

Методы забора и транспортировки биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян

**ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор»
Роспотребнадзора, Кольцово, НСО, Россия**

Нормативная документация, регламентирующая работу с биологическим материалом, потенциально содержащим вирус оспы обезьян

Получение биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян и его транспортирование проводится в соответствии с:

- МУ 1.3.2970-11 «Лабораторная диагностика натуральной оспы»;
- 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»;
- СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Забор биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян

- Забор материала производят в инфекционном стационаре. Забор клинического материала и его упаковку от больных и лиц, подозрительных на заражение или заболевание, осуществляет медицинский работник в присутствии или под руководством специалиста противочумного учреждения в соответствии с правилами противэпидемического режима: работа в защитной одежде, маске, очках и перчатках, соблюдение мер личной и общественной безопасности и др.
- Материал для лабораторного исследования, отобранный у лиц инфицированных (подозрительных на инфицирование) оспой обезьян немедленно отправляют (с соблюдением правил транспортировки инфицированного вирусом материала) региональный Центр Гигиены и Эпидемиологии для последующей отправки в лабораторию Роспотребнадзора, имеющую разрешение на работы с микроорганизмами I группы патогенности (по территориальной закреплённости), с последующей отправкой положительных проб в ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора согласно письму Роспотребнадзора №02/10802-2022-27 от 21.05.2022 «О мерах по снижению рисков завоза и распространения оспы обезьян» и № 02/11195-2022-32 от 26.05.2022 «О направлении временных рекомендаций по лабораторной диагностике ВОО».
- Перед транспортированием биологического материала срочно извещают ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора. Контактные лица со стороны ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора:
 - зав. отделом «Коллекция микроорганизмов» – Пьянков Олег Викторович (pyankov@vector.nsc.ru);
 - в.н.с. отдела «Коллекция микроорганизмов» – Боднев Сергей Александрович (bodnev@vector.nsc.ru).

Процедура забора и тип биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян

В качестве проб для диагностического исследования (в порядке приоритетности) используют:

- содержимое кожных поражений (в зависимости от стадии болезни – везикул, пустул, корочки, соскоб со дна пузырьков, макул или папул);
- мазки с задней стенки глотки и миндалин;
- кровь;
- в случае смерти - кусочки органов умерших.

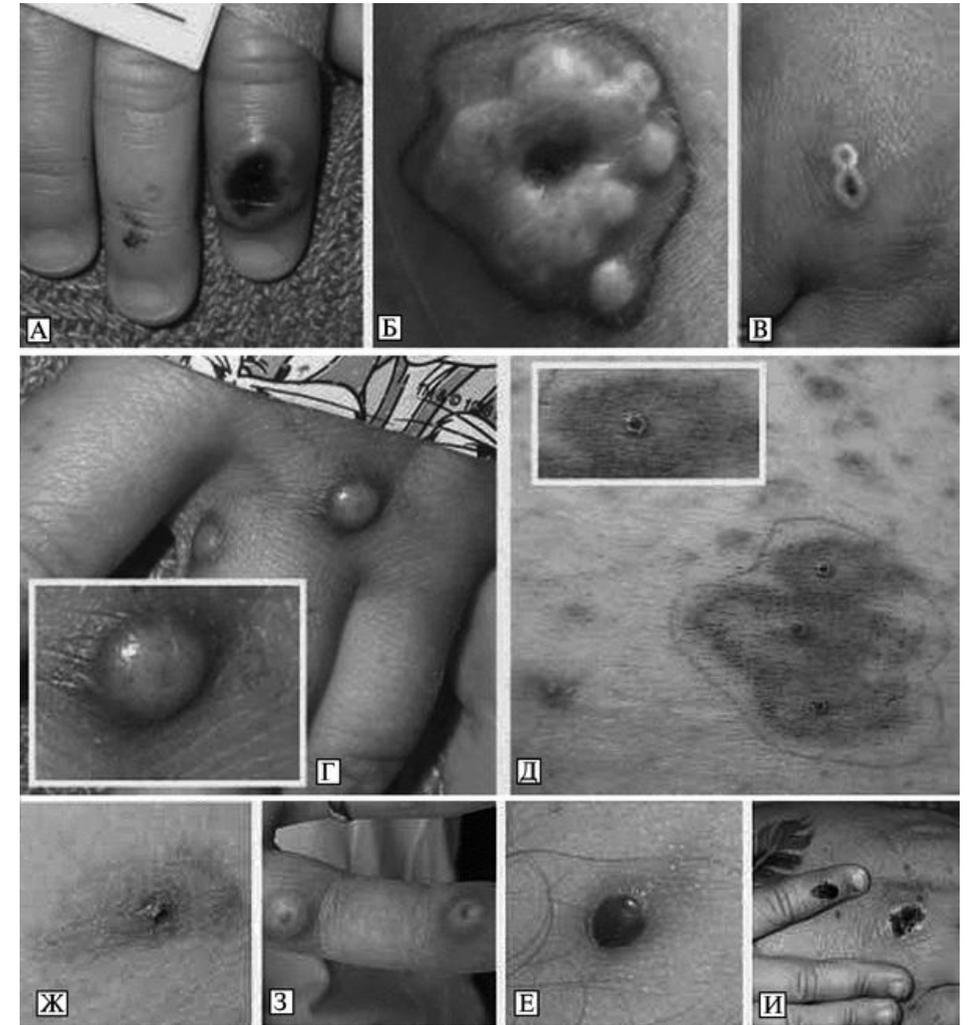
Процедура забора и тип биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян

Содержимое везикул или пустул отсасывают туберкулиновым шприцем, прокалывая стенку пузырька у его основания: для этой цели может использоваться игла, конец которой помещают над открытой пробиркой и несколько наклоняют его вниз, что облегчает отток жидкости.

При недостаточной наполненности пузырьков в периоде подсыхания пустул для получения пробы применяют два способа:

- После вскрытия пузырька скальпелем или другим острым инструментом сбор остатков жидкости производят небольшими ватными тампонами (на коротком стержне), которые помещают затем в сухую пробирку, отламывая при необходимости стержни.
- При затруднении в использовании вышеописанного способа скальпелем или маленькими ножницами срезают верхушки пузырьков и помещают их в отдельную пробирку. Корочки отделяют глазным пинцетом.

Собранный из 6-10 однородных кожных элементов больного материал помещают в пластиковые пробирки или флаконы с герметически завинчивающимися крышками. Крышки дополнительно фиксируют – например, парафинизированным полиэтиленом (парафильмом), липкой лентой, расплавленным парафином.



Кожные поражения при оспе обезьян вокруг участков укусов и царапин у жителей штата Висконсин (США).
А, Б, В. Узловая припухлость вокруг участков укусов и царапин. **Г.** Оспоподобные высыпания. **Д.** Высыпания, сходные с ветряной оспой. **Ж.** Кожное поражение менее чем через 24 ч после его появления. **З.** Поражение через 6 сут. **Е.** Поражение через 96 ч. **И.** Поражение более чем через 9 сут. По К. D. Reed et al. (2004)

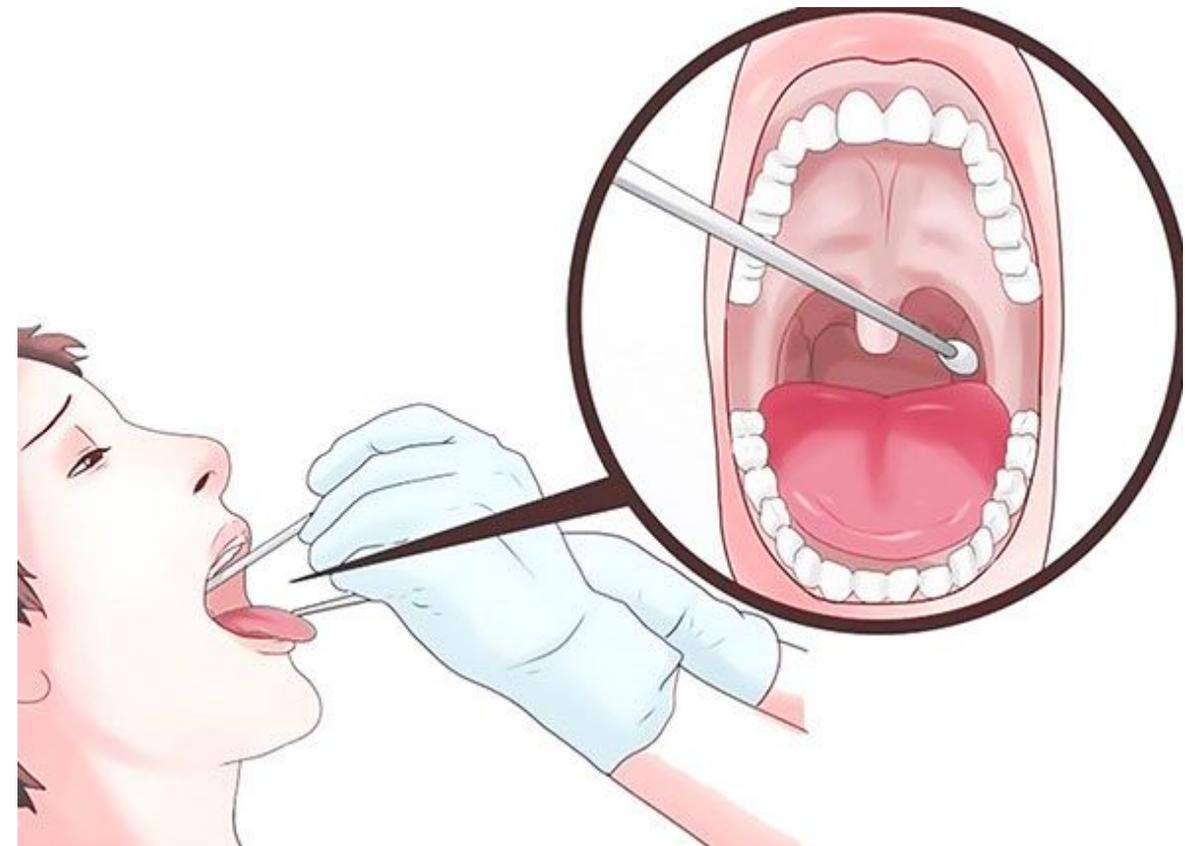
Процедура забора и тип биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян

При отсутствии у больного кожных поражений, что может иметь место в ранней стадии болезни берут мазки с задней стенки глотки и миндалин.

Можно брать как сухие мазки, так и мазки с транспортной средой для вирусов (вирусологическая транспортная среда, содержащая противогрибковые и антибиотиковые добавки).

Процедуру осуществляют с помощью ватных тампонов на стержне, который затем опускают в пластиковую пробирку или флакон и герметически её закрывают.

Мазки из зева следует брать и при недостаточном количестве материала из кожных поражений.



Процедура забора и тип биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян

Кровь берут из локтевой вены в количестве 4.5 мл в вакуумную пробирку с ЭДТА (категорически нельзя использовать гепарин).



Процедура забора и тип биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян

- В случае смерти больного с подозрением на оспу обезьян при аутопсии берут фрагменты кожи с поражениями, кусочки лимфатических узлов и внутренних органов (лёгких, печени, почек, селезёнки) (предпочтительнее с макроскопически видимыми поражениями).
- Сразу после взятия пробы пробирки маркируют, указывая фамилию и инициалы больного, возраст, день болезни, вид материала (например, кровь, корочки и т.д.) и дату его взятия. Остальные сведения о больном (предполагаемый диагноз, дату поступления, вакцинный статус и пр. указывают в сопроводительной карточке).
- После завершения сбора образцов от больного (больных) все инструменты и подсобные материалы, а также использованные средства индивидуальной защиты (перчатки, халат и пр.) дезинфицируют согласно требованиям СП 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

Процедура транспортировки биологического материала для диагностического подтверждения инфекции вирусом оспы обезьян

- Маркированные и герметично закрытые пробирки, флаконы с пробами и коробку с мазками от каждого больного помещают отдельно, перекладывая абсорбирующим материалом (например, ватой) в двойной пластиковый пакет, который затем герметично заклеивают или запаивают. Количество абсорбирующего материала должно быть достаточным для того, чтобы поглотить всю жидкость в случае повреждения упаковки. Не допускается упаковка образцов материалов от разных людей в один и тот же пакет.
- Заклеенные пакеты с образцами помещают в закрывающийся (с возможностью опломбирования) металлический или пластиковый контейнер, на дне которого размещают абсорбирующий материал (марлевая салфетка, ткань, вата и пр.), смоченный раствором дезинфицирующего средства.
- Контейнер с материалом подписывают (фамилия, имя, отчество больного (больных), дата взятия и вид материала), опечатывают, помещают в специальный переносной термоизолирующий контейнер, укомплектованный охлаждающими элементами, и транспортируют при температуре 2-8°С не более 3 суток. Транспортирование осуществляется нарочным, информированным о правилах доставки материала.
- Сопроводительные документы составляют в двух экземплярах: один отправляют вместе с пробами в лабораторию, второй (копия) остается у лица, направляющего пробы на исследование. В сопроводительном документе указывают фамилию, имя, отчество, возраст больного, краткий анамнез, диагноз, даты начала заболевания, появления сыпи, взятия материала, характера материала для исследования, фамилию врача, взявшего пробы. Указывают, был ли привит заболевший против оспы и примерную дату вакцинации, отмечают наличие или отсутствие рубцов после вакцинации, характер контакта с предполагаемым источником инфекции. Указывают адрес места назначения, адрес, фамилию и телефон отправителя. Делается надпись: "Инфекционный материал".

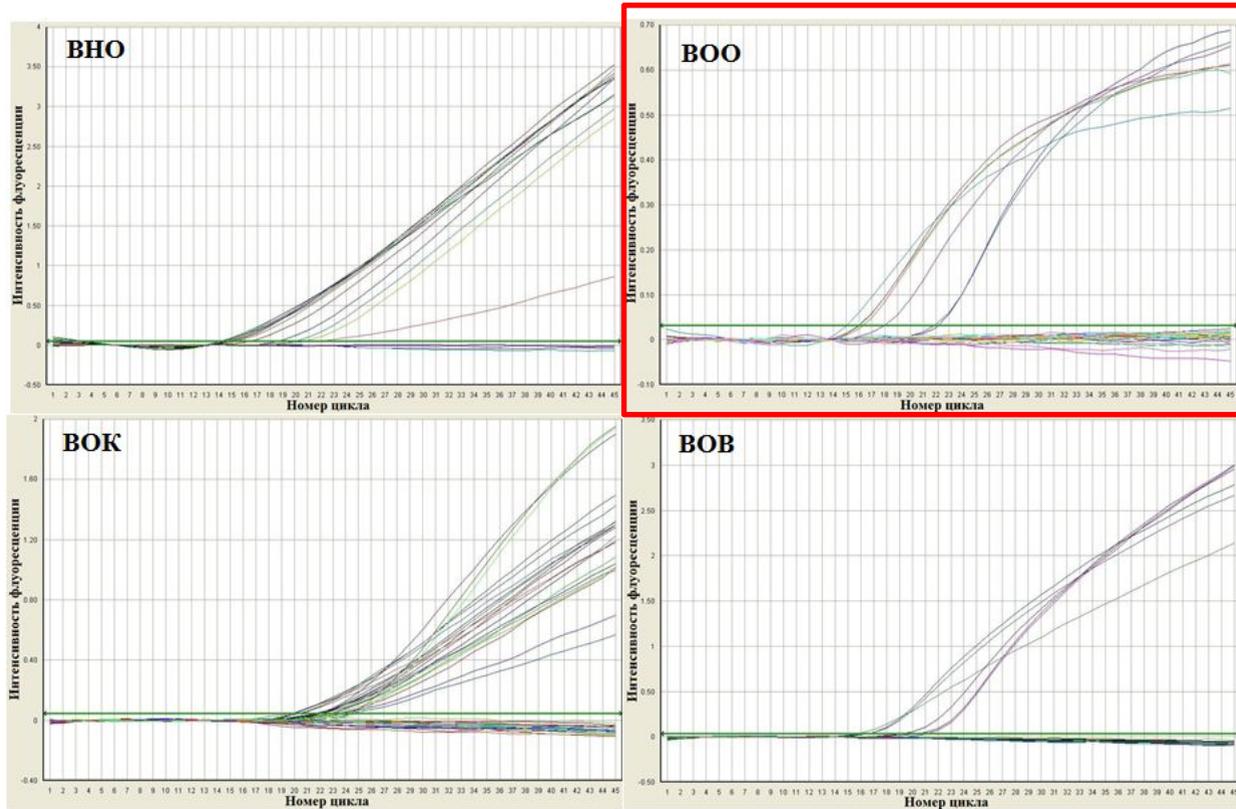


Методы детекции и дифференциации высокопатогенных для человека ортопоксвирусов

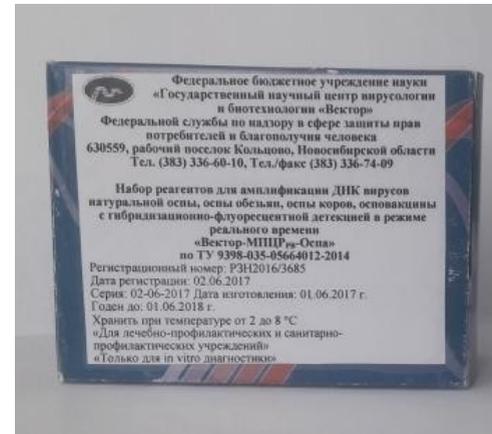
В настоящее время на территории Российской Федерации диагностика материала подозрительного на зараженность вирусом оспы обезьян проводится только во **ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора**

Методы детекции и дифференциации высокопатогенных для человека ортопоксвирусов

Набор реагентов «Вектор-МПЦР_{РВ}-Оспа» предназначен для выявления ДНК вирусов натуральной оспы (ВНО), оспы обезьян (ВОО), оспы коров (ВОК), осповакцины (ВОВ) методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени



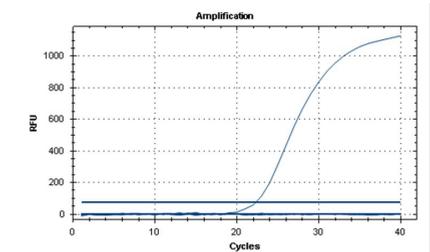
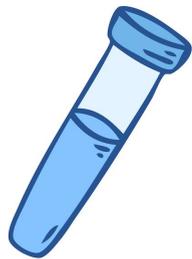
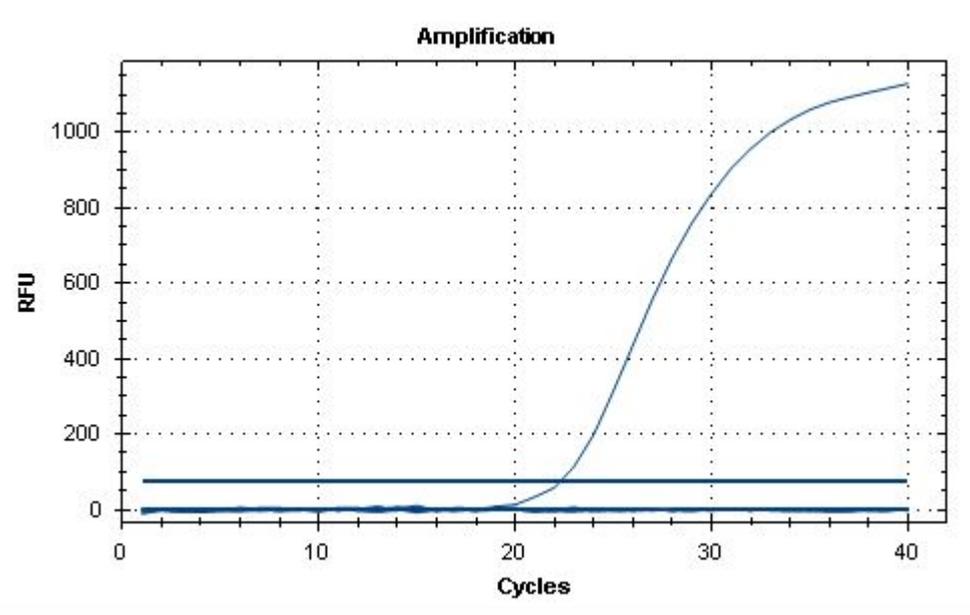
Аналитическая чувствительность – 1×10^3
Диагностическая специфичность – 100%;
Диагностическая чувствительность – 100%.



Методы детекции и дифференциации высокопатогенных для человека ортопоксвирусов

Набор реагентов «Вектор-ПЦР_{РВ}-ВОО» предназначен для выявления ДНК вируса оспы обезьян (ВОО) методом мультиплексной полимеразной цепной реакции с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени

- Rotor Gene 6000 (Corbett Research, Австралия)
- CFX 96 (BioRad, США)
- ДТпрайм 4М1 (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия)
- QuantStudio™5 (Applied Biosystems, Сингапур)



**Спасибо за
внимание!**