

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
«МОСКОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ
И МИКРОБИОЛОГИИ им. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО»
ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И
БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА**

**ФГУН МНИИЭМ
им. Г.Н. ГАБРИЧЕВСКОГО
РОСПОТРЕБНАДЗОРА**

Россия, 125212 Москва,
ул. Адмирала Макарова, 10
Тел.: (495)452-18-16
Телефакс: (495)452-18-30
E-mail: info@gabrich.com
Site: www.gabrich.com



**G. N. GABRICHEVSKY
RESEARCH INSTITUTE FOR
EPIDEMIOLOGY AND
MICROBIOLOGY**

Admiral Makarov Street, 10
Moscow 125212, RUSSIA,
Phone: 007-495-452-18-16
Fax: 007-495-452-18-30
E-mail: info@gabrich.com
Site: www.gabrich.com

" 8 " февраля 2008 г.

№ 64

Руководителям Региональных
центров по надзору за корью

Уважаемые коллеги!

В связи с необходимостью предоставления в Роспотребнадзор и ЕРБ ВОЗ данных о генотипах вируса краснухи, циркулирующих в Российской Федерации, убедительно прошу в срок до 30 марта 2008г организовать на подведомственных региональному центру территориях сбор и доставку в Национальный научно – методический центр по надзору за корью клинических образцов от пациентов с краснухой.

Для проведения исследований необходимы клинические образцы от 5 – 10 пациентов, собранные в соответствии с прилагаемым протоколом, желательно в разных регионах.

Приложение: Протокол сбора клинических образцов.

Руководитель ННМЦ, Региональной
референс – лаборатории ВОЗ
корь/краснуха для стран СНГ,
Д-р биол. наук, профессор

Тихонова Н.Т.

Сбор, подготовка, транспортировка и хранение клинических образцов для диагностики краснухи и СВК методом ОТ-ПЦР, изоляции вируса на культуре клеток и генотипирования

I. Общая информация

I.1. Общая информация

В качестве клинических образцов для изоляции вируса краснухи на культуре клеток и экстракции РНК вируса с последующим проведением ПЦР и генотипирования используются носоглоточные соскобы и смывы.

I.2. Информация по биологической безопасности

Клинические образцы потенциально могут содержать широкое разнообразие возбудителей инфекционных заболеваний, в связи с чем, все манипуляции необходимо проводить с соблюдением правил работы с инфицированными материалами. Всегда следует надевать перчатки, при работе вне бокса – использовать защитные очки.

I.3. Материалы и оборудование

Набор для забора носоглоточных соскобов (стерильный зонд – тампон в пробирке);

Градуированные центрифужные пластиковые пробирки с завинчивающейся крышкой 15 мл;

Пробирки типа «Эппендорф»;

Пластиковые пробирки с завинчивающейся крышкой 2 мл для замораживания образцов;

Антибиотики: бензилпенициллина натриевая (калиевая) соль;

стрептомицина сульфат;

Рефрижераторная центрифуга

1.4. Особые указания

Все процедуры следует проводить в условиях максимально возможной стерильности. Работать необходимо с охлажденными до 2...8°C образцами, не допуская их нагревания и воздействия прямого солнечного света.

На каждый образец обязательно заполнение направления на лабораторное исследование (Приложение).

Вероятность выделения вируса наиболее высока при исследовании образцов, собранных в первые 3 суток с момента появления сыпи, не следует задерживать сбор образцов для вирусологических исследований.

II. Сбор, подготовка, транспортировка и хранение клинических образцов

Взятие носоглоточных соскобов и смывов

Для изоляции вируса краснухи и экстракции РНК вируса может быть использован носоглоточный смыв или соскоб, собранные не позже 5 дня с момента появления сыпи при постнатальной краснухе и в течение 1 года жизни ребенка при СВК.

Манипуляции

Носоглоточный смыв

1. Предложите пациенту прополоскать горло 3 – 5 мл физиологического раствора;

2. Соберите промывные воды в стерильную пробирку;
3. Осадите клеточную фракцию путем центрифугирования при +4°C 1500 об/мин в течение 5 мин;
4. Удалите надосадочную жидкость;
5. Растворите осадок в 1 мл транспортной среды;
6. Образцы необходимо доставить в лабораторию для исследования при 2...8°C в течение 48 часов;
7. В случае отсутствия возможности для доставки образцов в указанные сроки, заморозьте их и храните при температуре не выше -70°C.

Носоглоточный соскоб

1. Стерильным ватным тампоном с усилием (чтобы собрать достаточное количество клеток) протрите слизистую оболочку носоглотки пациента;
2. Тампон поместите в стерильную 15 мл пробирку с завинчивающейся крышкой, содержащую 3 мл транспортной среды;
3. Образец необходимо доставить в лабораторию для исследования при 2...8°C в течение 48 часов;
4. В случае отсутствия возможности для доставки образца в указанные сроки, пробирку с тампоном энергично встряхните, чтобы смыть клетки, и извлеките тампон;
5. Осадите клеточную фракцию путем центрифугирования при +4°C 1500 об/мин в течение 5 мин;
6. Удалите надосадочную жидкость;
7. Растворите осадок в 1 мл транспортной среды;
8. Заморозьте и храните образцы при температуре не выше -70°C.

Носоглоточный соскоб может быть забран с использованием наборов для сбора образцов для вирусологических исследований. В этом случае образец забирается в соответствии с рекомендациями производителя набора. В качестве примера приведена процедура забора носоглоточного соскоба с использованием набора «VIROCULT»:

1. Стерильным ватным тампоном с усилием (чтобы собрать достаточное количество клеток) протрите слизистую оболочку носоглотки пациента;

2. Поместите тампон в пробирку, сожмите дно пробирки, чтобы выделившаяся транспортная среда смочила тампон;

3. Образец необходимо доставить в лабораторию для исследования при 2...8°C в течение 48 часов;

4. В случае отсутствия возможности для доставки образца в указанные сроки, добавьте в пробирку 2 мл транспортной среды для выделения вирусов, пробирку с тампоном энергично встряхните, чтобы смыть клетки, и извлеките тампон, предварительно отжав его о стенку пробирки;

5. Перенесите жидкость в отдельную стерильную пробирку типа «Эппендорф» или пластиковую пробирку с завинчивающейся крышкой для замораживания образцов;

6. Заморозьте и храните образцы при температуре не выше -70°C .

Примечание: не используйте наборы для сбора образцов для бактериологических исследований и наборы с истекшим сроком годности

III. Транспортировка образцов

Образцы для выделения вируса и экстракции РНК можно транспортировать при температуре 2...8°C (не более 48 часов с момента забо-

ра), используя хладоэлементы, охлажденные до соответствующей температуры, или в замороженном состоянии (-70°C в сухом льду в герметичных укупорках во избежание воздействия на образцы углекислоты).

Замороженный носоглоточный смыв (соскоб) необходимо доставить в лабораторию для исследования как можно скорее при -70°C (сухой лед). Температура -20°C не является оптимальной для транспортировки и хранения клинических образцов для вирусологических исследований на вирус краснухи, однако при отсутствии возможности хранения при -70°C и транспортировки в сухом льду, допускается кратковременное (на срок транспортировки в лабораторию, осуществляющую тестирование) хранение и транспортировка при -20°C .

Собранные образцы необходимо поместить в отдельные пластиковые пакеты с замком с небольшим количеством ваты для адсорбции влаги. Нельзя упаковывать клинические образцы от разных людей в один пакет. Несколько клинических образцов от одного пациента могут быть упакованы в один пакет большего размера.

Для транспортировки образцов можно использовать термоконтейнеры, термосы или пенопластовые коробки с хладоэлементами. Замороженные (охлажденные до $2\dots 8^{\circ}\text{C}$) хладоэлементы (можно использовать лед в герметичных пластиковых пакетах или бутылках) следует поместить на дно и по бокам контейнера, внутрь положите образцы, а сверху опять положите хладоэлементы.

Под крышку контейнера поместите сопроводительные документы (письмо с указанием вида и количества образцов, времени и даты отправки, направления на исследование).

На контейнере обязательно укажите подробные координаты отправителя и получателя образцов, а также необходимые предупреж-

дающие надписи. Может оказаться полезным сделать следующую надпись «Хранить в холодильнике».

При одновременной отправке замороженных и хранящихся при 2...8°C образцов используйте отдельные контейнеры с холодо-элементами, обеспечивающими соответствующий температурный режим.

IV. Транспортная среда для выделения вирусов

Состав:

- основной раствор Хенкса рН 7,4 с ХЕПЕС буфером;
- бычий сывороточный альбумин;
- раствор антибиотиков;
- 0,4% раствор фенолового красного

Растворите 2.0 г бычьего сывороточного альбумина в 100 мл дистиллированной воды. Добавьте к 80 мл дистиллированной воды 10 мл раствора Хенкса, затем добавьте 10 мл 0,2% раствора бычьего сывороточного альбумина (см. выше) и 0,2 мл раствора фенолового красного. Стерилизуйте фильтрованием. Добавьте 1 мл раствора антибиотиков.

Раствор антибиотиков:

Растворите 10^6 ЕД пенициллина и 1,0 г стрептомицина в 100 мл стерильного фосфатного буферного раствора. Разлейте во флаконы по 5 мл и храните при -20°C . Добавление 1 мл этого раствора к 100 мл питательной среды позволяет получить рабочий раствор с окончательной концентрацией 100 ЕД пенициллина и 100 мкг стрептомицина в 1 мл раствора.

Примечание: при отсутствии транспортной среды можно использовать питательную среду для культур клеток (RPMI, ИГЛА и др.)

Приложение

Образец направления на вирусологическое исследование

Направление на лабораторное исследование

Страна:	Эпидномер:	Дата: / /					
ФИО:		М	Ж				
Дата рождения: / /							
Адрес:							
Дата повышения температуры: / /							
Дата появления сыпи: / /							
Предварительный клинический диагноз:							
Образец	Дата сбора	Дата отправки					
Ф.И.О. сотрудника, которому должны быть отправлены результаты исследования:							
Адрес:							
Телефон:	Факс:	Электронный адрес:					
<u>Лаборатория Национального научно – методического центра по надзору за корью, региональной референс – лаборатории ВОЗ корь/краснуха для стран СНГ (ФГУН «МНИИЭМ им Г.Н.Габричевского»):</u>							
Ф.И.О. сотрудника лаборатории, получившего материал:							
Образец (№, тип)	Дата полу- чения	Состоя- ние образца:	Дата анализа	Тип теста	Результат анализа	Примечание	Дата пе- редачи результата