Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней

Методические указания
МУК 4.2.3009—12

Издание официальное

Москва
2013

gost.e-ecolog.ru

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

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней

Методические указания
МУК 4.2.3009—12

ББК 51.9
П59

П59 **Порядок** организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013.—58 с.

ISBN 978—5—7508—1162—5

1. Разработаны: Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Е. Б. Ежлова, Н. Д. Пакскина, В. Ю. Смоленский); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (А. В. Липницкий, В. А. Антонов, В. П. Смелянский, Е. В. Путинцева, Г. А. Ткаченко, В. В. Алексеева, О. В. Зинченко, С. С. Савченко, К. В. Жуков, В. В. Алексеев); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (С. А. Щербакова, И. Н. Шарова, Т. Ю. Красовская, А. В. Топорков, В. В. Кутырев); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Н. Ф. Василенко, О. В. Малецкая, Н. Г. Варфоломеева, Т. В. Таран, А. Н. Куличенко); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Э. А. Москвитина, Л. М. Веркина, С. О. Водопьянов, А. Б. Мазрухо); Федеральным бюджетным учреждением науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» (В. Б. Локтев, В. А. Терновой, В. Н. Михеев, А. П. Агафонов, А. Н. Сергеев); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Противочумный центр» Роспотребнадзора (С. М. Иванова, Ю. Н. Хомяков, В. Е. Безсмертный); Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора (В. Г. Сенникова, В. В. Мордвинова).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 29 марта 2012 г.

3. Введены в действие с момента утверждения.

4. Введены впервые.

ББК 51.9

© Роспотребнадзор, 2013
© Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2013

Содержание

1. Область применения 7

2. Нормативные ссылки 7

3. Перечень сокращений 9

4. Общие положения 10

4.1. Характеристика болезни и возбудителя лихорадки Западного Нила 10

4.2 Лабораторная диагностика лихорадки Западного Нила 13

5. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального уровня 14

5.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий медицинских организаций 14

5.1.1. Требования к лабораториям медицинских организаций, осуществляющим хранение, передачу, транспортирование и исследование биологического материала, подозрительного на наличие возбудителя лихорадки Западного Нила 14

5.1.2. Номенклатура и объем исследований 16

5.1.3. Порядок работы при отборе биологического материала для исследования на лихорадку Западного Нила в медицинских организациях 16

5.1.4. Оформление направления на исследование 19

5.1.5. Проведение иммунодиагностических исследований клинического материала на лихорадку Западного Нила в медицинских организациях 19

5.1.6. Порядок взаимодействия медицинских организаций с учреждениями Роспотребнадзора 21

5.2. Порядок работы при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации 22

5.2.1. Порядок работы при отборе полевого материала для исследования на лихорадку Западного Нила 22

5.2.2. Оформление направления на исследование 23

5.2.3. Порядок взаимодействия филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации с другими учреждениями Роспотребнадзора 23

5.3. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации 23

5.3.1. Требования к лабораториям ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, осуществляющим исследования на лихорадку Западного Нила 24

5.3.2. Номенклатура и объем исследований 26

5.3.3. Порядок диагностических исследований на лихорадку Западного Нила в лабораториях ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации 27

5.3.4. Регистрация и оформление результатов исследования 28

5.3.5. Порядок взаимодействия лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации с учреждениями Роспотребнадзора 28

6. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях регионального уровня 29

6.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности, курирующих субъекты Российской Федерации 29

6.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики ЛЗН в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней 29

6.2.1. Требования к лабораториям Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней 29

6.2.2. Номенклатура и объем исследований 31

6.2.3. Порядок проведения диагностических исследований на лихорадку Западного Нила в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней 31

6.2.4. Регистрация и оформление результатов исследования 31

6.2.5. Порядок взаимодействия лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней с учреждениями Роспотребнадзора 32

7. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях федерального уровня 32

7.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в Референс-центре по мониторингу за лихорадкой Западного Нила 32

7.1.1. Требования к лабораториям Референс-центра по мониторингу за лихорадкой Западного Нила 32

7.1.2. Номенклатура и объем исследований 33

7.1.3. Организация и обеспечение диагностической деятельности Референс-центра по мониторингу за лихорадкой Западного Нила 33

7.1.4. Порядок взаимодействия Референс-центра по мониторингу за лихорадкой Западного Нила с учреждениями Роспотребнадзора 34

7.2. Порядок и организация лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в Национальном центре верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора 35

7.2.1. Требования к лабораториям Национального центра верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора 35

7.2.2. Номенклатура и объем исследований 35

7.2.3. Организация и обеспечение диагностической деятельности 35

7.2.4. Порядок взаимодействия лабораторий Национального Центра верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора с учреждениями Роспотребнадзора 36

Приложение 1. Требования к профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторную диагностику лихорадки Западного Нила 37

Приложение 2. Диагностические препараты, тест-системы, используемые при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила 40

Приложение 3. Приборы и оборудование, используемые при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила 44

Приложение 4. Расходные и дезинфицирующие материалы, используемые при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила 50

Приложение 5. Направление крови для выделения вируса Западного Нила 51

Приложение 6. Направление сыворотки крови для исследования на наличие антител против вируса Западного Нила 52

Приложение 7. Направление секционного материала для исследования на наличие вируса Западного Нила 53

Приложение 8. Результат выявления РНК вируса Западного Нила методом ОТ-ПЦР 54

Приложение 9. Результат серологических исследований на наличие вируса Западного Нила 55

Приложение 10. Направление на исследование полевого материала с целью выявления вируса Западного Нила 56

Приложение 11. Перевиваемые клеточные культуры, питательные среды и растворы для культур клеток, рекомендуемые антибиотики для использования в культурах клеток при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила... 57

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный врач
Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
29 марта 2012 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ
И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях территориального, регионального и федерального уровней

Методические указания
МУК 4.2.3009—12

1. Область применения

1. Настоящие методические указания определяют порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях территориального, регионального и федерального уровней, формы и методы их взаимодействия, номенклатуру и объем исследования, требования к лабораториям, специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований, материально-техническому обеспечению исследований, к биологической безопасности проведения работ.

2. Настоящие методические указания предназначены для специалистов органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор в Российской Федерации, специалистов противочумных учреждений, органов исполнительной власти в области охраны здоровья граждан и медицинских организаций независимо от их организационно-правовой формы и формы собственности.

2. Нормативные ссылки

2.1. Федеральный закон от 03.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

2.2. Федеральный закон от 04.05.2011 № 99-ФЗ «О лицензировании отдельных видов деятельности».

2.3. Постановление Правительства Российской Федерации от 22.01.2007 № 31 «Об утверждении положения о лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний».

2.4. Постановление Правительства Российской Федерации от 29.10.2007 № 720 «О внесении изменений в пункт 5 Положения о лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 22.01.2007 № 31».

2.5. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 07.07.2009 № 415н «Об утверждении квалификационных требований к специалистам с высшим и послевузовским медицинским и фармацевтическим образованием в сфере здравоохранения» (Зарегистрирован в Минюсте Российской Федерации 09.07.2009 № 14292).

2.6. Международные медико-санитарные правила (2005 г.). ВОЗ, Женева, 2006. 80 с.

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

2.8. СП 3.1./3.2.1379—03 «Общие требования по профилактике инфекционных и паразитарных болезней».

2.9. СанПиН 3.5.2.1376—03 «Санитарно-эпидемиологические требования к организации и проведению дезинсекционных мероприятий против синантропных членистоногих».

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

2.11. СП 3.5.1378—03 «Санитарно-эпидемиологические требования к организации и осуществлению дезинфекционной деятельности».

2.12. СП 3.4.2318—08 «Санитарная охрана территории Российской Федерации».

2.13. СанПиН 2.1.7.2790—10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

2.14. СанПиН 2.1.3.2630—10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность».

2.15. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 17.03.2008 № 88 «О мерах по совершенствованию мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней».

2.16. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 18.04.2011 № 385 «О совершенствовании эпидемиологического надзора и профилактике лихорадки Западного Нила в Российской Федерации».

2.17. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 24.02.2009 № 11 «О представлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера».

2.18. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 14.04.2011 № 31 «О совершенствовании эпидемиологического надзора и профилактике лихорадки Западного Нила».

2.19. МУ 3.1.3.2600—10 «Мероприятия по борьбе с лихорадкой Западного Нила на территории Российской Федерации».

2.20. МУ-287-113 от 30.12.1998 «Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения».

2.21. МУ 3.1.1027—01 «Сбор, учет и подготовка к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих-переносчиков возбудителей природно-очаговых инфекций».

2.22. МУ 3.1.1029—01 «Отлов, учет и прогноз численности мелких млекопитающих и птиц в природных очагах инфекций».

2.23. МУ 3.4.2552—09 «Организация и проведение первичных противоэпидемических мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения».

2.24. МУ 3.4.1030—01 «Организация, обеспечение и оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий в случае завоза или возникновения особо опасных инфекций, контагиозных вирусных геморрагических лихорадок, инфекционных болезней неясной этиологии, представляющих опасность для населения Российской Федерации и международного сообщения».

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

2.26. МУ 1.3.2569—09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I—IV групп патогенности».

2.27. МУ 3.2. 2568—09 «Контроль численности кровососущих комаров рода *Culex*, места выплода которых находятся в населенных пунктах».

3. Перечень сокращений

Аг – антиген;
Ат – антитело;

ВЗН – вирус Западного Нила;
ИА – индекс авидности;
ИФА – иммуноферментный анализ;
ЛЗН – лихорадка Западного Нила;
КРС – крупный рогатый скот;
КЭ – клещевой энцефалит;
МО – медицинская организация;
МРС – мелкий рогатый скот;
МУ – методические указания;
МУК – методические указания по контролю;
МФА – метод флуоресцирующих антител;
ООИ – особо опасные инфекции;
ОТ-ПЦР – полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией;
ПЦР – полимеразная цепная реакция;
ПЧС – противочумная станция;
РАО – реакция агглютинации объемная;
РНК – рибонуклеиновая кислота;
СанПиН – санитарные правила и нормы;
СП – санитарные правила;
СМЖ – спинно-мозговая жидкость;
т.п.н. – тысяч пар нуклеотидов;
ЦНС – центральная нервная система;
IgG – иммуноглобулины класса G;
IgM – иммуноглобулины класса M.

4. Общие положения

4.1. Характеристика болезни и возбудителя лихорадки Западного Нила

Лихорадка Западного Нила (ЛЗН) – природно-очаговая арбовирусная инфекционная болезнь с трансмиссивным механизмом передачи возбудителя. В соответствии с «Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем» (Десятый пересмотр. Женева, 2003. МКБ-10) болезнь кодируется как А92.3 – Лихорадка Западного Нила. Как правило, вирус Западного Нила вызывает у человека бессимптомную инфекцию. Примерно у 20 % инфицированных людей возможно развитие вирусной лихорадки, которая протекает относительно легко с гриппоподобными симптомами: лихорадка (от умеренной до высокой), головная боль (чаще фронтальная), миалгии, артралгии, слабость, тошнота и респираторная симптоматика. ЛЗН протекает у человека в виде острого лихорадочного заболевания с симптомами общей интоксикации; в тяжелых случаях с поражением ЦНС – се-

розным воспалением мозговых оболочек, реже – менингоэнцефалитом и острым вялым параличом, которые часто наблюдаются в комбинации. Менингеальные и менингоэнцефалитические явления встречаются приблизительно в 15 % случаев. Летальность при ЛЗН составляет около 4 %. Обычно летальные формы заболевания характерны для людей старшего и пожилого возраста: для пожилых людей летальность от ЛЗН может достигать 10 %. Инкубационный период от 2 до 8—14 дней, в среднем 3—6 суток.

На территории юга Российской Федерации ЛЗН имеет летне-осеннюю сезонность. Пик заболеваемости совпадает с максимальной численностью и инфицированностью комаров – основных переносчиков вируса Западного Нила. К категориям повышенного риска заражения относятся рыбаки, охотники, лица, занятые сельскохозяйственной деятельностью, в том числе на дачных и приусадебных участках, а также те, кто проживает или посещает территории с высокой численностью комаров. Заражение людей в антропоургических очагах связано с популяциями комаров, обитающих в городской черте и массово выплаживающихся в подвалах жилых домов.

Возбудитель ЛЗН – вирус Западного Нила (вирус ЗН) является представителем семейства *Flaviviridae*, рода *Flavivirus* и принадлежит к антигенному комплексу Японского энцефалита. По принятой в Российской Федерации классификации патогенных биологических агентов вирус ЗН относится к микроорганизмам II группы патогенности.

Вирион состоит из сферического рибонуклеокапсида, окруженного липопротеидной мембраной. Размер вирусной частицы составляет около 50 нм в диаметре. Вирус содержит однонитевую позитивную несегментированную РНК размером 11 т.п.н., которая имеет одну открытую рамку считывания (open reading frame, ORF) – более 10 000 оснований, кодирующую все структурные и неструктурные протеины. По 5′- и 3′-концам ORF ограничена короткими некодирующими участками (noncoding regions, NCR), формирующими специфические вторичные структуры, необходимые для репликации генома.

В состав вириона входят 3 структурных протеина (один небольшой основной капсидный белок С и два мембрано-ассоциированных протеина – мажорный оболочечный протеин Е и протеин М, который у незрелых вирионов представлен preM белком) и 7 неструктурных протеинов: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5.

Вирус хорошо сохраняется в замороженном и высушенном состоянии. При кипячении инактивируется моментально, при температуре 60 °С разрушается в течение 30 мин, при 37 °С – через

20 ч, при 45 °С – через 2 ч. Вирус чувствителен к ультрафиолетовому облучению, облучение вируса ртутно-кварцевой лампой (в водном растворе с толщиной слоя до 1 см) с интенсивностью лучевого потока 75 мквт/см² на расстоянии 25 см приводит через 15 мин к его полной инактивации. По отношению к дезинфицирующим веществам вирус ЗН обладает обычной для вирусов чувствительностью.

По современным представлениям вирус ЗН является самым широко распространенным флавивирусом. В России ареал вируса ЗН охватывает территории юга ее европейской части, регионы Сибири и Дальнего Востока. При условии потепления климата возможно расширение ареала вируса, в том числе и на центральные регионы России, о чем свидетельствует заболеваемость последних лет.

В настоящее время выделяют, по меньшей мере, 7 предполагаемых генетических линий (генотипов) вируса ЗН. На территории Российской Федерации циркулирует преимущественно вирус ЗН I генотипа. В Астраханской, Волгоградской и Ростовской областях обнаружен II генотип вируса ЗН. Штамм вируса ЗН IV генетической группы выявлен в Краснодарском крае.

Основными хозяевами вируса в природе являются птицы и, в меньшей степени, млекопитающие. Среди птиц основную роль в поддержании природных циклов циркуляции вируса ЗН играют представители водного (бакланы лысухи, чомги, фламинго), околоводного (цапли, кулики, чайки и крачки) и наземного (врановые и голуби) экологических комплексов. Индикаторными видами птиц для изучения циркуляции вируса в природных биотопах являются бакланы, а в антропогенных – врановые.

Среди млекопитающих в циркуляцию вируса могут включаться лошади, верблюды, грызуны, КРС и др. Выраженные клинические формы болезни с лихорадкой и возможным развитием менингоэнцефалита встречаются у лошадей.

Основным переносчиком вируса ЗН являются комары различных родов. Комары, способные к передаче вируса ЗН, включают более 60 видов из родов *Aedes*, *Anopheles*, *Coquillettidia*, *Culex*, *Culiseta*, *Deinocerites*, *Ochlerotatus*, *Orthopodomyia*, *Psorophora*, *Uranotaenia*.

Человеку вирус ЗН может передаваться во время укуса зараженными членистоногими (трансмиссивный путь передачи инфекции). Сам человек не представляет опасности для окружающих в связи с невысоким уровнем виремии, недостаточным для заражения комаров.

Наряду с основным – трансмиссивным механизмом передачи вируса ЗН, имеются данные о передачи вируса с материнским мо-

локом, при трансплантации органов, с донорской кровью, а также при внутриутробном и лабораторном заражении.

4.2. Лабораторная диагностика лихорадки Западного Нила

Лабораторная диагностика ЛЗН включает проведение:

– диагностических исследований клинического материала для установления диагноза у больных с подозрением на заболевание ЛЗН, умерших с подозрением на заболевание ЛЗН и от лихорадки неясного генеза на эндемичных по ЛЗН территориях;

– лабораторных исследований полевого материала, собранного в природных биотопах ЛЗН (комары, иксодовые клещи, мелкие млекопитающие, птицы, сыворотка крови сельскохозяйственных животных) для изучения циркуляции вируса ЗН на данной территории.

Для лабораторной диагностики ЛЗН и выделения вируса ЗН используют молекулярно-генетический метод (ПЦР), иммуноферментный анализ (ИФА), вирусологический метод.

Для лабораторной диагностики заболевания у людей используют ПЦР и ИФА. Лабораторные исследования на территориальном уровне проводят лаборатории медицинских организаций, лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, на региональном уровне – Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центры индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней (противочумные станции, НИИ Роспотребнадзора).

При необходимости изучения вируса ЗН, циркулирующего на данной территории, появлении заболеваний ЛЗН с атипичной клинической картиной проводят вирусологические исследования в учреждениях федерального уровня.

К учреждениям федерального уровня относятся Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН, Национальный центр верификации диагностической деятельности и Национальный центр, осуществляющий функции государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора.

Для проведения лабораторных исследований полевого материала используют аналогичный алгоритм.

5. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального уровня

5.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий медицинских организаций

5.1.1. Требования к лабораториям медицинских организаций, осуществляющим хранение, передачу, транспортирование и исследование биологического материала, подозрительного на наличие возбудителя лихорадки Западного Нила

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Лаборатории МО, проводящие исследования на ЛЗН, должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими СП о порядке 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.

Учет, хранение, передача и транспортирование биологического материала, подозрительного на наличие возбудителя лихорадки Западного Нила, должны осуществляться в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности (опасности).

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими СанПиН по обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, транспортирование и передача, а также взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных и распорядительных документов.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Лаборатория МО, выполняющая исследования на ЛЗН, должна иметь пакет рабочих экземпляров нормативно-методической документации и инструкций, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Инструкции должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противо-

пожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники обязаны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней III—IV групп патогенности (опасности), в соответствии с действующими нормативными документами.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на ЛЗН

Исследования на ЛЗН могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним профессиональным образованием, окончившие соответствующие курсы профессиональной переподготовки с освоением методов безопасной работы с возбудителями инфекционных болезней III—IV групп патогенности (опасности), не имеющие противопоказаний к лечению специфическими препаратами и имеющие допуск к работе с ПБА III—IV групп на основании приказа руководителя учреждения. Специалисты, проводящие исследования на ЛЗН, должны иметь необходимые профессиональные навыки (прилож. 1).

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней, должны повышать квалификацию не реже одного раза в пять лет.

Порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований

Контроль качества работы в лабораториях МО реализуется через следующие контрольные процедуры:

– контроль качества отбора материала на исследование;

– контроль качества транспортирования материала;

– контроль качества оформления сопроводительной документации;

– контроль стерильности лабораторной посуды, дистиллированной воды;

– контроль работы паровых и суховоздушных стерилизаторов, автоклавов;

– контроль работы бактерицидных ламп;

– контроль температурного режима работы холодильников;

– контроль температурного режима работы термостатов;

– проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, контроль качества дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют ежедневно в соответствии с требованиями действующих нормативных документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для отбора проб

Для проведения диагностических исследований на ЛЗН в лабораториях МО должны быть в наличии:

– диагностические препараты, тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 2);

– приборы, оборудование (прилож. 3);

– расходные и дезинфицирующие материалы (прилож. 4);

– комплект медицинский (укладка универсальная для забора материала от людей и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные инфекционные болезни);

– рабочая и защитная одежда, тип защитной одежды зависит от характера выполняемой работы.

5.1.2. Номенклатура и объем исследований

В МО производят отбор, хранение и транспортирование проб биологического материала от больных ЛЗН, лиц с подозрением на нее, реконвалесцентов и секционного материала при летальном исходе.

В МО проводят иммунологические исследования клинического материала от больных ЛЗН, лиц с подозрением на нее и реконвалесцентов с целью обнаружения в крови и СМЖ специфических антител (IgM и/или IgG, при обнаружении IgG – определение индекса авидности) и антигенов к ВЗН. При наличии соответствующих лабораторий и оборудования в МО проводят молекулярно-генетические исследования (выявление РНК вируса ЗН).

5.1.3. Порядок работы при отборе биологического материала для исследования на лихорадку Западного Нила в медицинских организациях

Требования к отбору и транспортированию проб клинического материала

Забор материала от больных ЛЗН, лиц с подозрением на нее, реконвалесцентов, а также секционного материала осуществляет медицинский персонал с соблюдением режима биологической безопасности (во избежание внутрибольничного заражения) в соответствии с требованиями действующих санитарных правил по безопасности работы с микроорганизмами I—II групп патогенности (опасности).

Забор секционного материала при вскрытии умерших от ЛЗН, а также с подозрением на данную инфекцию проводит патологоанатом или судмедэксперт в присутствии специалиста по особо опасным инфекциям.

По окончании манипуляций лабораторный инвентарь и расходные материалы немедленно после применения подлежат обязательному обеззараживанию.

Транспортирование материала осуществляют в соответствии с требованиями действующих санитарных правил по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности.

Забор материала для иммунологической диагностики

Материалом для иммунологического исследования является сыворотка крови и спинно-мозговая жидкость больного или реконвалесцента.

Кровь для иммунологического исследования забирают дважды – при поступлении больного с подозрением на ЛЗН, а также на 10—14 день после первого забора крови.

Кровь у больного берут натощак из локтевой вены в количестве 5—10 мл, соблюдая правила асептики, шприцем или с использованием вакуумной системы типа «Vakuette®» с активатором сыворотки. Для предотвращения гемолиза, после образования сгустка сыворотку следует отобрать. Полученную сыворотку переносят в пластиковую пробирку с плотно закрывающейся (завинчивающейся) пробкой. Пробирку маркируют. Сгусток сохраняют в пробирке только при первом взятии крови. Он может быть использован для вирусологического исследования.

На каждую пробу заполняют направление (прилож. 5, 6).

Забор материала для вирусологических исследований

Материалом для выделения вируса ЛЗН являются цельная кровь, плазма, сгусток крови, секционный материал (головной мозг, печень, селезенка, почки).

Материал от больных для вирусологических исследований забирают в ранние сроки от начала заболевания (до 5 дня), то есть в период вирусемии. При нормализации температуры тела возможность выделения вируса резко снижается, а при появлении в крови вирусспецифических иммуноглобулинов класса G (10—14 день от начала болезни) становится невозможной.

Забор секционного материала необходимо производить как можно быстрее после смерти больного (не позднее 20 часов, если труп находится при комнатной температуре). Отбор проб проводят из нескольких участков, подвергшихся изменениям, и из участка

рядом расположенной ткани, которая выглядит неизмененной. При наличии распада ткани основное внимание обращают на пограничную зону. Забранный материал помещают в стерильные контейнеры (емкости) с плотно закрывающимися (завинчивающимися) крышками, контейнеры маркируют. На каждую пробу заполняют направление (прилож. 7).

Для вирусологического исследования недопустимо внесение в пробы консерванта и проведение инактивации материала.

Забор материала для молекулярно-генетического исследования

Забор материала осуществляют в соответствии с требованиями действующих методических указаний по организации работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного микроорганизмами I—IV групп патогенности.

Материалом для исследования служат образцы цельной крови, сыворотки и/или плазмы крови, лейкоцитарная фракция крови, СМЖ и пробы секционного материала. Для проведения ОТ-ПЦР забор плазмы крови и спинномозговой жидкости проводят в ранние сроки болезни (в период вирусемии), не позднее 12 дня от начала заболевания. При взятии крови для исследования методом ПЦР следует использовать специальную вакуумную систему типа «Vakuette®» с ЭДТА.

Хранение проб

Плазму и сыворотку крови хранят при температуре от 2 до 8 °С не более 2 сут., при температуре от –16 до –20 °С – не более одного месяца, при температуре –70 °С или в жидком азоте – в течение 1 года, не допуская его оттаивания до проведения исследования.

Образцы тканей хранят при температуре минус 70 °С или в жидком азоте в течение 1 года.

Транспортирование крови, сывороток и секционного материала в лабораторию

Доставку в лабораторию материала для исследования осуществляют в герметичных контейнерах. При доставке проб в биксах или в сумках-холодильниках пробы должны иметь вторичную упаковку. Доставляемые емкости с жидкими материалами должны быть закрыты пробками, исключающими выливание содержимого во время транспортирования. Дно контейнеров, содержащих емкости с ПБА, должно быть покрыто адсорбирующим материалом (марлевая салфетка, ткань, вата и пр.), смоченным дезинфицирующим средством.

При замораживании клинического материала его транспортирование также должно проводиться в замороженном состоянии.

Допускается только однократное замораживание-оттаивание образцов.

Цельная кровь замораживанию не подлежит. Необходимо отделить сыворотку крови от сгустка.

Материал для вирусологического исследования следует транспортировать в лабораторию в сосудах Дьюара с жидким азотом или в емкости с сухим льдом. Если время доставки материала для вирусологических исследований в лабораторию не превышает 4 ч, то возможно использование термоконтейнера с хладагентами.

Материал с направлением доставляют в лабораторию специально выделенным транспортом в сопровождении медицинского работника.

5.1.4. Оформление направления на исследование

На каждую отправляемую в лабораторию пробу от больного ЛЗН или с подозрением на эту инфекцию заполняют направление в соответствии с прилож. 5, 6. На пробы секционного материала (от умершего от ЛЗН или с подозрением на эту инфекцию) заполняют направление в соответствии с прилож. 7. При передаче материала для исследования в стороннюю организацию оформляют сопроводительный документ, в котором указывают адрес учреждения, в которое направляется проба (пробы); вид материала, взятого для исследования; количество образцов, цель исследования; наименование учреждения, должность, фамилия и инициалы лица, направляющего пробу (пробы), подпись.

5.1.5. Проведение иммунодиагностических исследований клинического материала на лихорадку Западного Нила в медицинских организациях

В лаборатории МО с целью лабораторного подтверждения диагноза ЛЗН проводят определение антител классов М и G к ВЗН в СМЖ и парных сыворотках крови. Возможно определение авидности IgG.

Для диагностики используют тест-системы, зарегистрированные в Российской Федерации. Выявление специфических антител класса М (IgM) и класса G (IgG) осуществляется с помощью иммуноферментных тест-систем в соответствии с прилагаемыми к ним инструкциями.

Клинический диагноз ЛЗН считают подтвержденным:

– при обнаружении в исследуемых образцах специфического фрагмента РНК вируса ЛЗН;

– при выявлении в ИФА IgM в одной сыворотке в титре, равном или выше диагностического (в зависимости от рекомендаций

фирмы-производителя иммунодиагностической тест-системы, зарегистрированной в Российской Федерации);

– при 4-кратном увеличении титра IgG к ВЗН, при одновременном исследовании парных сывороток крови и при условии отрицательного результата на другие эндемичные флавивирусы.

При оценке результатов иммунологического исследования необходимо учитывать, что IgM в спинномозговой жидкости появляются на 1—3 сутки от начала клинических проявлений болезни, а в сыворотке крови – на 2—3 дня позже (при тяжелых формах течения болезни). При легком течении ЛЗН IgM в сыворотке крови определяют с 3—5 дня болезни. Имеются данные о длительной циркуляции IgM (12—16 месяцев).

Следует помнить, что в начальной фазе заболевания титры IgG могут быть низкие, или результат исследования на наличие антител класса G – негативный.

Если при анализе парных сывороток на антитела класса G образец, взятый в острую фазу заболевания, негативный, а образец, взятый в фазу реконвалесценции, позитивный, то имеет место сероконверсия, что свидетельствует о первичной инфекции.

Одной из важных особенностей вирусов семейства *Flaviviridae* является наличие выраженных антигенных связей между его представителями, в том числе между вирусами серокомплекса КЭ, а также других арбовирусных инфекций. Широкое распространение КЭ и увеличение ареала распространения ЛЗН делает проблему дифференциальной диагностики данных инфекций весьма актуальной.

На эндемичных территориях по ЛЗН при отсутствии циркуляции вируса КЭ или других флавивирусов достаточно проведения исследований на выявление антител лишь для ВЗН.

Однако на эндемичных территориях по КЭ или другим флавивирусным инфекциям (при подозрении на ЛЗН), для подтверждения острой формы инфекций необходимо проведение сравнительных исследований на выявление антител класса IgM к другим флавивирусам, причем в парных сыворотках. Тестирование на IgG является косвенно подтверждающим диагноз исследованием, так как положительные результаты часто регистрируются при других флавивирусных инфекциях, являясь отражением перекрестных реакций.

Измерение авидности специфичных к ВЗН IgG позволяет определить период времени, прошедший после первичного инфицирования. Так, IgG, выявляемые в первые 3—5 месяцев после первичного инфицирования, имеют низкую авидность, в то время как в более поздние сроки IgG показывают высокую авидность.

При индексе авидности (ИА) менее 50 % сыворотка содержит низкоавидные антитела, что указывает на текущую, либо недавно перенесенную инфекцию (2—3 месяца назад). Если индекс авидности более 70 %, то сыворотка содержит высокоавидные антитела, что указывает на перенесенную ранее инфекцию.

В то же время высокое значение ИА анализируемой пробы к антигенам ВЗН не позволяет установить время начала заболевания ЛЗН, тогда как аналогичная величина ИА к антигенам ВКЭ указывает на перенесенный ранее (более 80 дней) КЭ. Однако при клещевом энцефалите могут обнаруживаться IgG-антитела к ВЗН с высокой авидностью (до 100 %).

Таким образом, наличие IgM свидетельствует об острой, либо недавно перенесенной инфекции, обусловленной ВЗН. Выявление антител класса IgG необходимо использовать в парных сыворотках в качестве подтверждающего теста и при проведении сероэпидемиологических исследований.

Результаты лабораторных анализов оформляют в соответствии с прилож. 8.

5.1.6. Порядок взаимодействия медицинских организаций с учреждениями Роспотребнадзора

Информацию о выявленных случаях ЛЗН направляют в установленном порядке в соответствии с действующими нормативными документами.

Клинический материал (сыворотки крови, СМЖ) от больного с подозрением на ЛЗН для подтверждения диагноза направляют в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации. При невозможности проведения исследований на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», материал, по согласованию, направляют в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней.

Клинический материал (взятый в острый период и от больных тяжелой формой) для выделения вируса, а также секционный материал от трупа с подозрением на ЛЗН направляют в Референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила и ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора в субъекте Российской Федерации. При невозможности проведения исследований на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» материал, по согласованию, направляют в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней. Отправку секционного и клинического материала

для выделения вируса обеспечивает ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии».

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности (опасности).

5.2. Порядок работы при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации

В лабораториях филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации диагностические исследования материала на наличие возбудителя ЛЗН не проводят.

Специалисты филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации по эпидпоказаниям проводят сбор полевого материала (комары, клещи, птицы, грызуны). По согласованию для забора крови лошадей и КРС привлекаются специалисты ветеринарной службы.

5.2.1. Порядок работы при отборе полевого материала для исследования на лихорадку Западного Нила

Материалом для исследования на наличие возбудителя ЛЗН из окружающей среды являются:

– орнитофильные антропофильные комары, относящиеся к различным родам, в том числе *Culex*, *Aedes* и *Anopheles*;

– иксодовые клещи *Hyalomma marginatum marginatum* и другие, различных фаз метаморфоза (имаго, личинки, нимфы), снятые с прокормителей и собранные в открытых стациях; аргасовые и гамазовые клещи;

– птицы (дикие и врановые);

– мелкие млекопитающие;

– пробы крови крупного и мелкого рогатого скота.

Сбор материала и его транспортирование осуществляют с соблюдением требований безопасности работы с материалом, подозрительным на зараженность возбудителями I—II групп патогенности.

Отбор, упаковка и транспортирование проб для исследования

Сбор комаров и клещей, птиц и мелких диких млекопитающих проводят в соответствии с действующими нормативными документами по сбору, учету, подготовке к лабораторному исследованию кровососущих членистоногих-переносчиков возбудителей при-

родно-очаговых инфекций и методическими указаниями по мероприятиям по борьбе с лихорадкой Западного Нила на территории Российской Федерации.

Хранение и транспортирование пробирок с кровью осуществляют с применением термоконтейнеров. Допускается хранение пробирок с кровью при температуре окружающей среды не более 2—3 ч.

5.2.2. Оформление направления на исследование

На пробы полевого материала заполняют направление (прилож. 10) в двух экземплярах, один вкладывают в контейнер с пробами, второй – доставляет нарочный. Направляемые пробы сопровождают письмом на имя руководителя учреждения, в котором указывают вид направляемого материала и цель его исследования, количество объектов; письмо подписывает руководитель направившего учреждения. К сопроводительным документам прилагают опись с указанием места отбора каждой пробы.

5.2.3. Порядок взаимодействия филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации с другими учреждениями Роспотребнадзора

Материал из объектов окружающей среды направляют в соответствии с требованиями действующей нормативной документации в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации. При невозможности проведения исследований на базе ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», материал, по согласованию, направляют в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности (опасности).

5.3. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации

Исследования материала на наличие возбудителя ЛЗН в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации проводят на базе вирусологической лаборатории, лаборатории ПЦР-исследований, лаборатории особо опасных инфекций.

5.3.1. Требования к лабораториям ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, осуществляющим исследования на лихорадку Западного Нила

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации должны соответствовать требованиям действующих нормативных документов и иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами II—IV или III—IV групп патогенности (опасности) в зависимости от применяемых методов лабораторной диагностики ЛЗН.

Лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование биологического материала, подозрительного на наличие возбудителя лихорадки Западного Нила, должны осуществляться в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности (опасности).

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими СанПиН по обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, а также взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на ЛЗН

Исследования на ЛЗН могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним профессиональным образованием, окончившие соответствующие курсы профессиональной переподготовки по специальности «Вирусология» и/или «Бактериология» с основами безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I—II групп, не имеющие противопоказаний к лечению специфическими препаратами и имеющие допуск к работе с ПБА II—IV групп на основании приказа руководителя учреждения. Специалисты, проводящие исследования на ЛЗН, должны иметь необходимые профессиональные навыки (прилож. 1).

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней, должны повышать квалификацию не реже одного раза в пять лет.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники должны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным и зараженным возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности (опасности), в соответствии с действующими нормативными документами.

Порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на ЛЗН в специализированных лабораториях ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» включает:

– контроль качества диагностических препаратов и тест-систем, дезинфицирующих средств, химических реактивов;

– контроль эффективности мембранных фильтров;

– своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;

– контроль стерильности лабораторной посуды, дистиллированной воды;

– контроль работы паровых и суховоздушных стерилизаторов, автоклавов;

– контроль температурного режима холодильников;

– контроль температурного режима термостатов;

– контроль работы бактерицидных ламп;

– проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности, давления;

– проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, контроль качества дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на ЛЗН

Для проведения диагностических исследований на ЛЗН в лабораториях должны быть в наличии:

– диагностические препараты, тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 2);

– приборы, оборудование (прилож. 3);

– расходные и дезинфицирующие материалы (прилож. 4);

– комплект медицинский (укладка универсальная для забора материала от людей и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные инфекционные болезни);

– рабочая и защитная одежда, тип защитной одежды зависит от характера выполняемой работы.

5.3.2. Номенклатура и объем исследований

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации проводит:

– сбор полевого материала (комары, иксодовые *Hyalomma marginatum marginatum* и другие, различных фаз метаморфоза (имаго, личинки, нимфы), снятые с прокормителей и собранные в открытых стациях; аргасовые и гамазовые клещи, органы птиц и мелких млекопитающих), а также забор крови лошадей, крупного и мелкого рогатого скота с привлечением специалистов ветеринарной службы (по эпидпоказаниям);

– исследование проб полевого материала;

– исследование материала от больных и умерших с подозрением на ЛЗН (кровь; сыворотка крови и/или плазма; спинномозговая жидкость; секционный материал: печень, легкие, селезенка, почки, мозг (головной и спинной), сгустки крови);

– исследование сывороток крови от здорового населения и сельскохозяйственных животных для определения уровня иммунной прослойки (по эпидпоказаниям).

Диагностические исследования материала осуществляют в следующем объеме:

– полевой материал исследуют на наличие антигена и специфической РНК ВЗН;

– клинический материал от больных (умерших) с подозрением на ЛЗН исследуют на наличие специфических антител класса М

(IgM) и класса G (IgG), а также суммарных специфических антител, антигена и специфической РНК ВЗН;

– материал от здоровых людей (доноров, выборочных групп населения), проживающих на территории природных очагов, а также сельскохозяйственных животных для изучения иммунной прослойки исследуют на наличие специфических антител класса G (IgG).

Исследования проводят согласно действующим методическим указаниям по лабораторной диагностике ЛЗН.

5.3.3. Порядок диагностических исследований на лихорадку Западного Нила в лабораториях ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации

Забор клинического материала от больных и умерших с подозрением на ЛЗН осуществляют в соответствии с п. 5.1.3.

Сбор материала из окружающей среды осуществляют в соответствии с п. 5.2.1.

Порядок исследования материала

Порядок исследования материала включает:

I этап

– прием, сортировку и регистрацию проб;

– первичную обработку проб и подготовку их к исследованию;

– постановку ПЦР, ИФА, МФА, РАО.

Первичная обработка проб и подготовка их к исследованию

Подготовку образцов проводят в соответствии с инструкциями, прилагаемыми к тест-системам для постановки МФА, ИФА, РАО, ОТ-ПЦР.

Подготовку суспензий членистоногих и органов животных проводят общепринятым методом с использованием раствора для разведения образцов, заложенного в диагностические тест-системы или 0,9 % раствора хлористого натрия. При заборе органов и приготовлении суспензий в полевых и лабораторных условиях необходимо принять меры для исключения перекрестной контаминации: для получения и обработки проб от каждого животного используют отдельный комплект инструментов и одноразовую посуду.

В случае необходимости длительного хранения пробы замораживают и хранят при температуре от минус 20 до минус 70 °С.

Постановка ИФА, ОТ-ПЦР, МФА, РАО

Проведение ИФА, ОТ-ПЦР, МФА, РАО осуществляют согласно инструкциям, прилагаемым к тест-системам.

II этап

2—4 ч от начала исследования – учет результатов РАО, МФА;

5—6 ч от начала исследования – учет результатов ИФА;

8—12 ч от начала исследования – учет результатов ПЦР;

– выдача ответа специфической индикации на основании результатов реакций.

5.3.4. Регистрация и оформление результатов исследования

Регистрацию результатов исследований в лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» производят по учетным формам в соответствии с действующими нормативно-методическими документами.

5.3.5. Порядок взаимодействия лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации с учреждениями Роспотребнадзора

Информацию о выявленных положительных пробах передают в соответствии с действующей нормативной документацией и направляют в Референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила, Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней.

Положительные сыворотки крови направляют в Референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила и по согласованию в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней.

Положительные пробы объектов окружающей среды направляют по согласованию в Референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила и в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Прилагаются сопроводительное письмо, акт упаковки и акт передачи.

6. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях регионального уровня

6.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности, курирующих субъекты Российской Федерации

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики ЛЗН в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности, курирующих субъекты Российской Федерации, соответствует п. 5.3 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации».

6.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней

6.2.1. Требования к лабораториям Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней должны соответствовать требованиям действующих нормативных документов.

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование положительных проб на ЛЗН должны осуществляться в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспорти-

рования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Транспортирование материала проводится в условиях «холодовой цепи».

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими СанПиН по обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных и распорядительных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на ЛЗН

Исследования на ЛЗН могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним профессиональным образованием, окончившие соответствующие курсы профессиональной переподготовки по специальности «Вирусология» и/или «Бактериология» с основами безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I—II групп, не имеющие противопоказаний к лечению специфическими препаратами и имеющие допуск к работе с ПБА I—II групп на основании приказа руководителя учреждения.

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных заболеваний, должны повышать квалификацию не реже одного раза в пять лет, и иметь сертификат специалиста.

Необходимый уровень подготовки специалистов с высшим медицинским (биологическим) образованием и средним медицинским образованием представлен в прилож. 1.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники должны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими нормативными документами.

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований, правила ведения документации соответствуют п. 5.3.1.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на ЛЗН

Для проведения диагностических исследований на ЛЗН в лабораториях должны быть в наличии:

– диагностические препараты, тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке, экспериментальные серии, перевиваемые клеточные культуры, питательные среды и растворы для культур клеток (для Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней) (прилож. 2);

– приборы, оборудование (прилож. 3);

– расходные и дезинфицирующие материалы (прилож. 4);

– комплект медицинский (укладка универсальная для забора материала от людей и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные инфекционные болезни);

– рабочая и защитная одежда, тип защитной одежды зависит от характера выполняемой работы.

6.2.2. Номенклатура и объем исследований

Номенклатура и объем исследований соответствует п. 5.3.2. МУ, дополнительно проводят исследования проб, поступивших из лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации для подтверждения.

6.2.3. Порядок проведения диагностических исследований на лихорадку Западного Нила в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней

Порядок исследования клинического материала и проб объектов окружающей среды, соответствует п. 5.3.3.

6.2.4. Регистрация и оформление результатов исследования

Регистрацию результатов исследований в лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней проводят в учетных формах рабочей документации. Результаты исследования выдают на соответствующем бланке учреждения.

6.2.5. Порядок взаимодействия лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней с учреждениями Роспотребнадзора

Информацию о выявленных положительных пробах на ЛЗН передают в соответствии с действующей нормативной документацией и направляют также в Референс-центр по мониторингу за возбудителем ЛЗН.

Положительные пробы от людей и из объектов окружающей среды передают в Референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила по согласованию.

РНК вируса ЛЗН, пробы материала с высоким содержанием вируса передают в Референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила.

Заключение о результатах исследования материала, присланного на подтверждение, направляют в учреждение, из которого материал получен.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Транспортирование материала проводится в условиях «холодовой цепи» в термоконтейнерах с хладоэлементами.

7. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в лабораториях федерального уровня

7.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в Референс-центре по мониторингу за лихорадкой Западного Нила

7.1.1. Требования к лабораториям Референс-центра по мониторингу за лихорадкой Западного Нила

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов, требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на ЛЗН, требования к обеспечению безопасности работы персонала, порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований, правила ведения документации аналогичны п. 6.2.1.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на ЛЗН

Для проведения диагностических исследований на ЛЗН в лабораториях должны быть в наличии:

– диагностические препараты, тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке, экспериментальные серии, перевиваемые клеточные культуры, питательные среды и растворы для культур клеток (прилож. 2, 11);

– приборы, оборудование (прилож. 3);

– расходные материалы (прилож. 4);

– комплект медицинский (укладка универсальная для забора материала от людей и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные инфекционные болезни);

– рабочая и защитная одежда, тип защитной одежды зависит от характера выполняемой работы.

7.1.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории Референс-центра по мониторингу за лихорадкой Западного Нила проводят:

– исследования материала от больных с тяжелым и атипичным течением инфекции, в том числе при расследовании вспышек, а также умерших с подозрением на ЛЗН;

– подтверждение положительных проб полевого материала, поступивших из лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации, а также лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I-II групп патогенности по эпидемическим показаниям;

– вирусологические исследования;

– генетическое типирование, секвенирование и анализ геномов штаммов возбудителя ЛЗН.

7.1.3. Организация и обеспечение диагностической деятельности Референс-центра по мониторингу за возбудителем лихорадки Западного Нила

Материалом для исследования служат клинический и полевой материал, а также РНК возбудителя ЛЗН.

Лабораторная диагностика ЛЗН основана на детекции вируса или его структурных компонентов, исследовании динамики титра антител и проводится с использованием всего комплекса методов, включающих современные высокотехнологичные методы вирусологического, иммунологического и молекулярно-генетического анализов с использованием как зарегистрированных, так и экспериментально-лабораторных серий диагностических препаратов.

Порядок исследования клинического и полевого материала на ЛЗН соответствует п. 5.3.3.

Исследования осуществляют по схеме:

– выявление антигена вируса;

– выявление специфических антител класса М (IgM) и класса G (IgG) и определение авидности антител;

– выявление РНК возбудителя;

– секвенирование фрагментов генов ВЗН;

– филогенетический анализ результатов секвенирования;

– вирусологические исследования с целью изоляции и накопления вируса;

– идентификация вируса, включающая дополнительно проведение реакции нейтрализации, реакции торможения гемагглютинации и ОТ-ПЦР с праймерами на другой фрагмент генома вируса.

7.1.4. Порядок взаимодействия Референс-центра по мониторингу за лихорадкой Западного Нила с учреждениями Роспотребнадзора

Информацию о выявленных и подтвержденных положительных пробах на ЛЗН передают в соответствии с действующими нормативными документами и направляют в Национальный центр верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора.

Заключение о результатах исследования материала, присланного на подтверждение, направляют в учреждение, из которого материал получен.

В соответствии с утвержденным порядком взаимодействия РНК вируса ЛЗН, пробы материала с высоким содержанием вируса, а также штаммы вируса, полученные при вирусологических исследованиях, передают по согласованию в Национальный центр верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Транспортирование материала проводится в условиях «холодовой цепи».

7.2. Порядок и организация лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила в Национальном центре верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора

7.2.1. Требования к лабораториям Национального центра верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора

Лаборатории Национального центра верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Наличие регламентирующих работу документов, требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на ЛЗН, требования к обеспечению безопасности работы персонала, порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований, правила ведения документации и требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на ЛЗН, аналогичны п. 7.1.1.

7.2.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории Национального Центра верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора проводят:

– изоляцию штаммов вируса ЛЗН из проб материала, полученных из Референс-центра по мониторингу за возбудителем ЛЗН;

– верификацию результатов лабораторной диагностики ЛЗН, проведенной в учреждениях территориального, регионального и федерального уровней;

– диагностические исследования материала от больных ЛЗН и умерших от этой болезни – по эпидпоказаниям;

– хранение коллекционных штаммов вируса ЛЗН, охраноспособное и авторское депонирование.

7.2.3. Организация и обеспечение диагностической деятельности

Порядок исследования клинического и полевого материала на ЛЗН соответствует п. 7.1.3.

Дополнительно проводят:

– выделение ВЗН и его идентификацию;

– определение генотипов штаммов вируса ЛЗН.

На основании результатов расширенной характеристики штаммов вируса ЛЗН составляют паспорта на штаммы, хранящие-

ся в Национальном Центре верификации диагностической деятельности, осуществляющем функции Государственной коллекции.

7.2.4. Порядок взаимодействия лабораторий Национального Центра верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора с учреждениями Роспотребнадзора

Национальный Центр верификации диагностической деятельности вирусных инфекций, риккетсиозов Роспотребнадзора направляет результаты проведенных исследований в Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности, Центры индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, Референс-центр по мониторингу за лихорадкой Западного Нила.

Приложение 1

Требования
к профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторную диагностику лихорадки Западного Нила

1. Требования к профессиональным навыкам лаборантов, осуществляющих лабораторную диагностику лихорадки Западного Нила:

1.1. Лаборант лаборатории МО должен владеть навыками:
– подготовки рабочего места;
– приготовления дезинфицирующих и буферных растворов;
– подготовки лабораторной посуды, реактивов;
– забора, транспортировки и регистрации инфекционного клинического материала;
– подготовки клинических проб для лабораторных исследований;
– проведения текущей дезинфекции;
– ведения рабочих журналов в соответствии с действующими нормативными документами;
– организации передачи и пересылки инфицированных клинических проб в соответствующие лаборатории (центры).

1.2. Лаборант вирусологической лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней и Центра индикации и диагностики возбудителей особо опасных инфекционных болезней должен владеть навыками:
– подготовки рабочего места;
– приготовления дезинфицирующих и буферных растворов;
– подготовки лабораторной посуды, реактивов;
– забора, транспортирования и регистрации инфекционного клинического материала;
– подготовки клинических и полевых проб для лабораторных исследований;
– проведения текущей дезинфекции;
– ведения рабочих журналов в соответствии с действующими нормативными документами;
– организации передачи и пересылки инфицированных клинических проб и инфекционных материалов в соответствующие лаборатории (центры);
– обработки и хранения клинических и полевых проб;
– заражения и вскрытия лабораторных животных с целью выделения вирусов;
– постановки иммунологических методов (ИФА, МФА);

1.3. Лаборант лаборатории Референс-центра по мониторингу за возбудителем лихорадки Западного Нила и лаборатории Национального Центра верификации диагностической деятельности в дополнение к перечню в пункте 1.2. должен владеть навыками:

– обработки и хранения клинических и полевых проб;

– обработки и консервирования вирусов;

– заражения и вскрытия лабораторных животных с целью выделения вирусов.

2. Требования к профессиональным навыкам врачей, осуществляющих лабораторную диагностику лихорадки Западного Нила:

2.1. Врач диагностической лаборатории МО должен владеть навыками:

– организации работы среднего и младшего медперсонала лаборатории;

– проведения контроля качества работы в лабораториях лечебно-профилактических учреждений;

– оформления первичной медицинской документации, учетной и отчетной документации;

– статистического анализа и основных показателей деятельности врача-лаборанта;

– информационно-разъяснительной работы;

– оценки клинических и эпидемиологических данных;

– забора, транспортирования инфекционного клинического материала;

– подготовки клинических и полевых проб для лабораторных исследований;

– определения условий обработки, хранения материала, степени пригодности к исследованию и т.д.;

– постановки иммунологических методов (ИФА, МФА);

– ПЦР.

2.2. Врач лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней, Центра индикации и диагностики возбудителей особо опасных инфекционных болезней должен владеть навыками:

– организации работы среднего и младшего медперсонала лаборатории;

– оформления первичной медицинской документации, учетной и отчетной документации;

– статистического анализа и основных показателей деятельности врача-вирусолога;

– информационно-разъяснительной работы;

– определения объема информации, необходимого для проведения вирусологического обследования;

– оценки клинических и эпидемиологических данных;

– забора, транспортирования инфекционного клинического материала;

– подготовки клинических и полевых проб для лабораторных исследований;

– определения условий обработки, хранения материала, степени пригодности к исследованию и т.д.;

– постановки иммунологических методов (ИФА, МФА);

– постановки ПЦР с электрофоретической регистрацией результата и в формате «реального времени».

– проведения контроля качества работы в лабораториях.

2.3. Врач (научный сотрудник) лаборатории Референс-центра по мониторингу за возбудителем лихорадки Западного Нила и вирусологической лаборатории Национального Центра верификации диагностической деятельности, Национального центра, осуществляющего функции государственной коллекции возбудителей вирусных инфекций, риккетсиозов, Роспотребнадзора в дополнение к перечню в п. 2.2. должен владеть навыками:

– забора, транспортирования инфекционного клинического и полевого материала;

– обработки и хранения клинических и полевых проб;

– хранения и консервирования вирусов;

– заражения и вскрытия лабораторных животных с целью выделения вирусов (мыши, куриные эмбрионы, кролики, крысы, морские свинки);

– иммунизации животных, получения иммунных сывороток и асцитов;

– кровопускания у животных: приготовление сыворотки, плазмы и взвеси лейкоцитов;

– работы с культурами клеток, получения первичных культур клеток, пересева перевиваемых и первичных культур клеток;

– выделения вирусов при заражении первичных и перевиваемых культур клеток, животных, куриных эмбрионов;

– титрования вирусов на животных, в куриных эмбрионах, в культуре клеток;

– реакции нейтрализации вирусов на животных, куриных эмбрионах, культуре клеток, подсчета ЛД50;

– проведения контроля качества работы в лабораториях;

– постановки иммунологических методов (ИФА, МФА);

– постановки ПЦР с электрофоретической регистрацией результата и в формате «реального времени».

Приложение 2

Диагностические препараты, тест-системы, используемые при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила

№ п/п	Наименование препарата	Техническая документация	Производитель
1	2	3	4
1.	Тест-система иммуноферментная для ранней диагностики ЛЗН (определения антител класса М) «Вирус Западного Нила, IgM, полуколичественное определение (Euroimmun AG, Германия)»	РУ №ФСЗ 2010/07294	ЗАО «Аналитика», 129343, г. Москва, проезд Серебрякова, дом 2, корпус 1, этаж 2, тел. (495) 737-03-63, факс. (495) 737-03-65, e-mail: gost.e-ecolog.ru веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
2.	Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу ЛЗН «Вирус Западного Нила, IgG, количественное определение (Euroimmun AG, Германия)»	РУ №ФСЗ 2010/07294	ЗАО «Аналитика», 129343, г. Москва, проезд Серебрякова, дом 2, корпус 1, этаж 2, тел. (495) 737-03-63, факс. (495) 737-03-65, e-mail: gost.e-ecolog.ru веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
3.	Набор реагентов для иммуноферментного выявления авидности иммуноглобулинов класса G к вирусу ЛЗН	РУ №ФСЗ 2010/07294	ЗАО «Аналитика», 129343, г. Москва, проезд Серебрякова, дом 2, корпус 1, этаж 2, тел. (495) 737-03-63, факс. (495) 737-03-65, e-mail: gost.e-ecolog.ru веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
4.	Набор реагентов для иммунофлуоресцентной детекции иммуноглобулинов класса G к вирусу ЛЗН «Вирус Западного Нила, IgG (Euroimmun AG, Германия)»	РУ №ФСЗ 2010/07322	ЗАО «Аналитика», 129343, г. Москва, проезд Серебрякова, дом 2, корпус 1, этаж 2, тел. (495) 737-03-63, факс. (495) 737-03-65, e-mail: gost.e-ecolog.ru веб-сайт: gost.e-ecolog.ru

Продолжение прилож. 2

1	2	3	4
5.	Набор реагентов для иммунофлуоресцентной детекции иммуноглобулинов класса М к вирусу ЛЗН «Вирус Западного Нила, IgM (Euroimmun AG, Германия)»	РУ №ФСЗ 2010/07322	ЗАО «Аналитика», 129343, г. Москва, проезд Серебрякова, дом 2, корпус 1, этаж 2, тел. (495) 737-03-63, факс. (495) 737-03-65, e-mail: gost.e-ecolog.ru веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
6.	Набор реагентов для иммунофлуоресцентного выявления авидности (FI2662-1005X)	РУ №ФСЗ 2010/07322	ЗАО «Аналитика», 129343, г. Москва, проезд Серебрякова, дом 2, корпус 1, этаж 2, тел. (495) 737-03-63, факс. (495) 737-03-65, e-mail: gost.e-ecolog.ru веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
7.*	Набор реагентов для иммуноферментного выявления авидности иммуноглобулинов класса G к вирусу ЛЗН «ВектоНил – IgG – авидность»		ЗАО «Вектор-Бест», 630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121, тел. (383)336-73-46, тел./факс (383)332-67-49, e-mail: gost.e-ecolog.ru
8*.	Набор реагентов для иммуноферментного выявления иммуноглобулинов класса G к вирусу ЛЗН «ВектоНил – IgG»		ЗАО «Вектор-Бест», 630559, Новосибирская область, Новосибирский район, п. Кольцово, а/я 121, тел. (383)336-73-46, тел./факс (383)332-67-49, e-mail: gost.e-ecolog.ru
9.	Набор реагентов для иммуноферментного выявления антигена вируса ЛЗН	ФСР 2012/13840	ЗАО «Биосервис», 115088, г. Москва, а/я 20, тел./факс: (495) 674-56-05, тел.: (915)250-23-16, тел.: (495)674-04-18, факс: (495)674-57-10, e-mail: gost.e-ecolog.ru

Продолжение прилож. 2

1	2	3	4
10.	Иммуноферментная тест-система для выявления в исследуемых образцах антител класса IgM к вирусу Западного Нила	ФСР 2012/13840	ЗАО «Биосервис», 115088, г. Москва, а/я 20, тел./факс: (495) 674-56-05, тел.: (915)250-23-16, тел.: (495)674-04-18, факс: (495)674-57-10, e-mail: gost.e-ecolog.ru
11.	Тест-система иммуноферментная для индикации антител класса G человека к вирусу ЛЗН	ФСР 2012/13840	ЗАО «Биосервис», 115088, г. Москва, а/я 20, тел./факс: (495) 674-56-05, тел.: (915)250-23-16, тел.: (495)674-04-18, факс: (495)674-57-10, e-mail: gost.e-ecolog.ru
12.	Набор реагентов для выявления РНК вируса ЛЗН в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с флуоресцентной детекцией в формате реального времени «АмплиСенс® WNV-FL»	ФСР 2001/11503	ФГУН ЦНИИ эпидемиологии, ООО «Интерлабсервис», 119021, г. Москва, Олсуфьевский переулок, д .8, стр. 1 тел.: (495)664-28-84 факс: (495)6642889, e-mail: gost.e-ecolog.ru веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
13.	ПЦР-тест-система для выявления РНК вируса ЛЗН	ФСР 2012/13434	ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб», 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46, тел.: (8452) 26-21-31, факс: (8452) 51-52-12, e-mail: gost.e-ecolog.ru веб-сайт: gost.e-ecolog.ru ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор», 630559, Новосибирская область, Новосибирский район, р.п. Кольцово, а/я 257,

Продолжение прилож. 2

1	2	3	4
			тел.: (383) 3366010, факс: (383) 3367409, e-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru ФГБУ НИИ вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 16, тел. (499)190-30-53

* – препараты экспериментально-производственных серий

Приложение 3

**Приборы и оборудование,
используемые при проведении лабораторной диагностики
лихорадки Западного Нила**

№ п/п	Наименование оборудования	Область применения	Количество
1	2	3	4
Лаборатории территориального и регионального уровней			
Лаборатории МО, ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», Региональных центров по мониторингу за возбудителями I—II групп патогенности (лаборатории противочумных учреждений)			
Оборудование общего назначения			
1	Автоклав вертикальный программируемый	Обеспечение лабораторных исследований	2
2	Сухожаровой шкаф стерилизационный	Обеспечение лабораторных исследований	1
3	Аквадистиллятор электрический	Обеспечение лабораторных исследований	1
4	pH-метр	Обеспечение лабораторных исследований	1
5	Баня водяная циркуляционная	Обеспечение лабораторных исследований	1
Оборудование для вирусологических исследований			
6	Холодильник	Хранение диагностических препаратов и реактивов.Хранение исследуемого материала	2
7	Вертикальный низкотемпературный морозильник (– 70) °С	Хранение исследуемого материала	1
8	Бокс биологической безопасности II класса защиты	Разбор и сортировка исследуемого материала	1

Продолжение прилож. 3

1	2	3	4
9	Бокс для стерильных работ	Для розлива питательных сред	1
10	Термостат электрический	Обеспечение лабораторных исследований	2
11	CO_2-инкубатор	Обеспечение лабораторных исследований	2
12	Магнитная мешалка	Обеспечение лабораторных исследований	2
13	Микроскоп бинокулярный	Обеспечение лабораторных исследований	1
14	Микроскоп люминесцентный с программным обеспечением	Иммунофлуоресцентный анализ	1
15	Весы прецизионные	Взвешивание реактивов для приготовления питательных сред, дез. растворов	2
16	Весы аналитические	Взвешивание реактивов для приготовления питательных сред, дез. растворов	1
17	Комплект автоматических дозаторов	Обеспечение лабораторных исследований	2
18	Облучатели бактерицидные (передвижные и стационарные)	Обеспечение лабораторных исследований	4
Оборудование для ИФА			
19	Устройство для промывки микропланшетов	Обеспечение лабораторных исследований для иммунологических реакций	1
20	Термошейкер	Обеспечение лабораторных исследований	1
21	Фотометр	Учет результатов иммунологических реакций	1
22	Комплект автоматических дозаторов	Обеспечение лабораторных исследований	2

Продолжение приложе. 3

1	2	3	4
23	Облучатели бактерицидные (передвижные и стационарные)	Обеспечение лабораторных исследований	4
	Оборудование для ПЦР-анализа		
24	Морозильная камера (–20) °С	Хранение диагностических препаратов и реактивов. Хранение исследуемого материала	2
25	Вертикальный низкотемпературный морозильник (–70) °С	Хранение исследуемого материала	1
26	Холодильник	Хранение диагностических препаратов и реактивов. Хранение исследуемого материала	2
27	Бокс биологической безопасности II класса защиты	Разбор, первичная обработка материала, центрифугирование, объединение или разделение на аликвоты	1
28	Бокс биологической безопасности II класса защиты	Выделение ДНК/РНК	1
29	Отсасыватель медицинский	Выделение ДНК/РНК	1
30	Миницентрифуга для пробирок 1,5 мл; скорость до 13 400 об./мин	Подготовка проб. Выделение ДНК/РНК	1
31	Миницентрифуга-вортекс	Подготовка проб. Выделение ДНК/РНК. Проведение амплификации	3
32	Термостат твердотельный для микропробирок	Подготовка проб. Выделение ДНК/РНК	2
33	ПЦР-бокс настольный	Проведение амплификации	1
34	Амплификатор	Проведение амплификации	1

Продолжение прилож. 3

1	2	3	4
35	Амплификатор с системой детекции результатов в режиме «реального времени»	Проведение амплификации	1
36	Комплект автоматических дозаторов	Обеспечение ПЦР-исследований	4
37	Весы лабораторные	Приготовление гелей	1
38	Микроволновая печь	Приготовление гелей	1
39	Камера для горизонтального электрофореза с заливочным устройством для подготовки гелей	Учет результатов ПЦР	1
40	Источник постоянного тока	Учет результатов ПЦР	1
41	Система фотодокументации (УФ-трансиллюминатор, фотокамера с бокс-штативом)	Учет результатов ПЦР	1
42	Облучатели бактерицидные стационарные	Обеспечение лабораторных исследований	4
Лаборатории Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней (лаборатории научно-исследовательских институтов, ПЧЦ, ПЧС) (оснащены дополнительно к комплекту оборудования лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями I—II групп патогенности)			
Оборудование общего назначения			
43	Машина для мойки лабораторной посуды	Обеспечение лабораторных исследований.	1
44	Гомогенизатор с набором адаптеров и дозаторами	Подготовка клинического и полевого материала для исследования.	1
Оборудование для ПЦР-анализа			
45	Автоматическая станция для выделения ДНК/РНК (на основе принципа нуклеосорбции на магносорбенте	Выделение ДНК/РНК	1

Продолжение прилож. 3

1	2	3	4
	или на основе систем фильтрации на спин-колонках)		
Оборудование для вирусологических исследований			
46	Микроскоп световой с системой фото- и видеодокументирования	Обеспечение лабораторных исследований	1
47	Инвертированный микроскоп для светлого поля	Обеспечение лабораторных исследований	1
48	Инвертированный микроскоп для светлого поля и флуоресценции	Обеспечение лабораторных исследований	1
49	Автоматический счетчик клеток	Обеспечение лабораторных исследований	1
Лаборатории федерального уровня			
Лаборатории Референс-центра и Национального центра верификации диагностической деятельности (оснащены дополнительно к комплекту оборудования лабораторий регионального уровня)			
Оборудование общего назначения			
50	Система для лиофильного высушивания микроорганизмов (с устройством для вакуумного запаивания ампул)	Хранение коллекционного материала	1
Оборудование для молекулярно-биологических исследований			
51	ДНК-анализатор (секвенатор)	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на геномном уровне	1
52	Бокс биологической безопасности II класса защиты	Подготовка проб для секвенирования	1
53	ПЦР-бокс настольный	Подготовка проб для секвенирования	1
54	Настольная центрифуга с охлаждением, максимум скорости 13 200 об./мин	Подготовка проб для секвенирования	1

Продолжение прилож. 3

1	2	3	4
55	Миницентрифуга-вортекс	Подготовка проб для секвенирования	1
56	Термостат твердотельный	Подготовка проб для секвенирования	1
57	Амплификатор с «горячей крышкой»	Подготовка проб для секвенирования	1
58	Комплект автоматических дозаторов переменного объема	Обеспечение этапа подготовки проб для секвенирования, этапа секвенирования; подготовки чипов, для молекулярного типирования	4

Примечание Указано минимальное количество единиц лабораторного оборудования. В зависимости от объемов выполняемых исследований, структурно-функциональной организации лаборатории количество единиц лабораторного оборудования может быть увеличено.

Приложение 4

Расходные и дезинфицирующие материалы, используемые при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила

1. Пинцеты
2. Ножницы Купера и прямые
3. Скальпель
4. Таймеры
5. Микропланшеты для иммунологических реакций плоскодонные
6. Штативы для пробирок бактериологических
7. Штативы для микропробирок 1,5 мл
8. Штативы для микропробирок 0,5 мл
9. Штативы для микропробирок 0,2 мл
10. Стойка для автоматических дозаторов
11. Микроцентрифужные полипропиленовые пробирки с крышками, типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл
12. Пробирки с винтовой горловиной объемом 1,5 мл, снабженные крышкой с петлей и кольцевой прокладкой 1,5 мл, стерильные
13. Пробирки П1-16-150 ХС
14. Тонкостенные полипропиленовые пробирки (плоская крышка) для ПЦР объемом 0,6 мл
15. Наконечники универсальные для дозаторов объемом 200 и 1000 мкл
16. Наконечники универсальные для дозаторов с фильтром объемом 100, 200 и 1000 мкл
17. Перчатки латексные
18. Чашки Петри пластиковые одноразовые
19. Стекла предметные
20. Пипетки 4-1-1, 4-1-2, 6-1-5, 6-1-10
21. Спиртовки СЛ-1, СЛ-2
22. Ступки фарфоровые с пестиками
23. Колбы стеклянные 250 мл
24. Бумага фильтровальная лабораторная
25. Вата медицинская гигроскопическая
26. Марля медицинская
27. Комплект медицинский (укладка универсальная для забора клинического и полевого материала)
28. Спецодежда
29. Средства индивидуальной защиты
30. Моющее средство для посудомоечных машин
31. Вода дистиллированная
32. Спирт этиловый ректификат
33. Хлорамин Б
34. ДП-2Т

Приложение 5

Направление крови
для выделения вируса Западного Нила

В вирусологическую лабораторию _____

_____

Направляется кровь для выделения вируса ЗН

Ф.И.О. _____

_____

Возраст _____

Домашний адрес _____

_____

Место работы (учебы) _____

_____

Дата заболевания _____

Дата взятия крови _____

Диагноз _____

_____

_____

Наименование направившего учреждения _____

_____

Ф.И.О. врача _____

Дата отправления материала _____

Дата и время доставки материала
в лабораторию _____

Приложение 6

Направление сыворотки крови для исследования на наличие антител против вируса Западного Нила

В лабораторию _____

_____

_____

Направляется сыворотка крови для исследования на наличие антител к вирусу ЗН

Ф.И.О. _____

_____

Возраст _____

Домашний адрес: _____

_____

Место работы (учебы): _____

_____

Дата заболевания: _____

Дата взятия крови: _____

Диагноз: _____

_____

Наименование направившего учреждения: _____

_____

Ф.И.О. врача _____

Дата отправления материала _____

Дата и время доставки материала в лабораторию _____

Приложение 7

Направление
секционного материала для исследования
на наличие вируса Западного Нила

В лабораторию _____

_____

(наименование учреждения)

Фамилия _____ Имя _____

Отчество _____ Возраст _____

Место жительства _____

_____

(область, город, район, населённый пункт)

Место работы (учебы) _____

_____

Номер истории болезни _____ Дата заболевания _____

Дата и время смерти _____

Клинический диагноз _____

_____

Патологоанатомический диагноз _____

_____

Вид материала _____

_____

Дата и время отбора материала _____

Дата и время отправки материала _____

Дополнительные сведения _____

_____

Ф.И.О. патологоанатома (судмедэксперта),
направившего материал для исследования _____

Ф.И.О. эпидемиолога (инфекциониста)
присутствовавшего при вскрытии _____

Ф.И.О. лица, доставившего
материал в лабораторию _____

Дата и время доставки материала
в лабораторию _____

Приложение 8

Результат
выявления РНК вируса Западного Нила
методом ОТ-ПЦР

Ф.И.О. _____

_____

Материал для исследования _____

_____

Дата забора материала _____

Дата поступления материала _____

Наименование и номер серии тест-системы, используемой для проведения исследования _____

_____

Результат исследования: специфическая РНК вируса ЛЗН ____

_____

_____

Ф.И.О. и должность лица,
проводившего исследование_____

Дата _____

Подпись _____

Приложение 9

Результат
серологических исследований на наличие
вируса Западного Нила

Ф.И.О. _____

_____

Адрес _____

_____

Материал для исследования – сыворотка крови _____

Дата взятия крови _____

Дата поступления сыворотки _____

Метод исследования ИФА _____

_____

Наименование и номер серии тест-системы, используемой для проведения исследования _____

_____

Результат исследования IgM - IgG - _____

_____

Титр антител IgM - IgG - _____

_____

Ф.И.О. и должность лица,
проводившего исследование_____

Дата _____

Подпись _____

Приложение 10

Направление
на исследование полевого материала с целью выявления вируса Западного Нила

В лабораторию _____

_____

(наименование учреждения)

Дата забора материала_____

Место сбора _____

Вид собранного полевого материала _____

_____

Количество объектов в пробе _____

_____

_____

_____

_____

_____

Способ отбора материала _____

Дополнительные сведения _____

_____

Ф.И.О. работника, направившего
материал для исследования_____

Ф.И.О. лица, доставившего материал
в лабораторию _____

Дата и время отправки материала_____

Приложение 11

Перевиваемые клеточные культуры, питательные среды и растворы для культур клеток, рекомендуемые антибиотики для использования в культурах клеток при проведении лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила

№ п/п	Наименование среды	Техническая документация	Производитель
1	2	3	4
1	Культура клеток Vero-6		ООО «Биолот», г. Санк-Петербург
2	Культура клеток ВНК-21		–"–
3	Культура клеток СПЭВ		–"–
4	Культура клеток PS		–"–
5	Основная среда Игла, BME		–"–
6	Минимальная среда Игла, MEM, F11		–"–
7	Среда RPMI-1640		–"–
8	Среда Игла в модификации Далбеко, DMEM		–"–
9	L-глутамин		–"–
10	0,5 %-й гидролизат лактальбумина		
11	Натрия бикарбонат, раствор 7,5 % (для микробиологических исследований)	ФСП 42-0070-0595-00	ФГУП по производству бактерийных и вирусных препаратов института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М. П. Чумакова РАМН, г. Москва

Продолжение прилож. 11

1	2	3	4
12	Эрла раствор	ФСП 42-0070-0596-00	—"—
13	Хенкса раствор	ФСП 42-0070-0597-00	—"—
14	Трипсина раствор	ФСП 42-0070-1179-01	—"—
15	Версена раствор	ФСП 42-0070-1181-01	—"—
16	Питательная среда с гидролизатом лактальбумина (0,5 %) в растворе Хенкса	ФСП 42-0070-0598-00	—"—
17	Питательная среда 199 ($10^{\times}$ концентрат), жидкая	ФСП 42-0070-0599-00	—"—
18	Питательная среда 199 жидкая	ФСП 42-0070-1180-01	—"—
19	Бензилпенициллина калиевая соль		
20	Стрептомицина сульфат		
21	Гентамицин		
22	Канамицин		
23	Линкомицин		
24	Амфотерицин В		

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики лихорадки Западного Нила для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней

Методические указания
МУК 4.2.3009—12

Редактор Н. В. Кожока
Технический редактор А. А. Григорьев

Подписано в печать 9.01.13

Формат 60×88/16 Печ. л. 3,75
Тираж 200 экз. Заказ 3

Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей
и благополучия человека
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

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 (495) 952-50-89

gost.e-ecolog.ru