Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

1.3. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Организация мониторинга заносов и распространения гриппа птиц в природных условиях на территории Российской Федерации

Методические рекомендации

Издание официальное

Москва • 2009

gost.e-ecolog.ru

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

1.3. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Организация мониторинга заносов и распространения гриппа птиц в природных условиях на территории Российской Федерации

Методические рекомендации

ББК 51.9
О64

О64 **Организация** мониторинга заносов и распространения гриппа птиц в природных условиях на территории Российской Федерации: Методические рекомендации.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009.—39 с.

ISBN 978—5—7508—0809—0

1. Разработаны Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Г. Г. Онищенко, Е. Б. Ежлова, Г. Ф. Лазикова); ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (И. Г. Дроздов, А. Н. Сергеев, А. П. Агафонов, А. М. Шестопалов, Е. А. Ставский, А. Ю. Алексеев, О. К. Демина, Е. Б. Шеметова, А. А. Сергеев, Ю. В. Туманов, В. А. Терновой); ФГУЗ ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Г. А. Шипулин, А. Т. Подколзин, С. Б. Яцышина); ФГУЗ РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора (А. В. Топорков, С. А. Щербакова, Н. В. Попов, В. П. Топорков, А. А. Слудский, И. Н. Шарова, М. Н. Ляпин, А. Н. Матросов, В. Н. Чекашов, Т. Ю. Красовская); ГУ НИИ гриппа РАМН (О. И. Киселев, Л. М. Цыбалова, Т. Г. Лобова).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-гигиеническому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены и введены в действие Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 26 декабря 2008 г.

4. Введены взамен методических рекомендаций «Организация мониторинга заносов и распространения гриппа птиц в природных условиях на территории Российской Федерации» от 17.11.06 № 0100/12294-06-34.

ББК 51.9

ISBN 978—5—7508—0809—0

© Роспотребнадзор, 2009
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2009

Список сокращений

ВГПА – вирус гриппа птиц типа А

Биобезопасность – биологическая безопасность

ИФА – иммуноферментный анализ

МФА – метод иммунофлуоресцирующих антител

ОТ-ПЦР – метод обратной транскрипции – полимеразной цепной реакции

РТГА – реакция торможения гемагглютинации

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения

Содержание

1. Область применения 5
2. Общие положения 5
3. Обоснование необходимости осуществления мониторинга за гриппом птиц 7
4. Организация эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях 8
4.1. Эпизоотологические и эпидемиологические особенности гриппа птиц 8
4.2. Цель и задачи эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях 12
4.3. Тактика и методы эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях 13
4.4. Правила сбора, хранения и транспортирования материала для лабораторного исследования 15
5. Методы лабораторных исследований 19
6. Обеспечение требований биологической безопасности при проведении эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях 21
7. Обеспечение биологической безопасности при проведении лабораторных диагностических исследований 23
8. Нормативные ссылки 24
Приложение 1. Перечень документации, разрешающей сбор полевого биологического материала в рамках мониторинга за птичьим гриппом в границах Российской Федерации 27
Приложение 2. Перечень снаряжения, имущества и оборудования экспедиционной группы, выезжающей для эпизоотологического обследования в природных очагах гриппа птиц (из расчета на 5 человек) 29
Приложение 3. Перечень лабораторного оборудования для проведения исследований на птичий грипп 33
Приложение 4. Режимы обеззараживания различных объектов, зараженных патогенными микроорганизмами (извлечения из приложения к СП 1.3.1285—03) 37

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации

Г. Г. Онищенко
26 декабря 2008 г.
01/15701-8-34
Дата введения: с момента утверждения

1.3. ЭПИДЕМИОЛОГИЯ

Организация мониторинга заносов и распространения гриппа птиц в природных условиях на территории Российской Федерации

Методические рекомендации

1. Область применения

1.1. Методические рекомендации разработаны на основании Федерального закона Российской Федерации «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» № 52 от 30.03.99.

1.2. Настоящие методические рекомендации предназначены для специалистов органов и учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и других организаций независимо от организационно-правовой формы собственности.

2. Общие положения

2.1. Целью введения настоящих методических рекомендаций является регламентация мероприятий по эпизоотологическому мониторингу за гриппом птиц в природных условиях. Комплекс мероприятий по мониторингу включает в себя организацию сбора, хранения и транспортирования материала, проведение лабораторных исследований, а также обеспечение биологической безопасности проводимых работ. Основной задачей мероприятий по мониторингу за гриппом птиц является выявле-

ние заносов возбудителя и распространения этой инфекции в популяциях диких животных околоводного комплекса с целью проведения адекватных противоэпидемических и профилактических мероприятий среди людей.

2.2. Организация и проведение мероприятий по эпизоотологическому мониторингу гриппа птиц в природных условиях на территории Российской Федерации осуществляется органами и учреждениями Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека во взаимодействии с органами и учреждениями Минсельхоза и Россельхознадзора.

2.3. Объем, характер и направленность проведения профилактических мероприятий среди людей определяются результатами эпизоотологического обследования и прогнозом эпизоотической и эпидемической ситуации по гриппу птиц в конкретных субъектах Российской Федерации.

2.4. Управления Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации, на территории которых обнаружены эпизоотии гриппа птиц, совместно с органами исполнительной власти субъектов, органами Россельхознадзора, МЧС и другими заинтересованными службами и ведомствами планируют проведение мероприятий, направленных на предупреждение распространения вируса среди домашней птицы, на птицефабриках и среди людей, а также направленных на минимизацию последствий от возможных вспышек, если они уже возникли, и их подавление. Комплексный план профилактических мероприятий по гриппу птиц составляют управления Роспотребнадзора совместно с органами управления здравоохранением субъектов Российской Федерации, Россельхознадзором и другими заинтересованными службами и ведомствами сроком не менее чем на 2 года с ежегодным корректированием.

2.5. Прогноз эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по гриппу птиц на территории Российской Федерации составляется научно-методическим центром по референс-диагностике и изучению высокопатогенных штаммов вируса гриппа – НМЦГ (ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора). Прогноз составляется на основе предоставляемых в НМЦГ заключений об эпидемиологической и эпизоотологической обстановке по гриппу птиц в России (1—2 раза в год), подготовленных Центром экологии и эпидемиологии гриппа – ЦЭЭГ (ГУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН) и Федеральным Центром по гриппу – ФЦГ (ГУ НИИ гриппа РАМН). Эти заключения формируются на основе представляемой в адрес ЦЭЭГ и ФЦГ информации от курируемых ими

соответствующих учреждений (противочумные станции и опорные базы, определенные Приказом Роспотребнадзора от 31.03.05 № 373). Сформулированный обобщенный прогноз и заключения об эпидемиологической и эпизоотологической обстановке в России направляются в Федеральную службу по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Данные прогноза эпидемиологической и эпизоотологической ситуации по гриппу птиц на территории Российской Федерации передаются в ВОЗ, на информационный сайт НМЦГ, в Национальные центры по гриппу стран СНГ и учреждения-разработчики (ЦЭЭГ и ФЦГ) после согласования с Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

2.6. Консультативно-методическая и практическая помощь управлениям Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации по вопросам профилактики и проведения противоэпидемических мероприятий среди людей на территориях, пораженных эпизоотией гриппа птиц, осуществляется НМЦГ, ЦЭЭГ и ФЦГ, Противочумным центром, региональными центрами по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, созданных на базе противочумных учреждений.

3. Обоснование необходимости осуществления мониторинга за гриппом птиц

Необходимость проведения мониторинга за гриппом птиц определяется реальной опасностью заносов возбудителя этого заболевания перелетными птицами и формирования очагов инфекции во многих регионах Российской Федерации, а также возникновения эпизоотий среди домашних птиц и потенциальная способность вируса гриппа птиц вызывать заражение человека.

С 1997 г. отмечаются эпизоотии среди диких и домашних птиц, вызванных высокопатогенными вирусами гриппа А субтипа H5N1, способными вызывать также тяжёлые заболевания среди людей с высокой летальностью. В последние годы происходит расширение *ареала вируса гриппа* птиц, увеличение видового спектра носителей, повышение вирулентности циркулирующих штаммов. Способность выживать в окружающей среде в течение длительного времени, особенно при низких температурах, обусловливает расширение ареала распространения вируса и необходимость проведения мероприятий по мониторингу на обширных территориях Российской Федерации.

Случаи передачи вируса гриппа А субтипа H5N1 от человека к человеку не зарегистрированы, хотя семейные очаги заболеваний отмечались неоднократно. Однако совместная циркуляция штаммов вирусов гриппа человека и птиц повышает вероятность события реассортации и возникновения пандемичного варианта вируса гриппа.

Федеральная служба по ветеринарному и фитосанитарному надзору (Россельхознадзор) контролирует обстановку по птичьему гриппу, решая в первую очередь проблемы профилактики эпизоотических вспышек среди домашних животных. Вместе с тем эпизоотологический мониторинг гриппа птиц в природных биотопах в настоящее время проводится в недостаточном объеме.

4. Организация эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях

4.1. Эпизоотологические и эпидемиологические особенности гриппа птиц

Вирусы гриппа, которые принадлежат к семейству *Orthomyxoviridae*, классифицируются как А, В и С на основании антигенных различий в их нуклеопротеиновом (NP) и матричном (M1) белках. Из трех известных типов вирус гриппа А является наиболее патогенным и инфицирует разнообразные виды животных, включая свиней, лошадей, морских млекопитающих и птиц, периодически вызывая пандемии в человеческой популяции. Дальнейшее разделение вируса гриппа А на субтипы основано на антигенных свойствах двух поверхностных гликопротеинов: гемагглютинина (H) и нейраминидазы (N). В настоящее время известны 16 вариантов гемагглютининов (H1—H16) и 9 вариантов нейраминидаз (N1—N9). Только вирусы гриппа А вызывают инфекции птиц. Все известные на сегодняшний день комбинации из гемагглютининов (H1—H16) и нейраминидаз (N1—N9) гриппа были изолированы от птиц. Вирусы гриппа А, инфицирующие домашнюю птицу, могут быть разделены на две группы на основе их патогенности. Высоковирулентные вирусы вызывают «птичью чуму» – высокопатогенный грипп птицы (highly pathogenic avian influenza – HPAI), при которой смертность достигает 100 %. Эти вирусы ограничены H5, H7 и H9 субтипами, хотя не все штаммы этих субтипов вызывают HPAI. Все другие субтипы вируса, вызывающие более слабую форму респираторного заболевания, обозначаются как низкопатогенный грипп птицы (LPAI). Впервые вирус высо-

копатогенного гриппа птиц субтипа H5N1 был выделен от цыпленка в 1959 г. в Шотландии.

Вирусы гриппа птиц обладают высокой изменчивостью и способностью к мутациям, что приводит к постоянному возникновению новых штаммов вируса, в том числе обладающих повышенной вирулентностью. Важной особенностью вируса гриппа птиц субтипа H5N1 является способность выживать в окружающей среде в течение длительных периодов времени, особенно при низких температурах (например, в загрязненной пометом воде). В воде вирус может выживать до 4 дней при 22 °С и более 30 дней при температурах 4—6 °С, в фекалиях – в течение 35 дней при температуре 0 °С. Длительная сохранность вируса в объектах внешней среды обусловливает расширение ареала распространения вируса и необходимость проведения мероприятий по мониторингу на большем количестве территорий Российской Федерации.

Основной путь передачи инфекции в природе – фекально-оральный. Вирусы в организме птиц локализуются в верхних дыхательных путях и кишечнике. Большое количество вирусов содержится в фекалиях инфицированных птиц, сохраняясь там до 3 месяцев. У птиц зарегистрирована также трансовариальная передача вирусов (птенцы вылупляются из яиц уже больными). Есть предположение о возможности трансмиссивного пути передачи вируса эктопаразитами птиц (комарами, пухоедами).

Основные носители вируса гриппа птиц в природе – дикие птицы околоводного комплекса (в основном представители отряда гусеобразных, ржанкообразных, чайкообразных и аистообразных). Зарегистрировано более 100 видов птиц из 15 отрядов, спонтанно заражённых этой инфекцией. У диких птиц, вирус, хотя и сохраняется в верхних дыхательных путях и лёгких, может не вызывать манифестных форм заболевания. Инфекция протекает как бессимптомно, так и со слабо выраженными одним (чаще энтеритом) или несколькими клиническими признаками. Больные птицы могут длительно выделять с экскретами большое количество активного возбудителя в окружающую среду, что приводит к заражению восприимчивых животных. Носителями могут стать и птицы антропогенного комплекса (сороки, вороны, грачи, скворцы, воробьи), транспортирующие вирусы на птичий двор, где кормятся вместе с курами. Вирусы гриппа птиц обнаружены также у млекопитающих – свиней, лошадей, северных оленей, тюленей, моржей, китов, кошек, тигров, норок и грызунов.

Из домашних птиц основная роль в качестве носителей вируса H5N1 принадлежит уткам и гусям, которые зачастую сами не болеют или переносят инфекцию в лёгкой форме, но выделяют вирус в окружающую среду в большом количестве. Куры, особенно их молодняк и несушки, очень чувствительны к гриппу птиц. Именно в их популяциях возникают массовые эпизоотии, приводящие к 100 % гибели поголовья. Болеют также индюки, перепёлки, куропатки, бойцовские петухи, павлины, цесарки, страусы и попугаи.

Инкубационный период болезни у птиц длится 1—7 дней. Клиническими признаками болезни являются вялость, снижение яйценоскости, отказ от пищи, взъерошенность перьев, истечения из носовой и ротовой полостей, понос, синюшность гребня и серёжек, раздутие и подкожное кровоизлияния шпор, судороги и паралич. Смерть наступает очень быстро, зачастую в течение первых суток после инфицирования. Чаще всего заболевают птицы на личных подворьях и фермах с открытым выпасом птицы. Крупные животноводческие хозяйства, где соблюдается режим закрытого содержания, поражаются гораздо реже.

Устойчивые природные очаги гриппа птиц находятся в странах Юго-Восточной Азии, где вирус инфекции способен циркулировать круглогодично в популяциях местных и зимующих перелётных птиц, скапливающихся на водоёмах. Мигрирующие с юга на север дикие птицы, совершающие дальние перемещения на места постоянных гнездовий (чайки, кулики, аистообразные и воробьиные), заносят вирус на водоёмы, где происходит заражение оседлых видов.

В настоящее время на территории России, Китая, Монголии, Казахстана, Азербайджана, Украины, Турции, Египта, Ирака, Румынии и других стран Евразии вдоль пролётных трасс мигрирующих птиц сформировались и функционируют заносные природные очаги, откуда возможна дальнейшая экспансия гриппа птиц субтипа H5N1 на территорию России и сопредельных государств.

Первая документированная передача вируса гриппа птиц людям зарегистрирована в 1996 г., а передача субтипа H5N1 – в Гонконге в 1997 г., когда из 18 заболевших 6 человек погибли. В настоящее время заболевание у человека, вызванное вирусом гриппа птиц – субтип H5N1, официально зарегистрировано в 13 странах – Азербайджан, Камбоджа, Китай, Джибути, Египет, Индонезия, Ирак, Лаос, Нигерия, Таиланд, Турция, Вьетнам, Мианмар.

Основной путь заражения людей вирусом гриппа птиц – при контактах с зараженной птицей, при разделке тушек больной птицы.

Длительность инкубационного периода при гриппе A(H5N1) составляет обычно 2—3 дня с колебаниями от 1 до 7 дней. Заболевание начинается остро – с озноба, миалгии, возможны боли в горле, ринорея. В странах Юго-Восточной Азии более чем у половины больных отмечалась водянистая диарея при отсутствии слизи и крови в фекалиях, в четверти случаев повторная рвота. Повышение температуры тела является одним из ранних и постоянных симптомов. Уже в первые часы болезни температура превышает 38 °С и часто достигает высоких и гиперпиретических значений. В разгар заболевания (на 2—3-й день болезни) характерно поражение нижнего отдела дыхательных путей (нижний респираторный синдром) с возможным развитием первичной вирусной пневмонии: кашель, одышка и дисфония. Кашель обычно влажный, в мокроте нередко отмечается примесь крови. Аускультативно-жесткое дыхание, хрипы. На рентгенограмме грудной клетки в ранние сроки находят неспецифические изменения в легких – диффузные, мультифокальные или отдельные инфильтраты, которые способны к быстрому распространению и слиянию. В некоторых случаях могут быть обнаружены сегментарные или долевые уплотнения. Прогрессирование заболевания сопровождается развитием дыхательной недостаточности и острого респираторного дистресс-синдрома.

В периферической крови больных определяется:

- лейкопения (< $21{,}0 \times 10^9$/л);
- лимфопения; средний уровень $0{,}7 \times 10^9$/л (от 0,25 до $1{,}1 \times 10^9$/л при нижней границе нормы $1{,}2 \times 10^9$/л);
- тромбоцитопения; средний уровень $75{,}5 \times 10^9$/л (от 45,0 до $174{,}0 \times 10^9$/л при нижней границе нормы $180{,}0 \times 10^9$/л).

Проявлениями пантропизма вируса, развивающегося в процессе интоксикации, может быть поражение печени и почек, более чем у 30 % больных развивается острая почечная недостаточность. При биохимическом исследовании крови, как правило, выявляется повышение активности трансаминаз, нередко наблюдается креатининемия.

Дети младшего возраста переносят заболевание в тяжелой форме. К основным синдромам у них возможно присоединение симптомов энцефалита. В этом случае симптоматика дополняется сильной головной болью, рвотой, нарушением сознания и тошнотой.

4.2. Цель и задачи эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях

Основной целью эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц является своевременное выявление случаев заноса вируса гриппа птиц в природные биотопы и отслеживание особенностей распространения этой инфекции среди диких животных околоводного комплекса.

Для обеспечения цели необходимо решить следующие задачи:

- выбрать географические точки для мониторинга с составлением кадастра водоемов, где скапливается большое количество птиц лимнофильного комплекса для отдыха, гнездования и кормежки;
- организовать выездные мобильные бригады для сбора проб материала на исследование;
- установить видовой состав, численность, особенности размещения потенциальных носителей ВГП в биотопах околоводного комплекса;
- осуществлять сбор проб полевого материала для лабораторного исследования на наличие вируса гриппа птиц, обработку и оперативный анализ полученных результатов;
- изучить эпизоотологический статус отдельных видов и групп птиц и других животных околоводных биоценозов;
- изучить параметры эпизоотического процесса в очагах гриппа птиц (сезонные особенности, площади эпизоотий, видовой спектр зараженных животных и др.);
- оценить степень опасности инфицирования различных типов водоемов, располагающихся в непосредственной близости от сельских населенных пунктов и крупных птицеводческих хозяйств;
- составить список населённых пунктов, где возможно заражение домашних животных гриппом птиц от диких околоводных птиц;
- разработать мероприятия по предупреждению эпизоотических вспышек и заболеваний людей;
- проводить санитарно-просветительную и разъяснительную работу среди местного населения;
- составлять прогнозы развития ситуации;
- организовать оповещение органов здравоохранения и местных органов исполнительной власти о результатах эпизоотологического обследования территорий на наличие очагов вируса гриппа птиц и прогнозе развития эпидемической ситуации.

4.3. Тактика и методы эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях

Основой эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях является обследование водных и околоводных биоценотических комплексов, которое осуществляется в плановом порядке. Поиск возбудителя гриппа птиц должен проводиться, в первую очередь, в околоводных биотопах, расположенных как в местах концентрации и гнездования, так и вдоль, и внутри межконтинентальных трасс сезонных перелетов или кочевок птиц, относящихся, прежде всего, к отрядам гусеобразных, ржанкообразных, поганкообразных, веслоногих, голенастых, журавлеобразных, голубеобразных, куриных, воробьиных. При этом участки для сбора материала выбираются вблизи и (или) на территории населенных пунктов и мест рекреации, а также на территориях, где отмечался падеж птиц от гриппа и случаи заболевания людей. Здесь же подбирают и ключевые участки (пункты долговременного мониторинга – ПДМ), где исследования будут проводиться в течение нескольких сезонов. Каждый участок обследуют минимум 3 раза в год (в период весенних миграций, в гнездовой и послегнездовой периоды). По эпидпоказаниям проводят экстренные дополнительные эпизоотологические обследования.

Предпосылкой для начала эпизоотологического обследования околоводных биотопов является начало весенней миграции птиц околоводного комплекса, информация о случаях падежа среди болотных, озерных, речных птиц.

Эпизоотическая ситуация оценивается на основании эпизоотологического обследования, при котором регистрируется состояние численности фоновых видов животных околоводных биотопов, и по результатам лабораторных исследований, подтверждающих наличие возбудителя гриппа птиц в различных объектах. На основании этих данных дается мотивированное заключение об опасности эпизоотии.

При эпизоотологическом обследовании на грипп птиц в естественных природных биоценозах необходимо обращать внимание на водоёмы, где скапливаются одиночные, стайные и колониальные птицы. Особенно на непроточные пресные или слабоминерализованные водоёмы с обилием прибрежно-водной и кустарниковой растительности, где имеются оптимальные условия для укрытий, отдыха, кормёжки и гнездования птиц. При выборе мест обследования и определении состава и количества проб руководствуются особенностями гидрографической сети обследуемой местности: расположением водоёмов, их размерами. В

первую очередь контролируются озёра, заболоченные низины, пруды, заливы, лиманы, ерики, плавни и др., располагающиеся в непосредственной близости от сельских населённых пунктов.

В процессе эпизоотологического обследования осуществляются наблюдения за погодными условиями, фенологическими явлениями, проводятся учёты птиц, характер их размещения, численности и активности. Необходимо выявлять и отслеживать сроки, длительность и трассы их массовых сезонных перелётов и кормовых кочёвок. При поиске очагов гриппа птиц обращают внимание на внешние признаки эпизоотий у диких птиц, особенно отмечая резкое снижение численности и активности пернатых, изменения в их поведении на водоёмах, появление вялых особей, взъерошенности перьев, малоподвижность и др. Учитывая высокую чувствительность птенцов к вирусу гриппа, больных особей вероятнее всего выявить в выводковый период.

Основными объектами при сборе проб для лабораторного анализа являются водоплавающие и околоводные птицы: гуси, лебеди, утки, кулики, чайки и крачки, цапли и пастушковые. Для получения полной информации следует добывать и других птиц, обитающих на водоёмах, включая дневных хищников (соколообразных) и воробьиных. Обязательно исследование птиц синантропных видов: голубей, сорок, ворон и воробьёв. Все павшие птицы, обнаруженные на водоёме или в прибрежной зоне, обязательно являются объектами сбора и лабораторного анализа. Необходимо отлавливать также мелких млекопитающих, обитающих по берегам водоёмов: водяную полёвку, ондатру, мышей, землероек и др.

Сроки и продолжительность экспедиционных полевых работ определяются погодным режимом, фенологическими явлениями года, особенностями экологии птиц. Оптимальными сроками для сбора материала при изучении гриппа птиц следует считать периоды массовых сезонных миграций перелётных птиц весной и осенью (апрель, сентябрь), а также гнездовой и выводковый периоды от появления птенцов до их подъёма на крыло (май—июль).

На предварительном этапе, перед выездом в поле, осуществляется изучение картографических материалов, приобретаются топографические, гидрографические, геоботанические или ландшафтные карты и схемы масштабов 1 : 25 000—1 : 200 000. На основании этих документов составляются календарно-территориальные планы и графики работы, намечаются места стоянок и маршруты движения зоологических групп.

Эпизоотологическое обследование осуществляется путем последовательного радиального объезда территории. Маршруты, последовательность переездов, места, количество и длительность стоянок определяются в зависимости от обстановки, характера местности, условий работы, удобства подъездов и транспортирования собранных проб в лабораторию.

В обязанности экспедиционной группы вменяется также наблюдение за населением: его численностью, хозяйственной деятельностью и характером пребывания на водоёмах. Особое внимание обращается на перемещение сельскохозяйственных рабочих, охотников, рыбаков, туристов и отдыхающих в период возможных ухудшений обстановки по гриппу птиц. Необходимо проводить активную разъяснительную и санитарно-просветительную работу среди местного и временного населения, тесно контактируя с представителями местных органов здравоохранения, власти, милиции, представителями ветеринарной службы.

Минимальный состав полевой группы: орнитолог, териолог, вирусолог, эпидемиолог, лаборант, водитель, повар. Отстрел птиц можно проводить на договорной основе силами специальной бригады охотников.

При эпизоотологическом обследовании используют общепринятые зоологические и экологические методы, регламентированные действующими нормативными документами (например, МУ 3.1.1029—01).

4.4. Правила сбора, хранения и транспортирования материала для лабораторного исследования

Все работы по сбору, хранению и транспортированию полевого материала, подозрительного на содержание вируса гриппа птиц типа А (субтипы Н5 и Н7), проводят в соответствии с действующими СП 1.2.036—95 и МУ 3.1.1027—01. Работу по сбору полевого материала проводят в сезонной защитной одежде, дополненной респиратором, защитными очками и резиновыми перчатками (прилож. 6 СП 1.3.1285—03).

Для лабораторного исследования из природных биотопов берут:

- птиц, птенцов;
- яйца птиц;
- фекалии птиц и (или) мазок из клоаки и трахеи;
- мелких млекопитающих околоводных биотопов;
- воду и ил в местах гнездований.

Добытых птенцов, мелких птиц и млекопитающих (живых и агонирующих особей предварительно умерщвляют с помощью корнцанга) помещают в мешочки из плотной белой ткани (каждое животное в от-

дельный мешочек), края мешочков два раза подворачивают и туго завязывают. Используют мешочки рубцом наружу. Их снабжают этикетками с указанием даты, точного адреса, стации, вида животного, фамилии сборщика. Для транспортирования тканевые мешочки с тушками животных помещают в клеенчатый мешок.

У крупных птиц берут мазок из клоаки и отсекают голову с участком шеи. Голову помещают в отдельный клеенчатый мешок, который снабжают этикеткой.

Условия хранения. При температуре от 2 до 8 °С – в течение суток, при необходимости длительного хранения животных вскрывают, органы и ткани замораживают при температуре ниже минус 40 °С.

Условия транспортирования. Тушки животных и головы – в течение суток при температуре от 2 до 8 °С. Органы – в замороженном виде в сосуде Дьюара или термоконтейнере с сухим льдом.

Мазки из клоаки берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами. После забора материала тампон (рабочую часть зонда) помещают в стерильную одноразовую микропробирку с 500 мкл стерильного 0,9 %-го раствора натрия хлорида или фосфатного буфера. Конец зонда отламывают или отрезают с расчетом, чтобы он позволил закрыть крышку пробирки. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают и ставят в штатив, который затем помещают в термоконтейнер с охлаждающими элементами.

Условия хранения. При температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 сут. При необходимости длительного хранения замораживают материал при температуре ниже минус 40 °С.

Условия транспортирования. При температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 сут. В замороженном виде – в сосуде Дьюара или термоконтейнере с сухим льдом.

Если птицу необходимо оставить живой (*представители редких видов*), у нее после отлова берут мазки из клоаки.

Яйца птиц забирают из гнезда (не более 50 % кладки), маркируют и помещают в пластиковые емкости с углублениями для яиц, перекладывая ватой. Емкости помещают в металлический контейнер и доставляют в лабораторию.

Условия хранения. В течение 3 сут. хранят при температуре от 2 до 8 °С. При необходимости длительного хранения содержимое яиц переносят в стерильные пластиковые флаконы с завинчивающимися крышками и замораживают при температуре ниже минус 40 °С.

Условия транспортирования. В течение нескольких часов после сбора – при температуре окружающей среды. В течение 3 сут. – при температуре от 2 до 8 °С. Содержимое яиц – в замороженном виде при температуре ниже минус 40 °С в термоконтейнере с сухим льдом.

Фекалии птиц (4—5 г) собирают одноразовыми лопатками (шпателями) в стерильные пластиковые контейнеры (пластиковые флаконы с завинчивающимися крышками).

Условия хранения. При температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 сут., при температуре минус 40 °С – 30 дней.

Условия транспортирования. При температуре от 2 до 8 °С – в течение 3 сут. Замороженный материал – в термоконтейнере с охлаждающими элементами при температуре минус 70 °С.

Воду и ил собирают в местах гнездовий в прибрежной зоне. Ил (5—10 г) собирают черпаками и переносят в стерильные пластиковые флаконы с завинчивающимися крышками. Воду в объеме 1 л собирают в стерильные пластмассовые бутылки с завинчивающимися крышками. Контейнеры и бутылки маркируют и помещают в металлический контейнер с поглощающим материалом, количество которого должно быть достаточным для адсорбции содержимого в случае нарушения целостности транспортной тары.

Условия хранения. При температуре от 2 до 8 °С.

Условия транспортирования. При температуре от 2 до 8 °С.

При заборе проб органов используют стерильный хирургический инструмент (ножницы, скальпели, пинцеты) и стерильную посуду.

Внутренние органы (фрагменты трахеи, легких, селезенки, мозга, синусы, воздухоносные мешки, кишечник) от забитой или павшей птицы, птенцов, а также мелких млекопитающих получают при вскрытии животных. Перед вскрытием тушку погружают в дезинфицирующий раствор (5 % хлорамин Б) на 20—30 с. При взятии проб органов животных место будущего разреза обрабатывают 5 %-м раствором йода или 70 %-м раствором этилового спирта и стерильными инструментами разрезают кожу, мышцы брюшной стенки или кости черепа. Разрез стенки брюшной полости делают «фартуком», доводя боковые линии разреза по ребрам выше уровня сердца, и откидывают образовавшийся лоскут, чтобы обнажить внутренние органы. Перед взятием головного мозга срезают всю затылочную часть черепа. С помощью второго набора инструментов отсекают кусочки внутренних органов размером от небольшой горошины до лесного ореха, над пламенем горелки укладывают

пробы в стерильные одноразовые пластиковые пробирки или контейнеры, герметично закрывают.

Условия хранения. Замораживают при температуре ниже минус 40 °С.

Условия транспортирования. В замороженном виде – в сосуде Дьюара или термоконтейнере с сухим льдом.

Мазки-отпечатки, полученные со слизистой оболочки верхних дыхательных путей (лучше) и внутренних органов, готовят на чистых обезжиренных эфиром предметных стеклах, к которым прижимают слизистые или свежие срезы органов. Препараты высушивают на воздухе и фиксируют в течение 20 мин в охлажденном от 2 до 8 °С химически чистом ацетоне. Помещают в штативы для предметных стекол (на ребро). Делают пометку, что мазки фиксированы.

Условия хранения. При температуре от 2 до 8 °С в течение недели, при температуре минус 20 °С – до 6 мес.

Условия транспортирования. При температуре от 2 до 8 °С.

Температура ниже минус 40 °С обеспечивается в сосуде Дьюара, наполненном жидким азотом (минус 196 °С) или в термоконтейнере с сухим льдом (минус 70 °С).

Транспортирование образцов осуществляют в соответствие с СП 1.2.036—95. Термоконтейнер и сосуд Дьюара обертывают бумагой (обшивают материалом), ошнуровывают, опечатывают и транспортируют в лабораторию с нарочным. К доставляемому материалу прилагают сопроводительное письмо, акт упаковки. На термоконтейнере и сосуде Дьюара должен быть особый знак (ярлык с отметкой) «Опасно! Не открывать во время перевозки». Если предполагается хранение и транспортирование материала в сосуде Дьюара или в термоконтейнере с сухим льдом, для забора материала используют герметичные пластиковые контейнеры, устойчивые к низким температурам, или криопробирки. Сосуды Дьюара и контейнеры с сухим льдом запрещается закрывать герметически, чтобы не препятствовать выходу медленно испаряющихся азота или углекислоты.

Перед выездом в полевые условия сосуды Дьюара должны быть проверены в лаборатории на соответствие паспортным данным и пригодность для эксплуатации и перевозки. При заправке, погрузке, выгрузке и переноске сосудов Дьюара необходимо иметь обычную спецодежду, обувь и брезентовые рукавицы, чтобы в случае разлива или разбрызгивания азота исключить возможность попадания его на открытые

части тела. При транспортировании сосуды Дьюара должны быть тщательно закреплены, чтобы исключить опрокидывание, разбрызгивание или разлив азота.

Допускается только однократное замораживание и оттаивание любого материала.

5. Методы лабораторных исследований

Лабораторные исследования проводят в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.1285—03, регламентирующими работу с микроорганизмами I—II групп патогенности (опасности), МУК 4.2.2136—06 «Организация и проведение лабораторной диагностики заболеваний, вызванных высоковирулентными штаммами вируса гриппа птиц типа А (ВГПА).

Метод флуоресцирующих антител (МФА)

Для МФА используют фиксированные мазки-отпечатки органов животных и слизистых оболочек. Реакцию проводят в соответствии с инструкцией к диагностическому препарату «Флуоресцирующие иммуноглобулины для ранней дифференциальной диагностики гриппа А (H5)», выпускаемого в ООО «Предприятие по производству диагностических препаратов» ГУ НИИ гриппа РАМН (г. Санкт-Петербург).

В каждом мазке просматривают не менее 20—25 полей зрения.

Оценку степени яркости свечения вирусных антигенов, окрашенных люминесцирующими иммуноглобулинами, проводят по общепринятой шкале:

++++ (4+) – яркая флуоресценция внутри клеток тканей;

+++ (3+) – умеренная флуоресценция внутри клеток тканей;

++ и + (2+ и 1+) – слабая флуоресценция внутри (или вне) клеток тканей.

Положительным результатом иммунофлуоресцентного исследования является обнаружение в препарате не менее 5—8 клеток ткани органа, имеющих характерные включения со специфической флуоресценцией на три и четыре плюса.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР)

Молекулярно-генетические исследования проводят в соответствии с действующими нормативными документами: МУ 1.3.1794—03 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного микроорганизмами I—II групп патогенности»; Рекомендациями ВОЗ по обнаружению вируса гриппа птиц субтипа H5N1 в образцах от

людей с подозрением на заболевание (ВОЗ, Женева, август 2007); Инструкцией по применению тест-системы для выявления РНК вируса гриппа А и идентификации субтипов Н5 и Н7 методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции (например, наборы «АмплиСенс *Influenza virus* А H5N1-FL» или «ГРИПП», производство ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора).

Набор «ГРИПП» позволяет выявлять РНК вируса гриппа А и идентифицировать субтипы Н5 и Н7 в материале от павших и больных животных и объектах окружающей среды. Материалом для исследования являются: помёт, мазки из клоаки и трахеи, внутренние органы (фрагменты трахеи и легких, селезенка, мозг), вода, смывы с яиц и белок яйца. Тест-система включает комплекты реагентов: для экстракции РНК, для получения кДНК на матрице РНК, для амплификации участков кДНК (проведения ПЦР) и детекции фрагментов амплификации в форматах электрофоретического анализа и гибридизационно-флуоресцентной детекции (FEP и FRT), а также содержит контрольные образцы.

Набор «АмплиСенс *Influenza virus* А H5N1-FL» позволяет выявлять РНК вируса гриппа А и идентифицировать субтип H5N1 в материале от павших и больных животных и объектах окружающей среды. Материалом для исследования являются: помёт, мазки из клоаки и трахеи, внутренние органы (фрагменты трахеи и легких, селезенка, мозг), вода, смывы с яиц и белок яйца. Тест-система включает комплекты реагентов: для экстракции РНК, для получения кДНК на матрице РНК, для амплификации участков кДНК (проведения ПЦР) и детекции фрагментов амплификации в форматах гибридизационно-флуоресцентной детекции (FEP и FRT), а также содержит контрольные образцы.

Иммуноферментный анализ (ИФА)

Для исследования используют индивидуальные сыворотки крови птиц без признаков гемолиза и бактериальной контаминации объемом 0,3—0,5 мл. Постановку реакции осуществляют согласно временному наставлению по применению набора для выявления антител к вирусу гриппа птиц (ВГП) иммуноферментным анализом (например, «Набор для выявления антител к вирусу гриппа птиц методом ИФА» пр-во НПП «АВИВАК»).

Учет результатов проводят на спектрофотометре при длине волны 492 нм (при использовании ОФД) или 450 нм (при использовании ТМБ).

Все этапы инкубации проводят в течение 30 мин при температуре 20—30 °С.

Реакция торможения гемагглютинации (РТГА)

Выявление специфических антител к вирусу гриппа птиц в сыворотках крови птиц осуществляют микрометодом в соответствии с наставлением по применению «Набора антигенов и сывороток для диагностики гриппа птиц в реакции торможения гемагглютинации (РТГА)».

Учет реакции проводят визуально после полного оседания эритроцитов в контрольных лунках (в виде «пуговки»). Титром антител в сыворотке считают наибольшее ее разведение, в котором полностью отсутствует агглютинация эритроцитов антигеном вируса гриппа.

Выявленные в ходе лабораторного исследования положительные пробы отправляют для выделения вируса и его идентификации в ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

6. Обеспечение требований биологической безопасности при проведении эпизоотологического мониторинга за гриппом птиц в природных условиях

Для обеспечения биологической безопасности работ при проведении эпизоотологического мониторинга в потенциальных природных очагах гриппа птиц необходимо учитывать следующее:

- в проведении обследования участвуют сотрудники противочумных учреждений, а также могут привлекаться сотрудники других медико-биологических организаций и институтов, имеющих допуск к работе с ПБА I—II групп патогенности. Вспомогательный персонал (водители, стрелки и т. п.) допускается к работе после проведения инструктажа;
- весь состав отряда или экспедиции должен быть ознакомлен с требованиями биологической безопасности при работе с возбудителями природно-очаговых инфекций, циркулирующих на данной территории. Ответственным за соблюдение этих требований при проведении отлова диких животных и сбора полевого материала является руководитель (начальник) эпидемиологического отряда (экспедиции);
- любой материал считается потенциально опасным в отношении возможного содержания возбудителей природно-очаговых болезней, свойственных той ландшафтной зоне, в пределах которой он собран;
- рекогносцировочное обследование местности, установку орудий лова осуществляют в специальной одежде (комбинезон или противоэнцефалитный костюм, сапоги);
- проверку выставленных орудий лова и сбор полевого материала проводят в рабочей одежде, дополненной фартуками и нарукавниками

из водонепроницаемой ткани (пленки), резиновыми перчатками (2 пары) [по окончании работ фартуки, нарукавники и перчатки дезинфицируют];

• для защиты органов дыхания используют одноразовые ватно-марлевые повязки или противопылевые респираторы (предпочтение отдается респираторам «Лепесток» или респираторам класса не ниже FFP2);

• защиту органов зрения осуществляют плотно прилегающими очками;

• дезинфекцию орудий лова и других инструментов проводят ежедневно по окончании работы путем прогревания на солнце (в летнее время), кипячения, обработки дезинфицирующими растворами с последующим проветриванием, ящики и отсадники обрабатываются дезинфицирующими растворами;

• разбор полевого материала, вскрытие животных проводят в противочумном костюме I типа (защита органов дыхания аналогична п. 6 настоящего раздела, особенности забора материала и подготовки проб для транспортировки в лабораторию изложены в разделе 4.4 «Сбор полевого материала для лабораторного исследования»);

• по окончании работ, приведенных в п. 9, инструменты и защитную одежду дезинфицируют (см. прилож. 4), использованные наконечники, пипетки обеззараживают погружением в 6 %-й раствор перекиси водорода на 60 мин, дозаторы обеззараживают двукратным протиранием с интервалом 15 мин 6 %-м раствором перекиси водорода (экспозиция 120 мин);

• остатки полевого материала, не подлежащего лабораторному исследованию, сжигают или обеззараживают автоклавированием, образовавшиеся отходы помещают в специально вырытые ямы, которые затем закапывают;

• транспортировку материала в диагностическую лабораторию осуществляют транспортом экспедиции;

• участники экспедиции подвергаются ежедневной термометрии, по окончании работ устанавливается обсервация сроком 7 дней;

• аптечка экстренной профилактики должна быть укомплектована в соответствии с СП 1.3.1285—03 и дополнена двумя из следующих противовирусных препаратов: арбидол, ремантадин, альгирем, озельтамивир, занамивир.

7. Обеспечение биологической безопасности при проведении лабораторных диагностических исследований

7.1. Проведение работ, не связанных с накоплением вируса, образованием аэрозолей инфицированного материала (окраска мазков, постановка серологических реакций с необеззараженным, диагностическим материалом, серологические исследования с необеззараженным материалом, выделение РНК) осуществляют в противочумном костюме IV типа, дополненном ватно-марлевой повязкой (респиратором) и двумя парами резиновых перчаток. Работы проводят в боксе биологической безопасности II класса*.

7.2. Проведение работ по заражению культур клеток или куриных эмбрионов, а также работ связанных с возможностью образования аэрозоля осуществляют в боксах безопасности III класса. Работы проводят в противочумном костюме IV типа, ватно-марлевой повязке (респираторе) и резиновых перчатках (две пары)*.

7.3. Работа с инактивированным материалом, проведение реакции обратной транскрипции и ПЦР, электрофоретической детекции результатов исследования осуществляют в противочумном костюме IV типа, дополненном резиновыми перчатками (две пары).

7.4. Перед началом работ персонал должен быть проинструктирован о порядке действий в случае возникновения аварий, включающих следующие сценарии: авария в боксе биологической безопасности; авария вне бокса биологической безопасности; авария с образованием аэрозоля.

7.5. Режимы обеззараживания различных объектов при лабораторной диагностике вируса гриппа птиц проводится в соответствии с СП 1.3.1285—03:

7.5.1. Обеззараживание поверхностей помещения (пол, стены, двери), оборудования, рабочих столов и другого двукратным протиранием с интервалом 15 мин 6 %-м раствором перекиси водорода или 3 %-м раствором хлорамина (экспозиция 120 мин) с последующей обработкой УФ в течение 30 мин.

7.5.2. Обеззараживание защитной одежды осуществляют:

а) кипячением в 2 %-м растворе соды в течение 30 мин с момента закипания;

---

* При отсутствии боксов биологической безопасности работы проводят в противочумном костюме I типа, дополненном водонепроницаемым фартуком и второй парой перчаток.

б) замачиванием на 30 мин при 50 °С в 3 %-м растворе перекиси водорода с добавлением 0,5 % моющего средства.

7.5.3. Обеззараживание перчаток – замачиванием на 60 мин в 6 %-м растворе перекиси водорода с добавлением 0,5 %-го моющего средства или в 3 %-м растворе хлорамина.

7.5.4. Обеззараживание лабораторной посуды, автоклавируемых дозаторов, наконечников, вируссодержащих жидкостей, агарозного геля, инструментария из металла проводится методом автоклавирования – давление 2,0 кГс/см^2 (0,2 МПа), температура (132 ± 2) °С, время 45 мин.

7.5.5. Обеззараживание дозаторов – двукратным протиранием с интервалом 15 мин 6 %-м раствором перекиси водорода (экспозиция 120 мин), с последующей обработкой УФ в течение 30 мин.

7.6. Аптечка экстренной профилактики должна быть укомплектована в соответствии с СП 1.3.1285—03 и дополнена двумя из следующих противовирусных препаратов: арбидол, ремантадин, альгирем, озельтамивир, занамивир.

8. Нормативные ссылки

1. Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан. М., 1993.

2. Закон Российской Федерации от 30.03.99 № 52 ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

3. Закон Российской Федерации от 14.07.93 № 133 «Об охране окружающей среды».

4. СП 1.3.1285—03 «Безопасность работы с микроорганизмами I—II групп патогенности (опасности)».

5. СП 1.2.731—99 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности и гельминтами».

6. СП 1.2.036—95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортировки микроорганизмов I—IV групп патогенности».

7. Порядок разработки, экспертизы, утверждения, издания и распространения нормативных и методических документов системы санитарно-эпидемиологического нормирования: Сборник Р 1.1.001—1.1.005—96. М., 1998.

8. СП 3.1.097—96 «Профилактика и борьба с заразными болезнями, общими для человека и животных: Сборник санитарных и ветеринарных правил».

9. МУ 3.1.1029—01 «Методические указания по отлову, учету и прогнозу численности мелких млекопитающих и птиц в природных очагах зоонозов».

10. МУ 1.3.1794—03 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного микроорганизмами I—II групп патогенности».

11. МУ 4.2.2039—05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

12. МУК 4.2.2136—06 «Организация и проведение лабораторной диагностики заболеваний, вызванных высоковирулентными штаммами вируса гриппа птиц типа А (ВГПА) у людей».

13. Временные методические рекомендации «Лабораторная диагностика «атипичной пневмонии» (SARS) методом ПЦР», утв. Минздравом России 03.05.03.

14. Методические рекомендации по лабораторным и полевым исследованиям арбовирусов. М., 1975.

15. Методические рекомендации по консервированию и транспортировке материала в жидком азоте для исследования на наличие возбудителей вирусных и бактериальных инфекций. Тбилиси, 1987.

16. Методические рекомендации «Быстрая диагностика гриппа и других ОРВИ иммунофлюоресцентным методом». С-Петербург, 2006, утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Г. Г. Онищенко 25 апреля 2006 г.

17. Методические рекомендации «Выделение вирусов гриппа в клеточных культурах и их идентификация». Санкт-Петербург, 2006, утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Г. Г. Онищенко 25 апреля 2006 г.

18. СП 1.2.1318—03 «Порядок выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I—IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами».

19. Межгосударственный стандарт ГОСТ 25581—91 «Птица сельскохозяйственная, синантропная, дикая, экзотическая». Дата введения 01.01.93. Методы лабораторной диагностики гриппа.

20. Приказ Минздравсоцразвития России от 31.05.05 № 376 «О предоставлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях санитарно-эпидемиологического характера».

21. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 31.03.05 № 373 «О совершенствовании системы эпидемиологического надзора и контроля за гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями».

22. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 10.05.07 № 144 «О создании научно-методического центра по референс-диагностике и изучению высокопатогенных штаммов вируса гриппа».

23. Приказ Минсельхоза России от 27.03.06 № 90 (регистрационный номер 7756) «Об утверждении Правил по борьбе с гриппом птиц».

24. Рекомендации по защите людей, контактирующих с инфицированной птицей и участвующих в массовом забое животных, потенциально инфицированных вирусами гриппа птиц, утв. Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 05.08.05 № 0100/6198-0523.

25. Руководство ВОЗ по диагностике и контролю над гриппом животных (WHO/CDC/CSR/NSC/2002.5).

26. Рекомендации ВОЗ по обнаружению вируса гриппа птиц субтипа H5N1 в образцах от людей с подозрением на заболевание. ВОЗ, Женева, август 2007. (Recommendations for laboratory procedures to detect avian influenza A H5N1 virus in specimens from suspected human cases. WHO Geneva, August 2007).

27. Онищенко Г. Г., Киселев О. И., Соминина А. А. Усиление надзора и контроля за гриппом как важнейший элемент подготовки к сезонным эпидемиям и очередной пандемии (руководство). Москва-Санкт-Петербург, 2004.

28. Птичий грипп. Клинические особенности, стандартизованные принципы диагностики, лечения и профилактики, утв. Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Г. Г. Онищенко 02.09.05.

29. Неклюдова Л. И., Гуменник А. Е., Федорова Ю. Б. и др. Практическая вирусология (Часть III). М., 1981.

30. Выявление циркуляции арбовирусов. Методы вирусологических и серологических исследований. Клинико-эпидемиологические характеристики малоизученных арбовирусных инфекций. Подходы к мониторингу природных очагов арбовирусов /Под ред. акад. РАМН Д. К. Львова //Итоги науки и техники. Сер. Вирусология. Т. 25. М., 1991.

31. Сюрин В. Н., Фамуйленко А. Я., Соловьев Б. В. и др. Вирусные болезни животных. М.: ВНИТИБЛ, 1998.

Перечень документации, разрешающей сбор полевого биологического материала в рамках мониторинга за гриппом птиц в границах Российской Федерации

1. Разрешение на отстрел птиц.

А) Разрешение выдается региональной охотоинспекцией. Организация, планирующая отстрел птиц с целью обнаружения особей пораженных вирусом гриппа птиц, пишет письмо-обоснование на имя руководителя региональной охотоинспекции. Письмо пишется на фирменном бланке по установленной форме.

Б) Отстрел птиц может осуществлять только член регионального общества охотников, наделенный соответствующими документами. Целесообразно привлекать из числа сотрудников организации, проводящей эпизоотологическое обследование, лиц, имеющих право на ведение охотничьего промысла. Приобретение расходных материалов (патроны) в достаточном количестве осуществлять из статьи командировочных расходов.

2. Разрешение на проведение эпизоотологических исследований в околоводных стациях с правом разбивания временного лагеря на водоохранной территории.

Разрешение выдается региональной рыбинспекцией. Необходимо предоставить разъяснения о цели и задачах планируемых исследований на контролируемых рыбинспекцией территориях, которые пишутся на фирменном бланке по установленной форме.

3. Согласование с региональными органами по экологии.

Необходимо четкое разъяснение планируемых мероприятий в связи с реальной угрозой осложнения эпидситуации. Пишется разъяснительное письмо на имя руководителя регионального комитета по экологии на фирменном бланке по установленной форме.

4. Согласование с пограничной службой РФ.

Согласование проводится только в случаях проведения эпизоотологических исследований в приграничных зонах. Просьба о разрешении работы в приграничной зоне пишется на имя начальника погранслужбы данного региона на фирменном бланке по установленной форме.

5. Согласование с Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Согласно Федеральному закону от 30 марта 1999 г. № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» все работы проводить в соответствии с СП 1.3.1285—03.

6. Согласование с местной администрацией.

Ставится в известность руководство местной администрации с разъяснениями проблемы.

7. Согласование с местными органами внутренних дел.

Ставится в известность руководство местных органов внутренних дел.

Перечень снаряжения, имущества и оборудования экспедиционной группы, выезжающей для эпизоотологического обследования в природных очагах гриппа птиц (*из расчета на 5 человек*)

№ п/п	Наименование	Единица изм.	Количество
1	2	3	4
1	Автомобиль повышенной проходимости («УАЗ», «Соболь» или их аналоги)	шт.	1
2	Палатка (в комплекте) для проживания 10-местная	–"–	1
3	Палатка для хранения оборудования и орудий лова 2-местная	–"–	1
4	Палатка для работы 5-местная	–"–	1
5	Комплект складной мебели (стол, скамейки или стулья)	–"–	2
6	Средства связи (мобильный телефон)*	–"–	1—3
7	Система ориентирования GPS (с комплектом карт)	–"–	1
8	Спальные мешки (теплые)	–"–	5
9	Одеяло байковое	–"–	5
10	Одеяло шерстяное	–"–	5
11	Раскладушка	–"–	5
12	Полог для защиты от кровососущих насекомых (капроновый)	–"–	5
13	Матрас ватный (или коврик самонадувающийся)	–"–	5
14	Подушки ватные (синтипон)	–"–	5
15	Простыни х/б	–"–	10
16	Наволочки подушечные х/б	–"–	10
17	Полотенце хозяйственное х/б	–"–	10
18	Мешки-тара	–"–	20
19	Плита электрическая двухконфорочная*	–"–	1
20	Плита газовая двухконфорочная	–"–	1
21	Баллон газовый	–"–	1—2
22	Сумка-холодильник (с универсальным питанием)*	–"–	2
23	Фляга для воды (40 л)	–"–	2—3
24	Канистра для перевозки дезсредств	–"–	1
25	Всетопливная лампа «Селена» с батареей	–"–	1
26	Топор большой	–"–	1
27	Топор туристический	–"–	1

Продолжение прилож. 2

1	2	3	4
28	Мешок для укладки спальных принадлежностей (брезент)	шт.	7
29	Плоскогубцы	–"–	1
30	Ножовка по дереву	–"–	1
31	Кувалда*	–"–	1
32	Печка-буржуйка («Булерьян» 50 × 50)*	–"–	1
33	Лодка надувная двухместная (вёсельная)	–"–	1
34	Лодка надувная 4-местная с транцем*	–"–	1
35	Мотор подвесной 8—10 л.с. (импортный)*	–"–	1
36	Фонарь электрический (аккумуляторный)	–"–	2—3
37	Электрогенератор переносной (мощн. 3—5 кВт)	–"–	1
38	Костюм резиновый	–"–	2
39	Ружьё воздушное	–"–	2
40	Ружьё охотничье и комплект патронов	–"– –"–	1 до 400
41	Сейф для ружья и патронов	–"–	1
42	Веник	–"–	1
43	Совок	–"–	1
44	Комбинезоны защитные (для взятия проб)	–"–	5
45	Костюм противочумный	–"–	5
46	Костюм полевой (камуфляжный)	–"–	5
47	Костюм защитный (противоэнцефалитный)	–"–	5
48	Куртка противомоскитная (брезентовая)	–"–	5
49	Костюм зимний (штаны, куртка, шапка, рукавицы)*	–"–	5
50	Термобельё	–"–	5
51	Телогрейка ватная	–"–	5
52	Комплект химической защиты (Л1)	–"–	5
53	Респиратор У2к	–"–	10
54	Респираторы РУ60м + 2 патрона	–"–	5
55	Защитные очки	–"–	5
56	Сетка защитная от гнуса (накомарник)	–"–	6
57	Сапоги кирзовые или ботинки шнурованные	пар	5
58	Сапоги резиновые болотные	–"–	5
59	Рукавицы брезентовые	–"–	5
60	Перчатки хозяйственные х/б	–"–	15
61	Перчатки резиновые хирургические*	–"–	30
62	Перчатки резиновые хозяйственные	–"–	10
63	Фланель, байка (для портянок)*	м	10
64	Мешок для укладки спецодежды (брезентовый)	шт.	5

1	2	3	4
65	Кастрюли	шт.	3
66	Сковорода	–"–	2
67	Чайник 5 и 3 л	–"–	по 1
68	Таз эмалированный	–"–	1
69	Таз пластиковый	–"–	1
70	Половник	–"–	1
71	Дуршлаг	–"–	1
72	Кружка чайная эмалированная	–"–	5
73	Ложки	–"–	5
74	Вилки	–"–	5
75	Рукомойник	–"–	1
76	Нож хозяйственный	–"–	3
77	Ведро эмалированное	–"–	1
78	Ведро пластиковое (оцинкованное)	–"–	1
79	Миски нержавеющие	–"–	10
80	Доски разделочные	–"–	2
81	Термос металлический (1—1,5 л)*	–"–	2
82	Фляжки для воды (1 л)*	–"–	5
83	Скатерть (клеенка хозяйственная)	м	4
84	Капканы для отлова мелких млекопитающих (№ 0, 1, 2)	шт.	100
85	Давилки Геро малого размера (крючковые или трапиковые)	–"–	100—400
86	Давилки Геро большие (крысоловки)*	–"–	100—200
87	Сеть ставная с ячеей 40 мм, d – 50—100 м, h—3 м	–"–	3
88	Сеть ставная с ячеей 50 мм, d – 50—100 м, h—3 м	–"–	3
89	Лопата малая саперная *	–"–	5
90	Лопата штыковая	–"–	2
91	Лопата совковая	–"–	1
92	Компас	–"–	1
93	Ёмкость для обеззараживания орудий лова и остатков материала 40 л (корыто)	–"–	1
94	Линейка металлическая (до 50 см)	–"–	1
95	Линейка деревянная 30 см	–"–	1
96	Линейка офицерская (трафаретная)	–"–	1
97	Транспортир круговой	–"–	1
98	Курвиметр	–"–	1
99	Рюкзаки для транспортирования оборудования и снаряжения	–"–	10
100	Корнцанги	–"–	7

1	2	3	4
101	Дустёр ручной, аналог швейцарского «Бобби»	–"–	1
102	Пинцеты энтомологические мягкие	–"–	5
103	Пинцеты анатомические*	–"–	5
104	Пинцеты глазные	–"–	5
105	Бинокль (8—20-кратный)	–"–	2
106	Весы с разновесами технические до 1 кг*	–"–	1
107	Весы торсионные или аптечные (электронные) (до 200 г)*	–"–	1
108	Штангенциркуль*	–"–	2
109	Скальпели*	–"–	3
110	Ножницы*	–"–	5
111	Препаровальная ванночка (кювет)*	–"–	3
112	Аптечка в комплекте	–"–	1
113	Вата	кг	0,5
114	Марля	м	10
115	Клеенка медицинская	–"–	4
116	Хлорамин	пакет	20
117	Спирт этиловый	л	10
118	Хлороформ или эфир	флак.	1
119	Репелленты	–"–	5
120	Мыло хозяйственное	кус.	5
121	Мыло туалетное	кус.	10
122	Стиральный порошок	пачка	3
123	Топливо для сжигания останков материала (солярка)	л	30
124	Дезсредства	кг/л	100
125	Ящик-ларь для транспортирования полевого материала	шт.	1
126	Бланки учетных форм	–"–	30
127	Сопроводительные этикетки	–"–	30
128	Бумага (плотная для этикеток) *	лист	50
129	Отсадник с крышкой (для перевозки полевого материала)	шт.	3—10
130	Знак «Биологическая опасность»	–"–	1
131	Приколыши для капканов *	–"–	100
132	Ящик-ларь для перевозки посуды и продуктов *	–"–	1
133	Ящик-ларь для перевозки орудий лова *	–"–	1
134	Клетка (садок) для перевозки живых грызунов *	–"–	2
135	Саженка (2 м) деревянная	–"–	1
136	Мешочки бязевые для грызунов	–"–	200
137	Мешочки бязевые для крупных животных	–"–	10
Примечание: * Дополнительное имущество, используемое в специфических условиях или при специальных исследованиях.			

Перечень лабораторного оборудования для проведения исследований на грипп птиц

Оборудование для подготовки полевого материала к исследованию

1. Холодильники, поддерживающие температуру от 2 до 8 °С; минус 20 и 70 °С (при необходимости длительного хранения материала).
2. Бокс биологической безопасности III класса защиты.
3. Фарфоровые ступки.
4. Гомогенизатор с охлаждением.
5. Набор инструментов (пинцеты, ножницы, скальпели, корнцанги и др.).
6. Кюветы.
7. Отдельный набор автоматических пипеток переменного объема.
8. Одноразовые полипропиленовые микроцентрифужные пробирки с завинчивающимися или плотно закрывающимися крышками объемом 1,5 мл.
9. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 и 1 000 мл.
10. Штативы для наконечников, микропробирок.
12. Центрифуга для микропробирок.
13. Емкости с дезинфицирующим раствором.
14. Баки для автоклавирования.
15. Баки для обработки ступок.
16. Ультрафиолетовые лампы.

Оборудование для иммунологических исследований

1. Бокс биологической безопасности III класса защиты.
2. Центрифуга/вортекс.
3. Набор автоматических пипеток переменного объема.
4. Одноразовые полипропиленовые микроцентрифужные пробирки с завинчивающимися или плотно закрывающимися крышками объемом 1,5 мл.
5. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 и 1 000 мл.
6. Штативы для наконечников, микропробирок.
7. Штатив для стекол с мазками-отпечатками.
8. Полипропиленовые микроплашки.
9. Термостат, поддерживающий температуру 37 °С.
10. Холодильник, поддерживающий температуру от 2 до 8 °С.

11. Ридер типа мультискан для учета результатов.
12. Титратор Такачи.
13. Плашки для постановки РТГА, РСК и др.
14. Предметные стекла для мазков-отпечатков.
15. Емкость с фиксирующей жидкостью.
16. Люминесцентный микроскоп.
17. Емкость с дезинфицирующим раствором.
18. Баки для автоклавирования.
19. Ультрафиолетовые лампы.

Оборудование для постановки полимеразной цепной реакции

Для обработки материала

1. Бокс биологической безопасности III класса защиты (допускается использование бокса 2ШНЖ, например фирмы «Изотоп» и др.) или бокса биологической безопасности II класса защиты.
2. Центрифуга для пробирок объёмом 5—100 мл.
3. Центрифуга/вортекс.
4. Микроцентрифуга от 12 до 16 000 g для микроцентрифужных пробирок объёмом 1,5 мл.
5. Твердотельный термостат для пробирок объёмом 1,5 мл с диапазоном рабочих температур 25—100 °С.
6. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой.
7. Отдельный набор автоматических пипеток переменного объёма.
8. Одноразовые полипропиленовые микроцентрифужные пробирки с завинчивающимися или плотно закрывающимися крышками объёмом 1,5 мл.
9. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объёма с аэрозольным барьером до 200 и 1 000 мкл.
10. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объёма до 200 мкл.
11. Штативы для наконечников, микропробирок объёмом 1,5 мл.
12. Холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8 °С, минус 20 и 70 °С (при необходимости длительного хранения материала).
13. Ёмкость с дезинфицирующим раствором.

Для выделения НК

1. Бокс биологической безопасности II или III класса биозащиты.
2. Центрифуга/вортекс.

3. Микроцентрифуга от 12 до 16 000 g для микроцентрифужных пробирок объёмом 1,5 мл.

4. Твердотельный термостат для пробирок объёмом 1,5 мл с диапазоном рабочих температур 25—100 °С.

5. Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой.

6. Отдельный набор автоматических пипеток переменного объёма.

7. Одноразовые полипропиленовые завинчивающиеся или плотно закрывающиеся пробирки объёмом 1,5 мл.

8. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объёма с аэрозольным барьером до 200 и 1 000 мкл.

9. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объёма до 200 мкл.

10. Штативы для наконечников, микропробирок на 1,5 мл.

11. Холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8 °С, минус 20 °С.

Для проведения обратной транскрипции и амплификации

1. Настольный бокс с бактерицидной лампой или стерильный ламинарный шкаф.

2. Амплификатор, в том числе для ПЦР-анализа с гибридизационно-флуоресцентной детекцией (для FRT-детекции) и флуоресцентный детектор (для FEP-детекции).

3. Отдельный набор автоматических пипеток переменного объёма.

4. Одноразовые полипропиленовые пробирки для амплификации объёмом 0,5 (0,2) мл.

5. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объёма с аэрозольным барьером до 100 мкл, свободные от РНКаз.

6. Штативы для наконечников, микропробирок на 0,5 (0,2) мл.

7. Холодильник с камерами, поддерживающими температуру от 2 до 8 °С, минус 20 °С.

8. Ёмкость для сброса отработанных расходных материалов.

Для электрофоретического анализа продуктов ПЦР

1. Камера для горизонтального электрофореза.

2. Источник постоянного тока с напряжением 150—460 В.

3. Ультрафиолетовый трансиллюминатор с кабинетом для просмотра гелей.

4. Видеосистема с цифровой видеокамерой для регистрации результатов.

5. Компьютер (должен быть связан через компьютерную сеть с компьютером, располагающимся в чистой зоне и предназначенным для анализа результатов электрофореза).

6. Аквадистиллятор, или дистиллированная вода.

7. Микроволновая печь для плавления агарозы.

8. Колба коническая из термостойкого стекла для плавления агарозы объёмом 250 мл.

9. Мерный цилиндр объёмом 1 л.

10. Штатив для микропробирок на 0,5 мл.

11. Автоматическая пипетка 10—40 мкл.

12. Одноразовые наконечники для пипеток переменного объёма до 200 мкл в штативе.

13. Холодильник с камерой, поддерживающей температуру от 2 до 8 °С.

14. Ёмкость для сброса отработанных расходных материалов.

15. Пластиковая ёмкость объёмом 5 л для дезактивации буфера и гелей, содержащих бромид этидия.

Режимы обеззараживания различных объектов, зараженных патогенными микроорганизмами

(извлечения из приложения к СП 1.3 1285—03)

III. ВИРУСЫ И ХЛАМИДИИ

№ п/п	Объект, подлежащий обеззараживанию	Способ обеззараживания	Обеззараживающее средство	Время обеззараживания, мин
1	2	3	4	5
1	Защитная одежда персонала, белье, халаты, косынки, маски, белье больного (нательное, постельное, полотенца, носовые платки и др.), загрязненные кровью, гноем, фекалиями, мокротой и др.	Кипячение	2 %-й раствор кальцинированной соды или 0,5 %-й раствор любого моющего средства	30
		Погружение в раствор с последующим полосканием водой и стиркой	3 %-й раствор Хлорамина Б	120
			0,5 %-й активированный раствор Хлорамина Б	120
			0,5 %-й раствор ДП-2	120
			8 %-й раствор Лизола А	90
			3 %-й по ПВ раствор водорода перекиси медицинской с 0,5 % моющего средства при температуре раствора 50 °С	180
		Обеззараживание в паровом стерилизаторе (автоклаве)	Водяной насыщенный пар под избыточным давлением 1,1 кГс/см^2 (0,11 МПа), (120 ± 2) °С	45
2	Перчатки резиновые	Обеззараживание в паровом стерилизаторе (автоклаве)	Водяной насыщенный пар под избыточным давлением 1,1 кГс/см^2 (0,11 МПа), (120 ± 2) °С	45
		Кипячение	Вода	30
		Погружение в раствор	3 %-й раствор Хлорамина Б	60
			6 %-й по ПВ раствор водорода перекиси медицинской	60
			6 %-й по ПВ раствор водорода перекиси медицинской с 0,5 % моющего средства	60
			0,5 %-й раствор ДП-2	60

1	2	3	4	5
3	Защитные очки, фонендоскоп	Двукратное протирание с последующим споласкиванием водой	6 %-й по ПВ раствор водорода перекиси медицинской	15
		Погружение	70 %-й этиловый спирт	30
4	Резиновые, кирзовые сапоги, кожаные тапочки	Двукратное протирание с интервалом 15 мин	Дезинфицирующие средства и режимы применения, указанные в п. 2	
5	Посуда лабораторная (чашки Петри, пробирки, пипетки, мазки-отпечатки и др.)	Кипячение	2 %-й раствор кальцинированной соды	30
		Паровой стерилизатор (автоклав)	Водяной насыщенный пар под избыточным давлением 1,5 кГс/см^2 (0,15 МПа), (126 ± 2) °С	60
		Погружение в раствор с последующим промыванием водой	3 %-й раствор Хлорамина Б	60
			3 %-й осветленный раствор хлорной извести, или белильной термостойкой извести	60
			0,5 %-й раствор ДП-2	120
			6 %-й по ПВ раствор водорода перекиси медицинской	60
			6 %-й по ПВ раствор водорода перекиси медицинской с 0,5 % моющего средства	60
6	Инструменты из металлов после вскрытия животных	Паровой стерилизатор (автоклав)	Водяной насыщенный пар под избыточным давлением 2,0 кГс/см^2 (0,2 МПа), (132 ± 2) °С	20
		Кипячение	Вода	30
			2 %-й раствор пищевой соды	15
		Погружение в раствор	3 %-й раствор Хлорамина Б	60
7	Руки в резиновых перчатках	Мытье в растворе дезинфицирующего средства	Дезинфицирующие средства и концентрации растворов, указанные в п. 5	2
			1 %-й раствор Хлорамина Б	2
			70 %-й этиловый спирт	2

1	2	3	4	5
8	Незащищенные участки кожи, руки	Моют или протирают тампоном, смоченным дезинфицирующим раствором, затем моют теплой водой с индивидуальным туалетным мылом, вытирают индивидуальным полотенцем	1 %-й раствор Хлорамина Б	10
			70 %-й этиловый спирт	2 раза по 3 мин
9	Трупы лабораторных животных	Сжигание		
		Паровой стерилизатор (автоклав)	Водяной насыщенный пар под избыточным давлением 2,0 кГс/см^2 (0,2 МПа), (132 ± 2) °С	60
10	Мешочки для транспортирования диких грызунов	Кипячение	2 %-й раствор кальцинированной соды	30
			Вода	30

Организация мониторинга заносов и распространения гриппа птиц в природных условиях на территории Российской Федерации

Методические рекомендации

Редакторы Е. В. Емельянова, Л. С. Кучурова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 17.09.09

Формат 60x88/16 Печ. л. 2,5

Тираж 300 экз. Заказ 57

Федеральная служба по надзору
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18/20

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а
Отделение реализации, тел./факс 952-50-89

gost.e-ecolog.ru