

**НАЦИОНАЛЕН ЦЕНТЪР ПО ЗАРАЗНИ И ПАРАЗИТНИ БОЛЕСТИ  
ОТДЕЛ „ПАРАЗИТОЛОГИЯ И ТРОПИЧЕСКА МЕДИЦИНА“**

**УТВЪРДИЛ:**  
**ДИРЕКТОР НА НЦЗПБ**  
**ПРОФ. Д-Р Т. КАНТАРДЖИЕВ, ДМН, МЗМ**

**ИНСТРУКЦИИ ЗА ВЗЕМАНЕ, СЪХРАНЕНИЕ И ТРАНСПОРТИРАНЕ НА  
МАТЕРИАЛ ЗА ПАРАЗИТОЛОГИЧНО ИЗСЛЕДВАНЕ**

**А. ИНДИКАЦИИ**

В зависимост от органната локализация на причинителите на паразитните болести за доказването им се изследват различни материали: фекалии, дуоденално съдържимо, урина, кръв, хрчка, перианален отпечатък, влагалищно съдържимо, аспирати, пунктати, биопсичен и хистопатологичен материал и др.

Протозоите и хелминтите имат специфична морфология, по която се разпознават и диференцират микроскопски до вид. При неправилно вземане и съхранение на материала за изследване е възможно да настъпи промяна на основни морфологични характеристики или деструкция на паразитите, което затруднява или прави невъзможно откриването им. Това налага да се спазват определени правила за вземане и транспортиране на изследвания материал, които гарантират добро качество на лабораторната диагностика.

- *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.

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 *E. histolytica* и *G. intestinalis* се наблюдават пикове през 7–10 дни). Докато при *Ascaris lumbricoides*, *Trichocephalus trichiurus* и *Ancylostomatidae* отделянето на яйца е сравнително постоянно и ежедневно, при *Schistosoma g.sp*, *Dyphylobotrium latum* и *Taeniidae g.sp* то е на определени интервали.

- *Кръв* – за малария (тънка кръвна натривка и дебела кръвна капка), трипанозомоза, бабезиоза, токсоплазмоза (дисеминирана форма), микрофилярии
- *Урина* – при съмнение за инвазии със *Schistosoma haematobium*, *Trichomonas vaginalis*, микрофилярии
- *Хрчка, трахеален и бронхоалвеоларен аспират* – за доказване на *Paragonimus spp.*, *Strongyloides stercoralis* (филяриевидни 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) и др.

- *Перианален отпечатък, взет със скоч-лента* – при ентеробиоза и тениаринхоза
- *Дуоденално съдържимо* – ларви на *Stongiloideus stercoralis*, цисти на *Giardia (Lambli) intestinalis*, ооцисти на *Cryptosporidium spp.*, *Cyclospora cayetanensis* и *Cystoisospora belli*
- *Влагалищно съдържимо* – за трихомони
- *Уретрален секрет, простатен експримат и еякулат* – за трихомони
- *Аспират от лимфен възел* – за трипанозоми
- *Аспират от абсцес* – за *E. histolytica* при чернодробен амебен абсцес
- *Пунктат от костен мозък* – стернална пункция (предпочитан материал), *от слезка и лимфен възел* – за висцерална лайшманиоза
- *Ликвор* – при африканска трипанозомоза (във втората фаза на сънната болест), токсоплазмоза, неглерия, акантамебиоза, баламутиоза
- *Ректален биопсичен материал* – за откриване на яйца на *Schistosoma spp.* (*S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. intercalatum*)
- *Материал от jejunum* – за *Giardi/ Lambliа intestinalis*, *Cryptosporidium parvum*
- *Биопсичен материал от кожа и материал от кожни язви* – за *Leishmania*, *Onchocerca volvulus* и по рядко – за *Mansonella streptocerca*
- *Мускулна биопсия* – за *Trichinella spiralis*
- *Материал от остъргване от корнеята* – акантамебен и хартманелен кератит
- *Хистопатологичен материал* – при всички паразитози

## **Б. 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, Bugtows, се спазват следните правила:

- а) възможно е консервиране на всички видове материали за паразитологично изследване за чревни протозои и хелминти;
- б) консервируваният 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. Вземане на кръв за малария**

То става 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 масажиране 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 антималярийната 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 дебели капки. 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 хемολизира 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. Храчка, трахеален и бронхоалвеоларен аспират**

Храчка 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* (филяриевидни 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 храчка.

#### **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 остане въздушни мехурчета. Приготвеният 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 *Stongiloideus stercoralis*, цисти на *Giardia (Lamblia) intestinalis*, ооцисти на *Cryptosporidium spp.*, *Cyclospora cayetanensis* и *Cystoisospora belli*. В редки случаи могат да се открият яйца на *Clonorchis sinensis*, *Opistorchis viverrini/felineus*, *Fasciola hepatica*, *Trichostrongilus spp.* и *Ancylostomatidae g.sp.*

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 (ламблиите) 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 жиардиаза (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, неглерия, 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 cayetanensis* и микроспоридии – от чревната лигавица; *Entamoeba histolytica* – от чернодробен амебен абсцес; *Acanthamoeba spp.* и *Noosema 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 *Enthamoeba 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 са успешно 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°-8°C (за пробите, които трябва да се изследват в рамките на 4 седмици); при -20°C (за пробите, които трябва да се изследват в рамките на 3 месеца); дълбоко замразяване при -80°C (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°-8°C.
  - **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°-8°C.
- **Култивирани клетки.** Необходими са минимум  $1 \times 10^6$  клетки. Те трябва да бъдат съхранявани и транспортирани в стерилна среда, при температура 4°-8°C 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  $\mu$ l 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 плътнозатворени 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.