором. З боків тіла знаходяться два валки гіподерми в яких розміщені видільні канали.

У самця хвостовий кінець зігнутий на черевну сторону, містить дві спікули. На вентральній поверхні хвостового кінця знаходиться 70 пар великих преанальних і 7 пар постанальних статевих сосочків. Чоловічий статевий апарат утворений ниткоподібним, дуже звивистим сім'яником, який переходить у сім'япровід і в сім'явивпорскувальний канал. Останній впадає в пряму кишку, утворює разом з нею клоаку.

У самок задній кінець конічно загострений. Статева система складається з двох яєчників і парної широкої, довгої трубчастої матки, котра переходить в один непарний вузький прямий канал - піхву з товстими м'язовими стінками, яка відкривається на вентральній поверхні в передній третині тіла зовнішнім статевим отвором. Щілиноподібний відхідник знаходиться недалеко від хвостового кінця.

Морфологія яйця.

Запліднене яйце. Яйце овальної форми, оболонка товста, багат шарова. Зовнішня білкова оболонка горбкувата, жовто-коричневого кольору. В середині яйця - кулястий бластомер. Розміри яйця: 50-70 x 40-50 мкм.

Незапліднене яйце. Яйце витягнутої форми. Зовнішня білкова оболонка тонка, дрібногорбкувата, окремі горбики високі. Оболонка сплющена на полюсах, темно-жовтого кольору. Внутрішній вміст яйця — великі, полігональні жовткові клітини.

Кривоголовка дванадцятипала - *Ancylostoma duodenale*

Місце паразитування: верхній відділ тонкої кишки.

Доросла форма. Невеличка нематода: самець 7-10 мм, самка 9-15 мм у довжину. Білувато-рожевого кольору. Головний кінець тіла зігнутий на вентральну сторону, має велику відкриту ротову капсулу. Дорзальна її поверхня містить дві пари гачкоподібно зігнутих зубів, а вентральна— два дрібних зуби.

Статева система самців і самок утворена звивистими трубками. Хвостовий кінець самця розширений у формі колбоподібної бурси, утвореної кутикулою.

Бурса складається з маленької середньої лопаті і двох великих бічних лопатей. Хвостовий кінець тіла самки конусоподібної форми. Вульва відкривається на межі середньої і задньої третин тіла. Кишечник самки оточений звивистими трубочками двох яєчників і двох маток. Яєчники звивисті переважно в поперечному напрямку.

Морфологія яйця. Яйце овальної форми, полюси його заокруглені, вкрите тонкою прозорою безбарвною оболонкою. Всередині знаходяться 1,2,4 бластомери. Розміри яйця: 56-60 x 34-40 мкм.

Кривоголовка американська - *Necator americanus*

Місце паразитування: верхній відділ тонкої кишки

Доросла форма. Тіло сірувато-жовтого кольору. Передній кінець тіла сильно викривлений дорзально. Самець 5,2 - 10 мм у довжину і 0,18 - 0,24 мм товщиною; самка 7,7 - 13,5 мм довжини і 0,38 - 0,45 мм у товщину.

Ротова капсула менша ніж в анкілостоми, напіввідкрита, позбавлена вентральних зубів, містить дві ріжучі пластинки. З дорзального боку розміщуються два зуби. Хвостовий кінець тіла самки не містить штифтика. Вульва знаходиться спереду від середини тіла, відкривається в передній половині тіла самки. Копулятивна сумка самця вужча, ніж в анкілостоми. Спікули довгі (0,94-1,06 мм) на кінцях з'єднані і закінчуються загальним гачком, а в анкілостоми спікули вільні, волосоподібні, на кінцях загострені.

Морфологія яйця. Яйце овальної, видовженої форми, полюси — заокругленої форми. Оболонка тонка, прозора, безбарвна. Розміри яйця: 64-76 x 38-40 мкм.

Вугриця кишкова - *Strongyloides stercoralis*

Має складний розвиток зі зміною вільного і паразитичного поколінь.

Місце паразитування: дванадцятипала кишка і верхній відділ тонкої кишки.

Доросла форма. Це роздільностатеві нематоди, які мають паразитичну і вільноживучу генерації.

Паразитична генерація. Самка розміром 2,2 x 0,03-0,07 мм. Тіло її ніжне, ниткоподібне, рівномірно звужується в напрямку до заднього

загостреного кінця, передній кінець заокруглений. Ротовий отвір оточений двома губами, продовжується в ротову капсулу. Циліндричний стравохід займає третину тіла паразита. У задній, дещо потовщеній частині розміщений статевий отвір. Матка разом з яйцеводами і яєчниками парна, одна тягнеться вперед, друга — назад. Паразитичний самець розміром 0,7 x 0,04-0,05 мм. Задній кінець тіла загострений і зігнутий у вентральний бік, містить дві спікули. Стравохід має подвійне розширення.

Вільноживуча генерація. Розвиток відбувається в ґрунті. Самець веретеноподібної форми. Хвостові крила відсутні. У задній частині тіла розміщується губернакулум і дві спікули. Розміри: 0,7 x 0,04-0,06 мм.

Самка містить подвійну матку. Вульва коротка, відкривається на вентральному боці посередині тіла. Матка поступово наповнюється яйцями, збільшується в розмірах. Запліднена самка утворює зрілі яйця з яких через декілька годин вилуплюються рабдитоподібні личинки. Вони линяють декілька раз, за несприятливих умов перетворюються у філярієподібні личинки — інвазійні для людини. Можуть жити в ґрунті декілька тижнів.

Морфологія яйця. Яйця посегментовані. Оболонка дуже тонка, прозора. Форма яйця овоїдна, нагадує яйце анкілостоми. Розміри яйця: 50-58 x 30-34 мкм.

При помірній інвазії кал необхідно досліджувати за методом Бермана; за цим методом виявляють 96% інвазованих.

Личинок вугриці знаходять у харкотинні, при дуоденальному зондуванні, зрідка — при мікроскопії шлункового вмісту, сечі.

Трихінела - *Trichinella spiralis*

Місце паразитування: статевозріла форма - в стінці тонкої кишки і початкових відділах товстої кишки, личинкова форма - в поперечносмугастих м'язах (крім м'яза серця).

Доросла форма. Це дрібні, тонкі, роздільностатеві живородячі нематоди, які досягають у довжину: самка 3- 4 мм, самець 1,4-1,6 мм. М'язові личинки — 0,1 мм у довжину і 0,06 мм діаметром. Головний кінець тіла трихінели дещо

потовщений, тут розміщений стравохід. У самців отвір клоаки розташований термінально, хвостовий кінець містить дві пари сосочків на спинній поверхні одна за одною. Спікули відсутні. У самок вульва знаходиться на відстані 1/5 довжини тіла від головного кінця, на рівні стравоходу.

Токсокари - *Toxocara canis*

Токсокароз — гельмінтозна хвороба м'ясоїдних, яка в людини викликається міграцією личинок аскаридат собак і кішок, для яких людина не є специфічним хазяїном. Хвороба характеризується тривалим рецидивним перебігом і поліорганним ураженням алергічної природи.

Людина заражається переважно токсокарами собак і кішок (*Toxocara canis* і *Toxocara mystax s. toxocara cati*). За будовою вони нагадують аскариду людську. Збудника токсокарозу відносять до гельмінтів класу Nematode, підряду Ascaridae, роду *Toxocara*. *T. canis* — гельмінт світло-жовтого кольору, у самця довжиною 4-10 см хвостовий кінець зігнутий, у самки, яка досягає в довжину 6-8 см, він конусоподібний. Кутикула паразита поперечно посмугована. Середня тривалість життя статевозрілої особи — 4, максимум — 6 місяців.

У навколишньому середовищі в яйці токсокар розвивається личинка, яка на 5-у добу линьки стає інвазійною. Проковтнуті хазяїном личинки виходять із яєць, занурюються в стінку кишки й по кровоносних судинах попадають у легені. Частина з них виходить у просвіт бронхів, трахеї і з харкотинням знову проковтується хазяїном. У кишечнику, личинки досягають статевої зрілості. На 26-28-у добу від початку зараження самки токсокар відкладають яйця. Друга частина личинок, проникнувши в капіляри легень, з течією крові заноситься в різні органи і тканини (зокрема в плаценту), інкапсулюється в них, тривалий час зберігаючи біологічну активність. У цуценят яйця токсокар виявляють на 20-21-й день після народження.

Із кишечнику неспецифічних хазяїв (свині, гризуни, птахи та інші тварини, а також людина) личинки після міграції крізь легені і кров інкапсулюються в

різних органах і тканинах.

Дирофілярія - *Dirofilaria repens*

Дирофілярія викликає єдиний зооантропонозний біогельмінтоз із групи філяріатозів, що передається трансмісивним шляхом і характеризується ураженням підшкірної клітковини, паренхімних органів, м'язів, легень.

Рід *Dirofilaria* включає багато видів: *D. repens* (збудник підшкірного дирофіляріозу), *D. immitis* (збудник внутрішнього дирофіляріозу) *D. tenuis*, *D. ursilike* тощо.

Довжина гельмінтів буває різною— від 0,12 - 2,0 см (*D. repens*) до 31 см (*D. immitis*). *D. repens* у діаметрі 220-600 мкм, *D. tenuis* — 280-380 мкм, *D. immitis*— 100 мкм, *D. ursilike* — менше 200 мкм. Як і інші нематоди, самки дирофілярій більших розмірів ніж самці.

Гельмінти білуватого кольору, тіло видовжене, звужене з обох кінців, мають на кутикулі видовжений гребінь. Система органів травлення редукована, кровоносна і дихальна система відсутні. Мікрофілярії - завдовжки 325-375 мкм, завширшки — 6-8 мкм.

Життєвий цикл паразита має стадію яйця, личинкової стадії і стадію дорослого гельмінта. У нічний час личинкові стадії мігрують у периферичні судини дефінітивного хазяїна і звідси проникають в організм комарів під час ссання крові. В організмі комарів роду *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Mansonia* личинки проходять розвиток до інвазійної стадії, тривалість якої залежить від температури і вологості. Повний цикл розвитку гельмінта триває в середньому 190-210 днів.

Методи макро- і мікроскопічного дослідження гельмінтів

Зішкріб з перианальних складок ватним тампоном (для виявлення гострика)

У пробірку для забору слизу із зівя доливають 5 мл кип'яченої води і видають хворому. Вранці до вставання з ліжка хворий, злегка віджавши тампон об внутрішню стінку пробірки, обтирає ним перианальні складки докола відхідника і вкладає тампон у пробірку. У лабораторії ретельно збовтують

тампон у пробірці з водою, воду центрифугують, отриманий осад мікроскопують.

Зішкріб з піднігтьового простору

Обладнання:

- Пінцет.
- Дерев'яні шпатель.

Реактиви:

- 0,5% розчин лугу (KOH або NaOH).
- 50% розчин гліцерину.

Хід дослідження. Ніготь змочують розчином лугу. За допомогою пінцета маленькими ватними тампонами обтирають край нігтя, нігтьове ложе і піднігтьовий простір. Тампончики із взятим матеріалом поміщають у центрифужні пробірки з 0,5% розчином лугу і центрифугують протягом 3-5 хв. Осад піпеткою переносять на предметне скельце і мікроскопують.

Матеріал з піднігтьового простору можна забирати дерев'яним шпательком (сірником), змоченим 50% розчином гліцерину і досліджують як перианальний зішкріб.

Метод зручний для масового обстеження школярів, працівників харчових підприємств.

Діагностика стронгілоїдозу

У період міграції личинки вугриці кишкової можна виявити в харкотинні, але це визначається як рідкість. Рабдитних личинок діагностують у дуоденальному вмісті або у випорожненнях, їх розміри близько 250 мкм. При дуоденальному зондуванні, яке застосовують для діагностики і як контроль за ефективністю лікування, можна виявити живих личинок. Копрологічне дослідження має меншу ефективність. Але лабораторне обстеження зазначених біологічних рідин не дає 100% виявлення личинок.

Кал для аналізу використовують тільки свіжий і після вживання проносного. Живих рабдитних личинок виявляють дуже рідко, при інтенсивній

інвазії. Тому кал майже не застосовують для діагностики стронгілоїдозу.

Личинки виявляють за методом закручування. Готують великі мазки на склі розміром 6x9 см або 9x12 см. Для копрологічних досліджень можна використати метод Бермана.

Виявлення личинок гельмінтів у фекаліях

(Метод Бермана)

Принцип. Метод ґрунтується на здатності личинок гельмінтів мігрувати в напрямку тепла. Із випорожнень личинки активно переходять у теплу воду і скупчуються в нижній частині гумової трубки апарата Бермана.

Реактиви: не вимагаються

Спеціальне обладнання:

- Мікроскоп.
- Штатив.
- Металеve ситечко.
- Затискачі Мора.
- Лійки.
- Гумові трубки.
- Предметні скельця.

Хід роботи. Скляні лійки діаметром 10 см закріплюють у штативі. На носик лійки натягують гумову трубку із затискачем Мора. Фекалії в кількості від 20 до 50 г розміщують на металеве ситечко з дрібними вічками. Ситечко вкривають марлею або капроном. Лійку заповнюють теплою водою (40°C) куди занурюють ситечко так, щоб фекалії були вкриті водою і залишають при кімнатній температурі на 2-4 год. За цей час личинки виходять з фекалій у воду, опускаються вниз, накопичуються в гумовій трубці перед затискачем. Цей осад випускають з трубки в центрифужну пробірку, відкривши затискач. Личинки осідають на дно. Пробірку можна і центрифугувати. Рідину з пробірки зливають, а осад мікроскопують. За допомогою метода Бермана виявляють 96% личинок, а за методом закручування — тільки 36%.

За таким же методом визначають личинки анкілостомід та трихостронгілід.

Для масового дослідження на зараження анкілостомами застосовують метод культивування личинок у пробірці на фільтрувальному папері.

Виявлення личинок гельмінтів у фекаліях культивуванням їх на фільтрувальному папері (метод Харада і Морі)

Принцип. У теплі на вологому фільтрувальному папері з яєць анкілостом або некторів, виділених з фекаліями, розвиваються філярієподібні личинки, яких легко виявити.

Реактиви. Не вимагаються.

Спеціальне обладнання:

- Лупа.
- Термостат на 28 °С.
- Предметні скельця.
- Мікроскоп.

Хід роботи. На стрічку фільтрувального паперу розміром 15 x 1,5 см наносять 0,5 г свіжих випорожнень і готують тонкий мазок, залишаючи вільними кінці паперу. Якщо випорожнення тверді, до них додають декілька крапель води. Паперову стрічку з фекаліями поміщають у хімічну пробірку, заповнену на 1/5 частини водою. Нижній кінець стрічки (без фекалій !) занурюють у воду, а верхній кінець закріплюють гумовим кільцем при закриванні пробірки поліетиленовою плівкою. Пробірку залишають у термостаті при 28°С на 5-6 діб, або при кімнатній температурі на 10 діб. За цей час філярієподібні личинки нематод розвиваються з яєць, опускаються по паперовій стрічці у воду і осідають на дно пробірки. Стрічку видаляють і знищують. Слід бути обережним бо личинки можуть піднятися до верхнього кінця стрічки і проникнути в шкіру (!). До 10% личинок анкілостомід не спускаються у воду. Дно пробірки розглядають під лупою при бічному освітленні. Рухомі личинки добре помітні.

Для визначення личинок їх попередньо вбивають, зануривши пробірку у воду при температурі 50°C на 15 хв. Потім пробірку струшують і вміст переливають у центрифужну пробірку, центрифугують і осад мікроскопують. Щоб бути впевненим в якості дослідження на один аналіз використовують не менше 4 пробірок.

Примітка.

- У теплу пору року можна залишити пробірки при кімнатній температурі, але час інкубації при цьому збільшиться до 8-10 діб.
- Фекалії для дослідження слід брати не пізніше ніж через 1 год після дефекації.

**Визначення філярієподібних личинок
анкілостомід і трихостронгілід**

Strongyloides stercoralis

Личинка — близько 500 мкм завдовжки, без чохлика, стравохід складає близько половини довжини тіла; хвостовий кінець тупий або роздвоєний.

Trichostrongylus spiralis

Личинка вкрита чохликом, завдовжки 600 мкм. Довжина стравоходу складає 1/4 довжини тіла. Довжина тіла — близько 750 мкм. Внутрішня поверхня кишки не гладенька, а хвилеподібна; задній кінець заокруглений, має форму кнопки.

Necator americanus

Довжина тіла — біля 590 мкм, довжина чохлика - 660 мкм, чохлик помітно посічений, особливо у задній частині тіла, ротовий відділ темного кольору; передній кінець тіла (але не чохлик) заокруглений; діаметр передньої частини кишки дорівнює діаметру бульбуса стравоходу; задній кінець різко загострений.

Ancylostoma duodenale

Тіло довжиною 660 мкм, довжина чохлика - близько 720 мкм; добре помітна його посіченість; ротовий виступ малопомітний; передній кінець тіла (але не

чохлика) тупий; діаметр кишки менший, ніж бульбуса стравоходу, задній кінець тупий.

Діагностика тенідозів

У випорожненнях яйця озброєного і неозброєного ціп'яків виявляються рідко, але завжди виділяються назовні зрілі членики. При теніаринхозі, як правило, членики виходять активно. Основним методом діагностики тенідозів є опитування, пацієнти вказують на наявність у випорожненнях члеників.

Морфологічні ознаки яєць обох видів гельмінтів однакові. Тому основним є діагностика і диференціювання за члениками. Членики приносить хворий або промивають всю порцію фекалій і виділяють членики. Відмитого членика поміщають між двома предметними скельцями і розглядають за допомогою лупи. Видову належність визначають за будовою матки. У зрілого членика озброєного ціп'яка матка має 7 - 12 бічних відгалужень, а в неозброєного ціп'яка — 17-35 більш тонких бічних гілок. Коли внутрішня структура членика малопомітна, його залишають на деякий час у 50% розчині гліцерину, а потім розглядають під лупою.

Голівки ціп'яків диференціюють після дегельмінтизації. Їх поміщають між двома предметними скельцями. Внутрішня будова гермафродитних члеників помітна на забарвлених постійних препаратах. У гермафродитних члениках озброєного ціп'яка є додаткова частка яєчника.

Виявлення яєць гельмінтів у дуоденальному вмісті і жовчі

Принцип. Яйця гельмінтів, які паразитують у печінці, жовчному міхурі, в підшлунковій залозі і дванадцятипалій кишці, можуть бути виявлені в жовчі або в дуоденальному вмісті, отриманому при дуоденальному зондуванні.

Реактиви:

- Сірчистий ефір.
- Спеціальне обладнання.
- Мікроскоп.
- Хімічні стакани або склянки.

- Предметні скельця.
- Покривні скельця або целофанові покривні платівки за Като.

Хід дослідження. При підозрі на стронгілоїдоз, опісторхоз, клонорхоз слід досліджувати всі три порції дуоденального вмісту. Спочатку рідину центрифугують і осад мікроскопують. За наявності в матеріалі слизу, гною перед центрифугуванням його ретельно збовтують і додають ефір.

Дуоденальний вміст і жовч (порції А, В, С) отримують з допомогою зондування. Для порції В доцільно отримати рефлекс жовчного міхура введенням через зонд 33% розчину сірчаноокислої магnezії. Із досліджуваної рідини спочатку забирають і розглядають під мікроскопом пластівці, що плавають у ній, а потім змішують її з рівною кількістю сірчистого ефіру. Суміш ретельно перемішують і центрифугують. Надосадову рідину зливають, а весь осад переносять на предметне скельце і мікроскопують.

За відсутності гною і слизу жовч і дуоденальний вміст центрифугують, без додавання сірчистого ефіру.

У дуоденальному вмісті можна виявити яйця анкілостомід, трихостронглід, опісторхісів, клонорхісів, фасціол, дікроцеліуму та інших трематод, які паразитують у жовчних ходах печінки та личинки вугриці кишкової.

Дослідження харкотиння

Обладнання:

- Чашки Петрі.
- Колбочки на 50-100 мл.

Реактиви

- 0,5% розчин лугу (KOH або NaOH).

Хід дослідження. З харкотиння готують мазок, розтирають його між двома предметними скельцями і мікроскопують. Вибирають підозрілі грудочки слизу, шматки тканини на інше предметне скло під предметне скельце, натискають голкою. Для розчинення слизу до мазків додають декілька крапель слабого

розчину лугу. Гнійне харкотиння змішують у колбочці з рівною кількістю 0,5% розчину лугу (NaOH) і струшують 5 хв, злегка підігрівають на водяній бані. Після центрифугування досліджують осад.

У харкотинні виявляють яйця гельмінтів, які паразитують у легенях: паргонімуса і томінкса. Можна знайти личинки кишкових нематод у період міграції через легені — аскариди, анкілостоми, вугриці кишкової. Личинки аскарид у період міграції розвиваються і можуть досягати в довжину до 1,5- 2 мм. Вони при кімнатній температурі неактивні, на противагу личинкам анкілостомід, а рухомі при температурі 35- 37 °С.

Для виявлення личинок доцільно готувати великі мазки із щойно виділеного харкотиння. При розриві ехінококового міхура в бронх, у харкотинні можна знайти сколекси ехінокока, їх гачки і кусочки зовнішньої оболонки. Вони овальної форми, розміром 143-154 x 98-123 мкм.

Дослідження сечі

Обладнання:

– Пастерівські піпетки з гумовим балончиком.

Хід дослідження. Добову порцію сечі залишають у високих циліндрах на відстоювання. Верхній шар зливають, а нижній - центрифугують і осад мікроскопують. У сечі знаходять: яйця *Schistosoma haematobium*, *Dioctophyma renale*, сегменти ехінококового міхура (гачки, сколекси, вивідкові капсули, кусочки оболонки міхура, личинки, що мігрують (аскариди, анкілостомід). У жінок у сечі можуть бути яйця гострика, личинки стронгілід, онкосфери бичачого цип'яка, які змиваються сечею з шкіри промежини.

Виявлення мікрофілярій у крові

Живі мікрофілярії добре помітні при малому збільшенні мікроскопа в краплі свіжої крові, але видову належність можна встановити тільки на забарвлених препаратах. Для цього готують товсту краплю. Слід пам'ятати, що мікрофілярії з глибоких вен пересуваються в периферичні вени надвечір. Тому краще

забирати кров після заходу сонця. Мазок після висушування гемолізують дистильованою водою протягом 3 хвилин, потім фіксують декілька хвилин у метиловому спирті (або суміші етанолу з ефіром), забарвлюють гематоксилином або фарбою Романовського. На забарвлених препаратах добре помітний чохлик і ядра внутрішніх структур мікрофілярій.

Якщо в краплі крові мікрофілярій не виявлено застосовують метод концентрації личинок. Для цього з вени забирають 5- 8 мл крові і розводять її 3- 5 кратною кількістю 3% розчином оцтової кислоти. Суміш струшують протягом декількох хвилин або перемішують скляною паличкою. Еритроцити гемолізуються. Рідину центрифугують, осад досліджують під мікроскопом. З осаду можна готувати мазки, які після висушування і фіксації забарвлюють.

Виявлення мікрофілярій у шкірі

Біоптати шкіри мають суттєві переваги перед дослідженням виділень при скарифікації. Біопсію виконують зігнутими ножицями, з дотриманням правил асептики. Складку шкіри щільно затискують великим і вказівним пальцями і ножицями відсікають кусочок шкіри величиною 2x4 мм. У кожного пацієнта беруть один кусочок шкіри в ділянці лопатки, а другий — в ділянці великого вертлюга стегна. Зрізані кусочки шкіри кладуть на предметне скельце в невелику краплю води або ізотонічного розчину натрію хлориду. Необхідно слідкувати, щоб препарат постійно був зануреним у рідину. Дослідження при малому збільшенні мікроскопа виконують через 10 і 30 хв, хоча мікрофілярії починають виходити з шкіри значно раніше і виділяються протягом 2 год. Для визначення виду мікрофілярій кусочки шкіри видаляють, мазок висушують, фіксують і фарбують, як зазначено вище. Скарифікацію шкіри виконують лезом бритви і досліджують виділення лімфи і крові на предметному скельці (фарбують вказаним способом).

Цитодіагностика поширених паразитів

Цитодіагностичні методи використовують для дослідження зараження паразитами. Досліджують бронхоальвеолярні змиви, рідину, отриману при

пункції. Забарвлення здійснюють за Папаніколау, Перлеу, ШИК-реакцію.

У бронхіальному секреті можна знайти токсоплазми, пневмоцисти. У спинномозковій рідині виявляють амеби, філярії. Дослідження СМР важливого значення набуває при уродженому токсоплазмозі головного мозку, при гідатидозі і цистицеркозі мозку, при дисемінованому трихінозі.

Лімфаденіт, що розвивається при токсоплазмозі характеризується гіперплазією фолікулів лімфатичних вузлів, наявністю там гістіоцитів і епітеліоїдних клітин, що можна виявити при пунктуванні вузлів.

При дослідженні пункційних біоптатів печінки можна діагностувати більгарціоз.

Цитологічним дослідженням у сечі виявляють трихомонад, шистосом.

Зауважимо, що зараження паразитами особливо часто трапляється в осіб з імунодепресивним станом.

Методика гелмінтоовоскопії

Препарати для мікроскопічного дослідження накривають покривним скельцем, що полегшує і прискорює виявлення яєць гелмінтів і їх диференційну діагностику.

Препарати отримані за методом Фюллеборна (з поверхні суміші), можна досліджувати без покривних скелець. Перегляд препаратів розпочинають при збільшенні в 60-80 разів, у сумнівних випадках користуються збільшенням у 300-400 разів.

Препарат переглядають повністю навіть за умов, коли яйця гелмінтів виявлено в перших полях зору: в одному препараті можна виявити яйця гелмінтів декількох видів. Щоб не допустити помилки рекомендується переглядати препарат у вертикальному або горизонтальному напрямках («читання» препарата). Поле зору при малому збільшенні дещо затемнюють, яйця з тонкою безбарвною оболонкою (яйця гострика, анкілостомід, карликового цип'яка) мало помітні при яскравому освітленні поля зору.

За мікроскопії випорожнень слід пам'ятати про вміст у них різних об'єктів:

рослинні елементи (спори грибів), пухирці повітря, краплі жиру, яйця кліщів які можна сплутати з яйцями гельмінтів.

Так, спори гриба зморшка овальної форми з двоконтурною оболонкою, з виступами на полюсах, схожі з яйцями волосоголовця, а пігментами фекалій забарвлюються в коричневий колір.

Спори підберезовика і підосичника також овальної форми нагадують яйця гострика дитячого.

Спори рижика, круглої і овальної форми, шороховаті, оболонка нерівна, схожа з яйцями аскариди і онкосферами теніїд.

Спори трюфелів — досить великі, темно-коричневі, овальні утворення з шпичками на оболонці — нагадують яйця аскариди.

Для визначення яєць гельмінтів необхідно звернути увагу на ознаки, властиві для яєць паразитичних червів, незалежно від видової належності: 1) певні розміри, 2) більш-менш правильна сферична форма, 3) добре помітні оболонки, 4) внутрішній вміст (зародкові клітини, бластомери, жовткові клітини, зародкові гачки, личинка).

За цими ознаками легко можна диференціювати яйця гельмінтів від інших утворень, наприклад, пухирців повітря, крапель жиру, спор рослин і грибів, зерен крохмалю. На відміну від яєць гельмінтів, у цих утвореннях внутрішня структура однорідна, гомогенна, оболонка в них одношарова або відсутня, різна величина утворень одного і того ж виду. При легкому постукуванні препарувальною голкою по покривному скельці ці утворення розриваються або змінюють форму, тоді як яйця гельмінтів перевертаючись, залишаються без змін. У сумнівних випадках слід заміряти підозріле на яйця утворення.

При дослідженні випорожнень весною, влітку, восени виявляють яйця нематоди коренеплодів *Heterodera magioni*. Ці яйця нагадують яйця трихостронглід, від яких вони відрізняються бобоподібною формою. Розміри їх коливаються в межах — 68-133 x 33-43 мкм. Якщо овочі термічно оброблені, яйця деформуються і нагадують яйця дворота ланцетоподібного.

У випорожненнях людини знаходять зруйновані рослинні утворення із здерев'янілими оболонками, зовнішній вигляд яких нагадує нематод або їх личинок. При великому збільшенні мікроскопа в цих утвореннях не виявляється шлунково-кишковий тракт, а 2% розчином флороглуцину рослинні оболонки забарвлюються в червоний колір.

Протокол практичного заняття

Дата _____

Робота 1. Морфологія волосоголовця.

Розглянути на постійних мікропрепаратах яйце, самку і самця волосоголовця та замалювати.

Робота 2. Морфологія гострика.

Розглянути на мікропрепаратах яйце, самку і самця гострика дитячого. Замалювати.

Робота 3. Суміш яєць.

Розглянути під мікроскопом суміш яєць, *визначити їх*. Замалювати яйця червів:

- а) сисунів: печінкового, котячого, ланцетоподібного, кров'яного;
- б) цестод: тенеїд, стьожака широкого;
- в) круглих: аскариди, гострика, волосоголовця, анкілостоми.

Робота 3. Загальна схема життєвого циклу геогельмінтів.

Вивчити по таблиці і замалювати схему циклу розвитку геогельмінтів.

Дата і підпис викладача _____

МЕДИЧНА АРАХНОЕНТОМОЛОГІЯ

Заняття № 7

1. Тема: Кліщі – збудники хвороб та мешканці житла людей

2. Актуальність теми. Членистоногі становлять великий медичний інтерес, бо серед них зустрічаються паразити людини, проміжні хазяїни паразитів, переносники збудників трансмісивних хвороб і отруйні тварини. Вивчення даної теми необхідно студентам для засвоєння розділів курсу епідеміології, шкірних та інфекційних хвороб.

3. Мета заняття. Вміти визначати кліщів, які мають медичне значення, знати засоби профілактики та лабораторної діагностики.

4. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення заняття.

4.1. Теоретичні питання до заняття:

1. Кліщі – збудники хвороб людини (коростяний свербун, залозник вугровий).
2. Кліщі – мешканці житла людей, їх медичне значення.
3. Синантропні кліщі – збудники алергозів.
4. Методика збору побутового пилу та виявлення кліщів.
5. Заходи боротьби з пиловими кліщами.

Кліщі – збудники хвороб людини (коростяний свербун, залозник вугровий).

Членистоногих (*Arthropoda*) налічується понад 1,5 млн. видів, які поширені на Землі всюди, де існує життя. Багато з них становлять медичний інтерес - це паразити людини, проміжні та остаточні хазяїни паразитів, переносники збудників хвороб та отруйні тварини. Важливу групу серед членистоногих становлять кліщі – збудники хвороб та мешканці житла людей.

Коростяний свербун *Sarcoptes scabies*.

Коростяний свербун відноситься до типу Членистоногі, класу Павукоподібні, ряду Акариформні, надродина *Sarcopteidea*.

Характеристика збудника. Самка коростяного свербуна завдовжки не більше 0,3 мм. Тіло її округле, ноги короткі. Самець за розмірами вдвоє менше. Покриви кліщів бородавчасті.

Самка живиться тканинами шкіри, прокладає в її роговому шарі горизонтальні ходи до 10-30 мм у довжину. На поверхні шкіри ходи проглядаються як сіруваті лінії. Занурення самки в епідерміс триває 15-30 хв. За добу прокладає хід довжиною до 1мм. За 6-8 тижнів життя вона відкладає до 50 яєць у ходах, а над ними прогризає вертикальні вентиляційні отвори. Через 5-6 діб від відкладання яєць з'являються личинки, які стають статевозрілими після 3-х линьок. Весь цикл триває 10-14 діб.

Коростяний свербун — високоспеціалізований паразит зі складним життєвим циклом, який складається з короткого за тривалістю нашкірного і тривалого внутрішньо- шкірного періодів, який поділяється на репродуктивний та метафоричний періоди.

Коростяний свербун викликає коросту - заразне, найбільш поширене і контагіозне паразитарне захворювання, яке проявляється сильним свербінням. Діагноз ставиться при виявленні кліщів у ходах, які вони прокладають.

Залозник вугровий *Demodex folliculorum*.

Залозник вугровий - збудник демодекозу. Має дрібні розміри (0,2-0,5 мм), овальну форму тіла, яке нагадує черв'ячка, короткі кінцівки. Ротові органи пристосовані до смоктання. Відкладають яйця. Личинки, німфи, імагінальна стадія подібні. Паразитує в шкірі, сальних залозах і волосяних цибулинах шиї, обличчя, тулуба, зовнішньому слуховому проході. Діагностують шляхом мікроскопічних досліджень виділень з гнійних запальних волосяних фолікул.

Кліщі – мешканці житла людей, їх медичне значення

В житлі людини мешкає різноманітна фауна членистоногих, деякі з них мають санітарно-медичне значення. Так, піроглифоїдні кліщі, які продукують алергени, викликають ряд atopічних захворювань: бронхіальну астму,

дерматит, алергійні риніт і кон'юнктивіт; комірні кліщі забруднюють і псують різні продовольчі запаси; сіноїди (книжкові воші) псують ентомологічні колекції, гербарії, книжки, килими, зернопродукти.

З 1999 року Український центр державного санепіднагляду МОЗ рекомендує працівникам СЕС відбирати зразки побутового пилу з метою виявлення зараження приміщень алергенними кліщами (у житлових будинках, готелях, лікарнях, санаторіях, будинках відпочинку, дитсадках, казармах, пральнях, перукарнях тощо). Побутовий пил є складною екологічною системою, що складається на 50-60% з неорганічних речовин рослинного і тваринного походження. В ньому міститься лупа, волосся, луска рогового шару епідермісу, бактерії, цвільові грибки, кліщі, комахи тощо.

Шляхи проникнення кліщів у житлові приміщення:

- 1) з одягом людей (дерматофагоїдні і панцирні кліщі);
- 2) із продуктами харчування - сир, сухофрукти, овочі, борошно, зерно тощо (акароїдні і гамазоїдні кліщі);
- 3) за допомогою комах - бджіл, мух, мурах тощо, на тулубі яких може бути декілька гіпопусів (у акароїдних кліщах, які діапаузують чи розселяються) або імаго гамазових кліщів;
- 4) з часточками ґрунту на взутті й одязі (панцирні кліщі);
- 5) з кімнатними рослинами (у ґрунті - акароїдні, гамазові та панцирні кліщі);
- 6) з домашніми тваринами (коростяні, іксодові, гамазові та панцирні кліщі);
- 7) із гнізд птахів (дерматофагоїдні та гамазові - курячі, голубині, горобині кліщі тощо);
- 8) із гнізд гризунів (гамазові кліщі);
- 9) зі струмом повітря (ґрунтові і тромбідіформні кліщі);

У найближчому оточенні людини - у надвірних будівлях, хлівах, курятниках, на сінниках, у льохах, у різних гниючих залишках, у гної - скрізь живуть гамазові вільноіснуючі кліщі.

У житлі людини часто зустрічаються пилові кліщі пірогліфіди, а також борошняні та волосаті кліщі.

Родина Acaridae - борошняні кліщі

Це вільно існуючі кліщі, які живуть у різноманітних місцях: запасах сільськогосподарських і харчових продуктів, коморах, складах, зерносховищах і житлових приміщеннях. Вони харчуються самим субстратом (мертвою, переважно гниючою органічною речовиною), або мікроорганізмами, які оселяються на цьому субстраті. Загальною умовою їхнього існування є досить висока вологість. Найбільша чисельність комірних кліщів (більш 10000 екземплярів на 1 г пилу) виявляється на хлібозаводах. Їхні розміри до 1,2 мм і вони помітні неозброєним оком. Коли вони потрапляють до несприятливих умов німфа I віку перетворюється в гіпопус (активна чи діапаузуюча стадія). Переносниками активних гіпопусів слугують комахи.

У побутовому пилу часто зустрічаються борошняний (*Acarus siro*) та подовжений (*Tyrophagus putrescentiae*) кліщі тощо.

Родина Glycyphagidae - волосаті кліщі

Тіло трохи менше за розмірами, ніж у представників попередньої родини, а саме 0,4-0,6 мм. Більшість видів - звичайні мешканці зерносховищ, складських приміщень і часто зустрічаються в домашньому пилу. Кліщі ушкоджують насіння олійних культур, зерно, шкіру, перо, колекції комах. Найбільш поширені з них: волосатий звичайний (*Glycyphagus destructor*) і волосатий домовик (*G. domesticus*).

Родина Pyroglyphidae - пірогліфоїдні кліщі

Невелика група кліщів, що нараховує близько 25 видів. Вони живуть на субстратах, які багаті білками: у борошні, залишках зерна, різних рогових залишках (пір'я, лусочки шкіри птахів і ссавців), у пилу будинків людини. Це основні носії алергену "домашнього пилу".

Найбільш поширеним у пилу будинків є *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Матраци і подушки - це основне місце мешкання цих кліщів, де вони добре розмножуються. Чисельність популяції кліщів може сягати 13720 особин (Англія) на 1 г домашнього пилу. У раціон харчування пірогліфід входять мікрочастинки крові на закінченнях пір'я (подушки), але улюблені ласощі - це лусочки епідермісу людей і тварин. Щодня людина втрачає до 1 мільйону мікрочастинок шкіри.

Навіть чверті цієї кількості досить, щоб кілька тисяч кліщів не відчували б голоду упродовж місяця, не зважаючи на те, що травлення в них досить інтенсивне (кишечник кліща випорожнюється 20 разів на добу).

Оптимальні умови мешкання: температура +25 - 28° С і відносна вологість 70 - 75%. Тривалість життя імаго 2-3,5 місяці. Цикл розвитку від яйця до імаго триває при оптимальних умовах від 23 до 30 днів. Встановлено, що урбанізація позитивно впливає на формування популяції кліщів домашнього пилу в сучасному житлі. Сприятливі умови створюються в зв'язку з використанням центрального опалення, поганої вентиляції приміщень, гідрофобним покриттям стін.

В житлах мешканців м. Запоріжжя зустрічаються 4 види пірогліфід: *Dermatophagoides pteronissinus*, *Dermatophagoides sp.*, *Euroglyphus maynei*, *Euroglyphus sp.* Чисельність кліщів складає від 10 до 80 екз/г.

Синантропні кліщі - чинники алергозів

Сенсибілізація до кліщів є причиною важких алергічних захворювань - атопічного дерматиту, алергійного ринокон'юнктивіту, атопічної бронхіальної астми, алергійних кольпітів. Роль інгаляційних алергенів відіграють кліщі: пірогліфідні, кліщі комірною та борошняного комплексу. Основний біотоп для пірогліфід - домашній пил, а акароїдні кліщі заселяють найрізноманітніші субстрати, пил житлових і сільськогосподарських приміщень, сіно, харчові продукти. У хворих з атопічними захворюваннями виявляється підвищення рівня протикліщових IgE-антитіл.

За даними різних авторів, число випадків захворювань, викликаних

сенсibilізацією до кліщів, коливається в межах 45% - 85% від загальної кількості алергічних захворювань. Сильними алергенними властивостями володіють пірогліфідні кліщі роду *Dermatophagoides*. Основний алерген пірогліфідних кліщів - глікопротеїн, що міститься в хітиновому покриві, вусах кліща, фекальних кульках.

Сенсibilізація організму хворого до кліщових алергенів виникає при контакті шкіри і слизових оболонок верхніх дихальних шляхів із пилом і сировиною, що містять кліщів і продукти їхньої життєдіяльності. Основні фракції кліщового алергену легко проникають через слизові оболонки і шкіру.

Алергологічний анамнез характерний для захворювання, що може початися у будь-якому віці. Має значення місяць народження дитини, тому що у дітей, схильних до atopії, народжених у період підвищеної експозиції алергену у доквіллі, є ризик виникнення підвищеної чутливості до кліщових алергенів. Найчастіше хворі вказують на проживання в районах з теплим і вологим кліматом, у дерев'яних будинках із пічним опаленням. У більшості хворих є виражений позитивний ефект елімінації загострення захворювання в зв'язку з означеним житлом, предметом (стара подушка), сировиною (харч для тварин). Поліпшення у хворих пов'язують зі зміною місця проживання, переїздом зі старої вологої квартири, а булочники, мірошники, фермери, робочі зерносховищ, елеваторів, що мають професійні захворювання, - з часом відпустки, усуненням виробничого контакту з означеною вище сировиною. Хворі відзначають сезонність загострень захворювання в залежності від піків масового розмноження кліщів (осінь, весна).

Атопічний дерматит є одним із самих поширених захворювань у дитячому віці. За даними епідеміологічних досліджень, частота atopічного дерматиту коливається в різних країнах від 9 до 24%. У більшій частині хворих клінічні ознаки формуються в ранньому дитячому віці і зберігаються протягом багатьох років. Найбільший розвиток у даний час одержала алергічна теорія розвитку atopічного дерматиту. Провідними сенсibilізуючими факторами є

харчові (85,9%) і лікарські (36,4%) алергени, які у багатьох дітей служать пусковими ланками в розвитку atopічного дерматиту. У дітей з важким, безупинно рецидивуючим атопічним дерматитом, резистентним до звичайних методів лікування, поряд з харчовою алергією, яка відіграє роль головного фактора в розвитку atopічного дерматиту, була виявлена підвищена чутливість до кліщів домашнього пилу (44,4%).

В останні роки спостерігається інтерес до вивчення "кліщової" бронхіальної астми. При вивченні акарофауни жителів виявлено, що 90% від загальної маси всіх кліщів складають *Phyroglyphidae*. Чисельність дерматофагоїдних кліщів у квартирах хворих алергічними захворюваннями коливалася від 20 до 2000 екз/г, а в квартирах здорових людей - від 1 до 300 екз/г, тобто в 6,6 разів менше, ніж у квартирах хворих людей. При масивному зараженні кліщами (щільність кліщів більше 100 екз/г) постільні речі необхідно ліквідувати. Хворі на бронхіальну астму відчують погіршення самопочуття в нічний і ранковий час при контакті з постільними речами, перебуванні в старих дерев'яних будинках, із сезонністю, пов'язаною з піком розмноження кліщів. Отже, вміст у пухо-пір'яній пробі кліщів у кількості більше 100 екз/г пилу може призводити до появи клінічної симптоматики кліщової алергії.

Була вивчена також роль кліщів домашнього пилу в етіології алергічного кольпіту і вульвіту, а також сверблячки зовнішніх статевих органів у жінок. Хворих відбирали на підставі скарг: сверблячка, печіння зовнішніх статевих органів після виключення інфекційної природи захворювання. У групу досліджуваних увійшла 51 жінка віком від 27 до 73 років. У 43 жінок були клінічні ознаки кольпіту, у 8 - клінічних проявів кольпіту не було, але були численні розчухування зовнішніх статевих органів. Характерною рисою захворювань була їхня тривалість (від 2 до 10 років) з частими рецидивами, резистентність до проведеної терапії.

Частота поширеності ураження кліщами в групі хворих склала 52,9%, а в контрольних групах - 46,7 і 33,3%. Отримані результати дозволяють

припустити наявність зв'язку між виникненням алергічних кольпітів і поширеністю мікроскопічних кліщів у пилу постільних речей.

Методика збору побутового пилу та виявлення кліщів

Найкраще збір пилу робити за допомогою ручного пилососа будь-якої модифікації. Необхідно в розніманням воздуховода поставити шматок щільної (як носова хустка) тканини і надіти на неї частину воздуховода, яка залишилася. Кожну пробу пилу необхідно збирати протягом 10-20 хвилин, потім тканину треба скласти, щоб пил не висипався і помістити його в окремий поліетиленовий пакет (скляну банку з поліетиленовою кришкою) з етикеткою, де вказати: у кого, коли та звідки зібраний пил. Пил необхідно збирати з подушок, матраців, ковдр, м яких меблів, із щілин підлоги, за плінтусами, з пазів стін дерев'яних будинків, з килимів тощо.

При відсутності пилососа зразки пилу можна збирати платтяною щіткою, яку необхідно ретельно очищати (найкраще мити з наступним висушуванням) перед узяттям кожного зразка. Зберігати зразки побутового пилу перед аналізом потрібно в нижньому відділі холодильника, але не більше за дві доби (гинуть пилові кліщі). Оскільки в побутовому пилу найбільшу алергічну активність мають частинки, розмір яких не перебільшує 0,05 мм, то, як виявилось, діючою основою є не стільки самі живі кліщі (розміри імаго досить великі 0,2-0,6 мм), скільки продукти їх життєдіяльності, фрагменти мертвих кліщів та шкірки після линьки, а це можна виявити в будь яку пору року. Тому вважаємо за доцільне дослідження акарофауни пилу проводити цілорічно.

Для визначення маси досліджуваного зразка пакети зважують до і після вилучення пилу. Переглядаючи в чашках Петрі зібрані зразки за допомогою стереоскопічного біокулярного мікроскопа МБС-1, в них досить легко знайти живих кліщів.

Потім рухливих кліщів переносять препарувальними голками в пеніциліновий флакон з 70% спиртом. Такої ж концентрації спирт доливають у чашку Петрі для розрідження і просвітлення пилу (метод, що дозволяє

одержати найбільш точні дані - Дубиніна, Плетньов, 1977) і виявлення нерухомих кліщів. Після прямого розбору пилу, проводять перерахунок (на 1г пилу) загальної кількості кліщів і особин кожного виду (таксонів), виходячи з маси зразка і кількості знайдених у ньому особин.

Для виявлення нерухомих кліщів так само можна використовувати методи флотації та інкубації.

Методика виготовлення препаратів

Визначення систематичного положення більшості пилових членистоногих, через їх винятково дрібні розміри, можливе лише на препаратах за допомогою мікроскопа. Для виготовлення тимчасових препаратів можна використовувати 90% молочну кислоту, яка добре просвітлює кліщів. Для виготовлення постійних препаратів застосовується гумміарабікова суміш Фора-Берлезе чи канадський бальзам, який краще забезпечує збереження препарату.

Виготовлення препаратів проводять під мікроскопом МБС-1 у наступній послідовності. Спочатку кліща проводять через спирти (70%, 90%), потім - гвоздичну олію, після чого його розміщують у краплі канадського бальзаму. Проведення через спирти й олію роблять на предметному склі з заглибленням. У кожному розчині спирту та в олії кліщів витримують близько 3-5 хвилин. Потім на звичайне предметне скло голкою або скляною паличкою наноситься крапля бальзаму, у яку з гвоздичної олії переносять кліща і покривають накривним склом. Якщо кліщів багато, то можна в одну краплю бальзаму помістити частину екземплярів спиною до гори, а іншу частину - до гори черевцем.

Препарати обов'язково етикетують, де вказують місце збору, хто зібрав, дату, а після визначення таксона - його назву. Ці надписи роблять на склі тушшю або на окремій паперовій етикетці, яку потім приклеюють до скла клейом БФ-2.

Заходи боротьби з пиловими кліщами

Найбільш сприятливими умовами для розвитку кліщів є висока вологість - 80% і температура 20-30°C, які складають мікроклімат ліжка (протягом 6-10 годин сну на ньому людини з температурою тіла 37° С). Особливо сприятливі умови для розвитку кліщів створюються в пір'ї та ваті, які добре вбирають вологу і зберігають тепло.

Кліщі дуже чутливі до вологості. У нових сухих будинках, особливо при наявності парового опалення, що створює підвищену сухість у квартирах, кліщів у пилу зовсім немає чи їх значно менше, ніж у старих будинках, де вологість часто досить висока. З дим також пов'язаний підйом чисельності кліщів, і як наслідок цього - підйом чисельності атонічних форм респіраторних захворювань, які приходяться на осінь і початок зими - найбільш вологу і відносно теплу пору року. Висновок з цього: боротьба з кліщами - це боротьба з високою вологістю в будинку.

Для повного знищення кліщів досить перебування їх упродовж 24 годин при температурі 40° С, 8 годин - при 45° С, 2 годин - при 50° С, 10 хвилин - при 60°С. Температурний вплив убиває живих кліщів, але не знищує їхньої алергенної дії, яка зберігається і після їхньої смерті. Це властиво як самим кліщам, так і продуктам їхньої життєдіяльності, тому необхідне сухе (щоб не створювати додаткової вологості) збирання пилососом, яке збирає трупи і продукти екскреції. Особливо необхідна щотижнева обробка пилососом постільної білизни і м'яких меблів.

Деякі дослідники відзначають, що кліщі, а особливо їхні яйця, швидко гинуть при зіткненні із сіллю. Тому можна рекомендувати миття підлоги у квартирах водою з додаванням солі (10-20% розчин).

Не слід заставляти житлові кімнати, особливо спальні, меблями. Необхідно забезпечити можливість систематичного видалення пилу з усієї без винятку площі квартири.

У квартирах хворих на алергічні захворювання подушки, матраци та

ковдри з пір'я, волосся і вати доцільно замінити на рівноцінні із синтетичних матеріалів. Останні перешкоджають розвитку в них *D.farinae* і *E.longior*, а також акароїдних кліщів, які харчуються рослинними залишками. М'які меблі повинні мати пластикове покриття, для запобігання потрапляння усередину лусочок шкіри, які служать їжею для *D.pteronyssinus* і *E.meunei*.

Домашні туфлі і взуття на ворсистій підкладці необхідно вимивати не рідше одного разу на місяць, піддавати їх дезакаризації і дезінфекції в поліетиленових пакетах параміформаліну або оцтовою есенцією.

Якомога частіше піддавати постільні речі впливу вітру, морозу й особливо - впливу прямих сонячних променів. Встановлено, що алерген, виготовлений із кліщів, не руйнується при кип'ятінні упродовж години, але цілком втрачає свою активність при опроміненні ультрафіолетовими променями протягом двох годин.

Подушки, перини і ковдри не рідше одного разу на рік варто здавати в хімчистку або промивати перо в домашніх умовах під душем, а напірники - кип'ятити. Якщо кліщів дуже багато, то старі матраци і подушки хворого варто знищити, зробити ретельне прибирання приміщень і тільки тоді придбати нову постіль.

У лікарняних стаціонарах необхідно регулярно проводити акарологічний контроль за постільними речами. Заражений кліщами м'який інвентар варто вилучати з ужитку. Принесені хворим білизна і взуття повинні бути з крамниці.

Застосування хімічних інсектицидів для боротьби з кліщами, що живуть у пилу житлових приміщень, недоцільно, тому що їхня дія короткочасна, а самі вони небезпечні для організму людини.

Протокол практичного заняття

Дата _____

Робота 1. Морфологія кліщів.

Розглянути на препаратах свербуна коростяного. Замалювати самицю, самця

та личинку кліща.

Робота 2. *Аналіз побутового пилу на виявлення кліщів.*

Робота 3. Біологічна характеристика та медичне значення представників різних родин кліщів

Заповніть таблицю:

Родина та представники	Географічне поширення, локалізація на хазяїні	Морфологічні особливості	Стадії розвитку	Чим живиться, тривалість живлення	Медичне значення

Дата і підпис викладача _____

Заняття № 8-9

1. Тема: Двокрилі комахи (комарі, гедзі, мокреці, мошки) – кровососи, переносники і проміжні хазяїни інфекційних та інвазійних захворювань людини

2. Актуальність теми. Комахи з ряду Двокрилі не тільки кровососи, але і специфічні переносники збудників протозойних, гельмінтозних, бактеріальних і вірусних хвороб людини, свійських та диких тварин. Знання їх біології необхідні студентам для засвоєння розділів курсу епідеміології, шкірних інфекційних, очних та інших хвороб. В практичній діяльності ці знання необхідні для лікарів-епідеміологів, інфекціоністів, дерматологів.

3. Мета заняття. Знати систематику та вміти визначати кровосисних двокрилих комах, які мають медичне значення.

4. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення заняття.

4.1. Теоретичні питання до заняття:

1. Характеристика ряду Двокрилі.
2. Морфологія, життєвий цикл, екологія та медичне значення комарів.
3. Характеристика гедзів, мокреців та мошок.
4. Методи збору, обліку чисельності, визначення та колекціонування кровосисних двокрилих.

Характеристика ряду Двокрилі (Diptera)

Ретельне вивчення екології кровосисних паразитів, регулярні спостереження за станом, чисельністю і розподілом їх популяцій є важливим розділом роботи в комплексі протиепідемічних заходів. Головним об'єктом дослідження є кровосисні членистоногі, які мають медичне значення в якості специфічних чи механічних переносників збудників природно-вогнищевих хвороб.

Кровосисні членистоногі не тільки забезпечують циркуляцію патогенних збудників у природі, але в ряді випадків служать їх резервуарами.

Кровосисні двокрилі (комарі, мокреці, мошки, гедзі) крім того, що є настирливими кровососами і цим завдають шкоди людині і тваринам, можуть служити переносниками і проміжними хазяїнами багатьох інфекційних захворювань людини і тварин (не тільки природно-вогнищевих). Вони переносять збудників туляремії, сибірської виразки, бруцельозу, дірофіляріозу тощо. Але особливо велика їхня роль у трансмісії вірусів. Зокрема, значна кількість вірусів передається комарами, мокреці також можуть бути ефективними переносниками арбовірусів.

Ряд Двокрилі (Diptera) характеризується наявністю тільки однієї (передньої) пари крил з добре розвиненою системою жилок. Задня пара видозмінена у невеликі придатки — дзижчальця, які виконують функцію рівноваги.

Морфологія, життєвий цикл, екологія та медичне значення комарів

Родина Комарі справжні (Culicidae). У Євразії поширені три роди кровосисних комарів: Anopheles, Aedes, і Culex. Anopheles передають людині збудників малярії. Деякі види Aedes передають збудників туляремії, японського енцефаліту, лімфоцитарного хориоменінгіту, жовтої пропасниці, пропасниці денге і сибірки. Деякі види Culex передають вірус японського енцефаліту. В Євразії налічується близько 10 видів комарів роду Anopheles. Найпоширеніший з них — комар звичайний малярійний (*A. maculipennis*). Його ареал охоплює практично всю територію Євразії, за винятком Далекого Сходу. У нашій країні він був основним переносником збудника малярії. Крім того, у Середній Азії і Закавказзі істотну роль у перенесенні збудника малярії відігравав комар малярійний прикрашений (*A. superpictus*).

Знання морфології та екології комарів, як і інших переносників трансмісивних хвороб, необхідні для проведення боротьби з ними.

Морфологічні особливості. Яйця комарів Anopheles відрізняються від яєць Culex і Aedes не тільки за формою, але й за способом відкладання.

Anopheles відкладають яйця розкидано, поодинці на поверхні води. Кожне з них облямоване увігнутих пояском і має плавальну камеру. Яйця *Culex* не мають пояска і камер, відкладаються на поверхню води купками у вигляді човника. Яйця *Aedes* відкладаються на сиру землю біля пересихаючих водойм і рідше на поверхню води як купками, так і розкидано.

Личинки *Culex* і *Aedes* мають дихальний сифон у вигляді трубки на передостанньому членику. Личинки комарів *Culex* і *Aedes* у воді розташовуються під кутом, прикріплюючись сифоном до її поверхні. У личинок *Anopheles* на відміну від личинок *Culex* і *Aedes* немає дихального сифона. Личинки *Anopheles* мають тільки одну пару дихальних отворів на передостанньому членику і тому розташовуються на воді горизонтально.

Лялечка має форму коми. Лялечка *Anopheles* відрізняється від лялечок інших комарів будовою дихальних трубочок (сифональні ріжки). У *Anopheles* дихальні трубки конічної форми, у *Culex* — циліндричної.

На імагінальній стадії є відмінності у будові придатків голови, кольорі крил і посадці. У самок *Anopheles* нижньощелепні щупики за довжиною приблизно рівні з хоботком, у не малярійних комарів — у кілька разів коротші від хоботка. У самців *Anopheles* нижньощелепні щупики за довжиною рівні з хоботком, з булавоподібними потовщеннями на кінці, у не малярійних комарів — звичайно довші від хоботка, без булавоподібного потовщення. У комарів жилки крил вкриті лусками, які можуть утворювати малюнок із плям. *A. maculipennis* у середній частині крила має 4 темні плями, у *A. superpictus* — на передньому краї крила 4—5 світлих плям. У комарів *Culex* такі плями відсутні.

При посадці комарі *Anopheles* тримають черевце піднятим і знаходяться під кутом до поверхні. В інших комарів тіло при посадці зігнуте, черевце нахилене до субстрату або паралельне до нього.

Життєвий цикл і біологічні особливості. Яйця, личинки і лялечки розвиваються у воді. Молодий окрилений комар-анофелес спочатку знаходиться

поблизу водойми у побережній рослинності. У цей час комарі (самки і самці) живляться тільки соками рослин. Через кілька днів при настанні сутінків самці утворюють рої. Самка влітає у рій і залишає його з одним із самців для парування. Після запліднення самка шукає здобич і ссе кров людини чи тварин. Кров необхідна для розвитку яєць.

Для живлення кров'ю у самок є колючо-сисний ротовий апарат. У самця сисні ротові органи пристосовані для живлення рослинними соками. Самки *Anopheles* живляться переважно у приміщеннях, тому від водойм летять до населених пунктів. Зона поширення комарів навколо анофелогенних водойм досягає приблизно 3 км. Наславшись крові, самка відлітає у якийсь притулок і лишається у ньому у спокої протягом кількох днів, поки завершиться перетравлювання крові і, одночасно, дозрівання запліднених яєць. Потім самка летить до водойми і відкладає яйця. Описаний цикл життя самки від початку живлення кров'ю до відкладання яєць дістав назву гонотрофічного циклу (гр. *gonos*— сім'я, статеві клітина, і *trophe* — живлення).

Після відкладення яєць самка знову шукає здобич, живиться кров'ю. Таких циклів протягом літа може бути 2—3—6. Тривалість життя самки у літній період близько 1 місяця. Самці незабаром після спаровування гинуть; тривалість їх життя дорівнює кільком дням. Для відкладання яєць *Anopheles* використовують водойми із стоячою або повільно проточною водою. Кількість яєць в одній кладці коливається від 60 до 350. Із яєць вилуплюються личинки, які живуть на поверхні води. Вони дихають атмосферним повітрям.

Личинки *Anopheles* живуть виключно у чистих або майже чистих водоймах. Водойми із значною кількістю органічних речовин і завислих частинок, як і затінені, для них непридатні. У боротьбі з комарами *A. maculipennis* добрий ефект дає обсаджування берегів водойм деревами з великою і розлогою кроною.

Тривалість розвитку личинки залежить від температури води. Розвиток починається при температурі не нижче +10 °С. Оптимальна

температура + 25 °С. Мінімальний період розвитку личинки 15 днів. Живляться личинки бактеріями і рослинними рештками, для чого фільтрують воду і заковтують всі частинки, які можуть пройти у ротовий отвір. Ця біологічна особливість комарів використовується для знищення їх шляхом розпилення на поверхні водойми порошкоподібних отруйних речовин.

Личинки перетворюються на лялечок. Лялечки — в імаго.

Кількість поколінь комарів *Anopheles* залежить від тривалості літа і може бути від 2 (Карелія) до 5—7 (Закавказзя, Середня Азія). В осінніх самок виробляється жирове тіло, за рахунок якого підтримується існування імаго під час зимівлі. Найпоширеніший у нашій країні *A. maculipennis* вважався одним видом. На сьогодні відомо, що він включає 6 видів-двійників, які відрізняються рядом біологічних особливостей, зокрема характером зимування.

У всіх видів-двійників *A. maculipennis* зимують запліднені самки. Місцями зимування для одних видів-двійників, які впадають у діапаузу, служать підвали, погребі, для інших — хліви, де вони живляться кров'ю тварин усю зиму. Самці гинуть восени.

Комарі роду *Aedes* за біологічними особливостями відрізняються від анофелесів.

Місцями виплоду більшості видів *Aedes* є тимчасові водойми: калюжі, канави, заболочені місця. Личинки деяких видів можуть розвиватися у невеликих посудинах, у тому числі у відрах, діжках, консервних банках тощо. Гниючі органічні речовини їм не шкодять. Характерною рисою комарів *Aedes* є неодночасне вилуплення личинок з яєць однієї кладки, воно розтягується на тижні і навіть місяці. Це пристосування до життя у періодично пересихаючих водоймах. Якщо водойма пересихає до завершення розвитку личинок і вони гинуть, то при новому затопленні личинки вилуплюються з яєць, що залишилися. Це забезпечує існування виду.

Для одних видів *Aedes*, яких називають моноциклічними, властивий

розвиток за літо однієї генерації, для інших — поліциклічних — кілька генерацій. Личинки моноциклічних видів звичайно розвиваються у тимчасово пересихаючих водоймах, тому в них більш чітко виражена затримка розвитку яєць у літній час. У поліциклічних видів на заміну слабо вираженої літньої затримки розвитку яєць як пристосування до існування у суворих зимових умовах у процесі еволюції виникла осінньо-зимова затримка розвитку яєць.

Дорослі комарі *Aedes* найбільш активні увечері, але можуть нападати на здобич і вдень, особливо у хмарну погоду. Вдень вони ховаються у траві, кущах, ямах звичайно поблизу водойм.

Система боротьби з комарами зводиться до захисту людини від нападу їх, знищення окрилених особин, личинок; оздоровлення місцевості — ліквідація водойм, які можуть бути місцем виплоду.

Найефективнішими є заходи щодо оздоровлення території, але вони і найбільш дорогі. До них відносять гідротехнічні та меліоративні роботи по осушенню боліт, поглибленню водойм, спрямленню річок тощо. Проводять також боніфікаційні роботи, які зводяться до періодичного очищення водойм від водної рослинності або ліквідації дрібних водойм, які не мають господарського значення.

Для знищення личинок комарів у водоймах можуть використовуватися мінеральні олії, які розбризкуються по поверхні. Олії, зменшуючи поверхневий натяг, перешкоджають утримуванию личинок на поверхні води. Крім того, вони закупорюють трахеї личинок комарів, і вони, позбавившись можливості дихати, гинуть. Використовуються і порошкоподібні отрути. У субтропіках застосовують біологічні методи, використовуючи для цього рибку гамбузію, яка живиться виключно личинками комарів. Але гамбузія може жити тільки у водоймах, в яких температура не падає нижче +5°C. Її успішно у боротьбі з малярією було застосовано в Абхазії.

Знищення окрилених комарів звичайно проводять у приміщеннях, де вони днюють. У нашій країні у період ліквідації малярії (кінець сорокових

— початок п'ятдесятих років) чисельність малярійних комарів була значно знижена у результаті бар'єрної обробки приміщень препаратом ДДТ. Метод ґрунтується на тому, що майже усі комарі *A. maculipennis* переміщують від водойм до населених пунктів. Досягти його, вони розсіюються у найближчих до водойми приміщеннях (хлів, жилі будинки та інші будівлі). Суцільною обробкою цих приміщень інсектицидами було знищено значну кількість комарів. Нині препарати ДДТ не використовуються. Для хімічної боротьби з комарами можуть бути використані різні фосфорорганічні сполуки.

Перспективними є біологічні методи боротьби, але вони ще майже не розроблені. До них відносять використання природних ворогів (наприклад, приваблювання кажанів), збудників грибних, бактеріальних і вірусних хвороб комарів; генетичних методів, наприклад, випускання у природу стерильних самців тощо.

З дієтою індивідуального захисту від кровососів застосовують репеленти, які наносять на відкриті частини тіла.

Характеристика гедзів, мокреців та мошок

Гедзі (родина Tabanidae) за зовнішнім виглядом і розмірами нагадують велику муху. Серед кровосисних двокрилих комах гедзі мають найбільш великі розміри тіла – від 8 до 25 мм, рідко зустрічаються дрібні форми (до 6 мм). Самці живляться рослинними соками. Самкам для розвитку яєць тільки рослинної їжі недостатньо; вони нападають на тварин, людину. Нападають у жарку погоду. Яйця у більшості видів відкладаються на листках прибережної рослинності. Личинки розвиваються у воді, у деяких видів — у вологому ґрунті. Зимують личинки, лялечки з'являються навесні. Слина гедзів токсична. Гедзі можуть бути механічними переносниками збудника туляремії і сибірської виразки, а в Африці передають філярій - збудників філяріозу.

Форма яйця – вузько-циліндрична, з помітним звуженням на передньому кінці. На обох кінцях яйце навкіс зрізане. Розміри яєць у представників роду *Tabanus* L. 1,3–2,4 мм, у роду *Haematopota* Mg. 1,1–1,4 мм. Оболонка яєць без

структурних утворень, блискуча, спочатку молочно-біла, через кілька годин темнішає. Форма яйцекладок різна. Зустрічаються плоскі кладки (одно-, дво-шарові) та у вигляді витягнутої смужки з вертикально розташованими яйцями (у два шари). У кладці яйця склеєні між собою клеєвою речовиною. У кожній кладці міститься в середньому по 500–600 яєць. На максимальну кількість яєць – 1000 шт. вказує Олсуф'єв у кладці гедзя великого сірого. У кладці *Hybomitra lundbecki*, *Tabanus autumnahs* *Hybomitra conforms*, *Tabanus bovinus*, *Chr. caecutiens* яйця склеєні між собою міцно, а в кладках *Hybomitra bimaculata*, *H. schineri* – слабо, тому й легко розпадаються. Оскільки видові відмінності будови яєць дуже незначні, визначити видову назву гедзів лише за фазою яйця майже неможливо.

Відкладання яєць у гедзів відбувається в самі теплі літні дні червня — липня і найчастіше в першу половину дня. Як правило, місця відкладання яєць зосереджуються поблизу різних водоймищ на добре освітлених сонцем ділянках, біля випасу худоби, водопоїв. Знахідки у воді личинок гедзів сірого та великого сірого і їх лялечок свідчать про тісний зв'язок цих видів з водоймами. Табаногенними водоймищами можуть бути зарослі рослинами тимчасові калюжі.

Ембріональний розвиток гедзів закінчується упродовж 4–8 днів, але може затягтися до 3 тижнів у залежності від температури навколишнього повітря. Личинки, що вилупилися, збираються в грудочку, потім падають у воду або на вологий ґрунт де й розвиваються. З ростом і розвитком личинки розповзаються в сухіші місця. Вони надають перевагу прибережній смужі водойм, поверхневим шарам мохових боліт, вологому ґрунту тощо. Личинки гедзів мають характерну будову і їх легко впізнати по сигаровидному пружному тілу, загостреному на обох кінцях і чітко поділеному на 12 сегментів.

Мокреці (родина Geratopogonidae). Основна маса кровосисних мокреців належить до роду *Culicoides*. Це найдрібніші з *літаючих* кровосисних комах. Довжина їхнього тіла 1-2,5 мм. Самки нападають на людину і тварин у

ранкові години і ввечері. Личинки і лялечки розвиваються у вологому ґрунті, лісовій підстилці, дуплах дерев, невеликих стоячих водоймах. Мокреці — механічні переносники збудника туляремії, а у тропіках — специфічні переносники нематод.

Уколи мокреців болючі, так як самиця вводить в ранку слину, яка містить токсичні речовини. На місці укусу утворюються почервоніння, набряк. Масовий напад цих комах призводить до зниження продуктивності праці людей, продуктивності худоби. Мокреці є нав'язливими кровососами. Самиці нападають переважно під відкритим небом. Але можуть залітати в будинки, де виявляють велику активність.

Мокреці розповсюджені дуже широко. Іноді вони складають більш ніж 90% всіх кровосисних комах, які нападають на людину.

Кровосисні мокреці є європейськими переносниками двох важливих захворювань тварин: вірусу синього язика й африканської кінської чуми. Окрім цього, гемоглобіни родини кровосисних мокреців *Ceratopogonidae* є потужними людськими алергенами, і відомо про випадки, коли вони виступали збудниками астми в людини.

Яйця продовгуватої форми, 0,12–0,14 мм в довжину, гладенькі або покриті дрібними шипиками. Самиці відкладають яйця в мілководні водойми зі стоячою водою, в вологу лісову підстилку, дупла дерев. При сприятливих умовах розвиток яйця триває 3–6 діб, фаза личинки триває 2–3 тижня, фаза лялечки – 3–7 діб.

Личинки черв'якоподібні, їх тіло без придатків. Вони дуже рухливі, живляться детритом, бактеріями, лялечки майже не пересуваються. Зимують дорослі личинки в ґрунті.

Одним з важливих факторів існування личинок є температура в межах максимуму +35...+40°C, мінімуму – +10,6°C. Місця розвитку мокреців надзвичайно різноманітні, але всі вони можуть бути розділені на три великі групи: а) водойми, б) болота й заболоченості та в) вологі субстрати.

Заляльковуюються личинки відразу ж після закінчення розвитку, але для заляльковування вони переповзають в сухіші місця — вище краю води по береговій лінії водойм, на підвищення ґрунту в мілких калюжах і болотах, у верхніх шарах лісової підстилки, кізяках тощо. На субстраті з меншою вологістю лялечки розвиваються за 2–3 дні, а в дуже вологому субстраті їх розвиток затягується до 7–8 днів. Коли лялечки розвиваються при оптимальних температурах субстрату (+20...+25°C), їх розвиток закінчується за 3–5 днів. Розвиток від яйця до дорослої фази завершується за 1–1,5 місяця.

Мошки (родина Simuliidae) за зовнішнім виглядом подібні до дрібних мух. У середньому довжина їхнього тіла досягає 2,5—4,5 мм.

Лише дорослі комахи живуть у повітрі. Яйце, личинка і лялечка проводять усе своє життя і розвиваються тільки в проточній воді. Відповідно до цього біологія дорослих комах різко відрізняється від біології яйця, личинки і лялечки.

Самки більшості видів ссуть кров. Нападають тільки на відкритому повітрі і в світлий період доби. Розвиток мошок відбувається у річках і струмках. Самки відкладають яйця на підводні предмети (каміння, листки рослин).

Яйця опукло-трикутної форми або злегка овально-витягнуті. Оболонка яєць мошок гладка, прозора. Свіжовідкладені яйця білувато-матові, зрілі – світло-коричневого забарвлення. Їхня довжина і ширина варіюють.

Реофілія личинок мошок пов'язана в основному з характером їхнього живлення. Вони розпрямляють віяла для уловлювання їжі (бактерій, водоростей, детриту тощо), яка надходить через ротову порожнину в стравохід майже безупинним потоком, тому що віяла складаються й очищаються через кожні кілька секунд.

Тіло личинки червоподібної форми з потовщеним грудним відділом і особливо дистальним кінцем черевця. Забарвлення різних видів варіює від зеленувато-жовтого до темно-коричневого. Тіло розділене на 11 сегментів. Для

личинок мошок характерні бічні вирости верхньої губи (віяла). Вони служать для уловлювання їжі. З вентральної сторони грудей розташована непарна "нога", постачена на кінці кільцем гаків. Вона бере участь у плетиві кокона і пересуванні личинки по субстрату. На задньому кінці тіла попереду від анального отвору знаходяться прозорі ректальні придатки і задній прикріпний орган – "присоска".

Лялечка знаходиться у коконі, що щільно прикріплюється до субстрату. Передній край кокона відкритий, з нього висуваються дихальні нитки. Форма і будова кокона у різних груп і видів мошок різна; найчастіше кокон має вигляд куреня.

Мошки — механічні переносники збудника туляремії, а в тропіках — специфічні переносники нематод. Для індивідуального захисту рекомендується використовувати відлякуючі хімічні засоби — репеленти. Кращим засобом захисту від комарів, мошок і *мокреців* визнано диметилловий ефір фталевої кислоти (диметилфталат).

Методи збору, обліку чисельності, визначення та колекціювання кровосисних двокрилих

При епізоотологічному обстеженні природних вогнищ трансмісивних хвороб організують збір кровосисних членистоногих з метою подальшого виявлення в організмі переносників збудників цих інфекцій. У ході планового обстеження території вогнища одночасно зі збором ектопаразитів для лабораторного дослідження проводять одноразові обліки їх чисельності.

Переносників збирають з великих диких, свійських і сільськогосподарських тварин. Облік кровосисних двокрилих проводять за методикою А. В. Гуцевича "на собі". Збирають, нападаючих на оголену до ліктя руку обліковця, комах екстаустером або пробірками-морилками. Перед початком роботи пробірки (хімічні або бактеріологічні) "заряджають", тобто на дно пробірки кладуть невеликий ватний тампон і змочують його хлороформом чи ефіром. Над ним розміщують кружечок з твердого паперу, в якому зроблено препарувальною

голкою проколи. Після цього слід дати пробірці підсохнути (якщо при zalиванні ефір потрапив на її стінки) і закрити щільно корком. На кожного спостерігача треба підготувати по дві-три пробірки. В місці збирання, на годувальнику, пробіркою накривають кровосисних комах одного за одним. За період ранкової або вечірньої активності і масового нападу гнусу підготовлений збирач може виловити до 2000 екз. За облікову одиницю часу приймають 20 хв., а при низькій чисельності – 30 хв.

З метою кількісного обліку преімагінальних фаз розвитку комах збирають їх личинки і лялечки в місцях виплоду (з вологого ґрунту, з водних рослин, у товщі води). Обліковою одиницею служить середня кількість особин на одиницю поверхні біотопу або на одну рослину. Для обліку личинок і лялечок комарів у водоймах користуються водним сачком (d обручу 20 см, глибина мішка – 25 см). Його занурюють у воду на половину діаметра обода з невеликим розворотом нагору і протягують по поверхні води на відстань 1 м. Звичайно в одній ділянці водойми відбирають по 5–10 проб та визначають середню кількість личинок на одиницю обліку. Личинок і лялечок мокреців, що живуть у воді, також збирають сачком, попередньо скаламутивши воду. Визначення видової належності личинок і лялечок комах проводять для встановлення місць їхнього виплоду, термінів розвитку, з'ясування різних питань систематики і біології, для контролю за ефективністю заходів боротьби. У цих випадках часто користуються методом дорошування преімагінальних фаз до імаго в лабораторних умовах. Кожну зібрану пробу постачають докладною етикеткою із вказівкою дати, адреси, місця і її номера, способу збору і кількості облікових одиниць, вказують погодні умови.

Для колекціювання Членистоногих збирають у пробірки, флакони, куди поміщають збори з одного об'єкта (тварини, нори, гнізда тощо), заливають 70⁰ спиртом і етикетують. Потім розпочинають обробку матеріалу. Колекційний матеріал у музеях установ зберігається у вигляді спиртових колекцій, тотальних препаратів, монтованих на предметному склі, – у

канадському бальзамі або рідині Фора, а також у вигляді сухоповітряних препаратів. Сухоповітряні препарати роблять для збереження імаго кровосисних двокрилих. Для них використовують скляні пробірки висотою 60–75 мм і діаметром 25–30 мм із щільно підігнутою корковою чи гумовою пробкою. Ентомологічну шпильку, з висушеною у розправленому вигляді комахою, встромляють у перевернену пробку і зверху закривають пробіркою. Етикетку пишуть на паперовій стрічці, наклеєній на пробку або пробірку. Можна також використовувати звичайні "матрацики", які застосовують в ентомології. У них поміщають тонкий шар вати, який кладуть у зігнутий "книжкою" лист папера. На вату укладають до 20 членистоногих. Етикетку наклеюють на коробку. Усі препарати нумерують і реєструють в інвентарному журналі.

Підготовку ектопаразитів до дослідження проводять у спеціальному боксі, бактеріологічній кімнаті або лабораторії, де для цього облаштовують окремий стіл. Кровосисних двокрилих доставляють у лабораторію в рідкому азоті чи живими. Звичайно первинну обробку матеріалу проводять у польових умовах. Живих комарів тютюновим димом роблять нерухомими і визначають до виду (якщо це необхідно 10% збору комарів складають в окремі флакони з ватою (чи на матрацику) для наступного визначення). Комарів, призначених для дослідження, групами по 100–200 особин (1 пул) поміщають у пластикові пробірки і ставлять у рідкий азот, де зберігають до дослідження. Мошок, мокреців збирають, зберігають і транспортують так само, але в 1 пул беруть від 200 до 400 особин у залежності від обсягу зібраного матеріалу. Розтин членистоногих може проводитися з метою визначення їхнього фізіологічного віку або зараженості тим чи іншим збудником.

Іноді треба звернутися до структурних ознак самиць і самців. Тоді частину комах відбирають для приготування мікроскопічних препаратів. Перш ніж розпочати виготовлення препарату, треба добре роздивитися колір тіла кровососу і всі ознаки записати в щоденник опису препаратів під певним

номером. Після цього комаху переносять голкою чи м'якою щіточкою в 70-градусний спирт (для цього краще використовувати скляні солонки з плоским дном або невеликі годинникові скельця). В спирті відокремлюють крила при самій основі (для приготування препаратів треба мати ще дві невеликі голки, які краще зробити з тонких ентомологічних голок). Після цього крила переносять в гвоздичну олію, а тіло комахи – в пронумерований фарфоровий тигельок з 10%-ним лугом, де залишають на 12–14 год. Крила після 2–3-хвилинного перебування в олії переносять в краплю канадського бальзаму, нанесеного на предметне скло (зліва), і закривають чвертю накривного скла. Різати накривні скельця можна розпеченим гвіздком, заправленим в дерев'яну ручку. На предметному склі з обох сторін лишають по 1,5 см для етикетки (ліворуч) та назви виду (праворуч), препарати обов'язково нумерують. Всі записи на препараті роблять тушшю за допомогою пера для креслення або фломастера. Наступного дня на це ж скло кладуть інші частини комах. Для цього тіло комахи виймають з лугу і промивають дистильованою водою, а потім проводять через спирти (70°, 96° і абсолютний) та олію, тримаючи в кожному спирті не менше 3–4 хв. В 70-градусному спирті відокремлюють від комах голову, груди й черевце, а у самців – голову, груди з частиною черевця та геніталій з одним-двома останніми сегментами черевця. Всі ці маніпуляції слід робити під бінокляром (МБС-10), щоб не загубити вусики чи якісь інші частини тіла. Поряд з крилами на предметне скло наноситься крапля бальзаму, в яку кладуть голову лобною смужкою догори. В третій краплі розміщують всі інші частини комах. Геніталій повинен лежати догори стернітом. Потім кожному краплю прикривають накривним склом. Бажано голову прикривати більш тонким склом, бо інколи при вивченні сенсил доводиться звертатися до імерсії. При роботі над препаратами треба весь час мати під рукою толуол або ксилол, які використовуються для зменшення в'язкості бальзаму та для промивання інструментів. Описаними методами препарують і інших кровосисних двокрилих.

Протокол практичного заняття

Дата _____

Робота 1. Морфологія імаго, яєць, личинок і лялечок малярійних та не малярійних комарів.

Розглянути на мікропрепаратах, таблицях різні стадії розвитку комарів.

Замалювати їх цикл розвитку.

Робота 2. Особливості біології та медичне значення деяких родин та представників двокрилих

Заповніть таблицю:

Назва родини, представника	Місце кладки яєць і розвитку	Час нападу на людину	Тип ротового апарату	Медичне значення
<i>1. Culicidae</i> - малярійні				
- немалярійні				
<i>2. Ceratopogonidae</i>				
<i>3. Simuliidae</i>				
<i>4. Tabanidae</i>				

Робота 3. Морфологія імаго та личинок москітів, мошок, мокреців, гедзів.

Розглянути на мікропрепаратах, таблицях, вивчити особливості їх зовнішньої будови.

Робота 4. Виготовлення постійних мікропрепаратів кровосисних двокрилих.

Використовуючи відповідні методики, матеріал та обладнання приготувати 1 мікропрепарат комахи (личинки мошки) та визначити її. Результат записати.

Дата і підпис викладача _____

Заняття № 10

1. Тема: Модульний контроль

2. Мета заняття. Виявити знання студентів з теоретичних та практичних питань.

3. Завдання для самостійної праці під час підготовки та проведення заняття.

• **Орієнтовний перелік практичних навичок, якими повинен оволодіти студент:**

- техніка мікроскопування;
- виготовляти тимчасові та постійні мікропрепарати;
- обґрунтувати приналежність хвороб людини до групи трансмісивних і природно осередкових;
- діагностувати на макро- і мікропрепаратах збудників паразитарних хвороб;
- визначити видову належність збудників протозоозів;
- ідентифікувати різні стадії життєвого циклу паразитів людини;

- обґрунтувати методи лабораторної діагностики паразитарних хвороб;
- визначити видову належність гельмінтів і їх яєць;
- диференціювати діагноз інвазій за допомогою лабораторних методів;
- визначити видову належність переносників збудників інфекцій.
- доводити ефективність методів профілактики паразитарних хвороб, базуючись на способах зараження ними;
- передбачити вплив факторів довкілля на організм людини.

Перелік питань для самостійної роботи

1. Форми взаємовідносин між організмами. Паразитизм як біологічний феномен.
2. Життєві цикли паразитів.
3. Класифікація паразитів.
4. Основні, проміжні і додаткові господарі. Біо- та геогельмінти.
5. Життєві цикли паразитів.
6. Трансмісивні та природноосередкові захворювання.
7. Морфофізіологічні особливості, цикли розвитку патогенних найпростіших організмів.
8. Методи взяття матеріалу та дослідження патогенних найпростіших організмів.
9. Морфофізіологічні особливості, цикли розвитку гельмінтів. Локалізація їх в організмі людини, патогенних вплив.
10. Методи дослідження гельмінтів на різних стадіях розвитку: статевозрілих форм, личинок і яєць.
11. Класифікація членистоногих.
12. Морфофізіологічні особливості, цикли розвитку кліщів – збудників та переносників хвороб.
13. Методи досліджень об'єктів довкілля на виявлення цист патогенних найпростіших та яєць гельмінтів.

Список рекомендованої літератури

1. Конспект лекцій.
2. Медична біологія / За ред. В.П Пішака, Ю.І. Бажори. Підручник. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2004.- 615 с.
3. Медична біологія / За ред. В.П Пішака, Ю.І. Бажори. Підручник. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2009.- 608 с.
4. Слюсарев А.О., Жукова С.В. Біологія: Підручник. К.: Вища шк., 1992.- 422 с.
5. Воронова Н.В., Горбань В.В., Павліченко В.І. Кровосисні двокрилі (Diptera) степового Придніпров'я: монографія. – Запоріжжя: Запорізький національний університет, 2008. – 208 с.
6. Пішак В.П., Булик Р.Є., Захарчук О.І. Лабораторна діагностика паразитарних інвазій. – Чернівці: Медуніверситет, 2007.- 284 с.
7. Паразитарні хвороби /Пішак В.П. – 1998. – 339 с.
8. Пішак В.П. Медична паразитологія. Практикум. – Чернівці, 1997. – с.119
9. В.П. Пішак, Т.М. Бойчук, Ю.І. Бажора. Клінічна паразитологія. – Чернівці: Медакадемія, 2003. – 344 с.