

Вземане и изпращане на проби от пациенти за туларемия

Принцип е, че проби за изолация на причинителя се взимат преди прилагане на антибиотична терапия. В случаите в които вече е даден антибиотичен агент също има мисъл да се опита изолация особено, когато болния е третиран с бета-лактам антибиотик. Изборът на проба за диагностика зависи от клиничната форма на заболяването. Изследват се следните клинични материали:

- Кръв – при всички клинични форми на туларемия. Пробата е за изолация на причинителя и/или доказване ДНК на причинителя
- Серум – при всички клинични форми. Първата проба се взима в най-ранния възможен момент, а втората след поне 14 дни. Търсят се специфични антитела.
- Секрети от респираторния тракт – при белодробна, тифоидна и орофарингеална форма. Фарингеален секрет, БАЛ, хрчка, трансторакален белодробен аспират, плеврална течност
- Тампони – при наличие на улцерогландиларна и окулогландуларна форми.
- Аспирати – при наличие на видими уголемени лимфни възли
- Тъканни биопси – правят се при неясни в диференциалнодиагностично отношение случаи.
- Аутопсионен материал – проби от видими абсцеси на бял и черен дроб, слезка, цереброспинална течност, костен мозък и лимфни възли

Взимане и транспортиране на материали при съмнение за Туларемия става както следва:

Мястото на вземане на пробата се деконтаминира с оглед наличие на нормална флора, която се явява пречка за изолацията на причинителя.

Принцип е да се вземе максимално голям обем проба – така се стига до по-добра изолируемост.

Пробите да се етикетират подробно с име на болния, анатомично място на вземане на пробата, дата и час, както и инициали на лицето, взело пробата.

Пробите да се транспортират до лабораторията по най-бързия начин – за предпочитане в рамките на 2 часа и не по-късно от 8 – 12 часа.

При неправилно взети и транспортирани проби и намалени шансове за изолация се препоръчва използване на молекулярни методи за диагностика.

Серум. След вземане на кръвната проба във вакутейнер за серум (червена запушалка) отделянето му трябва да се извърши по възможност в най-кратки срокове след съсирване на кръвта.

Отделеният серум може да остане на 2 – 8 °С до 10 дни.

При по-дълъг срок пробите се замразяват.

Ако условията не позволяват да се отдели серум, пробата се съхранява при 2 – 8 °С. Да не се замразява!

Биопсичен материал. Биопсичния материал се поставя в стерилен контейнер и ако е малък по размер се добавят капчици стерилен физиологичен разтвор, за да се запази влажността на пробата.

Транспортирането да стане веднага и на стайна температура ако пробата се обработва веднага. Ако това е невъзможно, пробата се съхранява на 2 – 8 °С.

Тампони. За микробиологично култивиране тампоните се поставят в транспортна среда, което осигурява овлажняване на материала.

За анализ с ПВР тампоните се поставят в празна епруетка. Транспортирането може да стане на стайна температура.

Проби от респираторната система. Пробите да се поставят в контейнер с винтова капачка и да се транспортират до лабораторията максимално бързо. Ако това е невъзможно, пробата се съхранява на 2 – 8 °С.

Аспирати. Аспиратите се взимат със стерилна игла и спринцовка и се прехвърлят непосредствено след взимането в стерилен контейнер или епруетка. Транспортира се при стайна температура за незабавно обработване.

Аутопсионен материал. Процедира се както при биопсичен материал

Контакти:

Преди изпращане на проби телефонирайте в Националната Референтна Лаборатория по Особено Опасни Бактериални Инфекции (НРЛ ООБИ) 02 8319125

Пробите се изпращат на адрес:

1233 София, бул. Генерал Столетов 44А, НЦЗГБ, НРЛ ООБИ

Инструкция за вземане и изпращане на водни проби за туларемия

Контаминиране на водата с туларемийни бактерии (*Francisella tularensis*) в естествена среда може да стане при попадане на трупове/екскременти на заразени животни в не добре покрити или открити кладенци, потоци и други открити водоеми. Водата може да остане контаминирана за повече от месец и дивите животни (гризачи и по-едри бозайници) да се заразят при водопой. Това е един от начините за възникване на огнища на туларемия сред дивите животни (епизоотии).

Възможно е контаминиране и на водата във водопроводната мрежа при ремонтни и други изкопни дейности, течове, наводнения и пр.

Контаминирана с *F. tularensis* вода е опасна и представлява възможен източник на инфекция и при хора и домашни животни. Особено опасно е използването на открити и неконтролирани кладенци/бунари за питейни и битови нужди.

Вземане на водни проби за туларемия

I. Предварителен етап

1. Уведомяване по телефон на НРЛ Особено Опасни Бактериални Инфекции към НЦЗПБ, преди пробонабирането

2. Подготовка на необходимите за пробонабиране материали:

- стерилни пластмасови/стъклени съдове (банки) с плътно затварящи се на винт капачки - обем от 1 литър (или 500мл)
- според броя на водните източници, от които ще се вземат проби, се предвиждат достатъчно съдове за пробонабиране в количество 3-5 л./проба.
- стерилни потапни пробосъбирачи (при необходимост и възможност)
- за проби от ВИК - неутрализатор на свободен хлор (0.5мл 0.1N $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ на 1 литър вода)
- дезинфектант (напр. 70% етилов алкохол)
- добре прилепващи етикети за съдовете, водоустойчив маркер
- хладилни чанти, а при използване на стъклени съдове и уплътняващ материал за поставяне между тях.

II. Вземане на пробите

Внимание! При вземане на водните проби, контейнерите не трябва да се пълнят до горе! Нивото на водата трябва да достига максимум до 2см. под началото на гърлото на банката (3 см. ако контейнера няма гърло).

1. От кладенци и други открити водоеми се вземат потапни проби:

- пробите се взимат от дълбочина 10-15 см. и 0,5-1 м.
- водата се загребва посредством стерилни потапни пробосъбирачи или други приспособени за случая стерилни съдове и се поставя в контейнера за транспорт.

- след плътно затваряне на контейнера, в който пробата ще се транспортира, същият се дезинфектира отвън и етикетира, преди поставянето му в хладилната чанта.

2. От водопроводи за питейни/битови нужди:

- провежда се дезинфекция на крана
- водата се пуска да тече в продължение на 10 минути;
- пробата се взема в съответния контейнер/и
- към пробата се добавя $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ и контейнерът се затваря плътно
- внимателно разклащане на контейнера за добро смесване.

3. Всички проби се описват в съпроводително писмо, което съдържа следните данни:

- Дата на пробонабирането, Име на пробовземача, Месторабота
- Цел на изследването
- Откъде е взета пробата (вид на водоизточника, район и т.н.)
- Вид на пробата (потапна, дълбочина/ чешмяна)
- Условия - ако е приложимо (след дъжд, след ВИК ремонти, след наводнение и пр.)
- Дата на изпращане на пробата (ако е различна от дата на пробовземане се описват условията, при които е съхранявана до изпращането ѝ)
- По кого се изпраща
- Задължително актуален телефон за връзка

III. Опаковане и изпращане

1. Проверява се съответствието между етикетите на контейнерите и описанието на пробите в съпроводителното писмо.
2. Пробите се подреждат в хладилна чанта с охладители, които да осигурят температура при транспорта от $+5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
3. При използване на стъклени контейнери, между тях се поставя уплътняващ материал.
4. Пробите се доставят по най-бързият възможен начин в НРЛ Особено опасни бактериални инфекции, НЦЗПБ.

IV. Контакти:

Преди изпращане на проби телефонирайте в Националната Референтна Лаборатория по Особено Опасни Бактериални Инфекции (НРЛ ООБИ) 02 8319125

Пробите се изпращат на адрес:

1233 София, бул. Генерал Столетов 44А, НЦЗПБ, НРЛ ООБИ

Инструкция за вземане и изпращане на материали от животни за туларемия

Материали от животни се изследват за *F. tularensis* при съмнение за или установен епидемичен взрив или епизоотия от туларемия.

Изследват се:

- органи от животински трупове и/или уловени живи животни - диви зайци, полевки, мишки и други гризачи в природните огнища, както и от плъхове и мишки в населените места;
- кръвосмучещи ектопаразити (кърлежи и бълхи), свалени от животните или намерени в епизоотичното огнище.

I. Умрели животни

- Предварително трябва да бъде изключена друга причина (напр. отравяне) за измирането на животни в природните огнища.
- При събирането на умрели животни трябва да се има предвид, че най-високо възприемчиви към туларемия са: зайци, полевки, домашни мишки, водни плъхове, ондатри и в по-малка степен сиви плъхове и други видове гризачи.
- Задължително се спазват следните правила:
 - Използват се лични предпазни средства (ЛПС) - дебели гумени ръкавици.
 - По възможност се избягва вземането на животински трупове във фаза на напреднало разлагане.
 - Животните се поставят в подходящи пластмасови, добре затварящи се контейнери или в добре затворена двойна найлонова опаковка.
 - Опаковката се номерира и надписва, в съответствие с данните съдържащи се в съпроводителното писмо.
 - При невъзможност да бъдат доставени в лабораторията в рамките на 24 часа, пресните труповете се замразяват на -20°C и в последствие се транспортират в условия, предотвратяващи размразяването им.
 - Ако поради атмосферните условия, животинските трупове са замръзнали при откриването им, се вземат мерки да се предотврати размразяването им по време на съхранение и транспорт до лабораторията.

II. Живи животни

- Влизат в съображение, когато не са намерени умрели животни в огнищата.
- Освен изброените в точка I. бозайници, тук се обръща внимание и на болни хищни животни, вкл. котки и кучета, при които има съмнение за контакт със заразени гризачи.
- Уловените екземпляри се поставят в подходящи контейнери, чиито отвори за осигуряване на въздух са покрити с дебел слой марля или гъста метална мрежа.
- Транспортират се до лаборатория, с персонал обучен за вземане на проби от животински органи и тъкани.

III. Органи и тъкани

- Вземане на проби от органи и тъкани се извършва от обучен за целта персонал (ветеринарни специалисти), при използване на ЛПС: дебели гумени ръкавици, лицева маска (FFP3), защитни очила, непромокаема престилка.
- От неразложени трупове или евтаназирани животни се вземат: далак, лимфни възли, черен дроб и бъбрек.
- При напреднало трупно разлагане се взема тръбна кост или 2-5 сс костен мозък.
- Всеки орган/материал от него се поставя в отделен контейнер, който се затваря плътно, външната му повърхност се дезинфектира и се надписва.
- По най-бързият начин пробите се транспортират в хладилни условия (2-8⁰С) до РЗИ по места и от там се изпращат до Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ) в НРЛ по Особено опасни бактериални инфекции (НРЛ ООБИ)
- Унищожаването на животинските трупове се извършва в екарисаж.

V. Ектопаразити (вектори) – кърлежи и бълхи

- Работи се с ръкавици и пинсети!
- Ектопаразити се събират като се свалят от уловените/намерени животни или се събират на различни места в огнището.
- За векторите свалени от едно животно или събрани от едно гнездо се използва един контейнер.

- За бактериологично изследване е необходимо изпращане на живи ектопаразити. Запазване виталността на уловените екземпляри се постига с осигуряване на влажна среда (свежи тревички или навлажнено с вода памуче) в добре затворен контейнер, който се съхранява (макс. 5 дни) и транспортира при температура на околната среда.
- За молекулярно-биологично изследване (PCR) може да се изпратят и мъртви ектопаразити, поставени в добре затворени контейнери, транспортирани на 2-8°C.
- Ако се налага по-дълго съхранение пробите се замразяват и транспортират в лед.
- Контейнерите с ектопаразити се затварят плътно, външната им повърхност се дезинфектира и се надписват.

VI. Съпроводително писмо

Всички материали/ проби се описват в съпроводително писмо, което съдържа:

- Дата на вземане на пробите, Име на пробовземача, Месторабота
- Цел на изследването
- Вид на пробата (описват се: орган/и, тъкан, ектопаразити)
- Животно от което е взета, състояние на животното при неговото откриване
- Откъде е взета пробата (район и т.н.)
- Дата на изпращане на пробата (ако е различна от дата на пробовземане се описват условията, при които е съхранявана до изпращането ѝ)
- По кого се изпраща
- Задължително актуален телефон за връзка

VII. Опаковане и транспортиране на пробите

- Материалите за изследване, съмнителни за туларемия спадат към категория Б (Category B) биологични вещества (UN 3373): Първичният контейнер се поставя в плътно затварящ се втори контейнер, като пространството между тях се уплътнява с абсорбиращ материал (лигнин). Вторият контейнер и съпроводителното писмо се поставят в картонена кутия, която се запечатва и етикетира с адресите на изпращача и получателя.

- Според материала, който се изпраща се спазва и необходимия за него (виж по-горе) температурен режим на транспортиране (2-8⁰С; -20⁰С; околна температура).
- Забранено е изпращане по поща!
- Пробите се изпращат в НРЛ ООБИ по куриер.
- **Контакти:**

Преди изпращане телефонирайте в Националната Референтна Лаборатория по Особено Опасни Бактериални Инфекции (НРЛ ООБИ) тел. 02 8319125

Пробите се изпращат на адрес:
1233 София, бул. Генерал Столетов 44А, НЦЗПБ, НРЛ ООБИ

VIII. Пост-експозиционна профилактика

- При инцидент (ухапване, убождане, изпръскване и пр.) с вероятно инфекциозен материал се препоръчва ежедневно проследяване за повишаване на телесната температура или поява на други, характерни за туларемия клинични прояви при пострадалия.
- Проследяването е за период от 14 дни.
- При съмнение за развитие на инфекция се провежда консултация с инфекционист и се изпраща материал за изследване в НРЛ ООБИ, НЦЗПБ.

ТУЛАРЕМИЯ

Основни правила в диагностиката и проучването на случаи

Клинично описание (форми): Заболяване, характеризиращо се с няколко клинични форми както следва:

- Улцерогландуларна – кожно разязвяване и увеличени регионални лимфни възли
- Гландуларна – регионална лимфаденопатия без наличие на разязвяване
- Окулогландуларна – конюнктивит с увеличен преаурикуларен лимфен възел
- Чревна – болка в коремната област, повръщане, диария
- Белодробна – инфекция на белите дробове и плеврата
- Тифоидна – треска без ясно локализирани симптоми, даващи идея за първичен афект

Клиничната диагноза се подкрепя ако има данни за кърлежово охаване, данни за контакт с гризачи и зайци или потенциално контаминирани води.

Лабораторни критерии в надзора на Туларемията:

Потвърдителни критерии:

- Изолация на бактериалния причинител
- Откриване ДНК на причинителя в клиничен материал от болен
- Четирикратна и по-голяма промяна в серумните нива на антитела срещу причинителя.

Презумптивни критерии:

- Наличие на единичен висок титър антитела срещу *F.tularensis*
- Откриване на *F.tularensis* в клиничен материал с имунофлуоресценция

На базата на горните лабораторни критерии определяме случаите като потвърдени (с изпълнени потвърдителни критерии) и вероятни (с изпълнени презумптивни лабораторни критерии).

Инкубационен период: Най-често 3 – 5 дни, но може да достигне 2 седмици.

Заразност: Болестта не се предава от човек на човек, но пурулентните секрети от лезиите са потенциално заразни. Заразените кърлежи носят причинителя през целия си живот, което ги прави опасни при пиране без ръкавици.

След преболедуване човек придобива дълготраен имунитет, но са описани и реинфекции.

Лечение: За терапия се използват Стрептомицин, Гентамицин, Доксициклин и Ципрофлоксацин с продължителност 2 до 3 седмици в зависимост от стадия на заболяването и използвания медикамент.

Съобщаване: При случай на Туларемия, същия се докладва на РЗИ с «Бързо известие» съгласно Наредба № 21 от 2005 г. на МЗ за реда за регистрация, съобщаване и отчет на заразните болести.