

Утвърждавам

Директор на НЦЗПБ

11.02.2020 г

12 страници

Правила за индикация и начини на взимане на материал, опаковка, транспорт и обозначаване на материал за лабораторно доказване на нов коронавирус 2019 (nCoV2019-) при съмнение за инфекция при болни хора и процедури за безопасност в лабораториите

Целта на този документ е да даде **временни** насоки на лабораториите и заинтересованите страни, участващи в лабораторното изследване на пациенти, които отговарят на определението за съмнения за инфекция с пневмония, свързана с нов коронавирус, идентифициран в гр. Ухан, Китай.

Вземане на проби и изпращане

Бързото вземане и изследване на подходящи проби при съмнения за инфекция с 2019-nCoV е приоритет и следва да се ръководи от лабораторен специалист. Тъй като все пак е необходимо обстойно изследване за потвърждаване на 2019-nCoV, а ролята на смесената инфекция не е проверена, може да се наложи провеждането на множество изследвания и се препоръчва вземането на достатъчно проби клиничен материал. Следва да се спазват местните насоки относно информираното съгласие на пациента или настойника за вземането на проба, изследването и евентуалното бъдещо научно изследване.

Уверете се, че има налични стандартни оперативни процедури (SOP) и подходящо обучен персонал за правилното вземане, съхранение, опаковка и транспорт на пробите. Информацията за риска от 2019-nCoV все още е ограничена, но вероятно пробите за молекулярно изследване могат да се обработват както пробите при съмнение за грип (2, 7-

9). Опитите за култивиране на вируса може да изисква засилване на мерките за контрол на био безопасността.

Подходящи проби за изследване:

1. Респираторен материал* (назофарингеален и орофарингеален секрет при амбулаторни пациенти и хрчка (ако е произведена) и/или ендотрахеален аспират или бронхоалвеоларен лаваж при пациенти с по-тежки респираторни заболявания)

2. Серум за серологично изследване, проби от острата фаза или фазата на възстановяване (те са в допълнение към респираторните материали и могат да подпомогнат идентифицирането на истинския причинител)

*Подлежи на изменение при информация дали горен или долен респираторен материал е по-подходящ за откриването на коронавируса.

Еднократният отрицателен резултат от изследване, особено ако е от проба от горния дихателен тракт, не изключва инфекцията. Повторете вземането на проба и изследването. Силно се препоръчва изследване на проби от долния дихателен тракт при тежко или прогресиращо заболяване. Положителен резултат за друг патоген не изключва непременно наличието на 2019-nCoV, тъй като все още се знае малко за ролята на коинфекциите (2,3-7).

Таблица 1. Проби, които трябва да се вземат от пациенти със симптоми (5)

Вид проба	Материал за вземане на пробата	Транспорт до лаборатория	Съхранение до изследването	Коментар
Назофарингеален и орофарингеален секрет	Тампон от дакрон с гъвкава пластмасова дръжка*	4°C	≤5 дни: 4°C >5 дни: -70°C	Назофарингеалният и орофарингеалният секрет следва да се поставят в една и съща епруветка, съдържаща вирусна транспортна среда (VTM), за да се увеличи вирусният товар

Бронхоалвеоларен лаваж	Стерилен контейнер*	4°C	≤48 часа: 4°C >48 часа: -70°C	Въпреки че е възможно известно разреждане на патогена, това е подходяща проба
(Ендо)трахеален аспират, назофарингеален аспират или назална промивна течност	Стерилен контейнер*	4°C	≤48 часа: 4°C >48 часа: -70°C	
Храчка	Стерилен контейнер	4°C	≤48 часа: 4°C >48 часа: -70°C	Уверете се, че материалът е от долния дихателен тракт
Тъкан от биопсия или аутопсия, включително от белия дроб	Стерилен контейнер с физиологичен разтвор	4°C	≤24 часа: 4°C >24 часа: -70°C	
Серум (2 проби от острата фаза и фазата на възстановяване, по възможност 2-4 седмици след острата фаза)	Епруветки за отделяне на серума (възрастни: вземете 3-5 мл пълна кръв)	4°C	≤5 дни: 4°C >5 дни: -70°C	Вземете двойни проби: - остра фаза – първата седмица на заболяването - фаза на възстановяване – 2 до 3 седмици по-късно
Пълна кръв	Епруветка за вземане	4°C	≤5 дни: 4°C >5 дни: -70°C	За откриване на антигени по-специално през първата седмица на заболяването
Урина	Контейнер за вземане на урина	4°C	≤48 часа: 4°C >48 часа: -70°C	

*За транспорт на пробите за откриване на вируса използвайте VTM (среда за транспортиране на вируси), съдържаща антигъбични и антибиотични добавки. За бактериална или гъбична култура: транспортирайте суха или в много малко количество стерилна вода. Избягвайте повторно замразяване и размразяване на пробите.

Освен специфичните материали за вземане на проби, посочени в таблицата, моля, осигурете също наличието на други материали и оборудване, например контейнери за транспортиране и торбички и опаковки за вземане на проби, охладители и охлаждащи опаковки или сух лед, стерилно оборудване за вземане на кръв (например игли, спринцовки и епруветки), етикети и неизличими маркери, лични предпазни средства (ЛПС), материали за обеззаразяване на повърхности.

Процедури за безопасност при вземане и транспорт на проби

Всички взети проби за лабораторно изследване следва да се считат за потенциално заразни и здравните работници, които вземат или транспортират клинични проби, следва да спазват строго насоките за превенция и контрол на инфекции и националните или международни правила за транспортирането на опасни стоки (заразни вещества), за да се намали до минимум възможността за излагане на патогени (14). Приложете подходящи предпазни мерки за превенция и контрол на инфекции; има изготвени насоки относно превенцията и контрола на инфекциите за 2019-нCoV (11).

Осигурете добра комуникация с лабораторията и предоставете необходимата информация

Комуникацията и споделянето на информация са крайно важни за осигуряване на правилното и бързо обработване на пробите и прилагане на подходящи мерки за биобезопасност в лабораторията. Преди да изпратите пробата се уверете, че сте информирали лабораторията за неотложността и за ситуацията. Уверете се също, че пробите са правилно етикетирани и че формулярите за искане на диагностика са попълнени правилно и е предоставена клинична информация.

Информация, която трябва да бъде записана:

- Информация за пациента – име, дата на раждане, пол и адрес, единен граждански номер, друга полезна информация (например болничен номер на пациента, идентификатор за наблюдение, име на болницата, адрес на болницата, стая номер, име на лекаря и данни за връзка, име и адрес на получателя на резултата).

- Дата и час на вземане на пробата.
- Анатомично място на пробонабиране и вид на материала.
- Искани изследвания.
- Клинични симптоми и съответна анамнеза на пациента (включително направени ваксинации и антимикробни терапии, епидемиологична информация, рискови фактори). Епидемиологична анамнеза и основание за изследването.

Мерки за предотвратяване на инфекции при вземане на проби за нов коронавирус

Уверете се, че здравните работници, които вземат пробите, спазват следните насоки и използват подходящи ЛПС: Превенция и контрол на инфекции по време на здравни грижи при съмнение за новата коронавирусна инфекция (nCoV), междинни насоки, януари 2020 (11) и други насоки за превенция на инфекции (10, 15-17).

Уверете се, че здравните работници, извършващи процедури, генериращи аерозол (т.е. аспирация или открито всмукване на проби от респираторния тракт, интубация, кардиопулмонарна реанимация, бронхоскопия) прилагат допълнителни предпазни мерки (за подробности вж. посочените по-горе подробни насоки):

- Респиратори (утвърдени от NIOSH N95, EU FFP2 или равнозначни, или с по-високо ниво на защита). При поставянето на респиратор за еднократна употреба за прахови частици винаги проверявайте пломбата/годността. Не забравяйте, че наличието на окосмяване по лицето (например брада) може да попречи на правилното поставяне на респиратора. В някои държави вместо респиратор се използва респиратор за пречистване на въздуха с електрозахранване (PDPR).

- Предпазване на очите (например очила или защитен екран на лицето)

- Чиста дреха с дълги ръкави и ръкавици. Ако дрехите не са непромокаеми, за процедури, при които се очаква евентуално проникване на течност в дрехата, следва да се използва непромокаема престилка.

- Извършвайте процедурите в достатъчно проветрена стая: при минимална естествена вентилация с въздушен поток най-малко 160л/сек/пациент или болнична стая с отрицателно налягане с най-малко 12 смени на въздуха за час и контролирана посока на въздушния поток, когато се използва механична вентилация

Ограничете броя на лицата, присъстващи в стаята, до минимума, необходим за обгрижването или оказването на помощ на пациента

Следвайте насоките на СЗО за стъпките на слагане и сваляне на ЛПС. Извършвайте хигиена на ръцете преди и след контакт с пациента и мястото около него и след свалянето на ЛПС.

Процедури за управление и обеззаразяване на отпадъци: осигурете правилното изхвърляне на всички използвани материали. При дезинфекцията на работните зони и обеззаразяването на евентуално разлята кръв или инфекциозни телесни течности следва да се спазват утвърдени процедури, обикновено се използват разтвори на основата на белина.

Специфика на транспортирането на пробите до лабораторията:

- Уверете се, че персоналът, който транспортира пробите, е обучен в практиките за безопасно манипулиране и процедурите за обеззаразяване на разливи.
- Спазвайте изискванията на националните или международни правила за транспорт на опасни стоки (заразни вещества) според случая (14).
- Когато е възможно, предавайте всички проби на ръка. Не използвайте системи с пневматични тръби за транспорт на пробите.
- Посочете ясно пълното име, дата на раждане на лицето със съмнения за инфекция в придружаващия формуляр – искане. Уведомете лабораторията при първа възможност, че е изпратена проба.

Опаковане и изпращане до друга лаборатория

При транспортирането на проби в рамките на страната следва да се спазват приложимите национални правила. За пробите от нов коронавирус следва да се спазват Примерните правила на ООН или други приложими правила, в зависимост от използвания вид транспорт. Повече информация можете да намерите в Насоките на СЗО относно правилата за Транспорт на заразни вещества 2019-2020 (приложими от 1 януари 2019 г.) (14). Резюме

относно транспорта на заразни вещества можете да намерите също в Комплекс от мерки 4 от Ръководството за управление на епидемии (1).

Изследване на -nCoV2019 в референтни лаборатории на материали от пациенти, които отговарят на определението за съмнение за инфекция

На пациентите, при които има съмнения за инфекция с 2019-nCoV, следва да се извършва скрининг с PCR. Ако управлението на случая изисква това, следва да се извърши също скрининг за други чести причинители на респираторни заболявания, съгласно местните насоки (1, 5, 7). Тъй като може да има смесени инфекции, всички пациенти, които отговарят на определението за съмнение за инфекция, следва да бъдат изследвани за 2019-nCoV, независимо дали има доказан друг респираторен патоген. Ако изследването не се извършва в експертна/референтна лаборатория, препоръчваме пробата да се изпрати за потвърждение в регионална, национална или международна референтна лаборатория с капацитет за откриване на общ коронавирус или специфичен 2019-nCoV.

Изследване за 2019-nCoV по метода на амплификация с нуклеинови киселини

Тъй като неотдавна стана налична информация за нуклеотидната секвенция на 2019-nCoV, могат да бъдат разработени PCR анализи за откриване на тези секвенции.

Лабораториите може да пожелаят да използват анализ на пан-коронавирус за амплификацията, последван от секвениране на ампликоните от неконсервативни региони за характеризиране и потвърждение. Значението на необходимостта от потвърждение на резултатите от изследвания за праймери на пан-коронавирус се подчертава от факта, че глобално са ендемични четири човешки коронавируса (HCoV): HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-NKU1 и HCoV-OC43. Последните два са бетакоронавируси. Два други бетакоронавируси, които причиняват зоонози при хора, са MERS-CoV, който се хваща при контакт с едногърби камили и SARS, който се причинява от цибетки и пещерни подковоноси прилепи.

Като алтернатива, амплифицирането и откриването на специфични секвенции на 2019-nCoV може да се диагностицира без да е нужно допълнително секвениране. В случай на изненадващи констатации или при по-малко опитни лаборатории следва да се търси външна помощ от референтна лаборатория, която може да извърши допълнителни или потвърдителни анализи.

След като бъдат разработени и утвърдени специфични NAAT анализи, потвърждаването на случаи на новата коронавирусна инфекция ще се основава на специфично откриване на уникални секвенции на вирусна нуклеинова киселина чрез полимерна верижна реакция с обратна транскриптаза (RT-PCR). Възможно е да станат налични също алтернативни NAAT техники с предимства като по-голяма бързина или леснота на използване.

Серологично изследване

Серологичното изследване може да е от полза за потвърждаване на имунологичната реакция на патоген от специфична вирусна група, например коронавирус. За постигането на най-добри резултати от серологичното изследване е необходимо вземането на двойни серумни проби (по време на острата фаза и на фазата на възстановяване) от пациенти, които са под наблюдение.

Секвениране при избухване на епидемии

Секвенционните данни могат да дадат ценна информация за разбирането на произхода на даден вирус и начина на разпространяването му. СЗО е публикувала Проект на етичен кодекс за обработката на Данни за генетична последователност, свързани с избухването на епидемии (вж. https://www.who.int/blueprint/what/norms-standards/GSDDraftCodeConduct_forpublicconsultation-v1.pdf?ua=1). За ситуации, при които доставчиците на данни искат да запазят собствеността върху своите данни, са използвани модели със споразумения за достъп до данни (например GISAID) с цел улесняване на бързото споделяне на данни за генетична последователност. Лабораториите се насърчават да споделят секвенционни данни със СЗО и научната общност, за да помогнат за бързото

разработване и разпространение на диагностични тест-системи в държавите в риск. Качването и публичният достъп до секвенционни данни следва да става преди публикуването в списания. Медицинските списания следва да вземат мерки техните политики да подкрепят активно споделянето на данни за генетична последователност на патогени заедно с подходящото позоваване на източника преди публикуването им. СЗО може да окаже съдействие на държавите-членки при идентифицирането на лаборатории, които могат да окажат подкрепа и да ги консултира относно управлението на секвенционни данни, свързани с избухването на епидемии.

Специфика на практиките по биобезопасност в лабораторията

Уверете се, че здравните лаборатории спазват подходящи практики за биобезопасност. Всяко изследване на клинични проби от пациенти, отговарящи на определението за съмнение за инфекция, следва да се извършва в подходящо оборудвани лаборатории от персонал, обучен в съответните технически процедури и процедури за безопасност. Във всички случаи следва да се спазват националните насоки за лабораторната биобезопасност. За обща информация относно насоките за лабораторна биобезопасност, вж. Ръководството на СЗО за лабораторна биобезопасност, трето издание (8). Информацията относно риска, който представлява докладваният коронавирус, открит в Ухан, все още е ограничена, но очевидно могат да се обработват проби, подготвени за молекулярно изследване, както и проби от случаи на съмнения за инфекция с човешки грип (2, 7-9).

Препоръчва се всички манипулации в лабораторна среда на проби от предполагаеми или потвърдени случаи на нова коронавирусна инфекция да се извършват съгласно препоръките на СЗО, достъпни на: https://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/Biosafety_InterimRecommendations_NovelCoronavirus2012_31Ocr12.pdf?ua=1 Информация относно биобезопасността за SARS, бетакоронавирус, който може да причини тежко респираторно заболяване можете да намерите на: [https://www.who.int/csr/sars/biosafety2003_04_25/en/and other guidance](https://www.who.int/csr/sars/biosafety2003_04_25/en/and%20other%20guidance).

Докладване на случаи и резултати от изследвания

Лабораториите следва да спазват националните изисквания за докладване, но като цяло съмнителните случаи следва да се докладват на съответните органи, отговарящи за общественото здравеопазване, веднага щом лабораторията получи проба, още преди извършването на изследването. Всички резултати от изследването, независимо дали са положителни или отрицателни, следва също така да се докладват незабавно на националните власти. Ако инфекцията стане масова, лабораториите следва незабавно да уведомят органите, отговарящи за общественото здравеопазване, за всеки нов потвърден случай или положителен резултат от скрининг, когато се очаква забавяне на потвърждаващото изследване. Лабораториите следва също да докладват периодично на органите, отговарящи за общественото здравеопазване, броя на отрицателните резултати от изследвания.

Напомняме на държавите – страни по Международните здравни правила задължението им да споделят със СЗО съответната свързана с общественото здравеопазване информация за събития, за които са уведомили СЗО с помощта на инструмента за решения по Анекс I от МЗП (2005) (18).

Откриването на евентуални случаи на инфекция на хора с възникващ патоген, причиняващ тежки остри респираторни заболявания, следва незабавно да се съобщава на местните, субнационалните и националните органи, отговарящи за общественото здравеопазване. Това ще позволи на тези органи да вземат незабавно решение за започването на проучвания и за степента на ответните мерки. Откриването на такъв случай следва да се използва за задействане на уведомяването на традиционните и нетрадиционните доставчици на здравни услуги, болниците и извънболничните заведения. Заведенията и лидерите на общността в региона, в който живеят или са пътували пациентите със съмнения за инфекция, следва да се уведомяват в рамките на усилията за активно откриване на случаи на инфекция.

Използвана литература:

- 1) Managing epidemics, key facts about major deadly diseases. Geneva: World Health Organization; 2018. (https://apps.who.int/iris/handle/10665_272442)
- 2) WHO Global Influenza Surveillance Network Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza, WHO, 2011 (https://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/manual_diagnosis_surveillance_influenza/en/)
- 3) Investigation of cases of human infection with Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), interim guidance, World Health Organization, updated June 2018 WHO/ERS/SUR/15.2 Revision 1 (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/178252/WHO_MERS_SUR_15.2_eng.pdf;sequence=1)
- 4) Surveillance for human infection with Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV), interim guidance, Updated June 2018, WHO/MERS/SUR/15.1 Revision 1 (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/177869/WHO_MERS_SUR_15.1_eng.pdf;sequence=1)
- 5) Protocol to investigate non-seasonal influenza and other emerging acute respiratory diseases. Geneva: World Health Organization; 2018. (https://www.who.int/influenza/resources/publications/outbreak_investigation_protocol/en/)
- 6) WHO Recommended Surveillance Standards *WHO/CDS/CSR/ISR/99.2* (https://www.who.int/csr/resources/publications_surveillance/whoedcscr992.pdf)
- 7) Guideline for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks WHO/CDS/CSR/EDC/200.4 (https://www.who.int/ihr/publications/WHO_CDS_CSR_EDC_2000_4/en/)
- 8) WHO laboratory biosafety manual, third edition. Geneva: World Health Organization; 2004. (http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/en/)
- 9) Laboratory biorisk management for laboratories handling human specimens suspected or confirmed to contain novel coronavirus: Interim recommendations. Geneva: World Health Organization; 2013. (https://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/Biosafety_InterimRecommendations_NovelCoronavirus_19Feb13.pdf)
- 10) Infection prevention and control of epidemic- and pandemic-prone acute respiratory infections in health care. Geneva: World Health Organization; 2014.

- (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112656/9789241507134_eng.pdf?sequence=1)
- 11) Infection prevention and control during health care when novel coronavirus (nCoV) infection is suspected, interim guidance, January 2020. . Geneva: World Health Organization; 2020.
- 12) 武汉病毒性肺炎疫情病原体初步判定为新型冠状病毒, accessed on 9 januari 2020, (<http://www.chinanews.com/m/sh/2020/01-09/9054817.shtml>)
- 13) Surveillance case definitions for human infection with novel coronavirus. Interim guidance v1, January 2020. Geneva: World Health Organization; 2020.
- 14) Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020. Geneva: World Health Organization; 2019. (<https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20/en/>)
- 15) World Health Organization. (2019). Infection prevention and control during health care for probable or confirmed cases of Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) infection: interim guidance: updated October 2019. World Health Organization. (<https://apps.who.int/iris/handle/10665/174652>)
- 16) WHO guidelines on hand hygiene in health care. Geneva: World Health Organization; 2009. (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44102/9789241597906_eng.pdf?sequence=1)
- 17) World Health Organization. Five moments for hand hygiene. 2014 (http://www.who.int/gpsc/tools/Five_moments/en/)
- 18) World Health Organization. International Health Regulations (2005), third edition. Geneva: World Health Organization; 2016 (<http://www.who.int/ihr/publications/9789241580496/en/>)