

**Ассоциация специалистов и организаций лабораторной службы
ФЕДЕРАЦИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ МЕДИЦИНЫ**

**Лабораторная диагностика новой
коронавирусной инфекции (COVID-19)**

Методические рекомендации

(проект, версия от 18.06.2020г.)

**Москва
2020**

Рецензенты:

А.Р.Мавзютов- заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор;

О.А.Тарасенко –заместитель генерального директора Федерального государственного бюджетного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский и испытательный институт медицинской техники» Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения, доктор медицинских наук;

Ж.А.Гильманов- заведующий кафедрой лабораторной диагностики Института дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, доктор медицинских наук, профессор.

Состав рабочей группы

А.Е. Гущин, к.б.н., ведущий научный сотрудник ГБУЗ «МНПЦ дерматовенерологии и косметологии ДЗМ»

С.В. Поликарпова, к.м.н., заведующий бактериологической лабораторией врач-бактериолог ГБУЗ «Городская клиническая больница №15 им.О.М.Филатова ДЗМ»

С.В. Жилина, к.м.н. врач-бактериолог ЦКДЛ ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ»

О.Г. Тимофеева врач-бактериолог ГБУЗ «Городская клиническая больница №15 им.О.М.Филатова ДЗМ»

Н.И. Федорова, к.м.н., врач-бактериолог, заведующая лабораторией клинической бактериологии РДКБ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

И.В. Чеботарь, д.м.н., профессор кафедры общей патологии МБФ ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

Ю.Ф. Шубина, к.м.н., заведующая ЦКДЛ- врач КЛД ГБУЗ «Морозовская ДГКБ ДЗМ».

Лабораторная диагностика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)

Лабораторная диагностика новой коронавирусной инфекции (COVID-19) проводится в соответствии с актуальной версией временных методических рекомендаций МЗ РФ «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Последняя версия - № 6 (24.04.2020). Забор биоматериала проводится согласно временной инструкции МЗ РФ от 10.04.2020г. № 17-1/И1-2004 «Временная инструкция по вопросу забора биологического материала у всех пациентов с подозрением на пневмонию или с подтвержденной пневмонией, поступающих на госпитализацию в стационары».

1. Основные положения

- 1.1. Лабораторная диагностика новой коронавирусной инфекции (COVID-19) в субъектах Российской Федерации может проводиться в лабораториях организаций, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями III-IV группы патогенности с использованием методов диагностики, не предполагающих накопление возбудителя, соответствующие условия работы и обученный персонал.
- 1.2. Взятие диагностического материала, его упаковка, маркировка и транспортировка осуществляется в соответствии с требованиями и правилами работы с материалами, потенциально инфицированными возбудителями II группы патогенности.
- 1.3. Медицинские работники, которые собирают или транспортируют образцы биологического материала в лабораторию, должны быть обучены практике безопасного обращения с биоматериалом, строго соблюдать меры предосторожности и использовать средства индивидуальной защиты (СИЗ).
- 1.4. Все образцы, полученные для исследования, следует считать потенциально инфекционными, и при работе с ними должны

соблюдаться требования СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I - II групп патогенности (опасности)».

- 1.5. Проведение молекулярно-биологических исследований должно проводиться с соблюдением требований МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности».
- 1.6. Основным видом биоматериала для молекулярно-биологического исследования является мазок (отделяемое) со слизистой оболочек носоглотки и/или ротоглотки. В качестве дополнительного материала для исследования могут использоваться мокрота (при наличии), слюна, цельная кровь, сыворотка, фекалии, аутопсийный материал легких.
- 1.7. Материалом для микробиологического исследования при дифференциальной диагностике новой коронавирусной инфекции является биоматериал нижних дыхательных путей.
- 1.8. Ошибки в выборе источника получения биоматериала, а также нарушение техники его получения могут приводить к ложноотрицательным результатам исследования.

2. Диагностика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)

Диагностика новой коронавирусной инфекции (COVID-19) проводится в двух направлениях: этиологическая и дифференциальная.

- 2.1 Этиологическая диагностика новой коронавирусной инфекции COVID-19 заключается в установлении факта инфицирования коронавирусом SARS-CoV-2 на основе выявления в биоматериале от пациента РНК SARS-CoV-2 с использованием методов амплификации нуклеиновых кислот (МАНК). Наибольшее распространение получили метод полимеразной цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) и метод петлевой изотермической амплификации (метод LAMP) - Loop-Mediated Isothermal Amplification). Необходимо использовать зарегистрированные в установленном порядке

на территории Российской Федерации тест-системы в соответствии с инструкцией по применению.

2.2 Дифференциальная диагностика проводится при наличии симптомов и клинических проявлений острых респираторных заболеваниях верхних или нижних дыхательных путей:

- с инфекциями, вызванными вирусами гриппа А и В, респираторно-синцитиальным вирусом (РСВ), вирусом парагриппа (1-4 типы), риновирусом, аденовирусом человека, метапневмовирусом человека, коронавирусами человека (229Е, ОС43, NL63, HKU1) с помощью МАНК или других прямых методов лабораторной диагностики с использованием зарегистрированных наборов реагентов;
- с респираторными инфекциями верхних и нижних дыхательных путей бактериальной этиологии, большинство из которых вызывается *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*), *Haemophilus influenzae* type В (*H.influenzae*), представителями порядка *Enterobacterales*, *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) и др. с использованием методов культурального исследования или МАНК;
- с инфекциями, вызванными некультивируемыми/трудно культивируемыми бактериальными возбудителями - *Mycoplasma pneumoniae* (*M. pneumoniae*), *Chlamydophila pneumoniae* (*C. pneumoniae*), *Legionella pneumophila* (*L.pneumophila*) с помощью МАНК.

Для диагностики внебольничных пневмоний пневмококковой и легионеллезной этиологии могут использоваться экспресс-тесты по выявлению пневмококковой и легионеллезной антигенурии.

3. Лабораторные исследования (молекулярно-биологические) по этиологической диагностике новой коронавирусной инфекции COVID-19

Для молекулярно-биологической диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19 методом ПЦР рекомендуется исследование мазков со слизистых оболочек верхних дыхательных путей (из носоглотки и/или

ротоглотки), которые являются основными входными воротами для вируса где начинается его репродукция и, соответственно, вероятность обнаружения РНК в ранние сроки наиболее высока. Согласно большинству существующих рекомендаций для повышения надежности результатов по возможности необходимо получение материала **ОДНОВРЕМЕННО** из двух указанных локусов.

Мазки необходимо отбирать у пациента как можно раньше, с момента появления первых симптомов, в одну пробирку и исследовать как один образец.

Взятие диагностического материала, его маркировка и упаковка выполняются медицинскими работниками, в соответствии с санитарно-эпидемиологическим требованиям и правилам биологической безопасности при сборе и работе с материалом, потенциально инфицированным микроорганизмами II группы патогенности.

Медицинские сотрудники, осуществляющие взятие, маркировку и упаковку диагностического материала, должны быть обеспечены СИЗ: респираторы, очки для защиты глаз или защитный экран, противочумный костюм, одноразовые латексные (резиновые) перчатки.

3.1. Правила получения материала со слизистых оболочек верхних дыхательных путей.

3.1.1 Перед взятием мазков со слизистой оболочки носоглотки и задней стенки ротоглотки рекомендуется полоскание полости рта кипяченой водой комнатной температуры. Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой рекомендуется провести высмаркивание. В течение 6-ти часов перед процедурой нежелательно использовать медикаменты, орошающие носоглотку или ротоглотку и препараты для рассасывания во рту.

3.1.2 Для транспортировки материала из носоглотки и/или ротоглотки используют стерильные транспортные системы для отбора биоматериалов, потенциально содержащие вирусы.

3.1.3 Транспортные системы состоят из **ОРОФАРИНГЕАЛЬНОГО** зонд-тампона и пробирки с герметично завинчивающейся крышкой, содержащие транспортную среду. Стержень зонда тампона изготовлен из ломающегося пластика и имеет точку перелома. Крышка пробирки имеет воронкообразное углубление для фиксации зонд-тампона. Пробирка имеет этикетку для идентификации образца.

2.3 Необходимо использовать зарегистрированные в установленном порядке на территории Российской Федерации транспортные системы и транспортные среды в соответствии с инструкцией по применению.

3.1.4 В качестве транспортной среды могут использоваться:

- транспортная среда для хранения и транспортировки респираторных мазков. Она представляет собой буферный раствор с добавлением консерванта и криоконсерванта. Наличие консерванта препятствует росту посторонней микрофлоры, солевой состав и pH буферной среды препятствуют преждевременному лизису клеток в мазке; криоконсервант стабилизирует микроорганизмы в процессе фазового перехода при замораживании-оттаивании образца;
- транспортная среда для хранения и транспортировки вирусов в состав которой могут входить антибиотики, ингибирующие рост сопутствующей флоры - бактерий и грибов, а также компоненты, препятствующие размножению микроорганизмов, и обеспечивающие транспортировку биоматериала при комнатной температуре или при температуре +2...+8°C в течение не менее 48 ч.

3.1.5 Для получения материала из носоглотки необходимо использовать стерильные **НАЗОФАРИНГЕАЛЬНЫЕ** зонды-тампоны в индивидуальной или групповой упаковке.

3.1.6 Не допускается использование зондов с деревянным стержнем!

3.1.7 Не рекомендуется использование зондов с хлопковым наконечником.

3.1.8 Не допускается обрезать зонды ножницами.

3.2 Получение материала из носоглотки.

Мазки из носоглотки берут специализированным **НАЗОФАРИНГЕАЛЬНЫМ** зонд-тампоном. Такой зонд-тампон имеет более тонкий стержень и более тонкую рабочую часть, благодаря чему позволяет гарантированно отобрать материал из труднодоступного локуса.

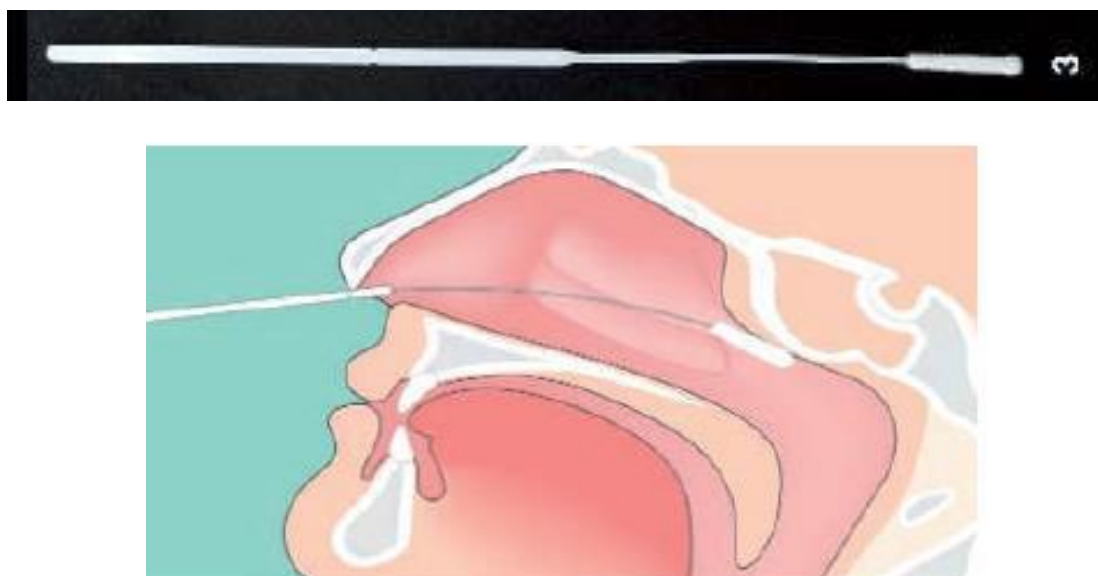


Рис.1 Назофарингеальный зонд-тампон и взятие мазка со слизистой носоглотки

- Зонд-тампон вводят легким движением по наружной стенке полости носа на глубину 2-3 см до нижней носовой раковины. Затем зонд-тампон слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки полости носа. Общая глубина введения зонд-тампона должна составлять примерно половину расстояния от ноздри до ушного отверстия (3-4 см у детей, 5-6 см у взрослых).
- Снимают крышку с пробирки и опускают зонд-тампон в пробирку так, чтобы рабочая часть погрузилась в транспортную среду.

- Вращают в стержень вдоль оси в течение 10-15, обеспечивая смывание биоматериала с рабочей части зонда в транспортную среду, после чего, НЕ ОБЛАМЫВАЯ зонд вынимают и утилизируют.

3.3 Получение материала из ротоглотки.

Мазки из ротоглотки берут **ОРОФАРИНГЕАЛЬНЫМ («СТАНДАРТНЫМ»)** зонд-тампоном, входящим в состав транспортной системы, стандартного размера с пластиковым стержнем с точкой перелома и рабочей части из вискозы или нейлона. Использование зонд-тампона с ворсистой рабочей частью (типа *flocked-swab*) является предпочтительным по причине более высокой абсорбции биоматериала на ворсинках и более полному смыванию биоматериала в транспортную среду.

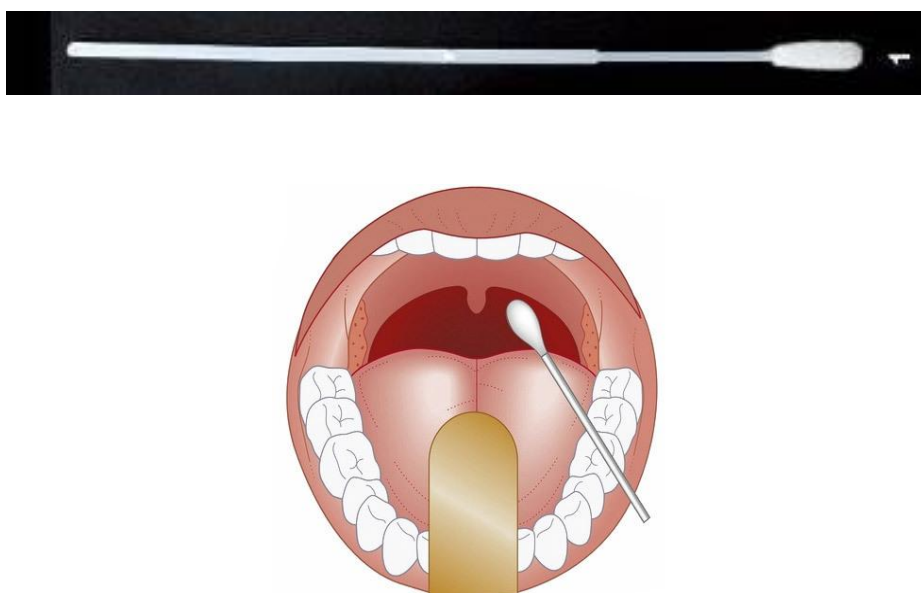


Рис.2 Орофарингеальный зонд-тампон и взятие мазка со слизистой ротоглотки

- Мазок берут вращательным движением с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки, аккуратно прижимая язык пациента шпателем.
- После получения биоматериала рабочую часть зонд-тампона помещают в пробирку с транспортной средой.

- Обламывают зонд-тампон в точке перелома о край пробирки.
- Плотнo закручивают крышку до фиксации зонд-тампона в ней.
- Время хранения биоматериала в транспортной системе не должно превышать 48 часов при комнатной температуре, 5 суток при температуре +4 - +8⁰С. При необходимости более длительного хранения биоматериал замораживают при температуре -70⁰С.

3.4 Ограничения по взятию биоматериала

При невозможности взятия биоматериала из носоглотки специализированными **НАЗОФАРИНГЕАЛЬНЫМИ** зонд-тампонов, в том числе при отсутствии их в медицинской организации, **НЕ ДОПУСКАЕТСЯ** отбор материала из носоглотки неспециализированными (стандартными) зонд-тампонами. Стандартный зонд-тампон имеет жесткий стержень и не позволяет достичь необходимого анатомического локуса, при этом травмируя ткани пациента.

В данном случае необходимо:

- отобрать материал только из ротоглотки **ОРОФАРИНГЕАЛЬНЫМ** зонд-тампоном из транспортной системы для забора биоматериала. В направлении необходимо дополнительно отразить, что биоматериал был взят только из ротоглотки.
- отобрать материал со средней части носовых пазух дополнительным стандартным зондом-тампоном.*

**Данная рекомендация отражена в «Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)» (Centers for Disease Control and Prevention)*

Памятка по организации преаналитического этапа по отбору проб из носоглотки и/или ротоглотки исследования с помощью МАНК дана в Приложении 1.

4. Лабораторные исследования по дифференциальной диагностике новой коронавирусной инфекции COVID-19.

Лабораторные исследования по дифференциальной диагностике новой коронавирусной инфекции COVID-19 включают:

1. Культуральное исследование мокроты, при необходимости – плевральной жидкости, венозной крови, аутопсийного материала.
2. Исследования с помощью МАНК на вирусы гриппа типа А и В, респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), вирусы парагриппа, риновирусы, аденовирусы, человеческие метапневмовирусы, MERS-CoV, а также *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae*.
3. Определение антигенов *L. pneumophila* и *S. pneumoniae* в моче экспресс-тестами.

4.1 Культуральное исследование

В условиях пандемии COVID-19 существуют строгие ограничения по исследованию культуральными методами образцов индуцированной и экспекторированной мокроты, а также проведению фибробронхоскопии (бронхоальвеолярный лаваж), получению трахеального аспирата. Поскольку при этом повышаются риски образования аэрозольного облака, содержащего вирусы, и инфицирования медицинского персонала.

4.1.1. Образец свободно отделяемой мокроты должен быть получен по возможности у всех пациентов с продуктивным кашлем и в как можно более ранние сроки с момента госпитализации и до начала антибактериальной терапии (АТБ).

Первый этап исследования предполагает бактериоскопию мазка, окрашенного по Граму, для оценки качества образца и пригодности для дальнейших исследований.

При приготовлении мазка не допускается фиксация мазков-препаратов нагреванием. Рекомендуется щадящая химическая фиксация с использованием 96%-й этанола или смеси Никифорова (спирт и эфир, 1:1).

Диагностический критерий качественной мокроты – наличие более 25 сегментоядерных лейкоцитов и не более 10 эпителиальных клеток в поле зрения при просмотре, как минимум, 20 полей зрения (под увеличением X100). При несоответствии критериям качественной мокроты дальнейшее культуральное исследование образца нецелесообразно, так как в этом случае изучаемый материал может быть значительно контаминирован содержимым ротовой полости.

Выявление в мазке большого количества грамположительных или грамотрицательных может служить основанием для проведения бактериологического исследования и назначения по его результатам антибактериальной терапии.

4.1.2. Культуральное исследование предполагает выделение чистой культуры возбудителя и его последующую идентификацию (биохимические признаки, время-пролетная масс-спектрометрия), а также определение чувствительности выделенных изолятов в соответствии с актуальной версией российских клинических рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к antimикробным препаратам».

4.1.3. Интерпретация результатов культурального исследования мокроты должна проводиться с учетом клинических данных.

4.1.4. При наличии плеврального выпота и показаний к плевральной пункции проводится микробиологическое исследование образца плевральной жидкости.

Исследование плевральной жидкости предусматривает бактериоскопию мазка, окрашенного по Граму, или другими методами с последующим культуральным исследованием.

Плевральная жидкость в норме стерильна, поэтому любые лабораторные находки могут рассматриваться как диагностически значимые.

4.1.5. При тяжелых формах внебольничной пневмонии (ВП) объем микробиологических исследований должен быть расширен и дополнительно включать культуральное исследование двух образцов венозной крови.

Бактериemia встречается при инфицировании разными возбудителями (энтеробактерии, *S. aureus*), но наиболее характерна для ВП пневмококковой этиологии. Культуральное исследование крови является высокоинформативным, однако частота положительных результатов гемокультуры варьирует от 5 до 30%. Информативность исследования зависит от соблюдения правил получения, хранения и транспортировки клинических образцов.

4.2 Молекулярно-биологические исследования на респираторные вирусы и *M. pneumoniae* и *S. pneumoniae*.

Целесообразность выполнения исследований, направленных на выявление *M. pneumoniae* и *S. pneumoniae* должна определяться клиническими показаниями для конкретного пациента и/или эпидемиологической обстановкой в регионе или медицинской организации. Для данных исследований рекомендуется исследование отделяемого из носоглотки и/или ротоглотки. Материал берется как можно раньше, в одну пробирку и исследуется как один образец. Правила получения респираторных образцов для исследования с помощью МАНК представлены в разделе 3 «Этиологическая молекулярно-биологическая диагностика новой коронавирусной инфекции COVID-19».

4.3. Экспресс-тесты по выявлению пневмококковой и легионеллезной антигенурии.

Для диагностики пневмонии, вызванной *L. pneumophila* серогруппы I разработаны иммунохроматографический тест и тест на основе ИФА. Чувствительность иммунохроматографического теста для выявления *L. pneumophila* у пациентов с тяжелой ВП превосходит 85%, специфичность – 95%.

Для экспресс-диагностики пневмококковой пневмонии используется иммунохроматографический тест, ориентированный на выявление

пневмококкового клеточного полисахарида в моче. Тест демонстрирует приемлемую чувствительность (70-75%) и достаточно высокую специфичность (>90%) при пневмонии у взрослых. Его использование особенно важно при невозможности получения качественного респираторного образца и обследовании пациентов, получавших системную антибиотикотерапию.

Ключевыми преимуществами экспресс-тестов являются быстрота получения результата, доступность клинического материала для исследования, возможность выполнения после начала антибиотикотерапии без существенного снижения информативности.

4.4 Правила получения образцов биологического материала для культурального исследования.

Биоматериал для культурального исследования собирают согласно Методическим указаниям МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».

4.4.1 Правила получения свободно отделяемой мокроты для культурального исследования

1. Для сбора мокроты необходимо использовать стерильные герметично закрывающиеся пластиковые контейнеры.
2. Перед сбором мокроты необходимо попросить пациента тщательно прополоскать рот кипяченой водой. Если мокрота собирается утром – лучше собирать ее натощак.
3. Пациент должен хорошо откашляться и собрать отделяемое из нижних дыхательных путей (не слюну!) в стерильный контейнер.
4. Продолжительность хранения мокроты при комнатной температуре не должна превышать 2 ч. При невозможности доставки в указанный срок образец может храниться в холодильнике при температуре +4-8⁰С до 24 ч. При более продолжительных сроках транспортировки должны использоваться транспортные среды.

4.4.2 Правила получения плевральной жидкости для культурального исследования

1. Очистите выбранный участок кожи 70% этиловым спиртом; затем продезинфицируйте его 1-2 % раствором йода; избыток йода удалите марлевой салфеткой, смоченной 70% спиртом, во избежание ожога кожи пациента.
2. С соблюдением правил асептики выполните чрезкожную аспирацию для получения пробы плевральной жидкости.
3. Удалите любые пузырьки воздуха из шприца и немедленно перенесите пробу в стерильный пластиковый контейнер, плотно закройте его крышкой.
4. Продолжительность хранения плеврального пунктата при комнатной температуре не должна превышать 2 ч. При невозможности доставки в указанный срок образец может храниться в холодильнике при температуре +4-8⁰С до 24ч. При более продолжительных сроках транспортировки должны использоваться транспортные среды.

4.4.3 Правила получения венозной крови для культурального исследования

1. Для сбора крови используются специальные герметично закрывающиеся стеклянные флаконы или флаконы из ударопрочного автоклавируемого пластика двух видов, содержащие питательную среду (для выявления аэробов и анаэробов).
2. С целью бактериологического исследования до антибиотикотерапии забираются 2 образца венозной крови с интервалом 20-30 минут из различных периферических вен – например, левой и правой локтевой вены. Один образец помещается во флакон для выделения аэробов, другой – для выделения анаэробов.
3. Объем крови при каждой венепункции должен составлять не менее 10 мл.

4. При получении образцов крови необходимо соблюдать следующую последовательность действий:

- Произвести дезинфекцию кожи в месте венепункции циркулярными движениями от центра к периферии дважды 70% раствором спирта или 1-2% раствором йода.
- Дождаться полного высыхания дезинфектанта. Не касаться места венепункции после обработки кожи.
- Произвести получение крови шприцем и асептически перенести ее во флакон с транспортной средой непосредственно через резиновую пробку.
- Удалить оставшийся йод с поверхности кожи после венепункции, во избежание ожога.

5. До момента транспортировки образец вместе с направлением хранится при комнатной температуре или в термостате. Необходимо стремиться к тому, чтобы время доставки образца в лабораторию не превышало 2 ч.

4.4.4 Правила получения аутопсийного материала для культурального исследования

Исследуется аутопсийный материал следующих органов: фрагменты пораженной части трахеи, пораженной части бронхов, пораженной части легких.

Аутопсийный материал получают стерильным индивидуальным инструментом из зоны поврежденной ткани объемом 1-3-см³ (индивидуально для каждого органа), помещают в одноразовые стерильные пластиковые контейнеры с герметично закрывающейся крышкой.

Допускается хранение до проведения исследования в течение 7 суток при температуре не выше минус 16⁰С.

Транспортирование секционного материала допускается при температуре от +2 до +8⁰С не более 24 часов.

4.4.5 Правила получения и транспортировки мочи для определения антигена *L. pneumophila* и *S. pneumoniae*.

Образцы мочи для исследования объемом 5-10 мл помещают в стерильные пластиковые контейнеры с герметично завинчивающейся крышкой и хранят при комнатной температуре (15-30⁰С) не более 24 ч после забора перед постановкой реакции. В случае необходимости образцы могут храниться при температуре +2-8⁰С до 14 дней.

5. Маркировка биоматериала для лабораторного исследования.

Для идентификации образцов контейнеры/пробирки маркируются в месте сбора с указанием информации, обеспечивающей однозначную идентификацию образца и его соответствие направлению.

На этикетке пробирок (контейнеров) с биоматериалом указывается: порядковый номер образца, соответствующий номеру в сопроводительном документе, и, по возможности, фамилия и инициалы пациента, тип биоматериала.

6. Транспортирование биологического материала для проведения лабораторных исследований.

6.1 Транспортировка образцов должна осуществляться с соблюдением требований СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».

6.2 Медицинские работники, которые транспортируют образцы в лабораторию, должны быть обучены требованиям и правилам биологической безопасности при работе и сборе материала, подозрительного на зараженность микроорганизмами II группы патогенности, строго соблюдать меры предосторожности и использовать средства индивидуальной защиты.

При необходимости транспортирования внутри одного медицинского учреждения, пробирки/контейнеры с биологическим материалом помещают в штативы и специальные герметичные контейнеры-переноски. Направления и

другая документация на бумажных носителях должны передаваться в отдельном полиэтиленовом пакете.

Транспортирование производится при комнатной температуре в течение 3 часов, более длительно – при температуре от +2 до 8⁰С.

6.3 При необходимости транспортирования биологического материала в другие организации, образцы каждого пациента помещают в индивидуальный герметичный пакет с адсорбирующим материалом и дополнительно упаковывают в общий герметичный пакет.

Два или более образца одного пациента могут быть упакованы в один пластиковый пакет. Запрещается упаковывать образцы клинического материала от разных людей в одну упаковку.

6.4 Пакет с контейнерами помещают в герметично закрывающийся контейнер для транспортировки биологических материалов. Контейнер помещают в пенопластовый термоконтейнер с охлаждающими термоэлементами.

6.5 Сопроводительные документы помещаются в индивидуальную упаковку отдельно от биологического материала и прочно прикрепляются снаружи контейнера. Транспортирование производится при температуре от +2 до 8⁰С.

7. Направление на исследование для этиологической диагностики COVID-19

Направление на лабораторное исследование оформляется в электронном виде (через систему удаленной электронной регистрации, или в виде электронного заказа в программе МИС врачом-клиницистом), или на бумажном носителе.

Направление на лабораторное исследование должно содержать:

- персональные данные пациента, обеспечивающие его однозначную идентификацию;
- наименование направившего биоматериал отделения (организации);
- диагноз заболевания: «пневмония» или «исследование на COVID-19»;
- указание вида диагностического материала;

- дату и время назначения лабораторного исследования;
- дату и время взятия материала;
- фамилию, имя, отчество (при наличии) и должности врача либо другого уполномоченного представителя, назначившего лабораторное исследование.
- фамилию, имя, отчество (при наличии) медицинского работника, осуществившего взятие биоматериала.

При направлении клинического материала для исследования в лабораторию другой медицинской организации, помимо сведений, перечисленных выше, должно быть указано наименование медицинской организации, в которую направляется диагностический материал.

8. Оценка приемлемости образцов.

После доставки образца в лабораторию сотрудник лаборатории, принимающий материал, должен проверить правильность оформления направления на исследование, маркировку пробирок/контейнеров с образцами, их целостность и зарегистрировать поступивший материал в рабочем журнале в бумажной или электронной форме. Нумерация образцов при регистрации должна быть идентична нумерации в бланках направлений.

Непригодными для исследования являются образцы:

- немаркированные или несущие неверную (нечитаемую) маркировку;
- для которых не указаны дата получения биоматериала;
- хранившиеся и транспортировавшиеся с нарушением требований, установленных для данного типа биологического материала;
- с нарушением целостности и/или герметичности тары (пробирок и др.) (в т.ч. пролитые образцы).

В случае непригодности доставленного образца необходимо уведомить врача, назначившего исследование, и рекомендовать повторное взятие материала с соблюдением всех перечисленных правил.

Если повторное взятие таких образцов материала невозможно, при оформлении результата микробиологического исследований необходимо

отразить возможность влияния нарушения правил преаналитического этапа на полученный результат.

Используемая литература

1. СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I - II групп патогенности (опасности).
2. СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности».
3. СанПиН 2.1.7.2790-10 "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами."
4. "Временные методические рекомендации "Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 6 (24.04.2020)" (утв. Минздравом России).
5. «Временная инструкция по вопросам забора биологического материала у всех пациентов с подозрением на пневмонию или с подтвержденной пневмонией, поступающих на госпитализацию в стационары» МЗ РФ от 10.04.2020 №17-1/И/1-2004.
6. Методические рекомендации № МР 3.1.0169-20 "Лабораторная диагностика COVID-19" (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 30 марта 2020 г.)
7. МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности».
8. Методические указания МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории».
9. Клинические рекомендации «Внебольничная пневмония» 2018,

10. "Правила забора проб клинического материала для исследования на новый коронавирус 2019-nCov" (ДЗМ г. Москвы, НИИ организации здравоохранения)
11. «Диагностика гриппа и других ОРВИ методом полимеразной цепной реакции" МР 3.1.0117-17
12. «Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)» (Centers for Disease Control and Prevention).
13. "Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases" Interim guidance 19 March 2020, World Health Organization.

Приложение 1.

Памятка по организации преаналитического этапа по отбору проб из носоглотки и/или ротоглотки на ПЦР-исследования

1. НЕОБХОДИМОЕ ОСНАЩЕНИЕ.

- (1) Стерильные транспортные системы для отбора биоматериала, потенциально содержащего вирусы. Состоят из орофарингеального зонда-тампона и пробирки с герметично завинчивающейся крышкой со средой для транспортировки вирусов. Стержень зонда тампона должен быть изготовлен из ломающегося пластика или иметь точку перелома. Крышка пробирки имеет воронкообразное углубление для фиксации зонда. Пробирка должна быть этикетирована для идентификации образца.
- (2) Стерильные назофарингеальные зонды-тампоны в индивидуальной или групповой упаковке.
- (3) Сумки-холодильники (термосумки) различных объемов для транспортировки биоматериала (подходят для транспортировки как при комнатной температуре, так и при температуре +2 - +8 °С).
- (4) Штативы для пробирок с биоматериалом.
- (5) Упаковочные материалы для транспортировки (парафильм, вата/осушитель, пакеты ПЭ, контейнер пластиковый не менее 0,5 л для упаковки образца от одного пациента).



2. СХЕМА ОРГАНИЗАЦИИ ПРЕАНАЛИТИЧЕСКОГО ЭТАПА



1. Удаляют упаковку с транспортной системы с вирусной средой.
2. Извлекают пробирку из индивидуальной упаковки транспортной системы.
3. Вносят краткую информацию об образце и пациенте на этикетку, ставят пробирку в штатив.
4. Извлекают НАЗОФАРИНГЕАЛЬНЫЙ зонд-тампон из упаковки, поставляемый отдельно от транспортной системы. При отсутствии данного типа зонда в учреждении, делают пометку на этикетке о наличии только орофарингеальной пробы.



5. Берут пробу из носоглотки: зонд вводят легким движением по наружной стенке полости носа на глубину 2-3 см до нижней носовой раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход и удаляют вдоль наружной стенки полости носа, производя вращательные движения (3-4 см у детей, 5-6 см у взрослых).
6. Снимают крышку с пробирки и опускают зонд-тампон в пробирку так, чтобы рабочая часть погрузилась в транспортную среду.
7. Вращают в стержень вдоль оси в течение 10-15, обеспечивая смывание биоматериала с рабочей части зонда в транспортную среду, после чего, НЕ ОБЛАМЫВАЯ зонд вынимают и утилизируют.
8. Извлекают ОРОФАРИНГЕАЛЬНЫЙ зонд-тампон из блистерной упаковки комплекта транспортной системы.



9. Берут пробу из ротоглотки.



10. опускают зонд-тампон в пробирку так, чтобы рабочая часть погрузилась в транспортную среду.



11. Обламывают зонд-тампон в точке перелома о край пробирки.

12.  Плотнo закручивают крышку до фиксации зонда-тампона в ней.

13. Время хранения биоматериала в изделии не должно превышать 48 часов при комнатной температуре, 5 суток при температуре ниже +4⁰С. При необходимости более длительного хранения биоматериал замораживают при температуре -70⁰С.

14. Герметизируют пробирку, упаковывают во вторичную и третичную упаковки, согласно документу «Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID9). Версия 5 (08.04.2020)» или более актуальным версиям документа:

- пробирки герметизируют различными пластификаторами (парафин, парафильм и др.), емкость маркируют;
- образцы каждого пациента помещают в индивидуальный герметичный пакет с адсорбирующим материалом;
- образцы дополнительно упаковывают в общий герметичный пакет;
- общий пакет помещают в герметично закрывающийся контейнер для транспортировки биологических материалов;
- контейнер помещают в термосумку (пенопластовый термоконтейнер) с охлаждающими термоэлементами, который опечатывают и маркируют.

15. При ручном выделении РНК в лаборатории:

- с помощью дозатора с наконечником объемом не менее 1000 мкл отбирают необходимый для экстракции объем транспортной среды из пробирки транспортного комплекта в пробирку типа эппендорф, содержащую соответствующие реагенты для экстракции (входит в состав комплекта реагентов для выявления РНК/ДНК из биологического материала); либо
- при отсутствии в лаборатории дозаторов либо наконечников соответствующего объема зонд-тампон извлекают из пробирки и помещают на 10-15 с в пробирку типа эппендорф, содержащую соответствующие реагенты для экстракции.

16. При ручном выделении возвращают зонд-тампон в пробирку, закрывают пробирку крышкой и хранят в холодильнике при +2 - +8 °С до окончания исследования, а затем утилизируют в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы класса В.

17. При автоматизированном выделении РНК в лаборатории устанавливают пробирку в соответствующий модуль автоматизированной системы. Не допускается наличие в пробирке незафиксированного в крышке зонда.