



LABORATORNÍ DIAGNOSTIKA PARAZITŮ

PETRA KUBÁČKOVÁ
OKM

- 
-
- **přímý průkaz**
 - makroskopický
 - mikroskopický
 - průkaz antigenu
 - PCR
 - kultivace
 - **nepřímý průkaz**
 - průkaz protilátek



PŘÍMÝ PRŮKAZ

- **materiál:**
 1. stolice – vajíčka červů, cysty prvoků
 2. moč – vajíčka schistosom, trichomonády
 3. krev – plasmodia, babesie, leishmanie, trypanosomy
 4. výtěr – trichomonády
 5. biopsie – vajíčka schistosom, *E. histolytica*, echinokok,...



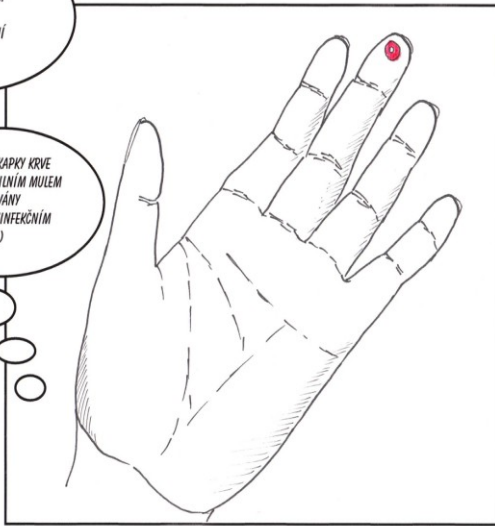
PŘÍMÝ PRŮKAZ

- **MIKROSKOPIE** - v nativním preparátu nebo po koncentraci
 - v barveném preparátu (Giemsa, trichrom, Miláček)
- **PRŮKAZ ANTIGENU** (giardie, kryptosporidia, tricho)
- **PCR** (Toxoplasma gondii – PCR RT, plasmodia, entaméby)
- **KULTIVACE** (trichomonády, entaméby, akantaméby)
- **MAKROSKOPICKÝ** (články tasemnice, škrkavky, larvy,...)

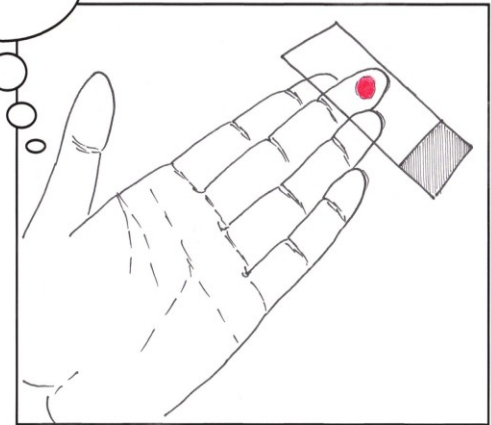
ODBĚR KRVE NA MALÁRII

OTŘEME PRVNÍ ČLÁNEK
PRSTU DESINFEKČNÍM
PROSTŘEDKEM A
NABODNEME STERILNÍ
JEHLOU

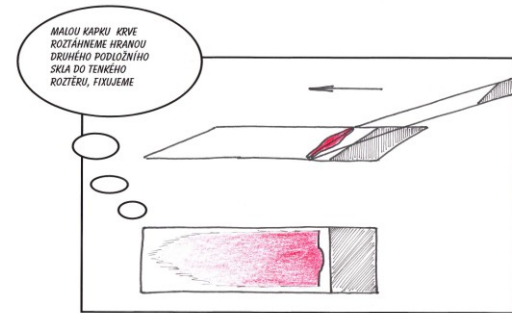
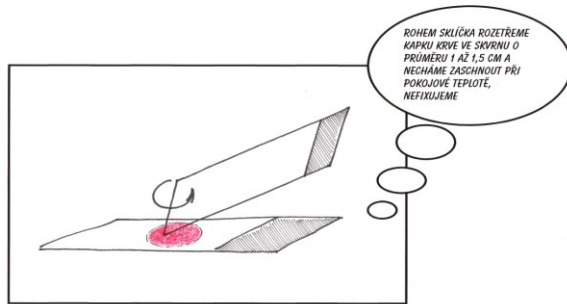
PRVNÍ 2 AŽ 3 KAPKY KRVE
SETŘEME STERILNÍM MŮKEM
(JSOU NAFIXOVÁNY
POUŽITÝM DESINFEKČNÍM
PROSTŘEDKEM)



KAPKU KRVE
OTISKNEME NA
PODLOŽNÍ SKLO



BARVENÍ



- po usušení tenký roztěr fixujeme metanolem (1 minutu)
- barvíme Giemsa-Romanowski (1 díl G-R + 9 dílů pufrované destilované vody), tlustou kapku 20 minut, tenký roztěr 30 až 40 minut
- barvicí roztok splachujeme opatrně
- vždy připravíme nový barvicí roztok



STANOVENÍ PARAZITÉMIE

- prohlížíme při zvětšení 100x
- parazitémie v tenkém roztěru se počítá na 10 000 erytrocytů (200 ery na zorné pole, 50 zorných polí), výsledek se udává v procentech
- parazitémie vyšší než 2,5% - pacient patří na jip

DIAGNOSTIKA STŘEVNÍCH PARAZITŮ

- **barvení trichromem**

- stolici špejlí rozetřeme na podložní sklo do středně silného nátěru
- hned za vlhka (**nesmí** v průběhu barvení včetně montování do Solakrylu **uschnout**) fixujeme
- 1. sublimát alkohol 1 hod.
- 2. 75% alkohol 10 min.
- 3. 75% alkohol 10 min.
- 4. TRICHROM 10 min.
- oplach pod tekoucí vodou
- oplach v 96% alkoholu
- vložit do 96% alkoholu 10 min.
- karboxylen 10 min.
- xylen 10 min.
- montovat do Solakrylu = na sklo kápneme skleněnou tyčinkou 2 kapky Solakrylu, překryjeme krycími skly



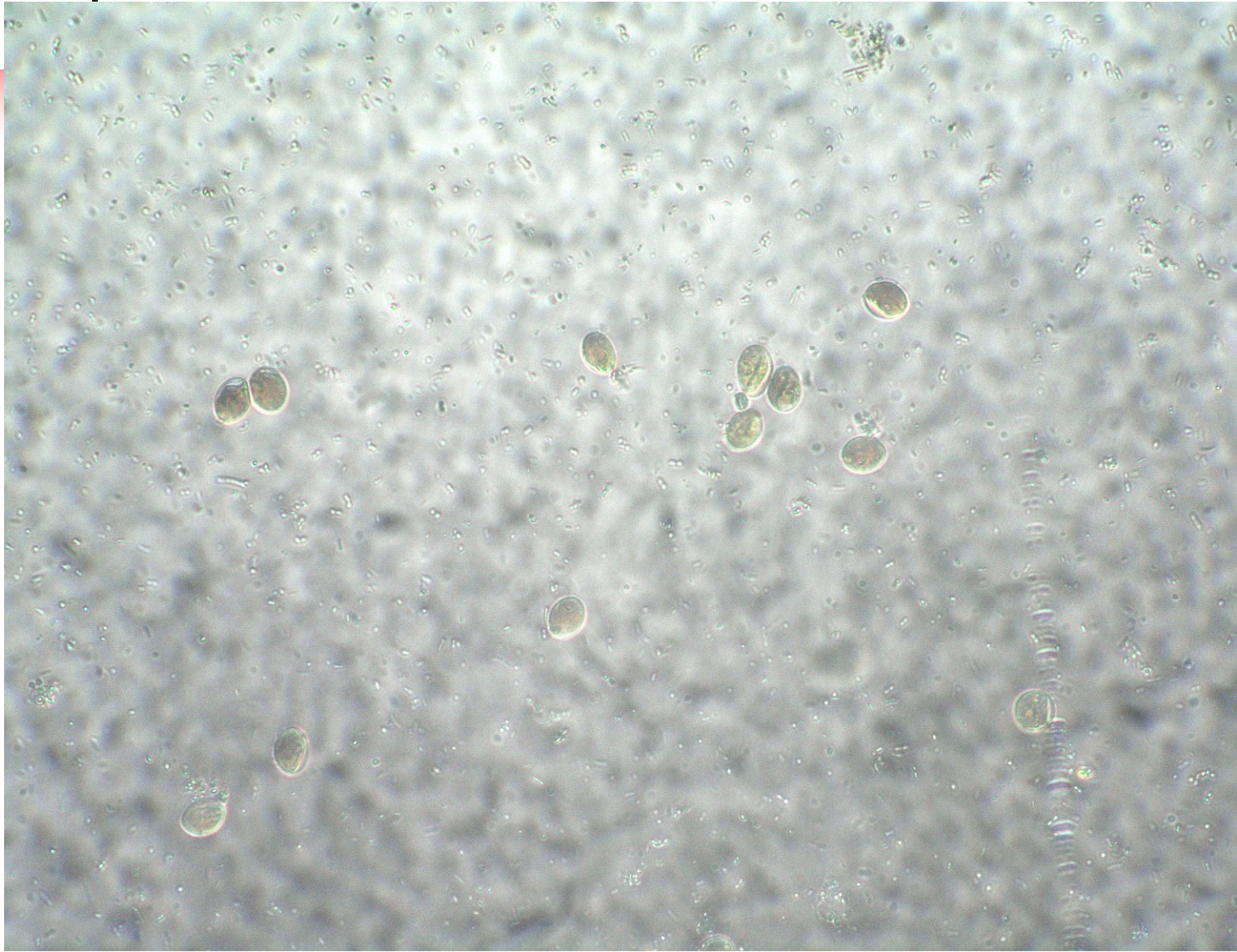
- **nativ + Faust**

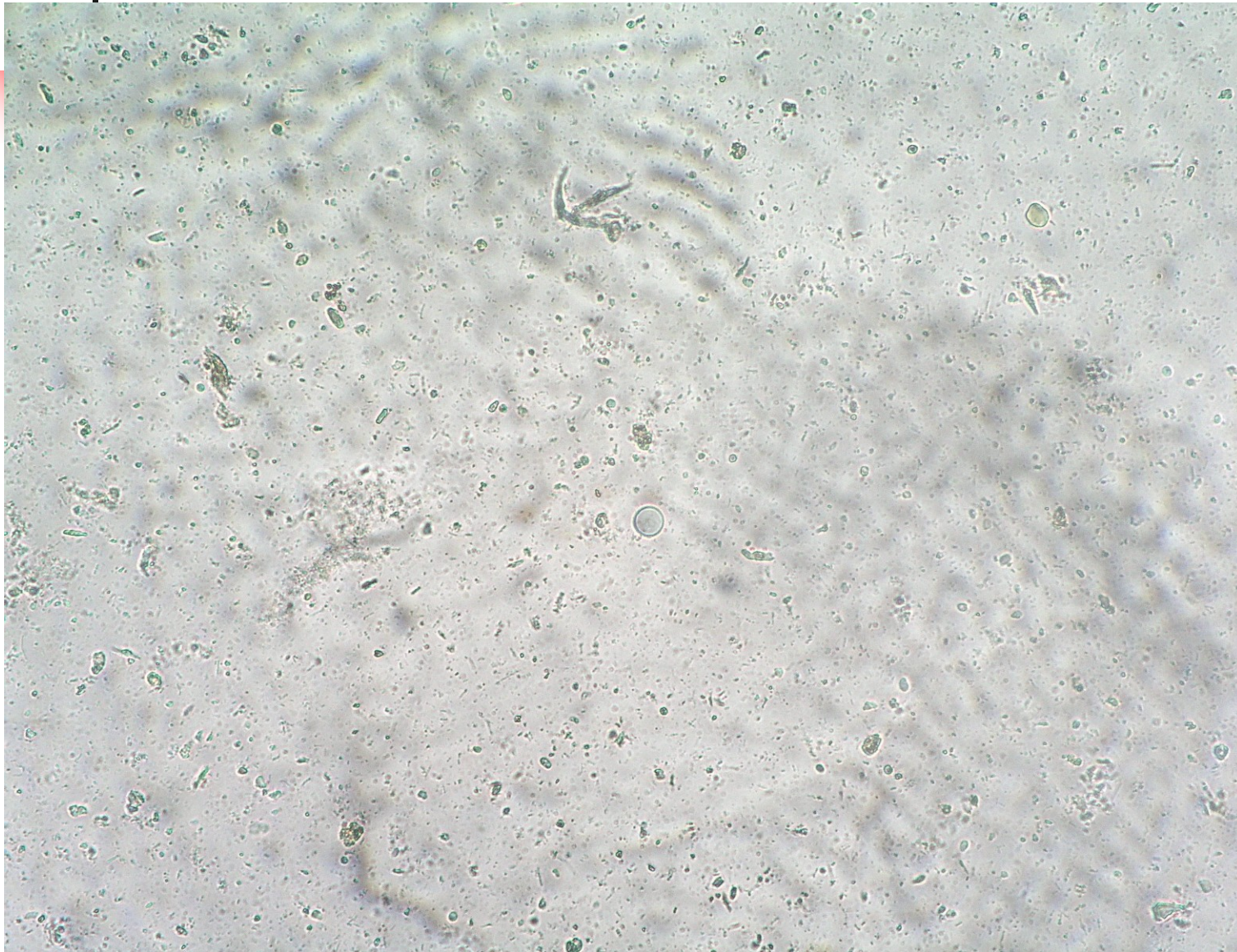
- **1.nativní preparát**

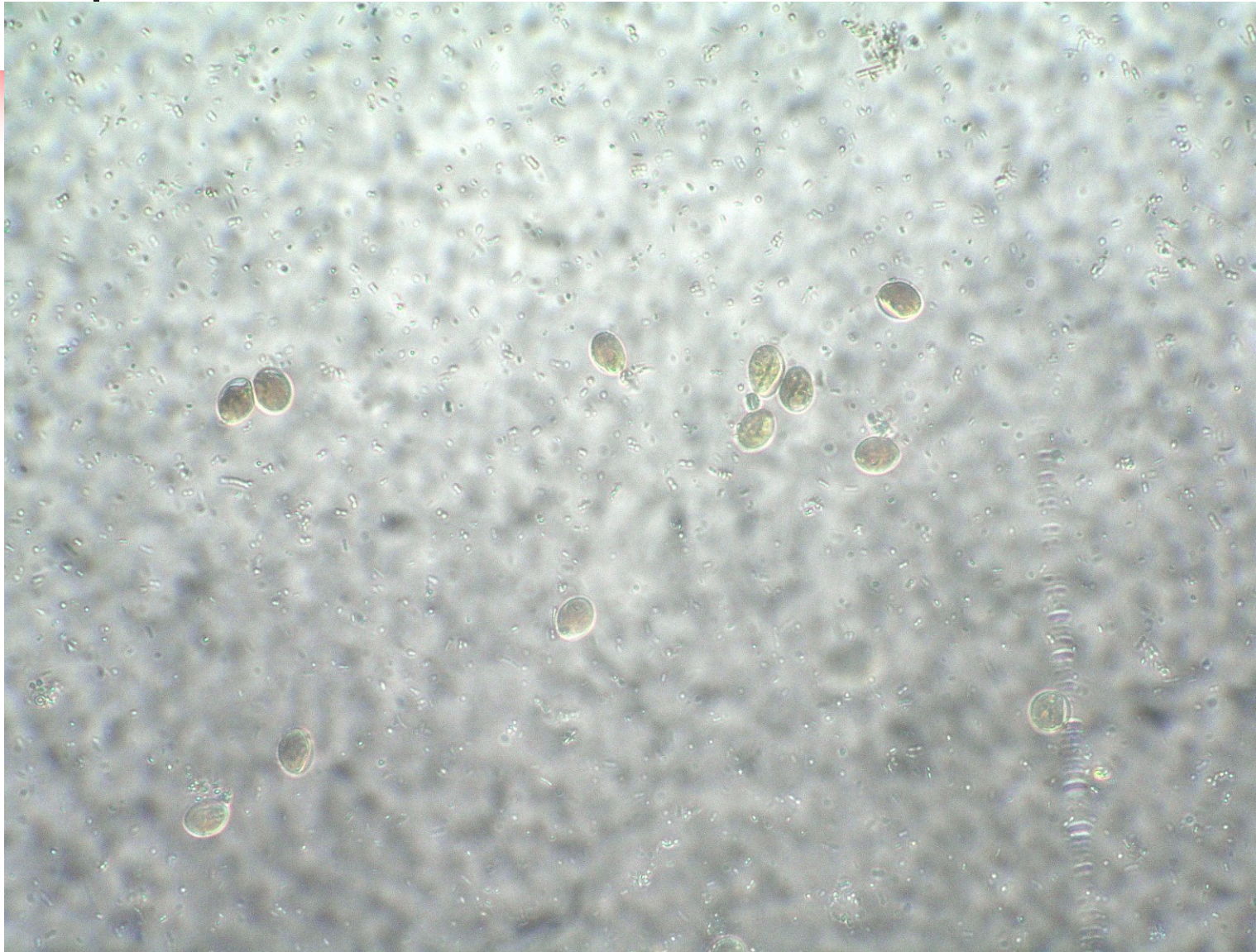
- nativní preparát se provádí ze stolice hned, jak vzorek přijde do laboratoře
- vzorek velikosti obilného zrna rozmíchat špejlí do kapky fyziol.roztoku / RINGER/ na podložním skle /slabší nátěr/
- přikryjeme krycím sklíčkem
- hledáme pohyb v čerstvé stolici = vegetativní stadium u améb

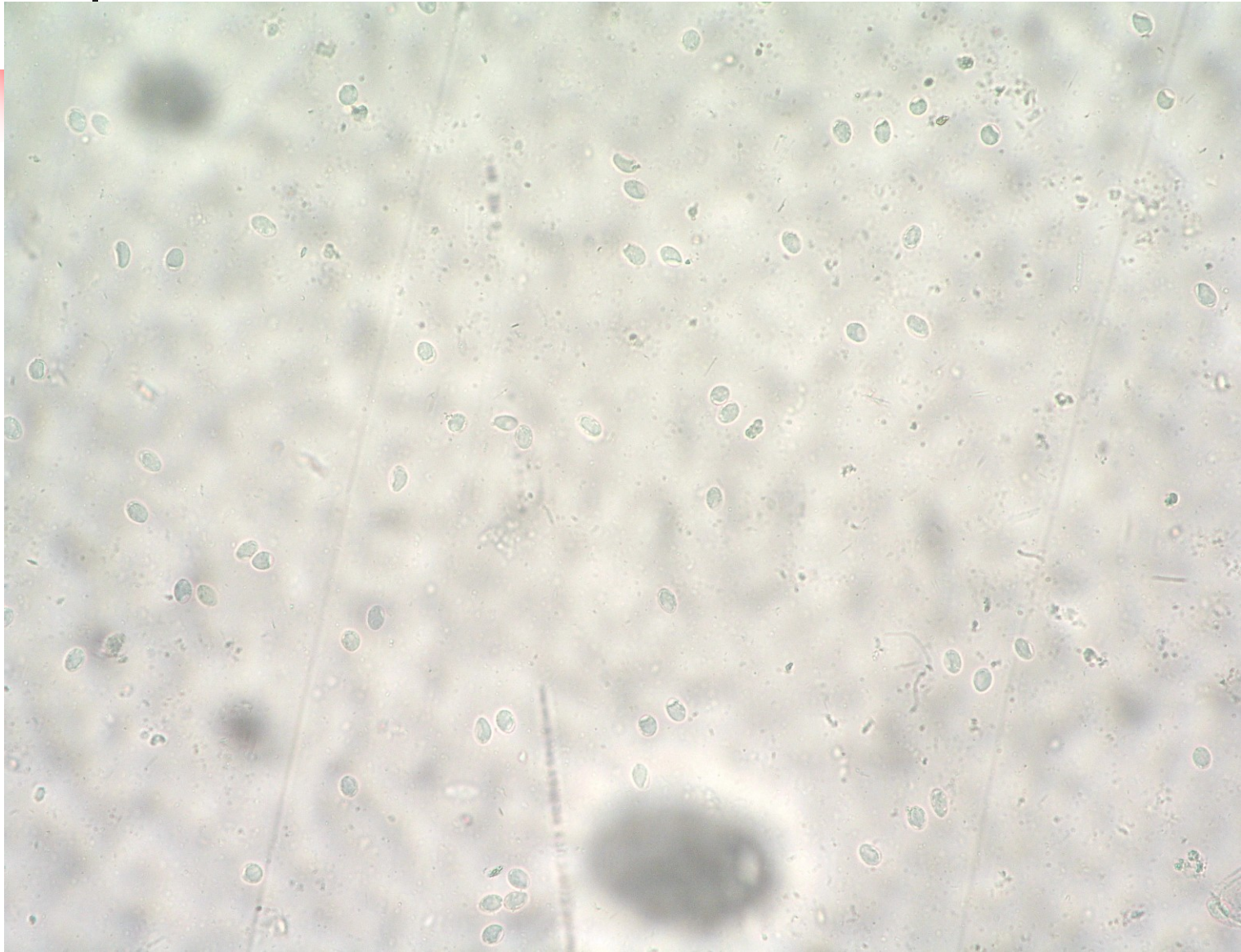
- **2.Faustova metoda flotační**

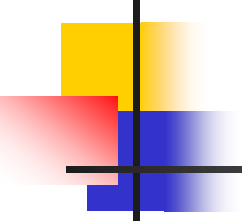
- vzorek stolice asi 1g (jako fazole) se špejlí přenese do zkumavky s dest.vodou a důkladně rozmíchá
- suspenzi centrifugovat při 2500 ot./min. asi 1 minutu, supernatant odsát vodní vývěvou, 2 - 3 x opakovat
- doplnit 1cm pod okraj roztokem ZnSO₄, řádně promíchat a stočit 3 minuty při 2500 ot./min.
- doplnit po okraj a přiložit krycí sklíčko na hladinu roztoku
- po 20 minutách položit toto krycí sklo na podložní sklo

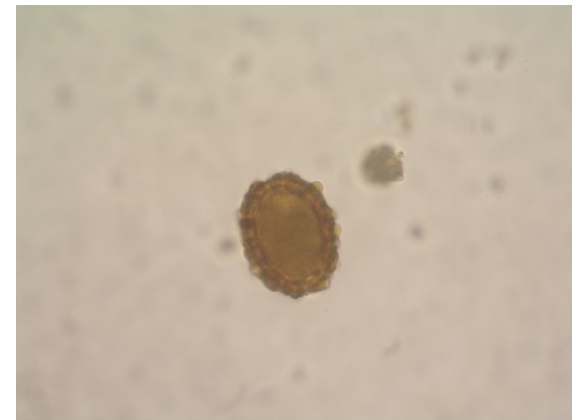








- 
- **sedimentační metoda (formol – éterová)**
 - vzorek nativní stolice (asi 1 g) přenést do krevní zkumavky, řádně rozmíchat ve fyz. roztoku
 - suspenzi opakovaně promývat centrifugací (2 min. při 1500 ot./min.) fyz. roztokem (popř. vodou)
 - vypraný sediment suspendovat do 5 ml 4%formaldehydu
 - nechat stát 5 minut
 - přidat 1,5 ml éteru (popř. octanu ethylnatého), zazátkovat gumovou zátkou, řádně roztřepat
 - centrifugovat 2 min. při 1500 ot./min.
 - třívrstevný supernatant uvolnit špejlí od stěn zkumavky a odstranit
 - sediment přenést na podložní sklo a přikrýt *krycím sklem*





- **laboratorní diagnostika kryptosporidií**

- uděláme silný nátěr a necháme zaschnout

- fixace metanolem

5 minut

- methylová violet' nebo gencianová violet'

30 minut

- krátce opláchnout tekoucí vodou

- diferencovat v 1-2% H₂SO₄ do světle fialové barvy

30 s- 2 minuty

- opláchnout tekoucí vodou

- dobarvit oranž G (nebo roztok tartrazinu)

30 s – 2 minuty

- krátce opláchnout tekoucí vodou

- nechat zaschnout při pokojové teplotě

- montáž do média (Solakrylu, Caedaxu)

DIAGNOSTIKA TRICHOMONÁD

- *TRICHOMONAS VAGINALIS*
specifický parazit lidského urogenitálního systému, kosmopolitní, přenos pohlavním stykem, netvoří cysty a je málo odolný mimo tělo hostitele



odběry: u mužů – výtěr z uretry, popř. po masáži prostaty, moč

**u žen – výtěr z uretry, pochvy, cervixu
materiál se odebírá do speciálního transportního média, po celou dobu by měl být udržován na teplotě 37°C
mikroskopujeme a kultivujeme do 2. dne ve spec.kult.médiu při 37°C**



NEPŘÍMÝ PRŮKAZ

- průkaz protilátek (toxoplasmóza, toxokaróza, echinokokóza, schistosomóza, *E. histolytica*, trichinelóza, filárióza)



DIAGNOSTIKA TOXOPLASMÓZY

- opakované serologické vřetření
- stanovení avidity protilátek
- KFR, ELISA protilátek IgM a IgG
- přímý průkaz - PCR



DIAGNOSTIKA TOXOKARÓZY

- **materiál:**

srážlivá krev, sklivec, likvor

- ELISA IgG, WB

- vysoká eosinofílie

- zobrazovací metody - CT



DĚKUJI ZA POZORNOST
