



Slide 1

UVOD U VETERINARSKU LABORATORIJSKU PRAKSU
Uzorkovanje i slanje materijala za parazitološke analize



Slide 2

Šta bi trebalo da prethodi laboratorijskoj dijagnostici:

- ❖ klinički simptomi
- ❖ istorija bolesti
- ❖ kontakt sa inficiranim jedinkama
- ❖ imunološki status životinje
- ❖ prethodne zabeležene infekcije
- ❖ triježno testiranje - kod pojave enzootija
- ❖ neuspešna terapija - ponovo testiranje nakon terapije

Slide 3

> UZIMANJE, PAKOVANJE I SLANJE UZORKA FECESA

- uzimanje pre aplikovanja supstanci koje mogu uticati na rezultate pregleda: antibiotici ili antidijureci, mineralna ulja, bizmut i barijum (uzorkovanje se odiže za 5-10 dana)
- uzimanje u čiste posude sa čvrstim zatvaračem ili bočice za uzorkovanje feca
- izbegavati kontaminaciju urinom ili vodom
- Obvezno dati proprati akt sa podacima: ime i prezime vlasnika životinje, adresu, telefon, vrstu uzorka, datum uzorkovanja, vrstu i rasi životinje, pol i starost životinje, vrsta organa-vrsta uzorka
- transportovati u laboratoriju što je pre moguće i držati u frižideru dok se ne omogući transport (zamrzavanje može deformisati jaja parazita)

Slide 4

> TIPOVI UZORAKA, STABILNOST I KONZERVIRANJE

- Pregleđi **minimum 3 uzorka** sakupljena u periodu dan za danom ili svaki drugi dan ili u roku od 7-10 dana.
- Infekcije sa *Enterococcus histolyticus*/E. *dispar* i *Escherichia coli* mogu zahtevati ispitivanje do **8 uzoraka** pre detekcije razvojnih ciklusa.
- Osušeni uzorci nisu prihvatljivi za ispitivanje - trofozoli neće preživjeti akoraz počne da se suši, čime će se formirati nakon izsušivanja uzorka
- Držanje uzoraka u frižideru onemogućava razvoj lajvenih stadijuma iz jaja (kvalitativne metode pregleda - stvarno stanje)
- Kod pacijenata sa jako vodenastim fesesom rezultat može biti negativan zbog značajnog razredjavanja uzorka povezanog sa gubitkom tečnosti.
- Sveži uzorci su obavezni za očuvanje pokretnih vegetativnih oblika.

- Tečna stolačica treba da se pregleđi ili konzervira u roku od **30 minuta** od uzorkovanja (trofozoli)

- Mekana i poluformirana stolačica se pregleđuje ili konzervira u roku od **1 sat** od uzorkovanja (trofozoli i ciste)

- Formirana stolačica se pregleđuje ili konzervira u roku od **24 sata** od uzorkovanja.

Slide 5

- Kašnjenje prilikom prijema uzorka.
- Nemogućnost pregledanja uzorka u preporučenom vremenskom roku.
- **Fiksativi** - konzervanti če spričeti oštećenje i izmenu morfoloških struktura prisutnih parazita i njihovih elemenata.
- Svaki konzervans ima specifična ograničenja i nijedan nije podoban za izvođenje svih procedura za dobijanje optimalnih rezultata.
- Konzervansi koji se mogu koristiti za očuvanje uzorka feca:

 - a) Formalin 5% ili 10%
 - b) Schaudinov konzervans
 - c) polivinil alkohol (PVA)
 - modifikovan PVA - na bazi cinka/bakra
 - d) natrijum-acetat-sirčetna kiselina-formalin (SAF)
 - e) Merticolar (timerozal)-jod-formalin (MF)

Slide 6

DOPREMANJE UZORAKA U LABORATORIJU



Slide 7

LABORATORIJSKA DIJAGNOSTIKA



Slide 8

✓ MIKROSKOP

- Stereoskopski mikroskop (lupe)** - za veće uzorke (aropode, proglotisi cestoda, artefakti)
 - ukupno uvećanje od **10x do 45x**
 - ničim neklirajuće objektive (0,66x, 1,3x i 3x) koji se mogu koristiti sa okularima uvećanja 5x i 10x
 - izvor svetlosti: ispod ili iznad uzorka
- Standardni svetlosni mikroskop**
 - okulari: **10x** (5x može, ali nije neophodno)
 - objektivi: **10x** (malo uvećanje), **40x do 250x** (veliko uvećanje), **97x do 100x** (uljana imerzija)



Slide 9

✓ MIKROSKOP

- jaja parazita, oociste kokcidija, ciste protozoa, polen i spore plesni, gljivice i velike bakterije, buvle, grinje, njihova jaja, krila insekata i druge partikule imaju sličnu gustinu i mogu se pojaviti na površini rastvora za flotaciju
- korišćenje **OKULARNOG MIKROMETRA** radi merenja i poređenja jaja parazita, oocisti i drugih čestica sa opisima u priručnicima iz parazitologije

Okularni mikrometar je stakleni disk sa označenom skalom, koja se koristi za merenje uvećanih objekata.

Stavane jedinice mikrometra su proizvoljne, tako da je neophodna kalibracija u odnosu na skalu za merenje (obično u mikronima).

Ovo je jednokratni postupak za svaki mikroskop.



Slide 10

✓ **CENTRIFUGA**

- stona ili podna sa rotorom za epruve za centrifugu zapremine 15 ml (za metode koncentrisanja)
- preporučuje se centrifuga sa slobodnom glavom ili horizontalnim rotorom - sediment će se podjednako rasporediti po dnu epruve (lakše odvajanje supernatanta sa ravne površine taloga)



Slide 11

BEZBEDNOST

- Svim svežim uzorcima treba pažljivo rukovati.
- Univerzalne mere predstrožnosti: rukavice, radna uniforma, odgovarajući kontejneri, bezbednosne komore, propisno odlaganje otpada.



Slide 12

LABORATORIJSKE METODE

A. Indirektnе
– Detekcija specifičnih antitela **U SERUMU**.

B. Direktnе
– Nalaz odraslih parazita i njihovih razvojnih stadijuma (jaja i larve helminata; jaja, larve, lutke arthropoda; vegetativni i cistični oblici protozoa), odnosno DNK parazita (molekularne metode)

- SEKRETI I EKSKRETI
- TKIVA

Slide 13

A.INDIREKTNE METODE

- **Puna krv** - serum za serološke analize.
- Dokazivanje specifičnih **antitela** na određene vrste parazita u serumu životinje.
- Pregledom serumu u određenim vremenskim intervalima ispituje se da li nivo antitela u serumu (titar antitela) raste, opada ili ostaje konstantan (indikacija imunološke kompetencije domaćina i okvirno koji je stadijum bolesti u pitanju).
 - ELISA, IFA

Slide 14

B.DIREKTNE METODE

Dokazivanje prisustva parazita i njihovih razvojnih oblika ili DNK parazita u materijalu:

- ❖ PREGLED FECESA - KOPROLOŠKI PREGLED
- ❖ SKARIFIKAT KOŽE
- ❖ PREGLED KRVI (KRVNI RAZMAZ)
- ❖ PREGLED DRUGIH SEKRETA I EKSKRETA (urin, sputnik, aspirati)
- ❖ BIOPTATI TKIVA

Slide 15

PAŽNJA



Obuka i usavršavanje studenata i započeošnih nisu trošak već investicija.
To je ulaganje koje doprinosi razvoju pojedincaca, povećanju sigurnosti u
radu i dolešku do konačnog cilja, a to je postavljanje tačne dijagnoze.
