

Ćwiczenia
Katarzyna Mastalska

**WYBRANE PARAZYTOZY
KOSMOPOLITYCZNE I
TROPIKALNE**

**POBIERANIE I
PRZESYŁANIE MATERIAŁU
DO BADAŃ
PARAZYTOLOGICZNYCH.
METODY BADAŃ
KOPROLOGICZNYCH.**

MATERIAŁY DO BADAŃ PARAZYTOLOGICZNYCH

- Kał (podstawowy materiał)- koproskopia
- Treść dwunastnicza, żółć- *Giardia lamblia*, jaja *Fasciola hepatica*, larwy *Strongyloides stercoralis*
- Pasożyt, lub jego fragmenty,
- Krew,
- Płyn mózgowo-rdzeniowy- *Toxoplasma*, *Trypanosoma*
- Materiały z biopsji, punktaty
- Zeskrobiny skórne, rzęsy

- ◉ Do prawidłowego przeprowadzenia badania parazytologicznego istotne są informacje, takie jak:
 - ❑ miejsce i czas pobytu za granicą (pobyt w tropikach)
 - ❑ Objawy kliniczne
 - ❑ Wstępna diagnoza, podejrzenie
 - ❑ Stosowane leczenie



KAŁ

- ▶ Podstawowy materiał diagnostyczny w badaniach parazytologicznych ze względu na liczne pasożyty występujące w przewodzie pokarmowym
- ▶ Próbkę kału należy pobrać przed rozpoczęciem leczenia lub po odpowiednim czasie po leczeniu (1-3 tygodni)
- ▶ Kał powinien być oddany do czystych i suchych, papierowych naczyń woskowanych lub wykonanych z tworzywa sztucznego względnie na czysty papier i następnie przeniesiony do pojemników z łopatką.
- ▶ Kał nie może być zanieczyszczony moczem, wodą lub glebą. Zaleca się pobranie próbek kału z trzech różnych miejsc. Ze względu na możliwość fermentacji, standardowy pojemnik na kał, powinien być wypełniony najwyżej do 2/3 jego pojemności.

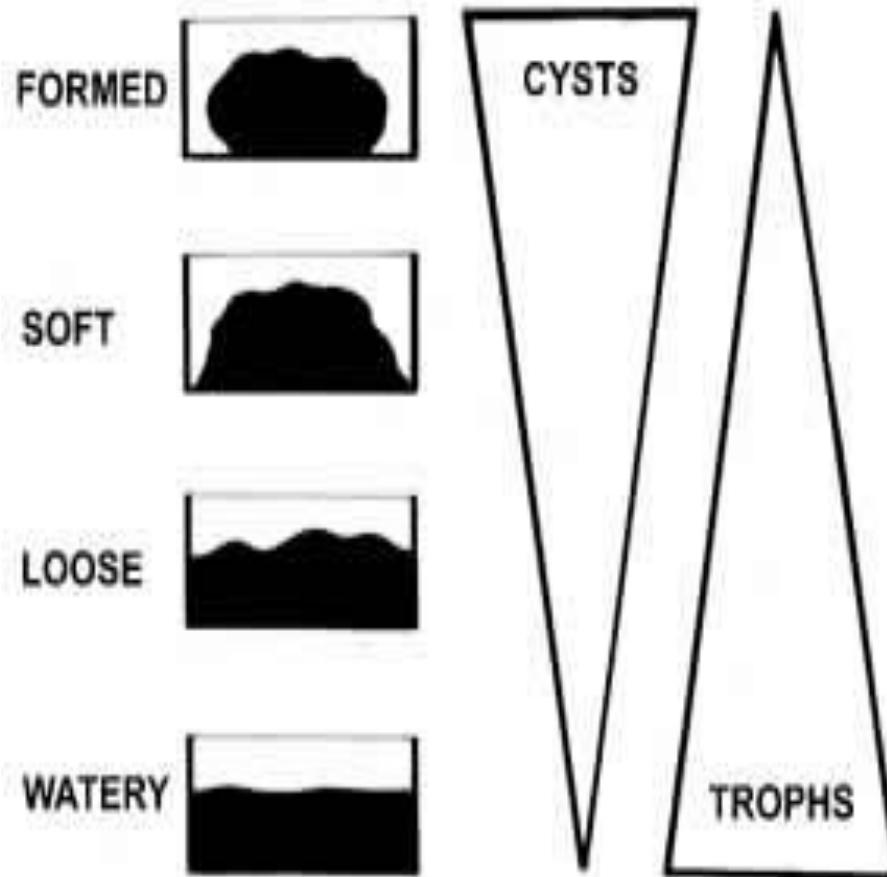


- ⊙ Dla celów diagnostycznych zaleca się trzykrotne pobranie i badanie kału, natomiast w odniesieniu do pacjentów powracających z „tropików” czterokrotne, ostatnie badanie po prowokacji środkami czyszczącymi.
- ⊙ Kał do badań pobierany jest w okresie 10 dni w odstępach 2-3 dniowych, co podnosi prawdopodobieństwo wykrycia pasożytów, zwłaszcza cyst pierwotniaków, które wydalane są nieregularnie.
- ⊙ Przy znacznym podejrzeniu giardiozy lub amebozy, badania koproskopowe wykonywane są nawet sześciokrotnie w okresie 14 dni.

- Kał biegunkowy, płynny należy badać bezpośrednio po oddaniu.

Przechowywany jest w temperaturze pokojowej.

- Próbki kałów uformowanych można przechowywać co najmniej przez 24 h.
- Kał, który nie może być zbadany w ciągu 3-4 godz. powinien być umieszczony w lodówce.



<https://www.cdc.gov/dpdx/diagnosticprocedures/tool/specimencoll.html>

W próbach kału możemy stwierdzić:

- jaja lub larwy robaków,**
- cysty i trofozoity pierwotniaków,**
 - formy dorosłe (imago) *Ascaris lumbricoides* (glista ludzka), *Enterobius vermicularis* (owsik) – głównie dojrzałe, wypełnione inwazyjnymi jajami samice, strobilę (ciało tasiemca) oraz przejrzale proglotydy (człony) tasiemców.**

KREW

- ▶ Surowica krwi stosowana w diagnostyce serologicznej (poszukiwanie przeciwciał).

Minimum 1 ml surowicy krwi lub 5 ml krwi pobranej na skrzep
Próbkę krwi pobieramy w sposób jałowy, pozostawiamy do skrzepnięcia, a oddzieloną od skrzepu surowicę przenosimy do jałowego pojemnika.

- ▶ Krew pobrana na EDTA- 5-10 ml. (*Plasmodium*, *Typanosoma*, *Babesia*, mikrofilarie).
- ▶ Próby krwi włośniczkowej pobrane z opuszki palca lub ucha:
 - Mikroskopowe cienkie rozmazy krwi
 - rozmazy grubej kropli krwi

MATERIAŁY Z BIOPSJI

- ⊙ punkcja węzłów chłonnych, szczególnie karkowych (objaw Winterbottoma) – Trypanosoma (świdrowiec)
- ⊙ czasem punkcja pęcherza – Schistosoma haematobium (przywra pęcherzowa)
- ⊙ biopsja tkanki mięśniowej leżącej powierzchniowo (mięsień ramieniowy, piersiowy większy, brzuchaty łydki) - Trichinella spiralis (Włosień kręty)

KONSERWOWANIE KAŁU

- ▶ Jeśli badanie nie może być wykonane w wymaganym czasie, kał należy zakonserwować.
- ▶ **Formalina** (5 i 10 %) (w stosunku 3:1- świeży kał)

5% roztwór konserwuje jaja, larwy i cysty pasożytów, a może uszkadzać trofozoity

Zakonserwowany formaliną kał nadaje się do barwienia i badania metodami zagęszczającymi.

Próbki kału zakonserwowane formaliną, nie można barwić trichromem

- ⊙ **PAF** – (fenol , alkohol, formalina) oraz **PVA** – (alkohol poliwinylowy)
- ⊙ nie uszkadzają trofozoitów,
- ⊙ dają kontrastowe obrazy w podbarwianych preparatach bezpośrednich,
- ⊙ materiał tak utrwalony nie kwalifikuje się do wykonywania metod zagęszczających,
- ⊙ Możliwość barwienia hematoksyliną i trichromem.

- **SAF** (octan sodu-kwas octowy- formaldehyd)
 - Materiał zakonserwowany tym utrwalaczem nadaje się do wykorzystania w metodach zagęszczających
 - Można barwić trichromem i hematoksyliną
-
- **Utrwalacz Shaudinna**
 - Najlepszy do pierwotniaków jelitowych
 - Materiał tak utrwalony nie może być wykorzystany do badań metodami zagęszczającymi

TRANSPORT MATERIAŁU DIAGNOSTYCZNEGO

- Każda próbkę należy traktować jako potencjalnie zakaźną
- Należy przestrzegać standardowych procedur zapewniających wymagany stopień bezpieczeństwa
- Pobrany materiał należy dostarczyć jak najszybciej do badania, lub jeśli to dopuszczalne, przechowywać w warunkach chłodni (2-8°C)
- Pasożyty do badania w kierunku form dorosłych, np. glista ludzka, proglotydy tasiemców transportujemy w pojemniku z solą fizjologiczną lub wodą.
- Żółć jest transportowana w temp 37°C

TECHNIKI KOPROSKOPOWE

- ⊙ Badanie kału jest dwuetapowe i każdorazowo obejmuje makroskopową i mikroskopową ocenę próbki
- ⊙ Jako pierwsza wykonywana jest ocena makroskopowa, której wynik może wskazywać na występowanie inwazji pasożytniczej i ukierunkowywać dalszy tok badań



OCENA MAKROSKOPOWA

- Cel:
- wykrycie całych pasożytów lub ich fragmentów np. nicieni lub członów tasiemca
- Należy zwrócić uwagę na : konsystencję, barwę, obecność śluzu, krwi, niestrawionych resztek pokarmowych
- Widoczny makroskopowo rozrost pleśni w próbce kału świadczy zwykle o nieprawidłowym przechowywaniu materiału- konieczność dostarczenia do laboratorium nowej próbki

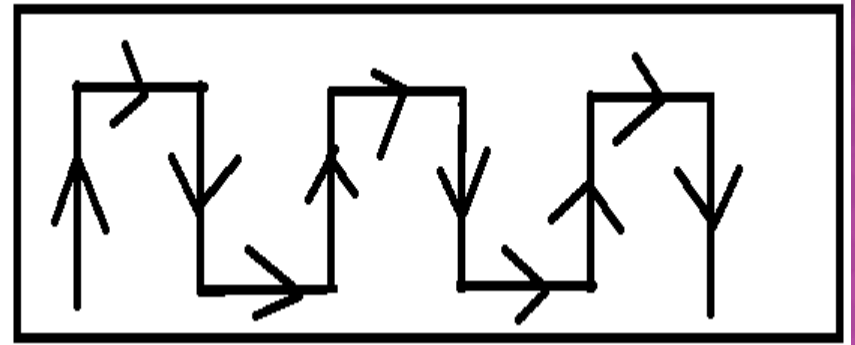
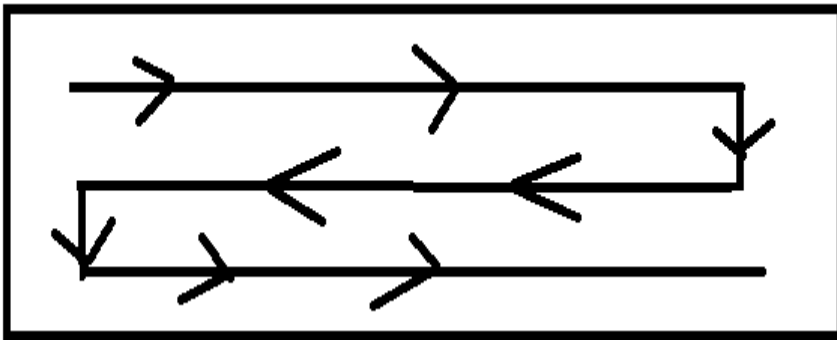
- Oceniane są rozmazy bezpośrednie kału oraz rozmazy kału po przeprowadzeniu metod zagęszczających materiał (flotacja, sedimentacja).
- Zagęszczeniu ulegają oocysty, cysty i jaja pasożytów zawarte w badanej próbce.

Trofozoity mogą ulec zniszczeniu, dlatego konieczne jest badanie rozmazów bezpośrednich. Należy zwracać uwagę nie tylko na pasożyty, ale również na: komórki nabłonkowe, erytrocyty, leukocyty, kryształy, grzyby, komórki roślinne, włókna, ziarna materiału zapasowego, np. skrobi.

OCENA MIKROSKOPOWA



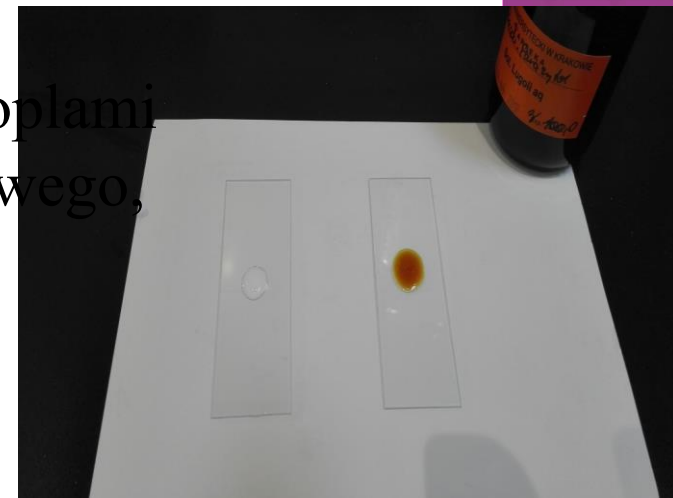
- ◉ W diagnostyce mikroskopowej niezwykle ważna jest precyzja w ustawieniu ostrości przeglądanego obrazu oraz dokładne obejrzenie **całego** preparatu mikroskopowego.
- ◉ W tym celu najczęściej zachowuje się zasadę oglądania preparatu równoległe od prawej strony lub od góry do dołu



METODY BEZPOŚREDNIE

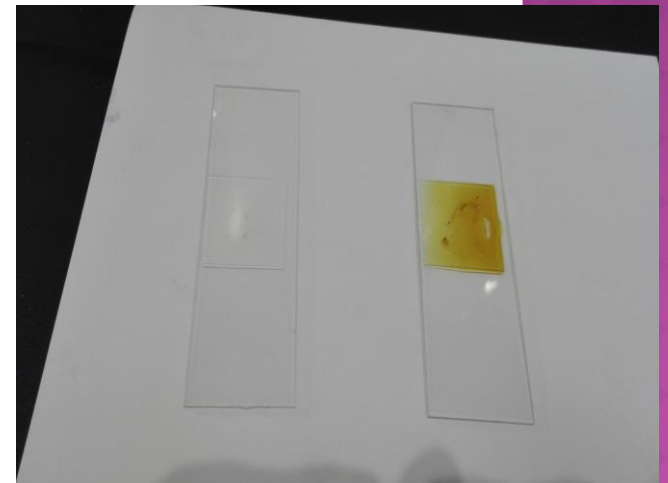
- ⊙ **Rozmaz w soli fizjologicznej:**
- ⊙ W tej metodzie poszukujemy: jaj, trofozoitów, cyst, oocyst oraz larw pasożytów
- ⊙ Jedyna metoda nie niszcząca trofozoitów
- ⊙ Możliwość obserwacji ruchu pierwotniaków
- ⊙ Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (400x)

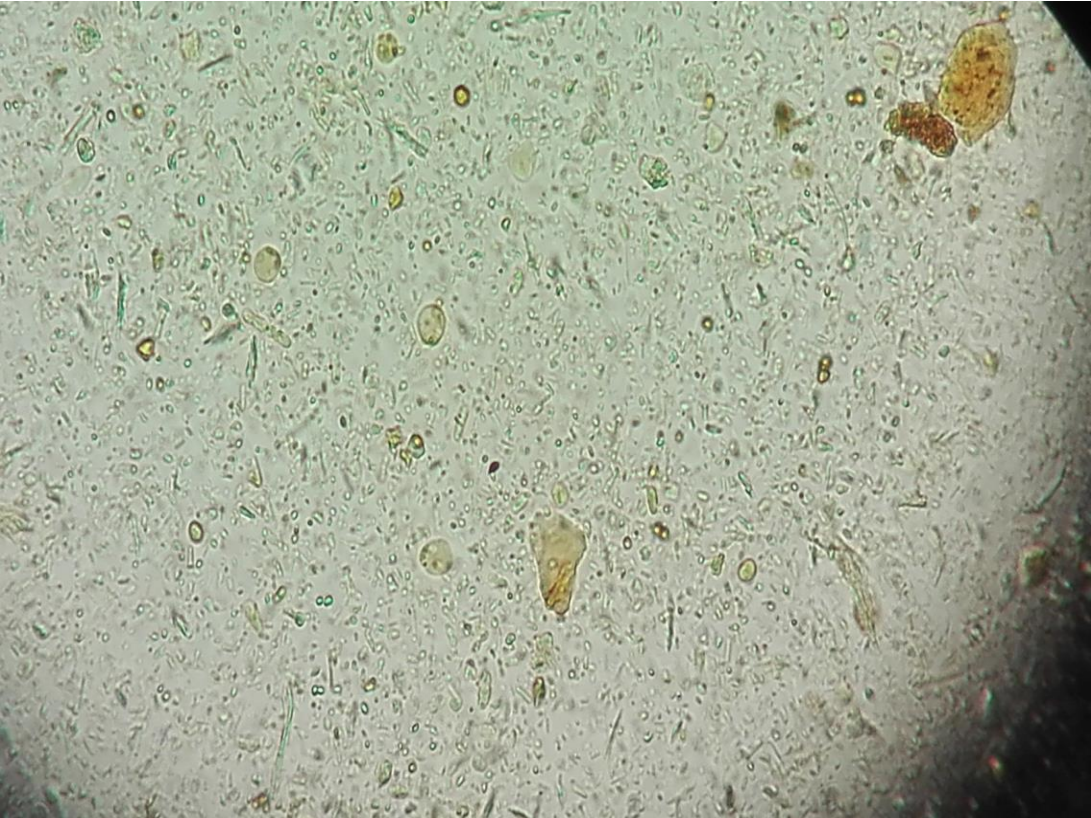
- ⊙ Zasada wykonania;
- ⊙ Należy zmieszać grudkę kału z kilkoma kroplami 0,95 NaCl na powierzchni szkiełka podstawowego, przykryć szkiełkiem nakrywkowym

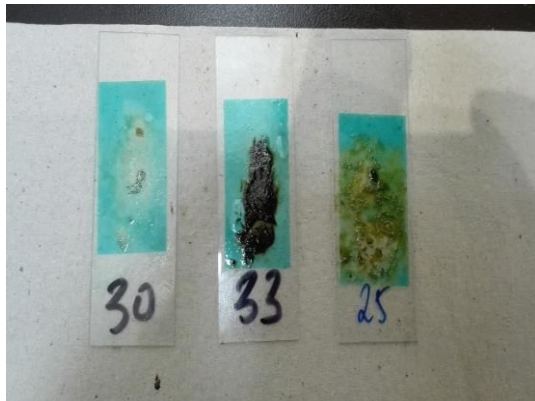


- ◉ **Rozmaz w płynie Lugola**
- ◉ Zabarwienie preparatu jodem z płynu Lugola pozwala uwidocznąć m.in. jądra komórkowe pierwotniaków, które są niezauważalne w świeżych preparatach niebarwionych
- ◉ Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (400x)

- ◉ Zasada wykonania
- ◉ Należy zmieszać grudkę kału z kilkoma kroplami płynu Lugola na powierzchni szkiełka podstawowego, przykryć szkiełkiem nakrywkowym





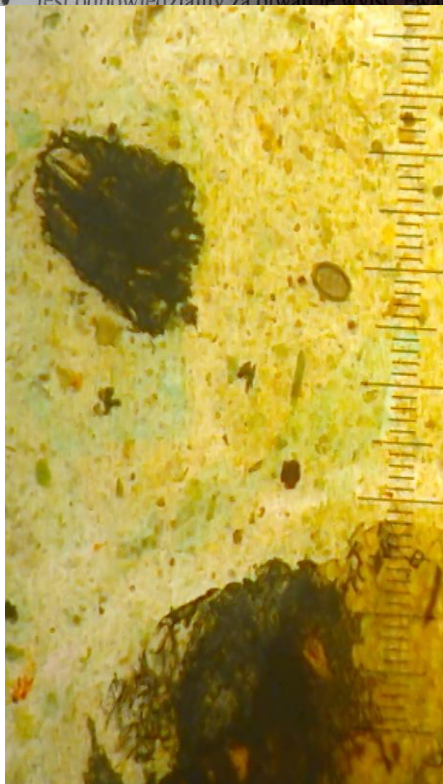
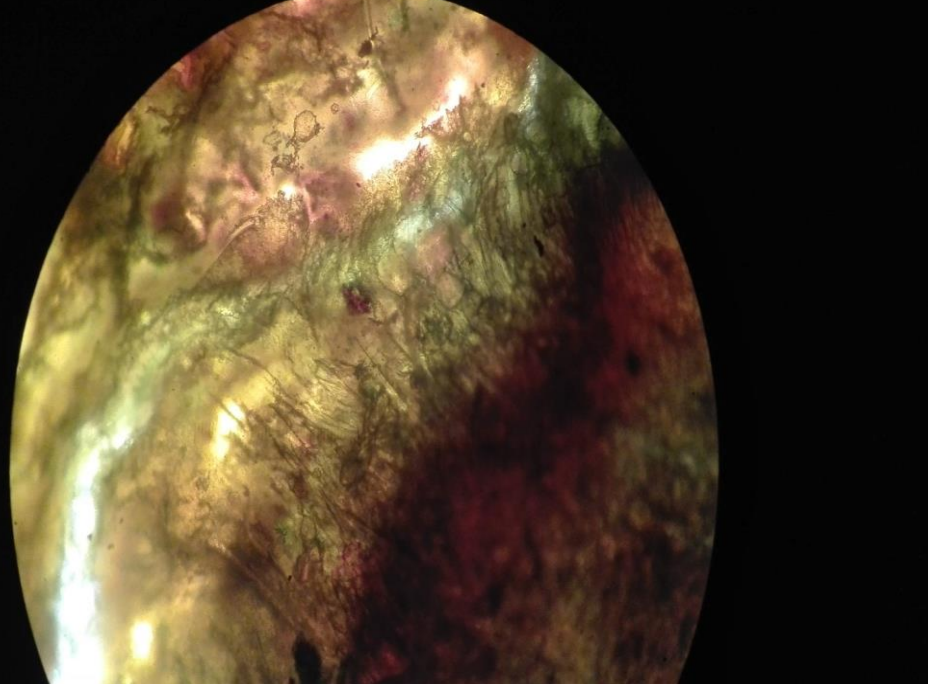


- ▶ **Gruby rozmaz -Metoda Kato- Miura**
- ▶ Wykrywanie jaj helmintów
- ▶ Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (100x i 200x)
- ▶ Zasada wykonania:
- ▶ Paski celofanu zanurza się na 24 godz. W roztworze glicerolowym zieleni malachitowej (2-3%). Tak przygotowanym celofanem przykrywa się nałożoną grudkę kału na szkiełko podstawowe. Następnie nałożyć bibułę lub ręcznik papierowy i rozgnieść drugim szkiełkiem podstawowym, tak , aby uzyskać gruby rozmaz.
- ▶ Preparat umieszcza się w temp. 40°C na 30 min. Lub w temp. Pokojowej na 60 min.

PORTIER BUDYNKU - OBOWIĄZKI

W pierwszej kolejności powiadamić specjalistyczne służby ratownicze – stosownie do zagrożenia a następnie informuje o zaistniałym zdarzeniu :

- w godzinach administracji szpitala - treść otrzymanej informacji /komunikatu/ o zagrożeniu przekazuje do:
 - a. Dyrektora Szpitala tel. 12 424 70 01
 - b. Kierownika danego obiektu tel. (zgodnie z załącznikiem 02 P-A-BPC-02)
- po godzinach administracji szpitala
 - a. Kierownika służbownego zagrożonego obiektu (zgodnie z załącznikiem 02 P-A-BPC-02)
 - b. Kierownika służbownego SQR (zgodnie z załącznikiem 02 P-A-BPC-02)
- Jest odpowiedzialny za sposób ogłoszenia alarmu (zgodnie z załącznikiem 03 P-A-BPC-02)
- Wstrzymuje pracę podziemnych i nadziemnych urządzeń (zgodnie z załącznikiem 01 P-A-BPC-02)
- Po otrzymaniu powiadomienia o zagrożeniu Akcją Ratowniczą zobowiązany jest do zamknięcia głównych i awaryjnych wyłączników (zgodnie z załącznikiem 01 P-A-BPC-02- odrębnie dla każdego budynku)
- Jest odpowiedzialny za otwarcie drzwi ewakuacyjnych



METODY ZAGĘSZCZAJĄCE

- ⊙ Dzięki metodom zagęszczającym zwiększamy prawdopodobieństwo wykrycia pasożytów
- ⊙ Metody flotacyjne i sedymentacyjne
- ⊙ **Metody flotacyjne:**
- ⊙ Wykorzystuje się wyższy ciężar właściwy roztworów flotacyjnych niż ciężar właściwy większości cyst i jaj, które wynoszą odpowiednio 1.05 do 1.15 z wyjątkiem dużo cięższych jaj przywr, np. *Fasciola*
- ⊙ Cysty i jaja wypływają na powierzchnię płynu
- ⊙ Eliminowane są składniki kału mogące utrudniać obserwację mikroskopową

- ◉ **Metody sedymentacyjne:**
- ◉ Wykorzystuje się zjawisko szybszego opadania niektórych cięższych jak np. przywr, glist.
- ◉ Polegają na wykorzystaniu roztworów o mniejszej gęstości niż gęstość szukanych pasożytów.



- ⊙ **Flotacja z użyciem soli kuchennej wg. Fülleborna w modyfikacji wg Willisa**
- ⊙ Wykorzystywany jest nasycony roztwór soli kuchennej (c.wł. 1.20)
- ⊙ Grudkę kału dokładnie wymieszać z nasyconym roztworem soli w stosunku objętościowym 1:20-30. Uzyskaną mieszaninę dopełnić do uzyskania menisku wypukłego. Na menisk nałożyć szkiełko nakrywkowe na 15-20 minut.

- ⊙ Wykrywamy jaja pasożytów
- ⊙ Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (100x)

- ◉ **Flotacja z użyciem siarczanu cynku wg Fausta**
- ◉ W tej metodzie przeprowadza się wstępne oczyszczanie próbki poprzez wymieszanie grudki kału z wodą, a następnie wirowanie przez 1-2 min. Przy obrotach 1500/in. Supernatant należy zlać, a osad zalewa się roztworem siarczanu cynku i ponownie wiruje. Po odwirowaniu próbkę dopełnia się do uzyskania menisku wypukłego, a na menisk nakłada się szkiełko nakrywkowe na 15-20 min.
- ◉ Preparat podbarwić płynem Lugola
- ◉ Wykrywamy cysty i lżejsze jaja
- ◉ Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (400x)

- **Metoda dekantacji wg Żarnowskiego i Josztowej (dekantacja woda wodociągowa)**
- W metodzie tej wykorzystywana jest większa ilość materiału w porównaniu z innymi metodami, co zwiększa możliwość wykrycia pasożytów; jaj, larw, trofozoitów i cyst
- Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (400x)
- Zasada wykonania:
- Próbkę kału o masie 1-5 g należy rozmieszać z wodą w probówce i pozostawić na 10-15 in. Po tym czasie wodę nad osadu zlać, ponownie napełnić probówkę i pozostawić do uzyskania osadu. Czynność powtarzać tak długo, aż uzyska się klarowny supernatant. Z osadu pobiera się kilka kropel na szkiełko podstawowe.
- Proces płukania można znacznie przyspieszyć, stosując wirowanie mieszaniny kału i wody, przy obrotach 1000-1500/min przez 1 min.

METODY WYKRYWANIA LARW

- ⊙ **Metoda szkiełkowa**
- ⊙ Najprostsza i szybka metoda izolacji larw nicieni z kału.
- ⊙ Na środku szkiełka podstawowego umieścić dużą kroplę ciepłej wody, a następnie małą grudkę kału.
- ⊙ W miarę wysychania dodawać ciepłą wodę.
- ⊙ Po 15 min usunąć kał
- ⊙ Mikroskopowanie przy powiększeniu obiektywu (100x), bez szkiełka nakrywkowego

- ⦿ **Metoda płytkowa**

- ⦿ W szalce Petriego umieścić dużą grudkę kału z małą ilością wody. Po 15-20 min usunąć kał.
- ⦿ Mikroskopowanie przy użyciu mikroskopu stereoskopowego

- ▶ **Metoda bibułowa wg Harada- Moriego**

- ▶ Bardzo czuła, do 100% wykrywalności.

- ▶ Na pasek bibuły filtracyjnej nanieść 0,5-1g kału i rozprowadzić cienką warstwę, tak, aby kał nie sięgał końców bibuły. Tak przygotowany pasek z kałem umieścić w probówce o poj. 15 ml, dodając 3-4 ml wody destylowanej.

- ▶ Jeden koniec bibuły nasącza się woda.

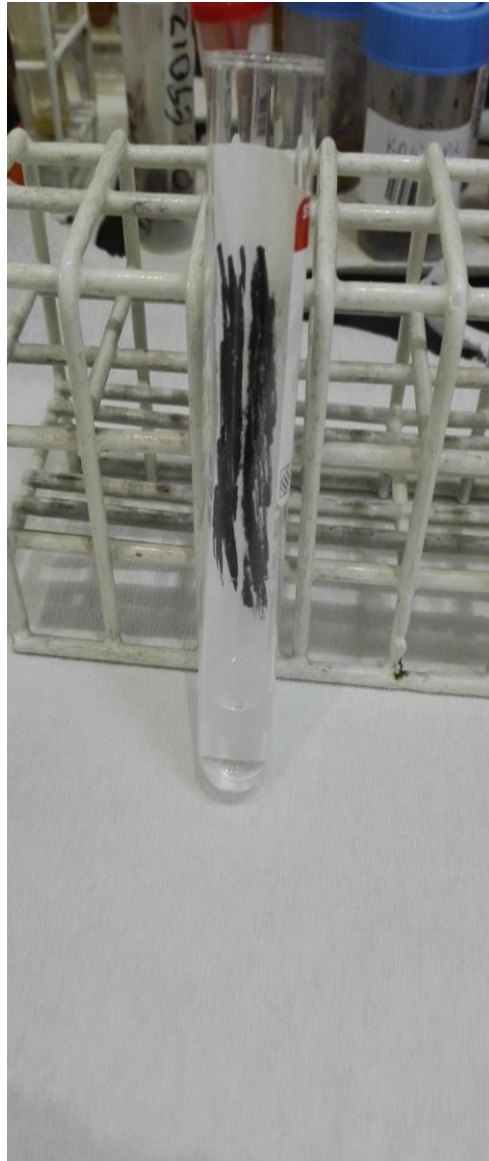
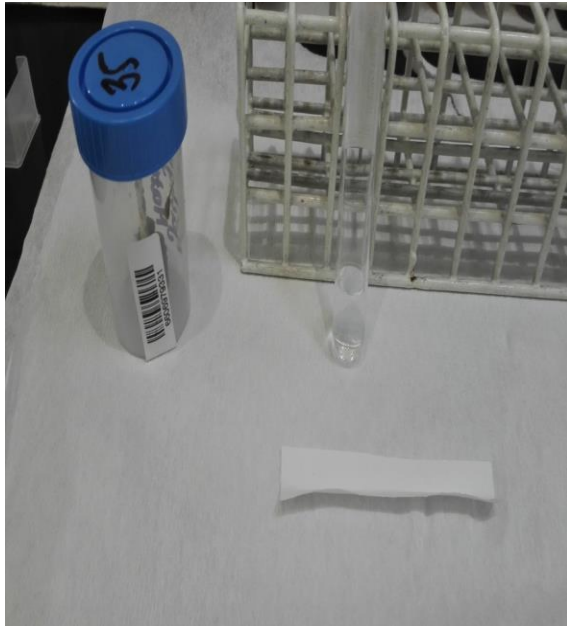
- ▶ Probówki umieścić w cieplarni w temp. 24-30°C na dziesięć dni

- ▶ Po upływie tego czasu usunąć pasek bibuły, wylać zawartość probówki na szalkę Petriego

- ▶ Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (100x) lub za pomocą mikroskopu stereoskopowego

- ▶ Larwy *Strongyloides* można uzyskać już po 2-3 dniach hodowli

- ▶ Larwy *Ancylostoma* uzyskuje się zwykle po 5-6 dniach



➤ **Metoda Baermanna:**

- Na statywie umieścić lejek o sr. Ok 10 cm. Na koniec lejka nałożyć kawałek gumowego wężyka z klamrą zaciskającą. Na sitku umieszczonym w lejku umieścić kilka warstw zwykłej gazy.
- Lejek napęlić ciepłą wodą, na środek gazy nanieść kał (lub fragment mięśni przy poszukiwaniu włośni).
- Woda powinna sięgać do połowy materiału biologicznego.
- Pozostawić na ok 12 godz. W tym czasie powinno nastąpić przechodzenie larw przez gazę i sitko i gromadzenie się ich w dolnej części lejka
- Zlać do szalki Petriego płyn z larwami po uwolnieniu klamry
- Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (100x) lub z użyciem mikroskopu stereoskopowego

BADANIE W KIERUNKU OWSICY

- **Metoda Halla (wg NIH)**
- **Metoda przylepca celofanowego wg Grahama**

- **Należy pobrać materiał rano, przed toaletą, przed wypróżnieniem i umyciem**

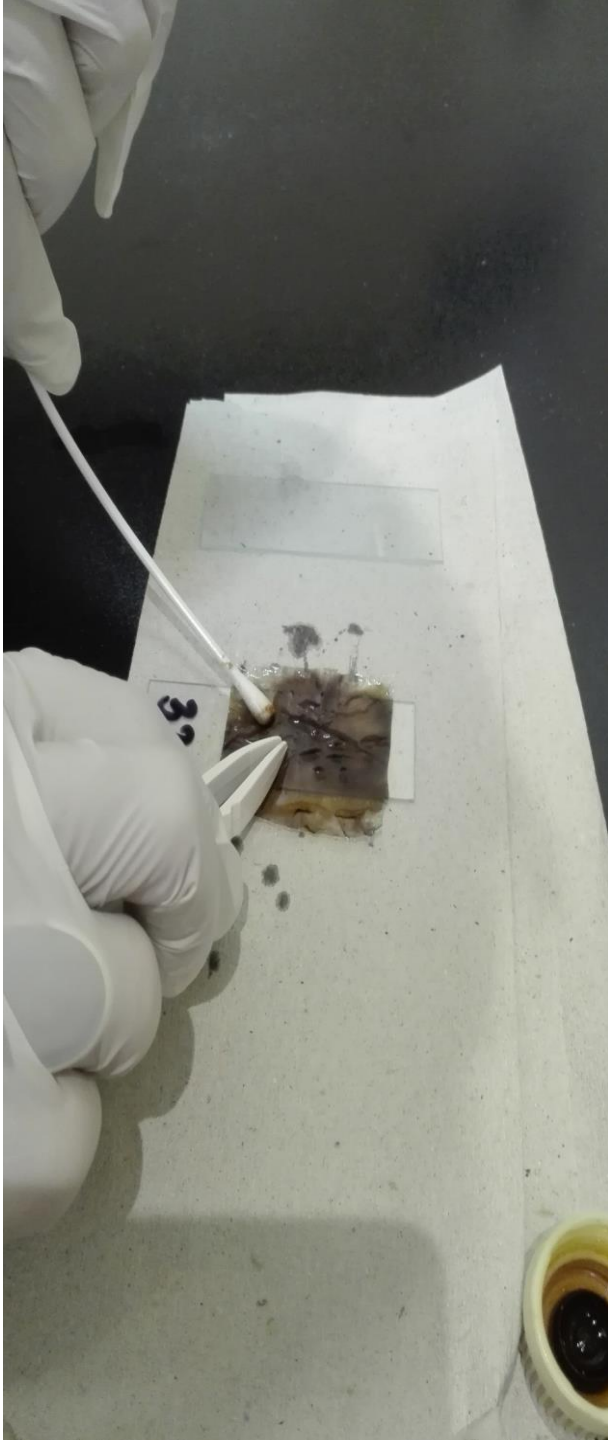
Wymaz okołodbytniczy- Metoda Halla

Wymaz wykonać za pomocą wymazówki, na końcu której jest celofan. Zamoczyć wymazówkę w wodzie, wymazać fałd okołodbytniczy i dostarczyć do laboratorium

Zasada wykonania;

Celofan umieszczamy między dwoma szkiełkami podstawowymi, podbarwiamy płynem Lugola

Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (100x)

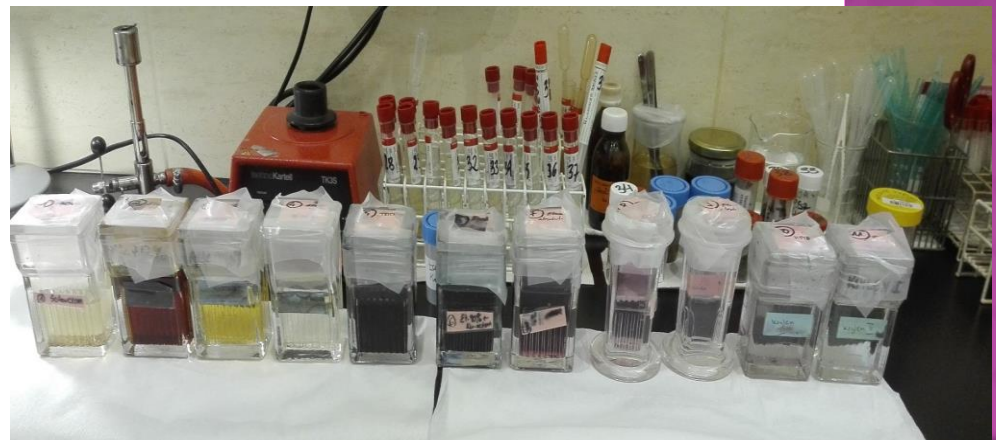


- ⊙ **Metoda przylepca celofanowego (Grahama)**
- ⊙ W okolicy okołodbytniczej przylepiamy przezroczystą taśmę samoprzylepną. Stroną przylepną na skórę. Następnie odrywamy i przylepiamy stroną przylepną na szkiełko podstawowe.
- ⊙ Mikroskopowanie przy powiększeniu mikroskopu (400x)



BARWIENIE PREPARATÓW

- ◉ barwienie preparatów ma na celu zmianę współczynnika załamania światła i przez to lepsze zróżnicowanie tkanek i struktur komórkowych
- ◉ Stosowane jest do identyfikacji pierwotniaków
- ◉ Zwiększa szansę rozpoznania gatunku pierwotniaka, uwidocznione są szczegóły morfologiczne
- ◉ Preparaty można oglądać stosując powiększenie 1000x i imersję
- ◉ Trwałe preparaty stanowią dokumentację i mogą być wykorzystywane w celach konsultacyjnych



- W barwieniu wykorzystuje się powinowactwo struktur komórkowych do różnych barwników, np. kwaśnych lub zasadowych

Barwniki zasadowe	Barwniki kwaśne
Wybarwiają przede wszystkim jądra komórkowe, oraz niektóre zasadochłonne substancje cytoplazmy	wykazują powinowactwo do cytoplazmy komórkowej
barwniki anilinowe, fiolet metylowy, goryczkowy, fuksyna zasadowa, hematoksylina	eozyna, kwaśna fuksyna, błękit metylowy

BARWNIK GIEMSY

- barwnik Giemsy to mieszanina eozyny (barwnik kwaśny) + azuru metyloвого (barwnik anilinowy zasadowy)
- powszechnie stosowany do barwienia rozmazów krwi (diagnozowanie malarii)
- stosowany także do barwienia rozmazów z wydzielin, odcisków z różnych tkanek (np. z wątroby, śledziony przy poszukiwaniu *Toxoplasma gondii*).

PREPARATY BARWIONE

GIEMSA:

Metodę wykorzystuje się głównie do uwidocznienia trofozoitów pierwotniaków, m.in. *Giardia*, *Trichomonas*.

- Do wykonania rozmazów powinno się uprzednio przygotować dobrze odtłuszczone szkiełka podstawowe.
- Na środek szkiełka podstawowego nałożyć kroplę materiału wielkości łąpka zapalki (5- 10 ul)
- Wykonać rozmaz, rozprowadzić kroplę na powierzchni szkiełka, dobrze ją mieszając przez kilkadziesiąt sekund
- Rozmaz pozostawić do całkowitego wyschnięcia
- Barwić Giemszą wg przepisu:
- Woda destylowana używana do rozcieńczania barwnika Giemsy powinna mieć odczyn lekko zasadowy (pH ok. 7,2). Można użyć gotowego buforu.
- Utrwalić preparat alkoholem metylovym lub etylovym absolutnym przez 3 min (uwaga: czas nie odgrywa tutaj większej roli, utrwalanie jest prawie natychmiastowe)
- Spłukać alkohol bieżącą wodą i pozostawić do wyschnięcia (lub pozostawić preparat do wyschnięcia bez płukania)
- Włożyć do naczynka z rozcieńczonym barwnikiem Giemsy (5ml barwnika na 45ml wody dest.), ewentualnie nakropić na szkiełko (czas barwienia 30-40 min)
- Spłukać powierzchnię preparatu wodą bieżącą lub buforem.
- Po wyschnięciu oglądać preparat przy użyciu immersyjnego obiektywu mikroskopu.



- Najczęściej do barwienia stosuje się hamatoksylinę i trichrom



- Preparaty przeznaczone do barwienia hematoksylina najlepiej wcześniej utrwalić w płynie Schaudinna, PVA lub SAF

- PŁYN SCHAUDINNA

Skład :

Kwas octowy lodowaty 5 ml

Glicerol 1,5 ml

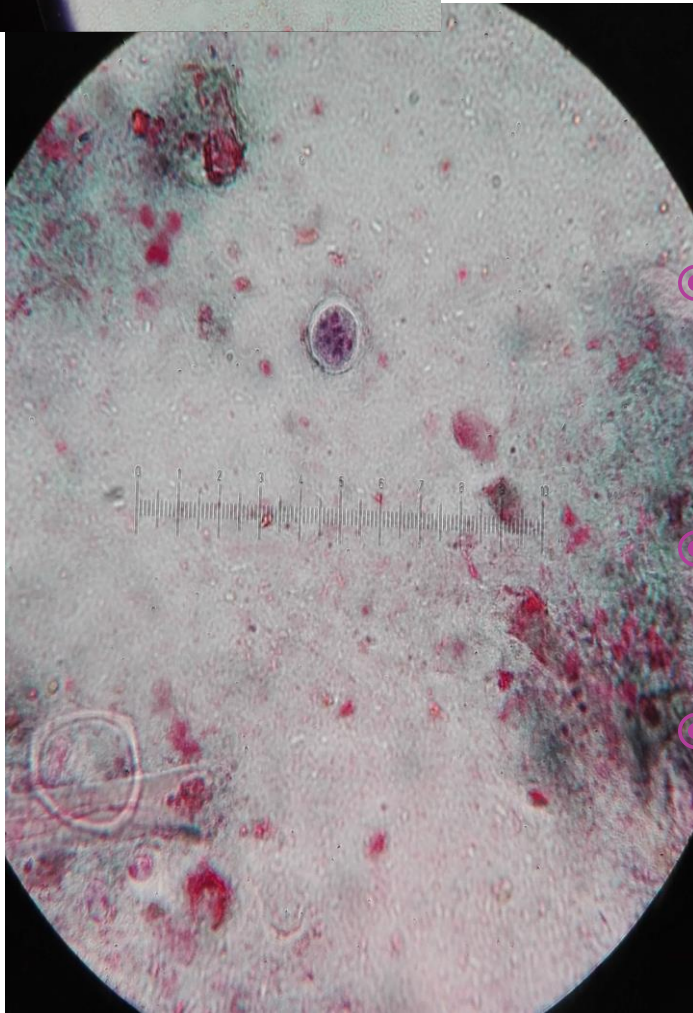
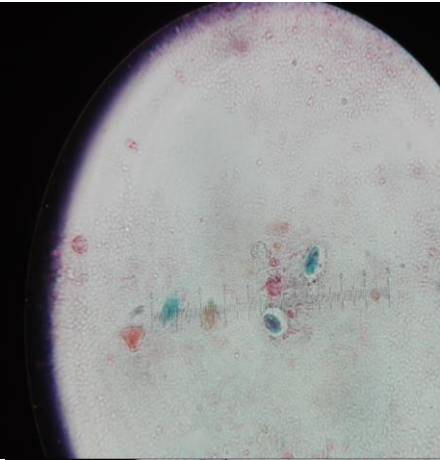
Utrwalacz Schaudinna 93,5 ml (2 cz. nas. roztworu HgCl₂
+ 1 cz. 96% etanolu)

BARWIENIE ODCZYNNIKIEM TRICHROM

- Metoda stosowana przy barwieniu cyst i trofozoitów pierwotniaków m.in. *Entamoeba* i *Giardia*
- Wykonać rozmaz kału na szkiełku podstawowym.
- Wykonany rozmaz kału utrwalić natychmiast w utrwalaczu Schaudinna przez 30 min. (uwaga: w przypadku barwienia kałów wcześniej utrwalonych PVA, należy pominąć etap utrwalania płynem Schaudinna)
- Utrwalone rozmazy kału przeprowadzić przez poniższy zestaw barwiączy:
 - a) Alkohol etylowy/metylowy 70% v/v z jodem (płynem Lugola) – 5 min.
 - b) Alkohol etylowy/metylowy 70% v/v I – 5 min.
 - c) Alkohol etylowy/metylowy 70% v/v II – 5 min
 - d) Trichrom – 8 do 10 min.
 - e) Alkohol etylowy/metylowy 90% v/v z 1% kwasem octowym lodowatym – 10-30 sek.
 - f) Alkohol etylowy/metylowy absolutny I – 5 min.
 - g) Alkohol etylowy/metylowy absolutny II – 30 sek.
 - h) Alkohol etylowy/metylowy absolutny III – zanurzyć kilka razy.
 - i) Ksylen I – 5 min.
 - j) Ksylen II – 5 min.
- Po wyschnięciu oglądać preparat przy użyciu immersyjnego obiektywu mikroskopu



- **Tło preparatów zielone**
- **Cytoplazma dobrze utrwalonych preparatów niebieskoszara z odcieniem purpury (cysty *Entamoeba coli* są bardziej purpurowe niż inne).**
- **chromatyna jądrowa, ciała chromatoidalne, trawione bakterie oraz erythrocyty czerwone**
- **Inne nadtrawione cząstki, jak grzyby zielone**
- **Jaja i larwy czerwone**



ZMODYFIKOWANA METODA ZIEHL-NEESENSA

- Metodę wykorzystuje się w celu uwidocznienia oocyst pierwotniaków z rodzajów *Cryptosporidium* i *Cyclospora*
- Na szkiełko należy nanieść 2-3 krople kału i pałeczka/patyczkiem rozmazać
- Rozmaz suszymy i utrwalamy w metanolu lub etanolu przez 1-3 minuty
- Zlewamy alkohol i płuczemy pod bieżącą wodą
- Nanosimy fuksynę karbolową na szkiełko podstawowe i pozostawiamy na 30-60 min
- Zlewamy barwnik i odbarwiamy rozmaz kwaśnym alkoholem (97ml alkoholu absolutnego i 3 ml kw. Solnego 38%) lub 4-5% kwasem siarkowym, przez 1 min
- Splukujemy wodą destylowaną odbarwiacz i barwimy preparat roztworem zieleni malachitowej(3%) lub błękitu metylowego, przez 1-2 min
- Preparat splukujemy obficie wodą, pozostawiamy do wyschnięcia
- Oglądamy preparat przy użyciu immersyjnego obiektywu mikroskopu
- (Poszukujemy zabarwionych na czerwono oocyst *Cryptosporidium* o średnicy 4-5 um)

QUIZ 😊

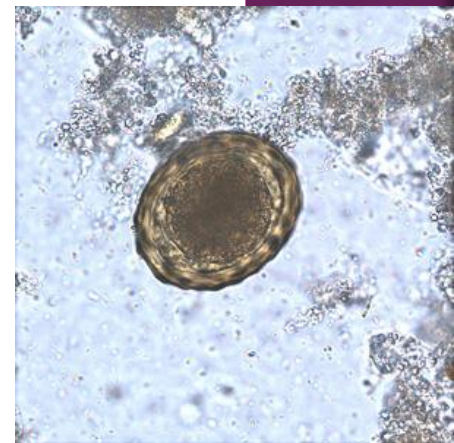
Proszę określić z jakim pasożytem mamy do czynienia w poszczególnych przypadkach 😊
Powodzenia!

Proponuję korzystać ze strony internetowej:
www.cdc.gov/dpdx/index.html

PRZYPADEK 1

46 -letnia kobieta, kelnerka, skarży się na uczucie ogólnego rozbicia, suchy kaszel i uczucie dyskomfortu w klatce piersiowej. Eozynofilia.

Po paru tygodniach zaobserwowano w badanej próbce kału jaja:



Jaja zapłodnione (45-84 x 35-58 μm) okrągławe, w miarę dojrzwania można zaobserwować rozwijający się zarodek

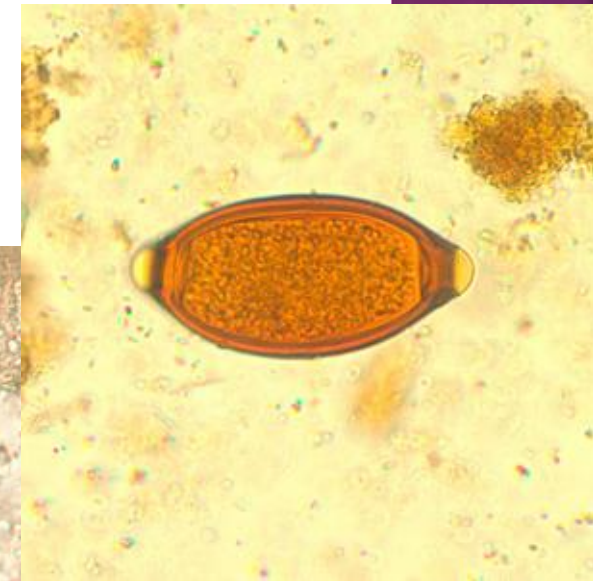
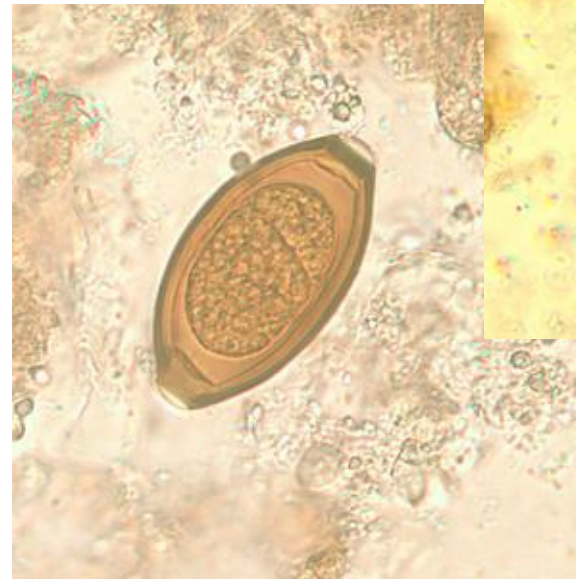


Ash & Orihel, 1990

Jaja niezapłodnione (78-105 x 38-55 μm), owalne lub baryłkowate.

PRZYPADEK 2

- 50-letni mężczyzna, podróżnik, skarży się na bóle brzucha i uczucie dyskomfortu w jamie brzusznej. W kale wykryto jaja:



PRZYPADEK 3

- 18-letni mężczyzna, siatkarz, skarży się na zmęczenie i nadpobudliwość, czasem świąd odbytu. W badaniu kału wykryto:



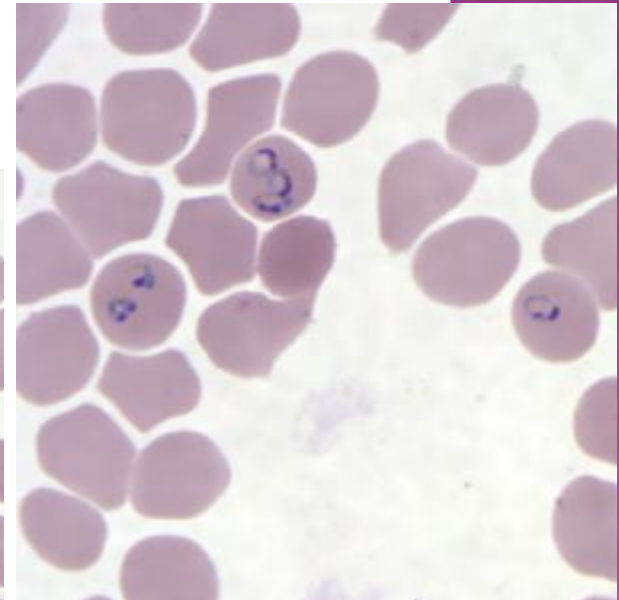
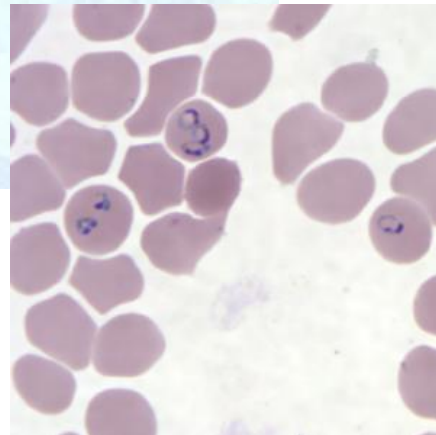
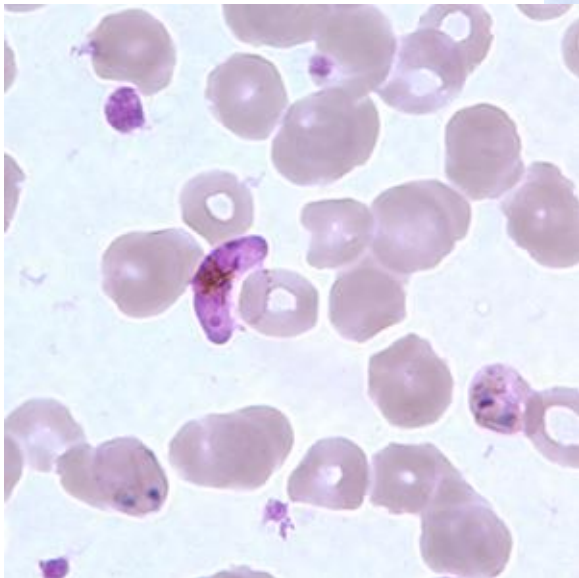
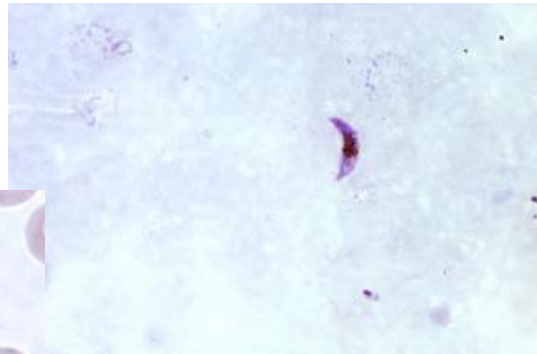
PRZYPADEK 4

- 8-letnia dziewczynka, fanka Elsy z Krainy lodu, częste bóle brzucha, biegunki. W badaniu kału stwierdzono:



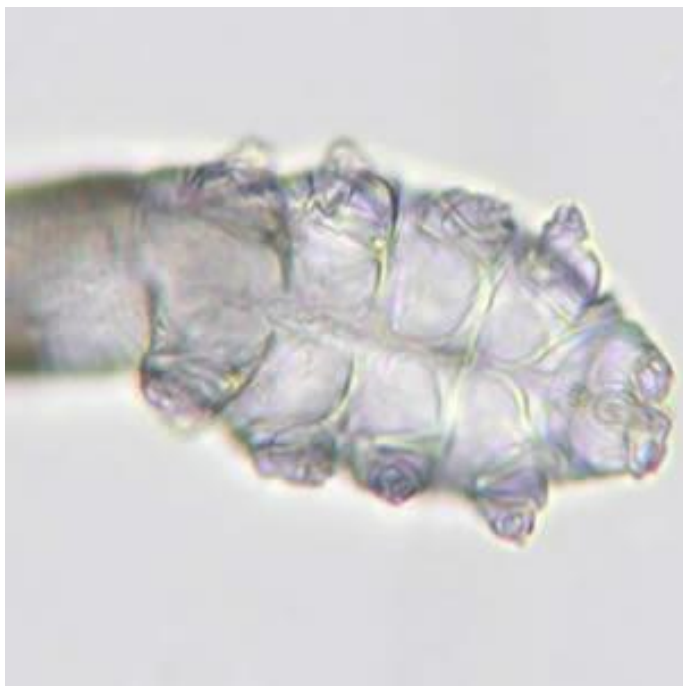
PRZYPADEK 5

- 30-letnia zakonnica, wróciła z Kongo, wysoka gorączka, bóle mięśni, osłabienie. W rozmazie krwi stwierdzono:



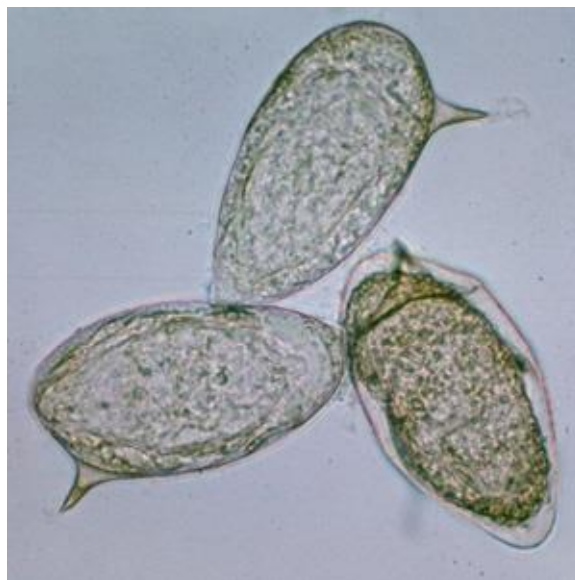
PRZYPADEK 6

- 70- letni mężczyzna, kardiolog, mistrz sudoku, skarży się na łzawiące oczy, świąd w okolicy powiek, wypadające rzęsy. W pobranym materiale stwierdzono:



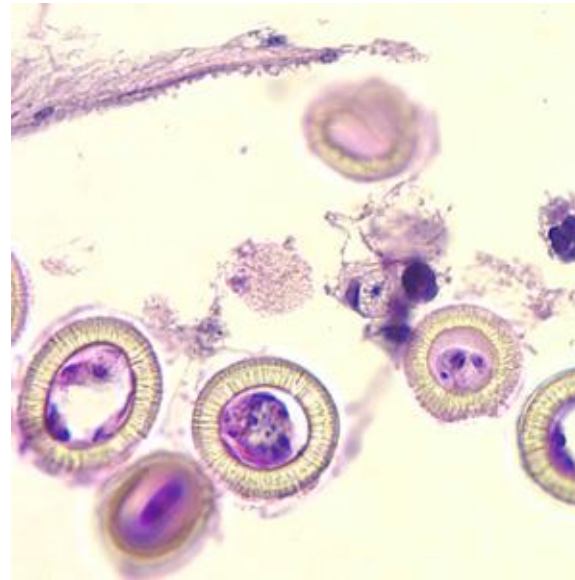
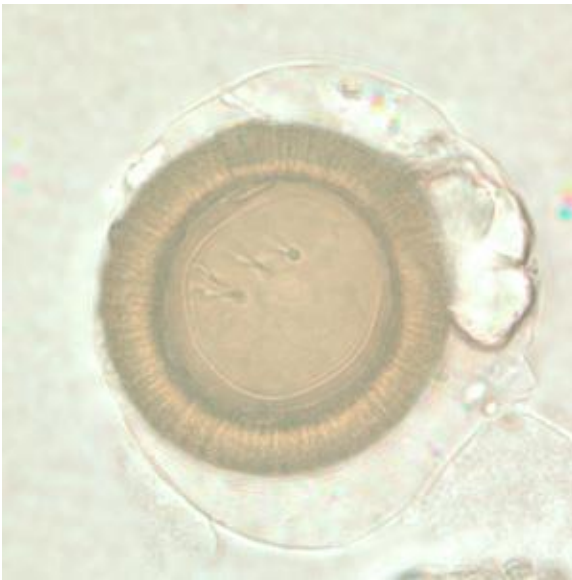
PRZYPADEK 7

- 34-letni mężczyzna, sołtys, wrócił z Karaibów, po miesiącu zauważył objawy: gorączkę, osłabienie, bóle mięśni, senność, pokrzywkę, eozynofilia, w badanym kale stwierdzono jaja:



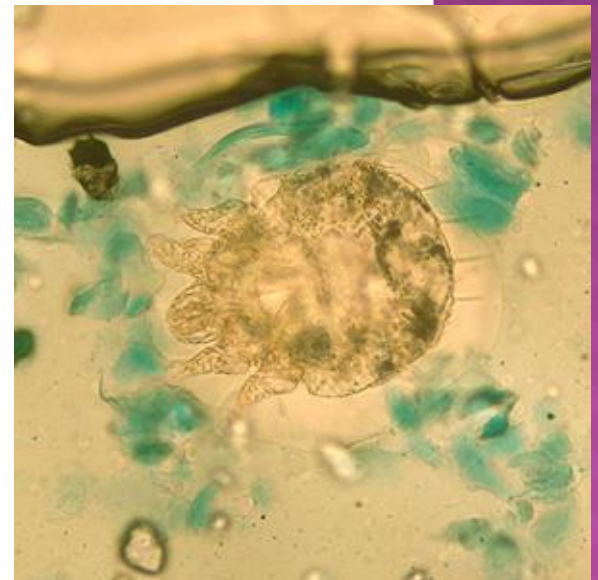
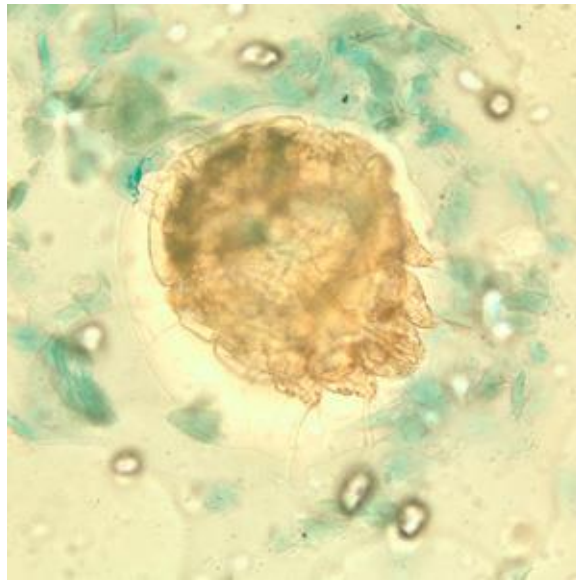
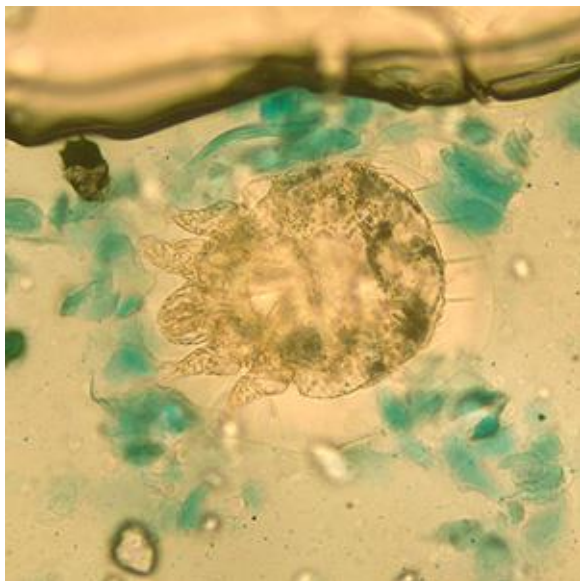
PRZYPADEK 8

- 23-letnia kobieta, studentka farmacji, miss powiatu, skarży się na bóle brzucha, alergiczne zmiany skórne, w badaniach kału stwierdzono jaja:



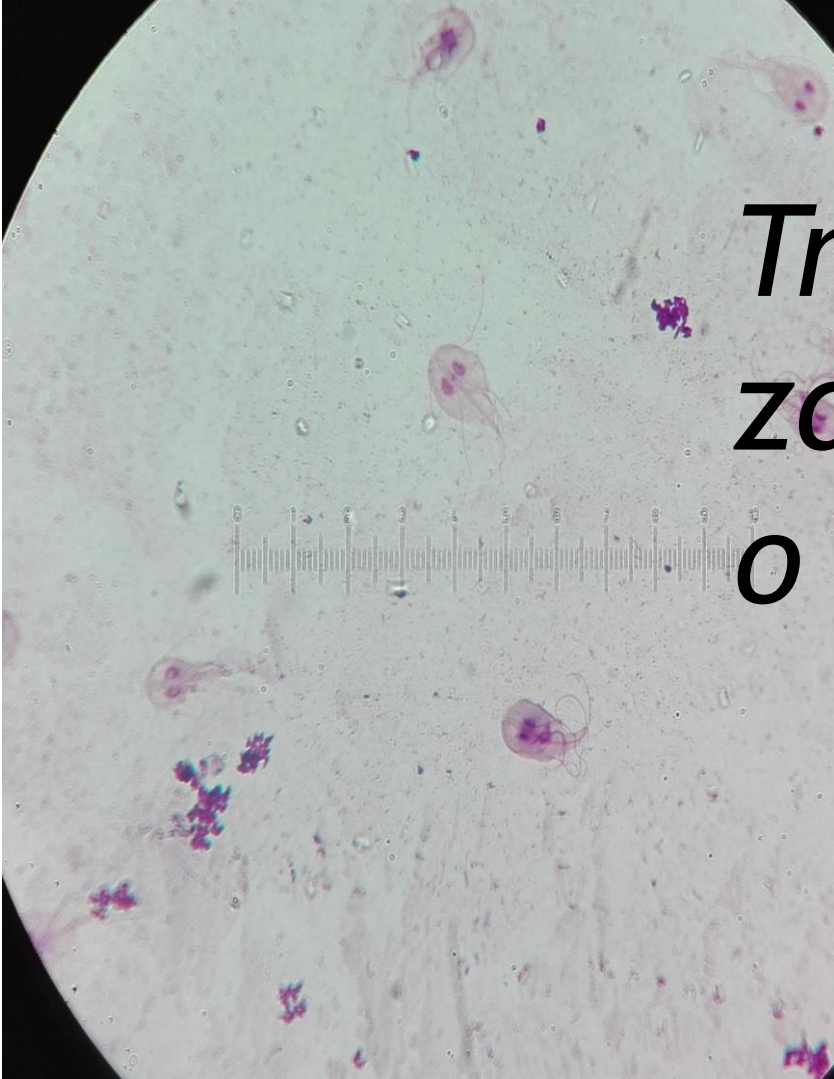
PRZYPADEK 9

- 23-letni mężczyzna, znany youtuber, skarży się na nasilający się świąd skóry. W pobranych zeszkobinach stwierdzono:



- 40-letni mężczyzna, fryzjer, nie może uwierzyć, że jego też to spotkało. Ma on do czynienia z :



A circular microscopic field of view showing a light-colored, textured biological specimen. Several pinkish, elongated structures with thin, hair-like appendages are visible. There are also clusters of small, purple-stained cells. A horizontal ruler with millimeter markings is positioned across the middle of the field. The text 'Trzymajcie się zdrowo i dbajcie o siebie!' is overlaid on the right side of the image.

***Trzymajcie się
zdrowo i dbajcie
o siebie!***