



ЗАМЕСТИТЕЛЬ МИНИСТРА

Рахмановский пер., д. 3/25, стр. 1, 2, 3, 4,
Москва, ГСП-4, 127994,
тел.: (495) 628-44-53, факс: (495) 628-50-58

№ _____
На № _____ от _____

Федеральные органы
исполнительной власти
(по списку)

Органы исполнительной
власти субъектов Российской
Федерации в сфере охраны
здоровья
(по списку)

Министерство здравоохранения Российской Федерации во исполнение пункта 2 Перечня поручений по итогам заседания Координационного совета при Правительстве Российской Федерации по борьбе с распространением новой коронавирусной инфекции на территории Российской Федерации от 8 апреля 2020 г. направляет для использования в работе и неукоснительного соблюдения подведомственными медицинскими организациями Временную инструкцию по вопросам забора биологического материала у всех пациентов с подозрением на пневмонию или с подтвержденной пневмонией, поступающих на госпитализацию в стационары.

Инструкция подготовлена Минздравом России совместно с главным внештатным специалистом пульмонологом Минздрава России С.Н. Авдеевым и специалистами федерального государственного бюджетного учреждения «Национальный медицинский исследовательский центр фтизиопульмонологии и инфекционных заболеваний» Минздрава России.

Инструкция размещена на сайте Минздрава России в разделе «Информация о новой коронавирусной инфекции COVID-19».

Приложение: на 6 л. в 1 экз.

Е.Г. Камкин



Временная инструкция на 1-4746 от 09.04.2020
**по вопросам забора биологического материала у всех пациентов
с подозрением на пневмонию или с подтвержденной пневмонией,
поступающих на госпитализацию в стационары**

Установление причины возбудителя при внебольничной пневмонии или вирусной пневмонии (связанной с вирусом SARS-CoV-2) **в 100% в настоящее время невозможно:**

- В условиях пандемии COVID-19 существуют **строгие предостережения по поводу получения для посевов образцов индуцированной или экспекторированной мокроты**, а также проведения методов фибробронхоскопии – данные методы увеличивают дистанцию аэрозольного облака, содержащего вирусы, что повышает риск инфицирования медицинского персонала.
- Даже вне периода пандемии вирусной инфекции рутинные бактериологические методы позволяют выявить причину внебольничной пневмонии лишь в 50-60% случаев (не все микроорганизмы могут быть обнаружены культуральными методами (например, внутриклеточные микроорганизмы), на результаты исследований оказывают большое влияние предшествующий прием антибиотиков и другие факторы).
- По предварительным данным, лабораторное подтверждение COVID-19 с помощью ПЦР возможно лишь в 70-80% случаев (т.е. чувствительность метода составляет 70-80%). Причинами ложноотрицательных результатов ПЦР-тестов являются время инфекции (низкий процент результатов в ранние сроки), качество и место забора биологического материала.

**Микробиологические исследования с целью выявления
этиологического агента (агентов) внебольничных пневмоний**

Для выявления этиологического агента (агентов) внебольничных пневмоний (ВП) спектр микробиологических исследований включает:

- ПЦР-исследование респираторных образцов на SARS-CoV-2, вирусы гриппа типа А и В, респираторно-синцитиальный вирус (РСВ), вирусы парагриппа, риновирусы, аденовирусы, человеческие метапневмовирусы;
- классическое культуральное исследование респираторных образцов и крови на бактерии (кровь исследуется бактериологическим методом только при тяжелой внебольничной пневмонии);
- экспресс-тесты по выявлению пневмококковой и легионеллезной антигенурии.

С целью выяснения этиологического агента (агентов) при подозрении на внебольничную пневмонию исследуется: мокрота при спонтанном откашливании; трахеобронхиальный аспират и бронхоальвеолярный (у интубированных пациентов); плевральная жидкость.

При исследовании на SARS-CoV-2 и другие респираторные вирусы, а также на *Chlamydomphila pneumonia*, *Mycoplasma pneumonia* рекомендуется исследование мазков из верхних дыхательных путей (из нижнего носового хода (из двух носовых ходов и с задней стенки глотки), которые берут у пациента как можно раньше от момента появления симптомов, в одну пробирку и исследуют как один образец.

У госпитализированных пациентов материал для исследования следует собирать как можно раньше при поступлении (не позднее вторых суток), поскольку в более поздние сроки не исключена возможность суперинфекции.

Сбор биологического материала для бактериологического исследования следует проводить до назначения антибиотиков.

В случае летального исхода исследуется посмертный (аутопсийный) материал.

Взятие диагностического материала, его упаковка, маркировка и транспортировка осуществляется в соответствии с СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I - II групп патогенности (опасности)».

Медицинские работники, которые собирают, упаковывают клинические образцы, должны быть обучены требованиям и правилам биологической безопасности при сборе и работе с материалом, подозрительным на зараженность микроорганизмами II группы патогенности, строго соблюдать меры предосторожности и использовать средства индивидуальной защиты.

1. Методика получения и условия хранения биологического материала для культурального и ПЦР- исследования

Особенности сбора проб у разных категорий пациентов

Мазки со слизистой оболочки верхних дыхательных путей.

Мазки со слизистой оболочки носоглотки и задней стенки ротоглотки берут после полоскания полости рта кипяченой водой комнатной температуры. Если полость носа заполнена слизью, перед процедурой рекомендуется провести высмаркивание. В течение 6-ти часов перед процедурой нельзя использовать медикаменты, орошающие носоглотку или ротоглотку и препараты для рассасывания во рту.

У детей мазки со слизистой носоглотки берут сухим стерильным назофарингеальным вельюр-тампоном на пластиковом аппликаторе. Зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины, слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Общая глубина введения зонда должна составлять примерно половину расстояния от ноздри до ушного отверстия (3–4 см для детей). После сбора материала конец зонда с тампоном опускают в стерильную одноразовую пробирку с транспортной средой до места слома, при этом гибкая часть зонда складывается в три раза, далее, прикрывая сверху пробирку крышечкой, рукоятку зонда опускают вниз, добиваясь полного отламывания верхней части зонда. Пробирку герметично закрывают.

У взрослых мазки со слизистой носоглотки берут сухим стерильным назофарингеальным тампоном на пластиковом аппликаторе. Зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2–3 см до нижней раковины, слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. Общая глубина введения зонда должна составлять примерно половину расстояния от ноздри до ушного отверстия (не менее 5 см для взрослых). После забора материала конец зонда с тампоном опускают на глубину 1 см в стерильную одноразовую пробирку с транспортной средой, конец зонда отламывают, придерживая крышкой пробирки, опустив рукоятку зонда вниз. Пробирку герметично закрывают.

Мазки из ротоглотки берут сухим стерильным зондом из полистирола с вязким тампоном вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки, аккуратно прижимая язык пациента шпателем. После забора материала рабочую часть зонда с тампоном помещают в пробирку с транспортной средой и зондом с мазком из носоглотки. Конец зонда с тампоном (1 см) отламывают, придерживая крышкой пробирки с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть пробирку. Допускается хранение в течение трех суток при температуре 2–8 °С, более длительно – при температуре не выше минус 16 °С (AI).

Мокроту при глубоком откашливании собирают в стерильные одноразовые герметично закрывающиеся контейнеры натошак после чистки зубов и полоскания полости рта водой. Пациента просят сделать несколько глубоких вдохов с задержкой дыхания на несколько секунд, затем с силой выдохнуть, что способствует появлению продуктивного кашля и очищению верхних дыхательных путей от мокроты. Мокроту помещают в стерильные одноразовые пластиковые контейнеры. Допускается хранение в течение 1 суток при температуре от 2 до 8 °С, более длительно - при температуре не выше минус 16 °С.

Аутопсийный материал забирают стерильным индивидуальным инструментом из зоны поврежденной ткани объемом 1-3 см³ стерильными инструментами (индивидуально для каждого органа), помещают в одноразовые стерильные пластиковые контейнеры с герметично завинчивающейся крышкой, замораживают и хранят при температуре не выше минус 16 °С (AI).

Исследуется аутопсийный материал следующих органов: фрагменты пораженной части трахеи, пораженной части бронхов, пораженной части легких, выпот плевральной полости (при его наличии),

Материал для исследования должен быть нативным (без фиксации формалином)!

Получение плевральной жидкости

Взятие материала осуществлять в одноразовые, плотно завинчивающиеся пробирки объемом 10 - 15 мл.

Перед манипуляцией производится дезинфекция кожи 70% этиловым спиртом, затем 1-2 % раствором йода, избыток йода удаляется марлевой

салфеткой, смоченной 70 % спиртом во избежание ожога кожи пациента. После этого выполняется чрезкожная аспирация для получения пробы плевральной жидкости, при тщательном соблюдении правил асептики. Объем пробы должен составлять не менее 5 мл. Из шприца удаляются все пузырьки воздуха, после чего проба немедленно переносится в стерильный пластиковый контейнер. Контейнер плотно закрывается крышкой.

До момента транспортировки образец вместе с направлением на бактериологическое исследование хранится в холодильнике при температуре +4-8°C. Продолжительность хранения плевральной жидкости при комнатной температуре не должна превышать 2 часов.

Для исследования методом ПЦР допускается хранение образца в течение 1 суток при температуре от 2 до 8 °С, более длительно - при температуре не выше минус 16 °С.

2. Правила получения и транспортировки мочи для определения антигена легионелл или пневмококка.

Образцы мочи для исследования объемом 5-10 мл помещают в стандартные пластиковые контейнеры и хранят при комнатной температуре (15-30°C) не более 24 ч. после забора перед постановкой реакции. В случае необходимости образцы могут храниться при температуре 2-8°C до 14 дней

или при -20°C в течение длительного времени для первичного или повторного исследования. В качестве консерванта может быть использована борная кислота. Перед постановкой реакции охлажденные или замороженные образцы мочи исследуют на наличие антигена после достижения комнатной температуры.

3. Правила получения венозной крови для бактериологического исследования

Для сбора крови с целью бактериологического исследования используются коммерческие герметично закрывающиеся стеклянные флаконы или флаконы из ударопрочного автоклавируемого пластика двух видов (содержащие питательную среду для выделения аэробов и анаэробов). Забор крови производится шприцем, кровь асептически переносится во флакон с транспортной средой непосредственно через резиновую пробку.

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. Объем крови при каждой венепункции должен составлять не менее 10 мл (для взрослых) и 3 мл (для детей).

Непосредственно перед венепункцией производится дезинфекция кожи в месте венепункции циркулярными движениями от центра к периферии дважды 70% раствором спирта или 1-2% раствором йода. Необходимо дождаться полного высыхания дезинфектанта, и провести манипуляцию, ее касаясь места обработки кожи.

После венепункции следует удалить оставшийся йод с поверхности кожи, чтобы избежать ожога.

До момента транспортировки с целью бактериологического исследования образец вместе с направлением хранится при комнатной температуре (не более 2 часов) или в термостате.

4. Маркировка материала для лабораторного исследования

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

В сопроводительном документе (направлении) к биоматериалу, собранному для исследования в лаборатории, необходимо указать:

- наименование учреждения, которое направляет биоматериал на исследования, телефон, адрес электронной почты;
- фамилию и имя обследуемого лица;
- возраст или дата рождения;
- пол;
- дату взятия биоматериала для лабораторного исследования;
- тип материала;
- дату заболевания или контакта с больным;
- предварительный клинический диагноз или повод к обследованию;
- степень тяжести заболевания;
- данные эпидемиологического анамнеза;
- ФИО, должность, сотрудника, отправившего биоматериал, дату отправки биоматериала и контактный телефон, по которому можно связаться с данным сотрудником.

5. Транспортирование биологического материала для проведения микробиологических исследований

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

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 здания, пробирки/контейнеры с биологическим материалом помещают в штативы и специальные герметичные контейнеры-переноски. Транспортирование производится при комнатной температуре в течение 3 часов, более длительно - при температуре от 2 до 8 °С.

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, помещаемый в термоконтейнер (АІ). Транспортирование производится в термоконтейнерах при температуре от 2 до 8 °С (АІ). В контейнер желательно поместить

одноразовый индикатор, контролирующий соблюдение требуемой температуры.

Сопроводительные документы помещаются в индивидуальную упаковку отдельно от биологического материала и прочно прикрепляются снаружи контейнера.

Оценка приемлемости образцов

После доставки образца в лабораторию сотрудник лаборатории, принимающий материал, должен проверить правильность оформления направления на исследование, маркировку пробирок с образцами биологического материала, 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 на молекулярно-биологическое исследование.

Непригодными для исследования являются образцы:

- немаркированные или несущие неверную (нечитаемую) маркировку;
- для которых не указаны дата получения материала;
- 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 ПЦР-исследования необходимо отразить возможность влияния нарушения правил преаналитического этапа на полученный результат.