

Приложение 1

к приказу министерства здравоохранения
Волгоградской области
от 29 04 2008 № М60

Специфическая лабораторная диагностика Крымской геморрагической лихорадки

Отбор проб и транспортировка биологического материала от больных людей (трупов)

Лабораторная диагностика Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ) проводится молекулярно-биологическими, серологическими и вирусологическими методами.

Вирус КГЛ (РНК вируса КГЛ) и его антиген обнаруживаются в крови больного до 5-7, иногда, до 10-ого дня болезни. Специфические антитела иммуноглобулины класса М к вирусу КГЛ начинают выявляться у больного с 7-10 дня болезни.

Забор материала для лабораторного подтверждения Крымской геморрагической лихорадки производится

- для обнаружения рибонуклеиновой кислоты (РНК) вируса КГЛ методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и антигена вируса КГЛ до 5-7 дня болезни;

- для определения уровня антител и нарастания уровня антител: первый забор - до 7 дня болезни, второй забор - на 10-14 сутки болезни и при необходимости позже.

Материалом для исследования на наличие вируса КГЛ является: цельная кровь, образцы сыворотки и плазмы крови, сгусток крови, секционный материал (печень, легкие, селезенка, почки, головной мозг).

Организация отбора проб и транспортировка биологического материала от людей (трупов) для лабораторной диагностики Крымской геморрагической лихорадки (КГЛ) осуществляется в соответствии с требованиями Санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.1285-03 "Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)" и Санитарных правил СП 1.2.036-95 Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности (утв. постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 28 августа 1995 г. N 14).

Отбор проб от больных и подозрительных на заражение вирусом КГЛ осуществляет медицинский персонал с соблюдением правил противозидемического режима. Необходимо использование защитного костюма I типа.

Каждую пробирку маркируют и оформляют направление с указанием фамилии, имени, отчества больного, возраста, даты начала заболевания, вида материала и времени и даты его забора и помещают вместе с направлением в первичную герметичную емкость для транспортировки.

На каждую отправляемую в лабораторию пробу от больного КГЛ или с подозрением на эту инфекцию заполняют направление №1. На пробы секционного материала (умершего от КГЛ или с подозрением на эту инфекцию) заполняют направление №2.

Направляемую пробу (пробы) сопровождают письмом на имя руководителя учреждения, в котором указывают вид направляемого материала, количество образцов и цель исследования; письмо подписывает руководитель направившего учреждения.

ЗАБОР МАТЕРИАЛА

Забор крови на обнаружение РНК вируса КГЛ методом ПЦР производится натощак из локтевой вены в объеме 4,5 мл одноразовой иглой (диаметр 0,8 - 1,1 мм) в одноразовый шприц или специальную вакуумную систему типа "Venoject" (с ЭДТА), "Vacuette" (сиреневые крышки - 6% ЭДТА).

Взятую в шприц кровь аккуратно (без образования пены) переносят в одноразовую пластиковую пробирку с антикоагулянтом. В качестве антикоагулянта используется 3,8% раствор цитрата Na или 6% раствор ЭДТА. Гепарин в качестве антикоагулянта исполь-

зывать нельзя! Соотношение крови и антикоагулянта составляет при использовании 6% раствора ЭДТА 1:20 и при 3,8% раствора цитрата Na-1:9), т.е. на 4,5 мл крови используется 0,5 мл антикоагулянта.

Пробирку закрывают крышкой и аккуратно переворачивают несколько раз (8-10 раз) для перемешивания с антикоагулянтом.

Образцы цельной крови до транспортировки в лабораторию могут храниться при температуре 2 - 8°C - в течение 6 часов с момента взятия материала.

Недопустимо замораживание образцов цельной крови!

Образцы (кровь, биоптаты и др.) должны быть доставлены в лабораторию для проведения ПЦР в день взятия материала.

Забор крови для серологической диагностики отбирают из локтевой вены в стерильную пробирку в количестве 5-10 мл, соблюдая правила асептики. Для предотвращения гемолиза, сыворотку следует отделить от сгустка. Для этого пробирку с кровью оставляют при комнатной температуре в наклонном положении до образования сгустка, сгусток крови обводят стеклянной палочкой и помещают в холодильник при температуре +4°C на 10 часов. Полученную сыворотку отсасывают пипеткой с резиновой грушей в пластиковую одноразовую пробирку, герметично закрывают и направляют в лабораторию для исследования на наличие специфических антител и переносят в пластиковую пробирку с плотно закрывающейся (завинчивающейся) пробкой. Пробирка этикетуется. Этикетка делается из лейкопластыря и наклеивается на пробирку. На этикетке указываются фамилия, имя, отчество больного, вид материала, дата взятия.

Допустимо сыворотку крови хранить в стерильных пробирках при температуре +4°C в течение 5 дней.

Вскрытие умерших от КГЛ, а также подозрительных на данную инфекцию производится патологоанатом или судмедэкспертом в присутствии специалиста по этим инфекциям (эпидемиолог и инфекционист).

Отбор секционного материала производится из глубины внутренних органов (сердце, печень, легкие, селезенка, почки, головной мозг) стерильно вырезают кусочки ткани размерами 2-3 см. Стерильной пастеровской пипеткой с резиновой грушей забирают 8-10 мл крови из сердца. Следует отбирать материал из нескольких участков, подвергшихся изменениям, и из участка рядом расположенной ткани, которая выглядит неизменной. При наличии распада ткани основное внимание обращают на пограничную зону. Отбор секционного материала необходимо производить как можно быстрее после смерти больного (не более 20 часов нахождения при комнатной температуре).

Для проведения исследования на обнаружение в секционном материале РНК вируса КГЛ методом ПЦР готовят микробиоптат (пунктат)/микроаутоптат, который помещают в микропробирки с закручивающимися крышками или пробирки объемом 1,5 мл с защелкой и опускают в емкость для транспортировки.

ТРАНСПОРТИРОВКА МАТЕРИАЛА

Перед транспортировкой в лаборатории материал, помещенный в первичную герметично закрывающуюся тару, помещают во вторичную тару, представляющую собой металлический или пластиковый пенал.

Транспортировка материала осуществляется **обязательно** в специальном термоконтейнере с охлаждающими элементами или в термосе со льдом.

Запрещается:

1. Использовать гепарин в качестве антикоагулянта.
2. Проводить забор крови для ПЦР в многоразовые стеклянные пробирки.
3. Замораживать образцы цельной крови.
4. Центрифугировать
5. Производить встряхивание пробирок с кровью, сывороткой,
6. Пипетировать ртом.
7. Использовать стеклянные пробирки с ватно-марлевой пробкой для транспортировки материала.

Отобранный в медицинских организациях материал от больных (умерших) направляют в вирусологическую лабораторию ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Рос-

сийской Федерации в рабочие дни с 9 час 00 мин до 16 час 00 мин. по адресу: Волгоград, ул. Ангарская, д.13б., тел.: (88442) 36 38 72.

**Формы направления в лабораторию на исследования
для установления диагноза КГЛ**

(Методические указания от 28.03.2012 МУК 4.2.3007-12 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики Крымской геморрагической лихорадки для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней»)

На каждую отправляемую в лабораторию пробу от больного КГЛ или с подозрением на эту инфекцию заполняют направление №1. На пробы секционного материала (от умершего от КГЛ или с подозрением на эту инфекцию) заполняют направление №2.

Направляемую пробу (пробы) сопровождают письмом на имя руководителя учреждения, в котором указывают вид направляемого материала, количество образцов и цель исследования; письмо подписывает руководитель направившего учреждения.

Направление №1
(обязательное)

НАПРАВЛЕНИЕ

крови, сыворотки крови для выявления РНК вируса ККГЛ; антител IgM, IgG; выделения вируса ККГЛ вирусологическим, иммуноферментным или молекулярно-генетическим методами (нужное подчеркнуть)

В лабораторию _____

Направляется кровь, сыворотка крови (нужное подчеркнуть) для выделения вируса ККГЛ, для исследования на антитела к вирусу ККГЛ, для детекции РНК вируса ККГЛ (нужное подчеркнуть)

Ф.И.О. _____

Возраст _____

Домашний адрес _____

Место работы (учебы) _____

Дата заболевания _____

Дата, время взятия крови _____

Диагноз _____

Наименование направившего учреждения _____

Ф.И.О. врача _____

Дата отправления материала _____

Дата и время доставки материала в лабораторию _____

**Направление
на исследование секционного материала**

В лабораторию _____
(наименование учреждения)

Фамилия _____ Имя _____

Отчество _____ Возраст _____

Место жительства _____
(область, город, район, населенный пункт)

Место работы (учебы) _____

Номер истории болезни _____ Дата заболевания _____

Дата 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 2
к приказу министерства здравоохранения
Волгоградской области

от 29.04.2013 № 1160

Таблица №1

ОПЕРАТИВНАЯ ИНФОРМАЦИЯ
о лечебно-диагностических и организационных мероприятиях
по Крымской геморрагической лихорадке

Таблица №1. Число зарегистрированных и подозрительных на заболевание Крымской геморрагической лихорадкой на «___» _____ 20__ года (с нарастающим итогом).

		Всего	В т.ч. у детей до 14 лет
1.	Зарегистрировано больных с заболеванием КГЛ (сумма строк 2+3+4) Из них:		
2.	Госпитализировано		
3.	Выписано		
4.	Умерло		
5.	Число больных, у которых диагноз подтвержден лабораторно		
6.	Число госпитализированных с провизорной целью (сумма строк 7+8+9) В том числе:		
7.	По клиническим показаниям, подозрительным на заболевание КГЛ и имеющих в анамнезе укус клеща		
8.	По клиническим показаниям, подозрительным на заболевание КГЛ и не имеющих в анамнезе укус клеща		
9.	С укусами без клинических проявлений		
10.	Количество больных, у которых установлен диагноз КГЛ (из числа ранее госпитализированных с провизорной целью)		
11.	Количество лиц, обратившихся в ЛПУ по поводу укусов клещами		

Таблица №3

Организационные мероприятия

	ВСЕГО					
Проведено заседаний СПЭК						
Проведено заседаний у руководителей субъекта						
Дата создания оперативного штаба						
Проведено заседаний штаба						
Подготовка медицинских работников	Подлежало подготовке человек всего			Подготовлено человек всего		
	из них:			из них:		
	врачи	средние медработники	Младший мед персонал	врачи	средние медработники	Младший мед персонал
семинары						
совещания						
практические занятия						

Таблица №4

Работа со средствами массовой информации

	Количество
Число выступлений по телевидению	
Число выступлений по радио	
Опубликовано статей в газету	
Издано памяток, листовок (тираж)	
Получено памяток, листовок из ГУЗ «ВО Центр медицинской профилактики» (количество)	

Клинико-эпидемиологические данные о заболевших КГЛ

Таблица №5

№ п / п	ФИО, возраст, место жительства	Характер выполняемой работы	Дата заболевания	Дата обращения	Дата госпитализации	Предварительный диагноз	Дата забора, дата исследования, результат, метод	Клинические проявления	Условия заражения	Окончательный диагноз	Исход заболевания (дата выписки, смерти)
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Таблица №6

Характеристика больных Крымской геморрагической лихорадкой:

Число больных	Клинические формы		Тяжесть течения заболевания		
	без геморрагического синдрома	с геморрагическим синдромом	легкая	средняя	тяжелая
Всего из них:					
взрослые					
дети					

Приложение 3
к приказу Министерства по здравоохранению
Волгogradской области
От 21.04.13 № 1160

Отчет о проведенных лабораторных исследованиях по диагностике Крымской геморрагической лихорадки

№ п/п	Исследуемый материал	ФИО	Возраст	Домашний адрес	Дата направления на исследование, вид исследования	Результат

* отчет обязательно подписывается главным врачом учреждения здравоохранения