Приложение 1

ИНСТРУКЦИЯ

за събиране, съхранение и транспортиране до Националната референтна лаборатория „Морбили, паротит и рубеола" в НЦЗПБ на клинични материали за лабораторна диагностика на морбили и рубеола

Набавянето на подходящ клиничен материал, правилното време на неговото събиране и спазването на конкретни правила за транспортиране и съхранение е от съществено значение при интерпретацията на получените лабораторни резултати и постигане на коректно заключение, по отношение на съмнителните за морбили и вродена рубеола случаи.

Серологична диагностика на морбили и рубеола

Най-подходящ клиничен материал за серологична диагностика на морбили и рубеола са **серумни проби** взети от пациента **между 4 и 28 ден** след началото на обрива. Изисква се изпращане до НРЛ „Морбили, паротит, рубеола" на:

- *Първа серумна проба* - с цел потвърждаване/отхвърляне на всеки съмнителен случай на морбили и рубеола, по метода capcure/indirect ELISA IgM/IgG;
- *Втора серумна проба* - с цел отхвърляне на фалшиво отрицателни резултати в случаите, когато първата серумна проба е взета по-рано от четири дни от началото на обрива, както и при получаване на неопределен ELISA IgM резултат при тестиране на първата проба. Втора серумна проба за ELISA IgM изследване може да бъде взета по всяко време между 4 и 28 ден след началото на обрива и да послужи при отчитане повишаване нивото на специфични морбилни и рубеолни IgG антитела (количествен ELISA метод).

Инструкции за събиране и съхранение на серумни проби:

- Изисква се събиране на до 5 ml **венозна кръв** чрез венепункция в стерилни вакутейнери с гел за биохимия с червена капачка за отделяне на серум;

Преди отделянето на серума цялата кръв може да бъде съхранявана на **4-8°C** до 24 часа;

- Цялата кръв **НЕ** трябва да бъде замразявана;
- Цялата кръв трябва да бъде центрофугирана на 1000 оборота за 10 минути, с цел отделяне на серума;
- Ако не е налична центрофуга, кръвта трябва да се съхранява в хладилник, докато не се отдели напълно серума;
- Внимателно отделяне на серума в стерилни етикетирани фиолки, чрез избягване прехвърлянето на червени кръвни клетки заедно с него;
- Надписване на фиолките с **данните на пациента** (име и **УИН,** генериран от уеб-базираната „Информационна система за събиране и анализиране на данни за заболяемостта от морбили, паротит и рубеола в България" **и четири важни дати:** дата на раждане; дата, на която пробата е взета; дата на начало на обрива и дата на последната ваксинация.
- **Съхраняване на серумната проба на 4-8°C** до доставка в НРЛ;
- Стерилният серум трябва да бъде съхраняван и изпратен за тестиране в НРЛ посредством използване на хладилна верига (4-8°C) в максимален срок до 7 дни от момента на вземане;
- В случай на съхранение за по-дълъг период от време, серумът трябва да бъде **замразен** (при - 20°C).

Избягвайте многократното замразяване и размразяване, поради отрицателния ефект върху стабилността на IgM антителата.

Опаковане и транспортиране на кръвни проби до НРЛ (пробите трябва да бъдат изпратени в НРЛ възможно в най-кратък период от време)

- Серумните проби трябва да бъдат поставени в Ziplock или найлонови торбички, за да се предотврати изтичане на материала;
- Необходимо е използването на **стиропорени кутии или термос,** със сух лед или охладители с цел поддържане на **хладилна верига.**

Молекулярно-биологична диагностика на морбили и рубеола

Стерилната урина е подходящ клиничен материал за изолиране и доказване на вирусите на морбили и рубеола, които се намират в епителните клетки, отделени с нея.

Процедура на събиране:

- Подходящо количество клиничен материал: **10 - 50 мл сутрешна урина,** събрана в стерилни контейнери за урина с обем 50 мл;
- Стерилната урината **НЕ** трябва да се замразява;

Изолацията на морбилния и рубеолен вирус е най-успешна от проби, събрани в рамките на **5 дни** от началото на обрива;

Урината трябва да бъде събрана в стерилен контейнер и поставена в хладилна верига **(4-8°C)** преди центрофугиране;

- С цел концентриране на вируса и отделяне на епителните клетки, в които се съдържа, се изисква центрофугиране на урината и ресуспендиране на утаените клетки в подходяща вирусна транспортна среда (препоръчва се DMEM 2%, с пеницилин)

Съхранение и транспортиране на проби урина до НРЛ:

- Цялата проба урина (нецентрофугирана) може да бъде изпратена в добре затворени стерилни контейнери при температура 4°C, но *центрофугиране в рамките на 24 часа след събирането е за предпочитане;*
- Препоръчва се центрофугиране на 1500 оборота за 5 минути, при 4°C;
- Супернатантата трябва да се изхвърля, а утайката се ресуспендира в 1 мл вирусна транспортна среда (VTM);
- Разтворената утайка може да се съхранява при 4°C и трябва да се изпрати в рамките на 48 часа до НРЛ.
- Алтернативно, може да бъде замразена за по-дълъг период от време при -70°C в VTM и изпрати в сух лед и добре затворен съд.