

Специализирани правила за добра медицинска практика - гайдлайн

(медицински практики, клинични насоки, консенсуси, основани на доказателства, препоръки и правила за профилактика, диагностика и лечение, които създават условия за възможно най-добър изход от заболяването)

1. **ЗАГЛАВИЕ - СПЕЦИАЛИЗИРАНИ ПРАВИЛА ЗА ДОБРА МЕДИЦИНСКА ПРАКТИКА ПО МЕДИЦИНСКА ПАРАЗИТОЛОГИЯ**
2. Вносителите (доц. д-р Искра Райнова, дм; доц. д-р Румен Харизанов, дм/Национален център по Заразни и Паразитни Болести, София)
3. Източник (компиляция).
4. Основна специалност (Медицинска паразитология).
5. Допълнителни специалности (обща медицина, гастроентерология, неврология, инфекциозни болести, дерматовенерология, хирургия, детски болести).
6. Ключови думи (паразитни заболявания; диагностика; лечение).
7. Кратко представяне на гайдлайна

Препоръки за критерии за тежест на състоянието

Препоръки	Клас	Ниво
Малария , предизвикана от <i>Plasmodium falciparum</i> – за тежки клинични форми на заболяването се приемат кодове по МКБ10 – B50.0, B50.8, малария при бременни жени и при наличие на всички форми на паразита при морфо-паразитологично изследване.	I	A
Малария , предизвикана от <i>Plasmodium vivax</i> - за тежки клинични форми на заболяването се приемат кодове по МКБ10 – B51.0 и B51.8	I	A
Малария , предизвикана от <i>Plasmodium malariae</i> - за тежки клинични форми на заболяването се приемат кодове по МКБ10 – B52.0 и B52.8	I	A
Малария , предизвикана от <i>Plasmodium ovale</i> – заболяването протича доброкачествено	I	A
Висцерална лайшманиоза – всички клинични форми на заболяването се приемат за тежки.	I	A
Амебиоза – за тежки клинични форми се приемат кодове по МКБ10 - A06.3, A06.4, A06.5, A06.6 и A06.8.	I	A
Други протозойни чревни болести (Гиардиоза, Криптоспориидиоза) – изразен диаричен синдром и дисеминирана форма на криптоспориодоза в съчетание с ХИВ/СПИН.	I	A

Ехинококоза – за тежки клинични форми се приемат кодове по МКБ-10 B67.3 и всички случаи на спонтанна или травматична руптура на ехинококова киста, независимо от нейната локализация.	I	A
Трихинелоза - тежка клинично форма според класификацията на Павловски (1983)	I	A
Токсоплазмоза - за тежки клинични форми се приемат кодове по МКБ10 - B58.1†, B58.2†, B58.3†, B58.8, дисеминирана токсоплазмоза.	I	A
Шистозомоза – тежко засягане на урогениталния тракт и храносмилателната система, определят всички случаи като тежки.	I	A
Цистицеркоза - за тежки клинични форми се приемат кодове по МКБ10 – B69.0 и B69.1	I	A
Стронгилоидоза - за тежки клинични форми се приемат кодове по МКБ10 – B78.7, особено в случаи на асоциация с HIV/ СПИН, както и в случаи с изразен диариен синдром.	I	A
Висцерална форма на заболяване, предизвикано от миграция на ларвите на хелминтите <i>Toxocara canis</i> и <i>Toxocara cati</i> (Токсокароза) – за тежки клинични форми се приемат случаите със засягане на зрителния апарат, ЦНС и дисеминирани форми.	I	A

Препоръки за терапевтичен подход

Препоръки	Клас	Ниво
Според препоръките на СЗО, неусложнена малария причинявана от <i>P. falciparum</i> се лекува с артемизинин-базирана комбинирана терапия (ACTs)*, в дози и схеми според вида на лекарственото средство В случай на усложнена малария лечението е парентерално, а лекарствено средство от първа линия е Artesunate fl.	I	A
При малария причинявана от <i>Plasmodium vivax</i> и <i>Plasmodium ovale</i> , лечението се провежда с Chloroquine Phosphate tabl. 250 mg (150 mg. base) + Primaquine phosphate tabl. 15, 7.5 mg (base)* в стандартни дози и схеми. При внос на малария от райони с установена резистентност на <i>Plasmodium vivax</i> към Chloroquine, се провежда лечение с ACTs, в дози и схеми според вида на лекарственото средство	I	A
При малария причинявана от <i>Plasmodium malariae</i> лечението се провежда с Chloroquine Phosphate tabl. 250 mg (150 mg. base) в стандартни дози и схеми.	I	A
При висцерална лайшманиоза лечението се провежда с петвалентни антимонови средства (Meglumine antimoniate)* или липозомални форми на Amphotericin B*, в дози и схеми според вида на препарата	I	A

При кожна лайшманиоза се препоръчват следните терапевтични схеми: 15% paromomycin/12% methylbenzethonium chloride ointment* локално; или интралезионално приложение на петвалентни антимонови средства*; или термотерапия; или криотерапия; или fluconazole, перорално	I	A
При форми на остра чревна амебиаза алгоритъмът на лечение включва следните препарати: Metronidazole tabl. 250 mg или Tinidazole (Fasigyn) tabl. 500 mg.	I	A
Лечебният алгоритъм на ехинококозата включва три основни метода: хирургичен, ПАИР–техника (пункция, аспирация, инжекция, реаспирация) и медикаментозен. Медикаментозното лечение се осъществява самостоятелно като консервативна терапия (химиотерапия) или като химиопрофилактика за предотвратяване на развитието на вторична ехинококоза. Като химиопрофилактика приемът на медикамента започва 4 дни преди операцията или ПАИР - техниката, а постоперативната химиопрофилактика продължава 1 месец с Albendazole и 3 месеца – с Mebendazole*. В РБългария се прилага Albendazole. Консервативната терапия се прилага самостоятелно в случаите, когато има контраиндикации за хирургично лечение, основно при множествена ехинококоза или тежки хронични заболявания. Противопоказана е за лечение на големи кисти, при които има риск от руптура, особено когато са инфектирани и повърхностно разположени. Тя не се налага и при наличие на неактивни кисти с белези на дегенерация. Съществуват и противопоказания, специфични за използвания медикамент.	I	A
При трихинелоза етиологичното лечение се извършва с Albendazole или Mebendazole*, в дози и схеми според вида на препарата	I	A
При цистицеркоза консервативното лечение включва употребата на кортикостероиди плюс Albendazole или Praziquantel* в стандартни дози и схеми. Алтернатива е хирургичното лечение.	I	A
При токсокароза (висцерална Larva migrans) лечението се извършва с Albendazole в стандартни дози и схеми.	I	A

* Във връзка с това, че голяма част от лекарствените средства, изброени в таблицата не са регистрирани в ИАЛ и липсват в аптечната мрежа на страната, лечебните заведения за болнична помощ, в които се хоспитализират и лекуват пациенти с местни и тропически паразитози е необходимо да осигурят необходимия резерв от препарати в количества съгласно изискванията на Наредба № 10 на МЗ от 17.11.2011 г. за условията и реда за лечение с неразрешени за

употреба в Република България лекарствени продукти (обн., ДВ, бр. 95, 2 декември 2011 г.).

Препоръки за вземане, съхранение и транспортиране на клинични материали за паразитологично изследване

Материали за изследване

Препоръки	Клас	Ниво
<p>Фекални проби – изследват се при съмнение за чревни протозоози и хелминтози. Задължително условие е материалът да се взема от пресни фекални маси. Когато е невъзможно изследването да бъде извършено веднага след пробонабирането или се налага транспортиране, се препоръчва използване на консерванти. Те предпазват паразитите от дегенеративни промени, запазват се типичните морфологични белези и е възможно да се направи видова идентификация на паразитите. В същото време тези проби са по-безопасни за лабораторния персонал.</p> <p>За получаване на достоверни резултати при първоначално отрицателен резултат за чревни паразити се препоръчва 3-кратно изследване на фецес (през 2–3 дни). Това е свързано с биологичните особености на паразитите и неравномерното отделяне на цисти и яйца. Периодично се екскретират цистите на чревните протозои (при <i>E. histolytica</i> и <i>G. intestinalis</i> се наблюдават пикове през 7–10 дни). Докато при <i>Ascaris lumbricoides</i>, <i>Trichocephalus trichiurus</i> и <i>Ancylostomatidae</i> отделянето на яйца е сравнително постоянно и ежедневно, при <i>Schistosoma g.sp.</i>, <i>Dyphilobotrium latum</i> и <i>Taeniidae g.sp.</i> то е на определени интервали.</p>	I	A
Кръв – за малария (тънка кръвна натривка и дебела кръвна капка), трипанозомоза, бабезиоза, токсоплазмоза (дисеминирана форма), микрофиларии	I	A
Урина – при съмнение за инвазии със <i>Schistosoma haematobium</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , микрофиларии	I	A
Храчка, трахеален и бронхоалвеоларен аспират – за доказване на <i>Paragonimus spp.</i> , <i>Strongyloides stercoralis</i> (филариевидни ларви – при имунокомпрометирани пациенти), <i>Pneumocystis jiroveci</i> , <i>E. histolytica</i> (при руптура на белодробен амебен абсцес се откриват трофозоити), <i>Acanthamoeba spp.</i> , <i>Entamoeba gingivalis</i> , <i>Cryptosporidium spp.</i> (в случаи на белодробна криптоспоридиоза – при имунокомпрометирани пациенти) и др.	I	A
Перианален отпечатък, взет със скоч-лента – при ентеробиоза и тениаринхоза	I	A
Дуоденално съдържимо – ларви на <i>Strongyloides stercoralis</i> , цисти на	I	A

Giardia (Lambliа) intestinalis, ооцисти на Cryptosporidium spp., Cyclospora cayetanensis и Cystoisospora belli		
Влагалищно съдържимо – за трихомони	I	A
Уретрален секрет, простатен експримат и еякулат – за трихомони	I	A
Аспират от лимфен възел – за трипанозоми	I	A
Аспират от абсцес – за E. histolytica при чернодробен амебен абсцес	I	A
Пунктат от костен мозък – трепанобиопсия или стернална пункция (предпочитан матери-ал), от слезка и лимфен възел – за висцерална лайшманиоза	I	A
Ликвор – при африканска трипанозомоза (във втората фаза на сънната болест), токсоплазмоза, неглерияза, акантамебиоза, баламутиоза	I	A
Ректален биопсичен материал – за откриване на яйца на Schistosoma spp. (S. mansoni, S. japonicum, S. intercalatum)	I	A
Материал от jeenum – за Giardia/ Lambliа intestinalis, Cryptosporidium parvum	I	A
Биопсичен материал от кожа и материал от кожни язви – за Leishmania, Onchocerca volvulus и по рядко – за Mansonella streptocerca	I	A
Мускулна биопсия – за Trichinella spiralis	I	A
Материал от остъргване от корнеята – акантамебен и хартманелен кератит	I	A
Хистопатологичен материал – при всички паразитози	I	A

ПОДРОБНО ПРЕДСТАВЯНЕ

ВЗЕМАНЕ НА МАТЕРИАЛ

1. Фекални проби

Изследват се при всички видове чревни протозои и хелминти. Задължително условие е материалът за изследване да се взема от пресни, а не от престояли фекални маси.

1.1. Прясна фекална проба

Пробата се взема от тоалетна чиния или подлога с дървена шпатула или с пластмасова лъжичка, закрепена за капачката на тубата за фецес, в сух чист съд (специален пластмасов контейнер, туба, пеницилиново шише), който се затваря плътно, за да се транспортира безопасно. В контейнера не трябва да има остатъци от дезинфектанти, мазнини и бои.

Взема се смесена проба (10g), от 5–6 места на цялата фекална маса, като в случаите на воднисти и кашообразни изпражнения се предпочитат местата, съдържащи слуз и/или кръв, а при оформени материалът се взема от повърхността. Не

трябва да има примеси на урина и вода (лизиране на трофозоитите на протозоите, особено на амебните) или контаминация с почва.

Изследването на фекална проба след клизма може да подобри откриването на паразити, обитаващи долната част на колона.

1.2. Фекална проба, взета с консервант

Когато е невъзможно изследването да се извърши веднага след вземане на материала или се налага неговото транспортиране се препоръчва използване на консерванти. Те предпазват паразитите от дегенеративни промени, запазват се типичните морфологични белези и е възможно да се направи видова идентификация. В същото време тези проби са по-безопасни за лабораторния персонал.

При работа с консерванти: формалин 5–10% (v/v), поливинилалкохол (ПВА), разтвор на Барбагало, консерванти на Р. Сафаралиев, А. Турдиев, Burrows, се спазват следните правила:

а) възможно е консервиране на всички видове материали за паразитологично изследване за чревни протозои и хелминти;

б) консервираният материал трябва да бъде пресен;

в) най-често се смесват 1 част фекалии и 3 части консервант и прецизно се разбъркват. За целта е най-добре да се използват специални туби за фецес.

1.3. Съхранение и време на изследване на фекалните проби

Във все повече лаборатории вече се предпочита вземането на проба от фецес с консервант. Пресните фекалии обаче са задължителен материал за доказване на подвижни трофозоити на протозои.

При невъзможност за незабавно изследване, те могат да се съхраняват няколко дни при +4°C или пробите се заливат с консервант. Не се препоръчва съхранение на фекалните проби на стайна температура, тъй като ларвите на някои паразити (*Ancylostomatidae* g.sp., *S. stercoralis*) могат да излязат от яйцата и това затруднява диагностиката.

В зависимост от консистенцията на изпражненията се препоръчват следните срокове за изследване на материала:

Течни (воднисти) и меки – до 30 минути след пасажа

Полуоформени – до 1 час след пасажа

Оформени – на същия или на следващия ден след пасажа

Ако тези срокове не могат да се спазят, пробата се взема с консервант.

2. Кръв

2.1. Взимане на кръв за малария

Кръв за малария се взима от безименния пръст или лобулус аурикуле на ухото със спазване на правилата за асептика. За да е по-безболезнено убождането със стерилната (еднократна) ланцетка, пръстът се стиска леко (кожата става по-напрегната, твърда и по-лесно се пробива) преди това. Първата капка се изтрива със сух памук, а от следващите се правят дебели кръвни капки и натривка. Ако изтичането на кръвта от

мястото на убождането е лошо, необходимо е леко масажирание на пръста в посока на убождането. Може да се вземе и венозна кръв с антикоагулант (ЕДТА).

Вземането на кръв трябва да се прави във всички случаи, когато има клинични данни за малария, както и по епидемиологични показания. Изследването за малария се извършва по всяко време, независимо дали болният има температурен пристъп или е в стадий на апирексия. То трябва да става преди да е започнала антимальарийната терапия. Когато препаратите са отрицателни на фона на клиничната симптоматика за малария, се препоръчва вземане на повторни проби през 4 часа, но трябва да се знае, че малария без маларийни паразити няма. По време на лечението на тропическа малария задължително се правят многократни изследвания през определени интервали (3–4 часа) за контрол на паразитемията, което има важно значение при резистентните щамове на *Plasmodium falciparum*.

От взетата кръв се правят кръвна натривка и дебел капка. Много важно е за целта да се използват чисти и обезмаслени (с разтвор на Никифоров – равни части спирт и етер) предметни стъкла. Те трябва да се държат за ребрената (тънката) част, за да не остават отпечатъци от пръстите по повърхността.

Приготвяне на тънка кръвна натривка. Върху предметното стъкло (1–2 cm от края) се поставя малка кръвна капка. Шлифованото стъкло се опира в капката и когато кръвта се разпредели по ръба му, се придвижва с енергично движение по повърхността на предметното стъкло под ъгъл 40–45°.

Приготвяне на дебела кръвна капка. Съществуват няколко метода:

а) предметното стъкло се хваща за ребрената част, повърхността му се допира до образувалата се голяма капка кръв на пръста и с кръгови движения се прави капка с диаметър 1–1,5–2 cm (колкото нокъта на пръста). Върху всяко стъкло се правят 3 капки. При този контактен метод еритроцитите се запазват най-добре;

б) взетата на предметното стъкло капка веднага (за да не настъпи коагулация) чрез кръгови движения се разстила с ъгъла на друго предметно, с покривно стъкло или с апликатор;

в) на стъклото се прави кръвна натривка и преди да засъхне, се капва капка кръв, която се разстила равномерно по повърхността;

г) на едно стъкло могат да се направят едновременно натривка и дебела кръвна капка. Това спестява време и предметни стъкла, но при фиксирането на натривката от парите на спирта може да се фиксира и капката. В такива препарати първо трябва да се хемолизира капката и после да се фиксира натривката.

2.2. Вземане на кръв за трипанозомоза

Периферна кръв при американска трипанозомоза (болест на Чагас) и африканска трипанозомоза (в първичната остра фаза). Микроскопира се нативен препарат непосредствено след вземането на кръвта и кръвна натривка и дебела капка, оцветени по Романовски-Гимза. Материалът е подходящ за *T. cruzi* и *T. rhodesiense*, докато *T. gambiense* се установява рядко.

Венозна кръв за обогатителен метод за трипанозомоза – проба, взета с антикоагулант

2.3. Кръв с антикоагулант за токсоплазмоза (при имукомпрометирани пациенти с десиминирана инфекция). Изследва се нативен и оцветен по Романовски-Гимза препарат за трофозоити.

2.4. Периферна кръв при съмнение за бабезиоза. От първата капка след убождането се прави кръвна натривка и се оцветява по Романовски-Гимза, както при маларията. За предпочитане е да се направят няколко препарата.

2.5. Кръв за микрофиларии. Важно е времето на вземане на кръвта. Някои видове са периодични, т. е. микрофилариите присъстват в кръвта в определено време на денонощието. По този признак филариите имат и различно географско разпространение. Затова шансът да открием микрофиларии е по-голям, ако пробонабирането се извърши, когато концентрацията на микрофилариите в периферната кръв е най-висока. За да не се изпусне смесена инвазия, се препоръчва пробите кръв да се вземат рутинно двукратно – между 10.00–14.00 h (дневна кръв) и 22.00–2.00 h (нощна кръв).

Микрофилариите на *Mansonella streptocerca* и *Onchocerca volvulus* се откриват предимно в кожата, въпреки че понякога се доказват и в кръвта.

Периферна кръв. Приготвя се нативна капка кръв, дебела капка (предварително лизираме капката 10 минути в дестилирана вода и я изсушаваме) и дебела намазка, оцветени по Романовски-Гимза.

Венозна кръв. Пробата се взема с антикоагулант и се изпраща за изследване с обогатителни методи в НРЛ.

3. Урина

При изследване за *Schistosoma haematobium*, *Trichomonas vaginalis*, микрофиларии.

3.1. Шистозомоза

Установено е, че количеството на яйцата на *S. haematobium* варира през деня, затова пробонабирането се извършва в определено време. Най-голям е броят на яйцата в периода между 10–14 часа, затова се препоръчва урината да се събира по това време. Добре е преди уриниране да се приложи известно физическо натоварване (тичане, клякане), което спомага за отделянето на яйцата. Известно е, че яйца има повече в последната капка урина, отколкото в първата порция, както и в урина, примесена с кръв. При вземане на единични проби се предпочита терминална урина в количество не по-малко от 10 ml. Пробонабирането се извършва в специални контейнери за урина, в чиста колба или в стъклена бутилка.

Алтернативно се събира 24-часова урина. Изследва се цялата проба, защото броят на яйцата може да бъде много малък. Възможно е и събиране на 24-часова терминална урина (събират се последните порции при всяко уриниране в течение на едно денонощие).

3.2. Микрофиларии (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Onchocerca volvulus*). В урината се откриват рядко, при тежко увреждане на лимфатичната система, когато се наблюдава хилурия. Преди микроскопиране урината се обработва, като към около 9 ml урина се добавя 3 ml етер, разклаща се добре и се центрофугира 2 минути при 2500 об/минута. Изследва се седиментът.

3.3. Трихомоназа. При мъжете често се изследва урина, която се взема 6–7 часа след последното уриниране, най-добре сутрин. Преди изследване тя се центрофугира 2 min при 2000 об/min или не повече от 10 минути при 1500 об/минута.

4. Хрчка, трахеален и бронхоалвеоларен аспират

Хрчка се изследва при съмнение за инвазия с *Paragonimus* spp. (комбинирано с изследване на фекалии, тъй като в някои случаи яйца се откриват и във фекалиите), *Echinococcus granulosus* (ако не могат да се изследват веднага, се добавя 10% формалин), *Strongyloides stercoralis* (филариевидни ларви – при имунокомпрометирани пациенти), *Pneumocystis jiroveci*, *E. histolytica* (при руптура на белодробен амебен абсцес се откриват трофозоити, *Acanthamoeba* spp., *Entamoeba gingivalis*), *Cryptosporidium* spp. (в случаи на белодробна криптоспоридиоза – при имунокомпрометирани пациенти, при белодробна шистозомоза).

За пневмоцистоза се изследва и трахеален аспират (извършва се с катетър или с детска сонда сутрин на гладно), бронхоалвеоларен лаваж, индуцирана хрчка.

5. Перианален отпечатък, взет със скоч-лента

Прилага се при ентеробиоза и тениаринхоза.

Материалът се взема рано сутрин, преди да е правен тоалет. Парче скоч лента, с размери 5–8 cm се притиска до перианалните гънки на пациента и след това се залепва върху предметно стъкло, предварително надписано с амбулаторния номер на лицето. Скочът се притиска добре, така че да не остават въздушни мехурчета. Пригответият по този начин препарат се изпраща в лабораторията. Той може да се съхранява до два месеца при температура +4°C.

Поради непостоянната миграция на паразита се препоръчва няколкократно изследване.

6. Дуоденално съдържимо

Някои паразити, които обитават дуоденума, понякога се откриват трудно във фекалиите, което налага изследване на дуоденалното съдържимо като алтернативен материал. Дуоденално съдържимо се изследва за откриване на ларви на *Strongyloides stercoralis*, цисти на *Giardia (Lambia) duodenalis*, ооцисти на *Cryptosporidium* spp., *Cyclospora cayentanensis* и *Cystoisospora belli*. В редки случаи могат да се открият яйца на *Clonorchis sinensis*, *Opistorchis viverrini/felineus*, *Fasciola hepatica*, *Trichostrongylus* spp. и *Ancylostomatidae* spp.

Материалът се взема чрез дуоденално сондиране или с желатинова капсула.

а) прави се дуоденално сондиране и в пеницилинови шишенца се събират по 5–6 ml от трите порции (А, В и С). Изследват се всички порции до 20–30 минути след вземане на материала. В противен случай паразитите (гиардиите) лизират;

б) сухи капки от дуоденално съдържимо. Когато дуоденалното съдържимо не може да се изследва в посоченото по-горе време, на предметно стъкло се накапват капки от порции А, В и С, изсушават се и се оцветяват по Романовски-Гимза. Прилага се при гиардиаза (ламблиоза).

7. Вагинални и уретрални материали

7.1. Влагалищно съдържимо – за трихомоназа. Препоръчва се вземането му да става, след като е приключила менструацията, на гинекологичен стол, със спекулум. Със специална вагинална шпатула или със стерилен памучен тампон се взема материал от задния влагалищен свод. После тампонът се поставя в стерилна епруветка (100 x 13 mm конична епруветка със запушалка или с капачка на винт), съдържаща около 3 ml стерилен физиологичен разтвор, и се транспортира.

7.2. Уретрален секрет, простатен експримат и еякулат – за трихомоназа. Уретрален секрет се взема с пипета, йозе или с тампон при обилен секрет от уретера (техниката е същата, както при влагалищното съдържимо), простатен експримат – след натиск per rectum върху gl. Prostatae, а еякулат – след мастурбация.

8. Аспирати и пунктати

8.1. Трипанозомоза – аспират от лимфен възел. Материалът се изследва за *T. gambiense* в ранния стадий на инфекцията, 2–3 седмици след заразяването.

Избраното място (обикновено цервикален лимфен възел) и шията се дезинфекцират с йодна тинктура или 70° етилов спирт. Лимфният възел се фиксира с двата пръста на лявата ръка. С дясната ръка с игла на спринцовка се пробива първо кожата, след това – центърът на лимфния възел. Изчаква се около 1 min (течността прониква в иглата), с бързо движение се изважда иглата и мястото на убождането се изтрива с тампон, напоен с дезинфектант. Аспиратът се изтласква от иглата на спринцовката върху предметно стъкло и се приготвя нативен препарат.

8.2. Чернодробен амебен абсцес – аспират от абсцес (изследва се последната порция, защото амебите са разположени пристенъчно), преди да е започнато лечението. Микроскопското изследване на нативен препарат трябва да се извърши веднага след пробонабирането.

8.3. Ехинококоза. Пунктирането на ехинококови кисти е опасно, защото има риск от руптура и причиняване на анафилактичен шок. Обаче при лечение с PAIR е възможно изследване на седимента от аспирираната течност след обработка с 0,5% разтвор на натриева или калиева основа (NaOH, KOH) за 30 min на стайна температура или за 5 min в термостат при 37°C и последващо 15 min центрофугиране при 3000 об/минута. При оперативно лечение се изследва и материал от киста.

8.4. Висцерална лайшманиоза. Взема се пунктат от костен мозък – стернална пункция (предпочитан материал), от слезка и лимфен възел. Ефективността на отделните методи за вземане на материал е различна: от слезка (98% позитивност), но това е опасна процедура и се използва рядко; стернална пункция (54–86%) и от увеличен лимфен възел (64%). Материалът не трябва да е примесен с кръв. Понякога

се налага няколкократно пунктиране и изследване. Прави се намазка за оцветяване по Романовски-Гимза и посявка на хранителна среда.

9. Ликвор

Прилага се при африканска трипанозомоза (във втората фаза на сънната болест), токсоплазмоза, неглерияза, акантамебиоза, баламутиоза.

При трипанозомоза веднага след вземането ликворът се центрофугира 10 минути при 1500 об/минута и от седимента се приготвя нативен и оцветен по Романовски-Гимза препарат.

За *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba* spp. и *Balamuthia mandrilaris* ликворът се изследва нативно или се центрофугира 5-10 минути при 400g/ минута и седиментът се изследва.

10. Биопсичен и хистопатологичен материал

10.1. Ректален биопсичен материал – за откриване на яйца на *Schistosoma* spp. (*S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. intercalatum*). Прилага се при отрицателни резултати от микроскопирането на фекални проби. От 4 места на ректалната мукоза се взема около 2 mg материал, притиска се между две предметни стъкла и се микроскопира. Правят се и хистологични срези.

10.2. Материал от jejunum – за *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium parvum*.

Правят се отпечатъци от мукозата, които се оцветяват по Романовски-Гимза, и хистологични срези.

10.3. Биопсичен материал от кожа - за *Onchocerca volvulus* и по рядко – за *Mansonella streptocerca*. Кожа се взема от няколко места, като се предпочитат подкожните нодули (подбират се нодулите на гърдите – над ребрата, на краката, гърба – раменете) и материалът се взема от центъра им. Изследва се материал и от кожа без нодули от местата с депигментация.

Биопсичен и постмортален материал се взема при изследване за други паразити: *Acanthamoeba* spp. – при акантамебни кожни поражения; *Cystoisospora belli*, *Cyclospora cayentanensis* и микроспоридии – от чревната лигавица; *Entamoeba histolytica* – от чернодробен амебен абсцес; *Acanthamoeba* spp. и *Nosema* spp. – биопсичен материал от корнеята; микроспоридии – биопсичен материал от черния дроб при хепатит; *Toxoplasma gondii* – материал от мозък, черен дроб, слезка и други суспектни органи; *P. jiroveci* – биопсичен материал от белите дробове (отворена биопсия, трансторакална биопсия с игла, трансbronхеална или ендобронхеална биопсия) и др.

11. Други материали

Материал от кожа

Кожна и кожно-лигавична лайшманиоза. Материалът за изследване се взема от папулата (в началото на инфекцията) и от инфилтратата около язвата. При вземане на материал от язвата инфилтратът около язвата се хваща с два пръста – голям и показалец, притиска се с лявата ръка, за да се изтиска и да се анемизира участъкът, прави се разрез с фин скалпел и повърхността на разреза се остъргва. Прилага се и метод чрез инжектиране на 2 ml стерилен физиологичен разтвор в ръба на язвата и

последващо аспириране след известно изчакване. Със същата цел може да се използва и стоматологичен екстрактор за нерви, който се забива в тъканите в края на язвата, завърта се и после се изважда. От взетите материали се приготвят намазки, които се оцветяват по Романовски-Гимза, или се прави посявка.

Акантамебни кожни поражения и акантамебно възпаление на съединителната тъкан около костите с последваща външна фистула – съответно, материал, взет чрез остъргване на язвата и материал от фистулата. Акантамебен кератит – материал от остъргване от корнеята.

Поражения на устната кухина, причинени от *Entamoeba gingivalis* – зъбен налеп, материал от лигавицата, слюнка.

Поражения на устната кухина, причинена от *Trichomonas tenax* (синоним на *T. elongata*) – зъбен налеп, материал от лигавицата и др.

ИЗИСКВАНИЯ КЪМ БИОЛОГИЧНИТЕ МАТЕРИАЛИ, ИЗПОЛЗВАНИ ЗА МОЛЕКУЛЯРНО-БИОЛОГИЧНИ (PCR) АНАЛИЗИ

Нуклеинови киселини успешно са изолирани от тъкани, клетъчни култури, почва, фекални проби и биологични течности като кръв, серум, плазма, лимфа, цереброспинална течност, слюнка, урина, околоплодна течност и др.

- Кръв. Обемът на кръвните проби трябва да е не по-малък от 2 ml. Кръвните проби (прясна цяла кръв или кръв с антикоагулант (предпочитани инхибитори на съсирването са EDTA и цитрат) могат да бъдат съхранявани и транспортирани при температура 4^o-8^oC (за пробите, които трябва да се изследват в рамките на 4 седмици); при -20^oC (за пробите, които трябва да се изследват в рамките на 3 месеца); дълбоко замразяване при -80^oC (за пробите, които трябва да се изследват за > 1 година). Да не се допуска образуване на съсирек в проби от кръв и костен мозък.

- Костномозъчен аспират. Костномозъчен аспират с EDTA или цитрат като антикоагуланти трябва да се съхранява при стайна температура и да се обработва възможно най-скоро. Може да бъде съхранявана и транспортирана не повече от 48 часа при температура 4^o-8^oC.

- Цереброспиналната течност. За PCR анализ са необходими минимални количества (30 µl) от проба цереброспинална течност, но по-добри резултати се получават със 100 до 200 µl. Добре е PCR анализът да се извършва на прясно получени проби цереброспинална течност.

- Амниотична течност. Необходими са минимум 5 милилитра. Амниотичната течност може да бъде съхранявана и транспортирана не повече от 48 часа при температура 4^o-8^oC .

- Култивирани клетки. Необходими са минимум 1x10⁶ клетки. Те трябва да бъдат съхранявани и транспортирани в стерилна среда, при температура 4^o-8^oC за не повече от 48 часа.

☐ Фецес.: Проби без консерванти се обработват в рамките на 24 часа след получаване. Около 1 грам фецес (половината от криоепруветка) се поставя в епруветка. Ако консистенцията на фецеса е много суха, се добавя капка дестилирана вода и се разбърква старателно. Епруветките се затварят плътно и се надписват. Съхраняват се при -20°C (-80°C също е позволено) За предпочитане е транспортирането на пробите да се извършва в замразено състояние (сух лед). В случай, че няма възможност пробите от фецес да се замразят те могат да се консервират в етанол. Количество (за предпочитане прецеден) фецес, приблизително равно на 700 µl обем, се добавя към 2 ml етанол (за предпочитане 96% етанол). Етанолът трябва добре да се смеси с фецеса. Пробите се съхраняват при стайна температура (или при възможност, при 4°C) за не повече от 3 месеца преди изолиране на ДНК.

- Урина. Желателно е пробите урина да се съхраняват при 2-8°C, когато екстракцията на НК ще се извърши в рамките на 4 дни. Изолираната ДНК остава стабилна за 1 седмица при 2-8°C.

Като алтернатива 1 ml урина се смесва с 1 ml етанол (за предпочитане 96% етанол) и се съхранява при стайна температура. Когато към изолиране на НК ще се пристъпи в по-късен етап за предпочитане е пробите да се замразят ($\leq -20^{\circ}\text{C}$).

- Храчка. Проби от храчка се вземат или при дълбока кашлица от самите пациенти, или чрез аспирация с дренажен катетър. Суспенсиите могат да се съхраняват при 2-8°C за 1 седмица, а за по-дълъг период от време - замразени. Алтернативни проби за анализ са индуцирана храчка, бронхо-алвеоларен лаваж (БАЛ).

- Тъканен материал. Необходими са минимум 5 милиграма. Съхранява се и се транспортира в стерилна среда или физиологичен разтвор при температура 4-8°C за не повече от 48 часа.

- Проби от тъкани, лимфни възли, получени чрез биопсия или хирургична процедура. Обработката на проби от биопсични материали или хирургично отстранени тъкани се извършва като малка част или таргетни части от тъканта се нарязват на малки парченца. Ако не се пристъпи към незабавно екстрахиране на НК пробите трябва незабавно да се замразят в течен азот (или алтернативно при -80°C) за по-дълго съхранение.

- Тъкани, фиксирани с формалин и включени в парафин (Formalin-fixed paraffin embedded, FFPE). Препоръчителният фиксиращ разтвор е 10% неутрален буфериран формалин и стандартното време за фиксация при температура на заобикалящата среда е между 18 и 36 часа и 3 до 12 часа за тъкани, получени чрез хирургически процедури и на биопсични материали респективно.

НАДПИСВАНЕ НА ПРОБАТА

Пробата трябва да има надпис с името и амбулаторния номер на пациента, датата и часа на пробонабирането. Тя се съпровожда с талон (направление) за изследване, където се отбелязва предполагаемата диагноза и видът на исканото

изследване. В случаи на потвърдена или предполагаема диагноза на инфекциозни заболявания като СПИН и хепатит тази информация задължително се отбелязва. Трябва да се има предвид, че назначаването на изследване за чревни паразити включва само рутинно изследване за цисти на протозои и яйца на хелминти. Специалните изследвания (оцветителни, за откриване на паразитни антигени и др.), които се прилагат при някои паразитози, особено при кокцидиозите, изискват това да се отбележи специално в направлението.

СЪХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРАНЕ НА ПРОБИТЕ

Пробите трябва да се вземат в удобни и плътнотворени контейнери. За клиничните проби се препоръчва транспортиране в двоен контейнер. Във вътрешния контейнер се поставя тубата с материала, който се затваря с плътна капачка на винт. След това се поставя в друг, по-голям контейнер (туба или найлонов плик), който също се затваря плътно. Съпроводителното писмо не трябва да е в контакт с тубата с изследвания материал. То се поставя между вътрешния и външния контейнер.

Половозрелите хелминти, проглотидите и др. се транспортират в контейнер с физиологичен разтвор, вода, 70% етилов алкохол или 10% формалин.

При транспортиране пресните фекални проби не трябва да бъдат подлагани на минусови температури, защото замразяването и размразяването разрушават трофозоитите и цистите.

Предметни стъкла. Не изискват двойни контейнери. Могат да се пакетират в кутии или в други контейнери, които ги предпазват от счупване. Препоръчва се стъклата да бъдат загънати предварително в хартия или в друг предпазващ материал. Най-удобни за транспортиране са търговските пластмасови контейнери за едно или повече стъкла.

Литературна справка

1. Медицински стандарт „Медицинска паразитология“
2. Наредба № 5 от 6 април 2006 г. за диагностиката, профилактиката и контрола на местните паразитози (изм., доп. ДВ: 37, 9.5.2017 г)
3. Наредба № 17 от 30.07.2008 г. за условията и реда за провеждане на диагностика, профилактика и контрол на внасяните паразитни болести (обн., ДВ, бр. 71 от 12.08.2008 г., попр., бр. 72 от 15.08.2008 г., изм. и доп., бр. 88 от 8.10.2013 г., в сила от 8.10.2013 г)
4. Паразитни зоонози при хората, (п.р. Р. Курдова), МЗ-НЦЗПБ, София, 2008; 199 стр.
5. Лабораторна диагностика на паразитозите, (п.р. Р. Курдова), Арсо, 2009; 254 стр.
6. Клинична паразитология и тропическа медицина (П/р П. Петров и Р. Курдова). Изток-Запад, 2016
7. WHO. Guidelines for the treatment of malaria. Third edition 2013; 316 pp.

8. Drugs for Parasitic Infections. Treatment Guidelines from The Medical Letter. 2013; 11: 31pp.

9. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology, IDSA Guideline, 83-89