4.2.МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ.
БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Организация и проведение лабораторной диагностики заболеваний, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), у людей

Методические рекомендации

gost.e-ecolog.ru

1. Разработаны: Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Г.Г. Онищенко, Е.Б. Ежлова, Ю.В. Дёмина, А.А. Мельникова, Г.Ф. Лазикова, Н.В. Шеенков); ФГУЗ ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора (Шипулин Г.А., Яцышина С.Б.), ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (Дроздов И.Г., Сергеев А. Н., Агафонов А.П., Шиков А.Н., Сергеев А.Н., Демина О.К., Суслопаров И.М., Терновой В.А.).

2. 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 «___»_____ 2009 г.

3. Введены впервые.

Список сокращений.

Биобезопасность – биологическая безопасность
ЛПУ - лечебно-профилактические учреждения
МФА - метод иммунофлуоресцирующих антител
ОТ-ПЦР – метод обратной транскрипции - полимеразной цепной реакции

Содержание

1. Область применения .....

2. Общие требования .....

3. Координация деятельности учреждений, осуществляющих диагностику ВГА .....

4. Правила сбора клинического (секционного) материала .....

5. Упаковка и транспортирование образцов.....

6. Порядок проведения лабораторных исследований .....

7. Обеспечение биобезопасности при проведении лабораторных диагностических исследований .....

8. Библиографические источники .....

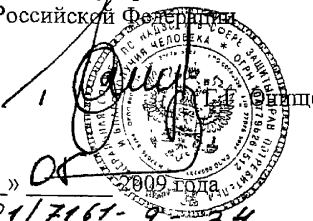
Приложение 1 (обязательное). Координаты референс-лаборатории, осуществляющей дополнительное подтверждающее тестирование ВГА .....

Приложение 2 (обязательное). Способы взятия, условия хранения и транспортирования клинического материала для лабораторной диагностики ВГА .....

Приложение 3 (обязательное). Перечень вирусологических лабораторий и лабораторий учреждений противочумной системы Роспотребнадзора, проводящих первичный скрининг на ВГА .....

Приложение 4 (справочное). Стабилизирующая среда для хранения и транспортирования материала для вирусологических исследований.

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



Г.Г. Онищенко

«24» 04 2009 года

01/7161-9-34

Дата введения: с момента утверждения

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ.
БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Организация и проведение лабораторной диагностики заболеваний, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), у людей.

Методические рекомендации.

1.Область применения.

1.1. В настоящих методических рекомендациях определены порядок сбора, упаковки, хранения, транспортирования и выполнения лабораторных исследований биологического материала от больных (и умерших) пациентов при лабораторной диагностики заболеваний, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1).

1.2 Методические рекомендации предназначены для специалистов органов и учреждений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, а также могут быть использованы лечебно-профилактическими и другими организациями, независимо от организационно-правовой формы.

2. Общие требования.

Все работы по сбору, транспортированию и подготовке проб клинического и секционного материала осуществляют в строгом соответствии с требованиями действующих нормативно методических документов.

3. Координация деятельности учреждений, осуществляющих диагностику заболеваний, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1).

3.1. При эпидемическом неблагополучии в России и за рубежом по заболеваниям, вызванным высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), и при отсутствии лабораторно подтвержденных случаев заболевания людей на данной территории:

3.1.1 Забор материала от пациентов (или умерших) с подозрением на инфекцию, вызванную высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), проводят в лечебно-профилактических учреждениях (ЛПУ) после изоляции больного обученным персоналом в строгом соответствии с требованиями действующих нормативно методических документов (приложение 2). Доставка материала в лабораторию для первичного исследования материала производится транспортом лечебно-профилактических учреждений **по согласованию с управлением Роспотребнадзора субъекта Российской Федерации с учётом оптимальной транспортной схемы**.

3.1.2 Первичное исследование материала от больного осуществляют методами ОТ-ПЦР, ПЦР в режиме реального времени или методом ПЦР с флуоресцентной детекцией результата по конечной точке на базе вирусологических лабораторий, лабораторий особо опасных инфекций ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации (в соответствии с перечнем – приложение 3), в региональных центрах по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II-IY групп патогенности, в референс-лабораториях (приложение 1).

3.1.3. При выявлении положительных результатов первичного исследования материал от больного отправляется на обязательное подтверждающее тестирование в одну из референс – лабораторий и референс-центр по мониторингу за гриппом птиц и гриппом, вызванным высокопатогенными штаммами (в соответствии приложением 3).

В связи с тем, что вследствие мутаций вновь появившиеся высокопатогенные штаммы вируса гриппа А (H1N1) изменили свои антигенные свойства, в настоящее время выявление вируса методом иммунофлуоресцирующих антител (МФА) может быть не эффективно (давать ложноположительные и ложноотрицательные

результаты). В дальнейшем, при появлении специфических к вирусу гриппа А (H1N1) сывороток, возможно использование данного метода при лабораторной диагностике.

3.1.4. Подтверждающее тестирование положительных образцов осуществляется в одной из референс-лабораторий и *референс-центре по мониторингу за гриппом птиц и гриппом, вызванным высокопатогенными штаммами* (приложение 1, 3) с использованием, как минимум, двух перечисленных методов:

- вирусологическое исследование **(выделение вируса должно осуществляться в условиях лаборатории с уровнем защиты BSL-3)**;
- варианты ПЦР с использованием зарегистрированных тест – систем с обязательным применением протокола исследования, рекомендуемого ВОЗ;
- секвенирование двух специфичных фрагментов **генома, кодирующих** гемаглютинин и нейраминидазу.

Результаты исследований в каждом случае передают в ЛПУ, направившее материал, и в учреждения Роспотребнадзора (управление Роспотребнадзора по субъекту Российской Федерации и ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации) в день получения результата.

3.1.5. При получении положительных результатов подтверждающего тестирования референс-лаборатория проводит изоляцию вируса, изучение его свойств и депонирование в Национальном центре верификации диагностической деятельности, осуществляющий функции государственной **коллекции,** расположенной на базе ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор».

3.2. При наличии лабораторно подтвержденных случаев заболевания людей, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), на данной территории и при наличии следующих данных эпидемиологического анамнеза:

- контакт в течение срока менее чем 7 дней до появления первых клинических признаков с больным, у которого лабораторно подтверждено инфицирование высокопатогенными штаммами гриппа;

- контакт в течение срока менее чем 7 дней до появления первых клинических признаков с больным острым респираторным заболеванием неясной этиологии, в том числе закончившимся летально;

- наличие профессионального риска инфицирования (врачи-инфекционисты, сотрудники подразделений, работающих с вирусом гриппа).

3.2.1 Забор материала проводит специально обученный персонал лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) в строгом соответствии с требованиями действующих нормативно методических документов (приложение 2). Доставка материала в лабораторию для первичного исследования материала производится транспортом лечебно-профилактических учреждений **по согласованию с управлением Роспотребнадзора субъекта Российской Федерации с учётом оптимальной транспортной схемы.**

3.2.2 Первичное исследование материала осуществляют **на базе** вирусологических лабораторий, лабораторий особо опасных инфекций **ФГУЗ**

«Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации, в региональных центрах по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II-IУ групп патогенности, в референс-лабораториях (приложение 1, 3).

3.2.3. Подтверждающее тестирование положительных образцов осуществляется в одной из референс-лабораторий и референс-центре по мониторингу за гриппом птиц и гриппом, вызванным высокопатогенными штаммами (приложение 1, 3) с использованием, как минимум, двух перечисленных методов:

- вирусологическое исследование **(выделение вируса должно осуществляться в условиях лаборатории с уровнем защиты BSL-3)**;
- варианты ПЦР с использованием зарегистрированных тест – систем с обязательным применением протокола исследования, рекомендуемого ВОЗ;
- секвенирование двух специфичных фрагментов генома, кодирующих гемагглютинин и нейраминидазу.

3.3. При исследовании образца от больного, имеющего в анамнезе контакт с лицами, которым был поставлен лабораторно подтвержденный диагноз «грипп, вызванный высокопатогенным штаммом вируса гриппа А (H1N1)»:

3.3.1 Забор материала проводят в ЛПУ при подозрении на заболевание, вызванного высокопатогенными штаммами вируса гриппа типа А (H1N1)в строгом соответствии с требованиями действующих нормативно методических документов (приложение 2). Доставка материала в лабораторию для первичного исследования материала производится транспортом лечебно-профилактических учреждений **по согласованию с управлением Роспотребнадзора субъекта Российской Федерации с учётом оптимальной транспортной схемы**.

3.3.2 Первичное исследование материала осуществляют на базе вирусологических лабораторий, лабораторий особо опасных инфекций ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации в региональных центрах по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II-IУ групп патогенности, в референс-лабораториях (приложение 1, 3) с использованием ОТ-ПЦР.

3.3.3 Обязательное подтверждающее тестирование в референс-лаборатории не проводится. Направление материала в референс-лабораторию осуществляется в случаях возникновения противоречивых результатов при первичном тестировании.

3.4. Во всех случаях при выявлении положительных образцов в подтверждающем тестировании, материал от больных направляется в национальный центр верификации диагностической деятельности, осуществляющий функции государственной коллекции на базе ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор».

4. Правила сбора клинического (секционного) материала

4.1 Сбор клинического материала и его упаковку осуществляет медицинский работник лечебно-профилактического учреждения, обученный требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1). Забор производят в стерильные одноразовые флаконы, пробирки, контейнеры, стерильными инструментами. От одного больного отбирают две пробы, одну пробу для проведения первичного исследования материала методами ПЦР, вторую – для проведения вирусологического исследования. Все виды работ проводят с соблюдением противоэпидемического режима, в строгом соответствии с требованиями действующих нормативно методических документов (приложения 2, 3).

4.2 Упаковка, маркирование, условия хранения и транспортирования материала для проведения лабораторной диагностики заболеваний, *вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1)* должны соответствовать требованиям *действующих нормативно методических документов* (приложения 2, 3).

4.3. Для исследования забирают следующие виды клинического материала:

- смывы из полости носа и ротоглотки (для ОТ-ПЦР-анализа);
- мазки из полости носа (для ОТ-ПЦР-анализа) и ротоглотки (для ОТ-ПЦР-анализа);
- носоглоточное отделяемое (для выделения вируса, ОТ-ПЦР-анализа).

Целесообразно также включать в исследование аспираты из трахеи, бронхоальвеолярный лаваж и биоптаты легких при возможности их забора. Данные процедуры осуществляет подготовленный медицинский персонал в соответствии с действующими нормативно методическими документами (приложения 2, 3).

Перечисленные выше процедуры по забору клинического материала обученный медицинский персонал осуществляет в средствах индивидуальной защиты органов дыхания (респиратор типа ШБ-1 или РБ «Лепесток-200»), защитных очках или щитках для защиты лица, бахилах, двойными резиновыми перчатками. После процедуры отбора материала перчатки обрабатываются растворами дезинфицирующих средств, руки после снятия перчаток обрабатываются антисептиками в соответствии с действующими нормативно методическими документами.

Выбор времени забора клинического материала очень важен, так как наиболее высокое содержание вируса в дыхательных органах человека регистрируется в течение первых четырех дней после появления признаков заболевания. Образцы

должны быть собраны в течение 3 суток после появления клинических признаков, указанных в п. 6.1.

Для постмортальной диагностики используют аутопсаты легких, трахеи и селезенки.

От одного больного должно забираться не менее трех видов клинического материала. Обязательно следует забирать мазки из полости носа и ротоглотки и носоглоточное отделяемое. Каждый образец материала помещают в отдельную транспортную емкость.

4.4 Сбор материала производят в пробирки со стабилизирующей средой, приготовленной согласно приложению 4, и/или в пробирки с транспортной средой, предоставляемой (или рекомендуемой) фирмой-производителем тест-систем.

4.5 Отправку материала в лабораторию осуществляют в транспортной таре со стабилизирующей средой (приложение 4).

5. Упаковка и транспортирование образцов

5.1 Все материалы, доставляемые в лабораторию, должны быть герметично упакованы в соответствии с действующими нормативно методическими документами:

1) в транспортную емкость (плотно закрывающиеся пластмассовые пробирки или флаконы с завинчивающимися крышками, проверенные на герметичность); плотно закрытый верхний конец транспортной емкости вместе с крышкой герметизируют различными пластификаторами (парафин, парафильм и др.); емкость маркируют.

2) в плотный полиэтиленовый пакет подходящего размера с ватой (или другим гигроскопичным материалом) в количестве достаточном для адсорбции всего образца в случае его утечки; полиэтиленовый пакет следует герметично заклеить или запаять.

5.1.1. В отдельный полиэтиленовый пакет вкладывают бланк направления с указанием: наименование направляющего учреждения, ФИО больного, возраст, место жительства, предварительный диагноз, эпидемиологический анамнез, вид материала, дата и время взятия материала.

5.1.2 Пакеты с образцами от одного пациента вместе с направлением упаковывают во второй плотный полиэтиленовый пакет. Не допускается упаковывание образцов материалов от разных людей в один и тот же пакет.

5.2 Герметично закрытые полиэтиленовые пакеты помещают в термоизолирующий плотно закрывающийся контейнер (термос, сумка–холодильник), приспособленный для транспортирования биологических материалов.

5.2.1. В термоконтейнеры и термосы помещают охлаждающие элементы или пакеты со льдом. К наружной стенке термоконтейнера или термоса прикрепляют этикетку с указанием вида материала, условий транспортирования, названия пункта

назначения. Сроки и условия транспортирования упакованных проб клинического материала указаны в приложении 2.

5.3 Транспортирование проб клинического материала в лаборатории для первичного исследования материала осуществляется нарочным(и), информированным о правилах доставки материала в соответствии с действующими нормативно методическими документами.

6. Порядок проведения лабораторных исследований

6.1 При отсутствии лабораторно подтвержденных случаев заболевания людей на данной территории лабораторные исследования с целью диагностики заболеваний, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), следует проводить у пациентов с респираторными заболеваниями тяжелого течения и неясной этиологии при наличии как минимум двух из перечисленных **симптомов:**

- фебрильная лихорадка с температурой тела выше 38^0С;
- насморк или заложенность носа;
- боль в горле;
- кашель;
- затрудненное дыхание или дыхательная недостаточность.

в комбинации хотя бы с одним из следующих эпидемиологических признаков в период 1-7 дней перед появлением симптомов :

- посещение мест регистрации заболевания, вызванного высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), у людей;
- тесный контакт (в радиусе 1 метра) с лицом, являющимся подозрительным, вероятным или подтвержденным случаем заболевания, вызванного высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1);
- контакт с погибшими или больными свиньями, уход, убой, разделка, подготовка к употреблению свинины, или контакт с их останкам или объектами окружающей среды на территории, где в течение последнего месяца были заподозрены или подтверждены случаи инфекции, вызванной высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), у животных или людей;
- манипуляции с образцами клинического материала (от животных или людей), подозрительным на зараженность штаммами вируса гриппа А (H1N1) в лаборатории или в иной обстановке;
- употребление сырых или недостаточно приготовленных продуктов из свинины на территории, где в течение последнего месяца были заподозрены или подтверждены случаи инфекции, вызванной высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), у животных или людей.
- тесный контакт с лабораторно подтвержденными инфицированными высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1) животными.

Данный случай расценивается как подозрительный случай заболевания, вызванного высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1).

Вероятный случай заболевания, вызванного высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1) - лицо, умершее от необъясненного острого респираторного заболевания, которое расценивается как эпидемиологически связанное по времени, месту и экспозиции с вероятным или подтвержденным случаем заболевания, вызванного высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), а также лицо, отвечающее критериям для подозрительного случая, и одному из дополнительных критериев:

- инфильтраты или признаки острой пневмонии на рентгенограмме грудной клетки плюс признаки дыхательной недостаточности (гипоксемия, выраженное тахипноэ) или
- положительный результат лабораторного подтверждения инфекции, вызванной вирусом гриппа А, но недостаточное лабораторное подтверждение инфекции.

6.2. **При наличии лабораторно подтвержденных случаев заболевания,** вызванного высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), **на данной территории** показанием к обследованию являются клинические симптомы, приведенные **в п.6.1.** Дополнительные эпидемиологические признаки являются необязательными.

6.3. Исследование секционного материала от умерших на наличие высокопатогенного штамма вируса гриппа А (H1N1) проводят при:

- сходстве клинической картины заболевания, приведшего к летальному исходу, с описанной в п. 6.1 или невозможности исключения такой клинической картины в анамнезе и при наличии в анамнезе хотя бы одного из перечисленных в п.п. 6.1 дополнительных эпидемиологических признаков.

6.4. Исследования проводят с использованием диагностических тест-систем, разрешенных к применению в установленном порядке.

6.5. При проведении первичного тестирования на наличие высокопатогенного штамма вируса гриппа А (H1N1) должны исследоваться не менее 2 видов клинического материала (например: мазки из полости носа и из ротоглотки) с использованием метода - ОТ-ПЦР.

6.6. При получении отрицательных результатов исследования всех образцов выдается окончательный отрицательный ответ.

При отсутствии регистрации заболевания людей, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), на данной территории при получении хотя бы одного положительного результата при использовании ОТ-ПЦР выдается предварительный положительный ответ и образцы направляют для подтверждающего тестирования в референс-лабораторию.

В период регистрации заболевания людей, вызванных высокопатогенными штаммами вируса гриппа А (H1N1), на данной территории, обязательное подтверждающее тестирование не проводят, и при

получении хотя бы одного положительного результата при использовании ОТ-ПЦР выдается окончательный положительный ответ.

6.7. При подтверждении в референс-лаборатории положительного результата первичного тестирования, при исследовании хотя бы одного вида клинического материала выдается окончательный положительный ответ.

При получении в референс-лаборатории отрицательных результатов исследования двух видов клинического материала проводится повторное тестирование. При получении аналогичного результата выдается окончательный отрицательный ответ.

7. Обеспечение биобезопасности при проведении лабораторных диагностических исследований

7.1. Все манипуляции по забору образцов от больных обученный медицинский персонал осуществляет в средствах индивидуальной защиты органов дыхания (респиратор типа ШБ-1 или РБ «Лепесток-200»), защитными очками или щитком для защиты лица, резиновыми перчатками.

7.2. Вскрытие термоконтейнеров или термосов с упакованными пробами клинического материала производится в лаборатории обученным персоналом в средствах индивидуальной защиты органов дыхания (респиратор типа ШБ-1 или РБ «Лепесток-200»), защитных очках или щитках для защиты лица, резиновых перчатках в боксе биологической безопасности II класса.

7.2 Первичное (скрининговое) исследование материала от больного, подозрительного на заражённость **высокопатогенным штаммом вируса гриппа А (H1N1)**, проводят в вирусологических лабораториях, лабораториях особо опасных инфекций ФГУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации, в региональных центрах по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II-IY групп патогенности, в референс-лабораториях (приложение 1, 3), имеющих разрешение на работу с ПБА II - IV группы патогенности.

Подтверждающее тестирование осуществляется в референс-лабораториях (приложение 1).

7.2 Вирусологические исследования (заражение культур клеток или куриных эмбрионов с целью выделения и идентификации вируса) а также работы, связанные с риском образования аэрозоля **высокопатогенного штамма вируса гриппа А (H1N1)**, должны **выполняться в лабораториях с уровнем безопасности BSL3**, дополнительно оснащённых боксами биологической безопасности III класса. Работы проводят в изолирующем костюме «Кварц».

7.3 Аптечка экстренной профилактики лабораторий, проводящих диагностику заболеваний, вызванных **высокопатогенным штаммом вируса гриппа А (H1N1)**, должна быть укомплектована в соответствии с действующими нормативно – методическими документами и дополнена препаратами группы азельтамивира

(«Тамифлю» или аналоги).

7.4 Режимы обеззараживания различных объектов при лабораторной диагностике заболеваний, вызванных **высокопатогенным штаммом вируса гриппа А (H1N1):**

7.4.1 Обеззараживание поверхностей помещения (пол, стены, двери), оборудования, рабочих столов и др. – двукратным протиранием с интервалом 15 мин 6% раствором перекиси водорода или 3% раствором хлорамина (экспозиция 120 мин), либо любым дезинфицирующим средством, обладающим вирулицидной активностью, с последующей обработкой УФ в течение 60 мин.

Запрещено одновременное использование 6% раствора перекиси водорода и 3% раствора хлорамина в пределах одной лаборатории в связи с опасностью взрывоподобного характера протекания химической реакции при смешении этих растворов.

7.4.2 Обеззараживание защитной одежды осуществляют:

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

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

7.4.3 Обеззараживание перчаток – замачиванием на 60 мин в 6% растворе перекиси водорода с 0,5% моющего средства или в 3% растворе хлорамина.

7.4.4 Обеззараживание лабораторной посуды, автоклавируемых дозаторов, наконечников, вируссодержащих жидкостей, агарозного геля, инструментария из металла проводится методом автоклавирования – давление 2,0 кГс/см2 (0,2 Мпа), температура 132±2°С, время 45 мин.

7.4.5 Обеззараживание дозаторов – двукратным протиранием поверхностей дозатора с интервалом 15 мин 6% раствором перекиси водорода, с последующей обработкой в парах формалина в течение 60 мин.

8. Список нормативно–методических документов:

- Методические указания МУ 3.4.1028 – 01 «Организация и проведение первичных мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания карантинными инфекциями, контагиозными вирусными геморрагическими лихорадками, малярией и инфекционными болезнями неясной этиологии, имеющими важное международное значение».
- Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».
- Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».
- Методические указания МУ 1.3.1794-03 «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного микроорганизмами I-II групп патогенности».

• Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 751 от 23.10.2005 г. «Об учреждении Временного регламента взаимодействия территориальных управлений Роспотребнадзора по субъектам Российской Федерации и федеральных государственных учреждений здравоохранения – центров гигиены и эпидемиологии в субъектах Российской Федерации»

• Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека № 373 от 31.03.2005 г. «О совершенствовании системы эпидемиологического надзора и контроля за гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями».

Приложение 1 (обязательное)

РЕФЕРЕНС-ЛАБОРАТОРИИ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИЕ ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ПОДТВЕРЖДАЮЩЕЕ ТЕСТИРОВАНИЕ НА НАЛИЧИЕ ВЫСОКОПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ ВИРУСА ГРИППА А (H1N1)

1) Научно-методический центр по референс-диагностике и изучению высокопатогенных штаммов вируса гриппа - НМЦГ, Референс-центр по мониторингу за гриппом птиц и гриппом, вызванным высокопатогенными штаммами, Национальный центр верификации диагностической деятельности, осуществляющий функции государственной коллекции, организованные на базе ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» (630 559, Наукоград Кольцово, Новосибирская обл., тел/факс (383) 336-75-40, E-mail: gost.e-ecolog.ru);

2) Центр специальной лабораторной диагностики и лечения особо опасных и экзотических инфекций (141 300, Московская обл., г. Сергиев Посад-6, тел./факс (09654) 4-57-44);

3) Референс-центр по мониторингу за гриппом, ГУ Научно-исследовательский институт гриппа РАМН, Национальный центр воз по гриппу и ОРЗ, Адрес: 197022, Санкт – Петербург, ул. Профессора Попова, 15/17, корпус В, телефон/факс: 234-62-00 факс. 234-59-73,

4) Референс-центр по мониторингу за гриппом, ГУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН Центр экологии и эпидемиологии гриппа [Адрес:123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 16, Тел, (499)1902842, (499)1902046, факс: (499)1902867].

5) Референс-центр по мониторингу за инфекциями верхних и нижних дыхательных путей ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, ул. Новогиреевская 3а, тел. (495) 305-5190, факс (495) 305-5423, e-mail: gost.e-ecolog.ru

6). **ФГУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора**

Приложение 2 (обязательное)

СПОСОБЫ ВЗЯТИЯ, УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЗАБОЛЕВАНИЙ, ВЫЗВАННЫХ *ВЫСОКОПАТОГЕННЫМИ ШТАММАМИ ВИРУСА ГРИППА А (H1N1)*

1. МАЗКИ ИЗ РОТОГЛОТКИ	
1.1. Сбор материала	Мазки берут сухими стерильными зондами с ватными тампонами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки после предварительного полоскания полости рта водой. После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с 500 мкл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида или раствора фосфатного буфера. Конец зонда отламывают или отрезают с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают.
1.2. Предобработка проб	Не требуется.
1.3. Метод исследования	ОТ-ПЦР
1.4. Условия хранения материала	При температуре от 2 до 8°С – в течение трех суток. При температуре минус 70°С или в жидком азоте – длительно. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала. Температура хранения минус 20^0С не допускается.
1.5. Условия транспортирования материала	В специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами или в термосе со льдом: - при температуре 0-4 ^{0}С – не более трех суток; - при температуре минус 70^0С или в жидком азоте – длительно. Температура транспортировки минус 20^0С допускается только с учетом однократного замораживания и транспортировки без размораживания не более 4 дней.
2. МАЗКИ ИЗ ПОЛОСТИ НОСА	
2.1. Сбор	Мазки (слизь) берут сухими стерильными зондами с ватными

материала	тампонами. Зонд с ватным тампоном вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2-3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. **Для ПЦР-анализа.** После взятия материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую микропробирку с 500 мкл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида или раствора фосфатного буфера. Конец зонда отламывают или отрезают с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки. Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают.
2.2. Предобработка проб	Не требуется.
2.3. Метод исследования	ОТ-ПЦР
2.4 Условия хранения материала	См. п.п. 1.4.
2.5. Условия транспортировани я материала	См. п.п. 1.5.
3. СМЫВЫ ИЗ ПОЛОСТИ НОСА	
3.1.Сбор материала	Сбор материала производят в положении больного сидя с отклоненной назад головой. Для получения смыва из полости носа в оба носовых хода поочередно с помощью одноразового шприца вводят по 3-5 мл теплого стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида. Промывную жидкость из обоих носовых ходов собирают через воронку в одну стерильную пробирку. Не допускается повторное использование воронки без предварительного обеззараживания автоклавированием.
3.2. Предобработка проб	Не требуется.
3.3. Метод исследования	ОТ-ПЦР
3.4. Условия хранения материала	См. п.1.4.
3.5. Условия транспортировани	См.п.1.5.

я материала	
4. СМЫВЫ ИЗ РОТОГЛОТКИ	
4.1. Сбор материала	Перед сбором материала необходимо предварительное полоскание полости рта водой. После этого проводят тщательное полоскание ротоглотки (в течение 10-15 сек) 8-10 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Жидкость собирают через воронку в стерильную пробирку. Не допускается повторное использование воронки без предварительного обеззараживания автоклавированием.
4.2. Предобработка проб	Не требуется.
4.3. Метод исследования	ОТ-ПЦР
4.4. Условия хранения материала	См. п.1.4.
4.5. Условия транспортирования материала	См.п.1.5.
5. НОСОГЛОТОЧНОЕ ОТДЕЛЯЕМОЕ	
5.1. Сбор материала	Производится натощак после взятия мазков из полости носа. Осуществляется двумя способами: 1. Больной в три приема прополаскивает горло 10-15 мл 0,9 % раствора натрия хлорида. Смыв собирают в одноразовые полипропиленовые флаконы с завинчивающимися крышками объемом 50 мл. Ватными тампонами, зажатыми пинцетом, протирают заднюю стенку глотки и носовые ходы. Ватные тампоны опускают во флакон со смывом. 2. Сухим или слегка увлажненным 0,9 % раствором натрия хлорида тампоном, который удерживают с помощью пинцета, протирают заднюю стенку глотки и опускают его в пробирку с 5 мл стабилизирующей среды (приложение 3). Процедуру повторяют 2-3 раза. Все тампоны от одного больного собирают в одну пробирку. После взятия материала с задней стенки глотки тщательно протирают носовые ходы небольшими ватными тампонами и опускают их в ту же пробирку. Пробирку закрывают.
5.2. Предобработка проб	Тампоны прополаскивают в стабилизирующей среде, в которой они содержались, отжимают о стенку сосуда и удаляют. Смыв отстаивают в холодильнике 40-60 мин. Центрифугирование и фильтрацию не проводят. Для выделения вируса используют среднюю часть отстоя, которую небольшими порциями переносят

	в 3 стерильные пробирки. Одну используют для выделения вируса, остальные замораживают при температуре минус 70 ^{0}С или в жидком азоте.
5.3. Метод исследования	Выделение вируса
5.4. Условия хранения материала	При температуре от 2 до 8 °С – не более 3 дней. При температуре минус 70°С или в жидком азоте – длительно. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала. Температура хранения минус 20^{0}С не допускается.
5.5. Условия транспортирования материала	См. п.п. 1.5.
6. СЕКЦИОННЫЙ МАТЕРИАЛ	
6.1.Сбор материала	В качестве секционного материала используются ткани легких, трахеи, сегментарных бронхов, селезенки. Секционный материал собирают в одноразовые полипропиленовые флаконы с завинчивающимися крышками объемом 50 мл.
6.2. Предобработка проб	Кусочки органов гомогенизируют в стерильных фарфоровых ступках и готовят 10 % суспензию на стерильном 0,9 % растворе натрия хлорида или фосфатном буфере. Суспензию переносят в микропробирку на 1,5 мл и центрифугируют при 10000 оборотах в течение 30 секунд. Супернатант используют для выделения РНК.
6.3. Метод исследования	ОТ-ПЦР, выделение вируса
6.4. Условия хранения материала	См.п.1.4.
6.5. Условия транспортирования материала	См. п.1.5.

Приложение 3 (обязательное)

Перечень вирусологических лабораторий, лаборатории особо опасных инфекций, проводящих первичный скрининг и подтверждающее тестирование на наличие высокопатогенных штаммов вируса гриппа А (H1N1)

Первичный скрининг	Подтверждающее тестирование
ФГУЗ «ЦГиЭ» в г. Санкт-Петербурге	Референс-центр по мониторингу за гриппом, ГУ Научно-исследовательский институт гриппа РАМН, Национальный центр ВОЗ по гриппу и ОРЗ, Адрес: 197376, Санкт – Петербург, ул. Профессора Попова, 15/17, корпус В, телефон/факс: 8–812–234–62–00, факс. 8–812–346–12–70
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Карелия	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Коми	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Архангельской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Вологодской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Калининградской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Ленинградской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Мурманской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Новгородской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Псковской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Воронежской области	Референс – центр по мониторингу за гриппом. ГУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского РАМН Центр экологии и эпидемиологии гриппа [Адрес:123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 16, Тел, (499)1902842, (499)1902046, факс: (499)1902867].
ФГУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии»	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Белгородской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Брянской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Владимирской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Ивановской области	Референс-центр по мониторингу за инфекциями верхних и нижних дыхательных путей ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, 111123, Москва, ул. Новогиреевская 3а, тел. (495) 305-5190, факс (495) 305-5423, e-mail: gost.e-ecolog.ru
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Калужской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Костромской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Курской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Липецкой области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Московской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Орловской области	Центр специальной лабораторной диагностики и лечения особо опасных
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Рязанской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Смоленской области	

ФГУЗ «ЦГиЭ» в Тверской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Тульской области
ФГУЗ «Противочумный центр Роспотребнадзора»
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Ярославской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Нижегородской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Самарской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Башкортостан
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Марий-Эл
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Мордовия
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Татарстан
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Удмуртия
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Чувашской Республике
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Кировской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Оренбургской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Пензенской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Пермском крае
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Саратовской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Ульяновской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Ставропольском крае
Ставропольский противочумный НИИ
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Ростовской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Краснодарском крае
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Калмыкия
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Кабардино-Балкарской Республике
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Дагестан
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Северная Осетия
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Астраханской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Волгоградской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Адыгея
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Карачаево-Черкесской Республике
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Свердловской области
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Курганской области

и экзотических инфекций (141 300, Московская обл., г. Сергиев Посад-6, тел./факс (09654) 4-57-44 (по согласованию);

ФГУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

ФГУЗ «ЦГиЭ» в Тюменской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Челябинской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Омской области	Научно-методический центр по референс-диагностике и изучению высокопатогенных штаммов вируса гриппа - НМЦГ, Референс-центр по мониторингу за гриппом птиц и гриппом, вызванным высокопатогенными штаммами, Национальный центр верификации диагностической деятельности, осуществляющий функции государственной коллекции, ФГУН ГНЦ ВБ «Вектор» (630 559, Наукоград Кольцово, Новосибирская обл., тел/факс (383) 336-75-40, E-mail: shestopalov@vector.nsc.ru);
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Красноярском крае	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Алтайском крае	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Бурятия	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Тыва	
ФГУЗ «ЦгиЭ» в Республике Алтай	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Иркутской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Кемеровской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Новосибирской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Томской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Читинской области	
Хабаровская противочумная станция	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Хабаровском крае	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Приморском крае	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Амурской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Магаданской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Республике Саха (Якутия)	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Камчатской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Сахалинской области	
ФГУЗ «ЦГиЭ» в Еврейской автономной области	

Приложение 4 (справочное)

СТАБИЛИЗИРУЮЩАЯ СРЕДА ДЛЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ МАТЕРИАЛА ДЛЯ ВИРУСОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ.

Рекомендуется использование следующей стабилизирующей среды для хранения и транспортировки материала от людей для дальнейших вирусологических исследований.

Среда готовится в стерильных условиях, автоклавирование не допускается, можно стерилизовать фильтрованием через нитроцеллюлозный стерильный фильтр в стерильную же посуду.

Состав:

- среда для культур клеток №199, содержащая 0,5% BSA;
- пенициллин 2×10^6 ед./л, стрептомицин 200 мг/л, полимиксин В 2×10^6 ед./л, гентамицин 250 мг/л, нистатин $0{,}5\times10^6$ ед./л.

gost.e-ecolog.ru