

Методика отбора проб для гриппа и ОРВИ

(для медицинских работников)

Лабораторная диагностика гриппа и острых и респираторных вирусных инфекций (ОРВИ) проводится в соответствии п.п. 4.2. СП 3.1.2.3117-13 «Профилактика гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций».

Диагностика гриппа и ОРВИ в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Башкортостан» проводится тремя методами:

1. ПЦР диагностика (экспресс- метод) - обнаружение нуклеиновых кислот РНК или ДНК вирусов гриппа и ОРВИ при исследовании мазков из носоглотки и ротоглотки методом ПЦР;

2. Метод иммунофлуоресцентного анализа (ИФ) (экспресс – метод) - обнаружение антигенов вируса в мазках из носовой полости больных (цилиндрический эпителий, содержащий вирусные антигены).

3. Реакция торможения гемагглютинации - РТГА - определение нарастания титра антител в парных сыворотках крови больного (первая порция крови из вены должна быть отобрана в начале заболевания (1-3 день); вторая порция - в период реконвалесценции (на 10-12 день заболевания и позднее) серологическим методом;

Отбор клинических материалов должен проводиться обученным персоналом с применением средств индивидуальной защиты.

Отбор материала проводится в соответствии с методическими рекомендациями N 0100/4434-06-34 «Быстрая диагностика гриппа и других ОРВИ иммунофлуоресцентным методом».

МР 3.1.0117-17 «Лабораторная диагностика гриппа и других ОРВИ методом полимеразной цепной реакции».

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

Отбор, упаковка, хранение и транспортировка проб должна проводиться в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами СП 1.3.2322-08 "Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней".

1. Забор соскоба из полости носа (ИФ).

Методические рекомендации (утв. Роспотребнадзором 18.04.2006 №0100/4434-06-34)

Оптимальным сроком отбора клинического материала являются **первые 1-3 суток** от начала заболевания.

Обязательным условием качества исследования является получение мазка клеток, которые выстилают глубокие отделы нижних носовых ходов (клетки имеют цилиндрическую, бокаловидную или округлую форму, иногда снабжены ресничками. Под

микроскопом они имеют четкую структуру с ядром и окружающей его сравнительно небольшой по размеру цитоплазмой).

Перед взятием материала из носа необходимо очистить носовые ходы от слизи.

Если материал берется у маленьких детей, во избежание повреждения слизистой при резких движениях ребенка нужна помощь ассистента, который усаживает его к себе на колени, одной рукой прижимает руки ребенка, а другой рукой - голову. Детей старше 7 лет и взрослых больных усаживают в положение с приподнятым носом.

Забор соскобов из полости носа производят сухими стерильными зондами с ватными тампонами (свабами). Зонд с ватным тампоном вводят по наружной стенке носа на глубину для взрослых до 5 см, детям младшего возраста - на 1,5-2 см. до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход **под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение, дают пропитаться секретом в течение 1 минуты** и удаляют вдоль наружной стенки носа. Процедуру повторяют другим ватным тампоном со вторым носовым ходом.

После забора материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают стерильную одноразовую пробирку с 2-3 мл стерильного **забуференного** 0,9% раствора натрия хлористого, рН 7,2-7,4. **Доставка материала в лабораторию в течение двух часов.** Замораживание должно быть исключено.

2. Забор мазков из носоглотки и ротоглотки для ПЦР

В диагностических целях – при первом обращении за медицинской помощью, но не позднее 7 дней от появления симптомов гриппа/ОРВИ, и не позднее 14 дней – при бронхитах и пневмонии.

Для ПЦР исследований используется только одноразовые зонды (свабы)

От каждого пациента берут 2 мазка разными зондами – мазок из носоглотки и ротоглотки, которые объединяют в одной пробирке с транспортной средой. Перед сбором мазков нельзя использовать спреи, аэрозоли для полости рта и носа, препараты для рассасывания.

Мазки из ротоглотки берут сухими стерильными зондами из полистирола с вязкими тампонами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки (обязательно!), аккуратно прижимая язык пациента шпателем.

Материал из носоглотки.

Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой провести высмаркивание или промокнуть нос снаружи салфеткой.

Легким движением по наружной стенке носа вводят сухой зонд из полистирола с вязким тампоном на глубину 2-3 см. до нижней раковины, слегка опускают к низу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Общая глубина погружения зонда должна составлять не менее половины расстояния от ноздри до ушного отверстия.

В лабораторию материал может быть доставлен в высоких пробирках или микропробирках:

1) Если пробирки высокие, в которые зонды помещаются целиком, то буфера должно быть 1 мл, транспортировать образцы необходимо вертикально.

2) После забора материала тампон (рабочую часть зонда с ватным тампоном) помещают в стерильную одноразовую пробирку с 0,5 мл (допустимо не более 1 мл) стерильного 0,9% изотонического раствора натрия хлористого, конец зонда отламывается движениями вниз/вверх/вниз, придерживая крышкой пробирки. Пробирку герметично закрывают. **НЕЛЬЗЯ ОБРЕЗАТЬ ЗОНДЫ НОЖНИЦАМИ!** Если случайно закуплены зонды не из полистирола, которые не разламываются: -ножницы необходимо фламбировать (погружать в этиловый спирт и прожигать в пламени спиртовки), что разрушает нуклеиновые кислоты

В педиатрической практике для мазков из носоглотки рекомендуется применять назофарингеальный велюр – тампон на пластиковом аппликаторе.

Нельзя использовать деревянные зонды с хлопковыми тампонами!

Допускается хранение материала до проведения исследования в течение 72 часов при температуре от 2 до 8°C, более длительно – при температуре не выше минус 16°C.

3. Кровь для серологического исследования (РТГА)

В лабораторию должны быть доставлены две порции сыворотки больного (парные сыворотки). Первая порция крови должна быть взята в начале заболевания (1-3 день). Вторая порция - в период реконвалесценции (на 10-12 день заболевания и позднее). Кровь должна быть получена из локтевой вены в количестве 3-4 см³ в стерильную сухую пробирку. После отделения сыворотки проба должна быть помещена в чистую посуду, герметично закрыта и сохраняться до забора второй пробы крови при температуре (+4⁰-8⁰С). Транспортировка обеих проб должна осуществляться с соблюдением холодовой цепи.

Упаковка образца

- Упаковка производится в плотный полиэтиленовый пакет с гигроскопичным материалом на случай утечки материала;

- Герметично закрытый пакет помещают в плотно закрывающийся термоконтейнер с хладоэлементами.

-Пробирки/контейнер с материалом от разных пациентов упаковываются в индивидуальные пакеты с замком, во избежание перекрестной контаминации.

-На этикетке пробирок (контейнеров) указывается: порядковый номер образца, соответствующий номеру в направлении, и по возможности, ФИО, тип материала

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

При подготовке материала использовались данные семинара на тему: «Правила сбора, хранения и транспортирования биологического материала для исследования различными методами с целью диагностики гриппа и инфекций верхних дыхательных путей другой этиологии»