



ПЦР-тестирование на COVID-19: как организовать и оптимизировать процесс исследований



ПЦР-тестирование на COVID-19: как организовать
и оптимизировать исследования

Анонс

Количество клинико-диагностических лабораторий, которые хотят расширить перечень услуг за счет ПЦР-исследований, в частности на COVID-19, растет. Но организовать и отладить процесс тестирования в условиях цейтнота сложно. Мы собрали инструкции, образцы СОПов, памяток и других документов от эпидемиологов и руководителей крупных лабораторий, которые помогут внедрить ПЦР-диагностику – с момента сбора документов для получения санитарно-эпидемиологического заключения до оптимизации преаналитических, аналитических и постаналитических процессов.

Автор-составитель:

Елена Владимировна, шеф-редактор



Содержание

Как получить санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с микроорганизмами III–IV групп патогенности.	4
Требования к лабораториям, выполняющим ПЦР-исследования.	18
Лабораторная диагностика COVID-19: как повысить качество исследований	26
Как лаборатории организовать тестирование на COVID-19, чтобы выполнить исследования за 48 часов.	36

Как получить санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с микроорганизмами III–IV групп патогенности

Работодатели регулярно тестируют своих сотрудников на наличие новой коронавирусной инфекции. В связи с этим многие лаборатории, включая частные, хотели бы расширить перечень услуг за счет введения исследований для лабораторной диагностики COVID-19. Представляем рекомендации, которые помогут руководителям медицинских учреждений и КДЛ подготовить условия для такой работы и получить санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с микроорганизмами III–IV групп патогенности.



Елизавета Владиславовна Дубель

врач-эпидемиолог, врач-дезинфектолог, к. м. н.

Любые работы с микроорганизмами допускаются при наличии санитарно-эпидемиологического заключения о соответствии условий выполнения таких работ санитарным правилам (ст. 26 Федерального закона от 30.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения»). В клинико-диагностических и бактериологических лабораториях медицинских организаций, как правило, осуществляется дея-

тельность, связанная с использованием биологических агентов III–IV групп патогенности, а именно:

- ~ диагностические работы с целью обнаружения и выделения возбудителей;
- ~ ПЦР-диагностика;
- ~ иммунологические исследования.

С классификацией микроорганизмов по группам патогенности можно ознакомиться в приложении № 1 к СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Исследования по обнаружению в крови людей антигенов микроорганизмов II группы патогенности без накопления возбудителя или антител к ним классифицируются как работы с патогенными биологическими агентами III группы патогенности.

Таким образом, практически любая лаборатория, выполняющая медицинские исследования, обязана иметь санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с микроорганизмами III–IV групп патогенности.

Если в составе учреждения несколько лабораторий, необходимо получать отдельное разрешение на работу каждой из них. В противном случае для медицинской организации может наступить административная ответственность: штраф от 10 тыс. до 20 тыс. руб. или приостановление деятельности на срок до 90 суток.

Шаг 1: подать документы. Выдачу документа о возможности проведения работ с патогенными биологическими агентами осуществляет Роспотребнадзор. Для этого требуется представить в ведомство заявление и ряд документов, среди которых – экспертное заключение о наличии санитарно-гигиенических условий для осуществления деятельности в конкретной лаборатории. Чтобы провести санитарно-эпидемиологическую экспертизу, необходимо обратиться в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» субъекта или его филиалы. Услуга оказывается на договорной основе.

Шаг 2: пройти оценку состояния лаборатории. Эксперты центра выезжают в медорганизацию для визуальной оцен-

ки состояния лаборатории, анализа безопасности ее деятельности для персонала, пациентов и окружающей среды. Изучается набор помещений, их отделка, поточность технологических процессов, исправность и эффективность оборудования, соблюдение требований биологической безопасности при выполнении клинико-диагностических исследований, изложенных в санитарно-эпидемиологических правилах СП 1.3.2322-08.

Какие документы могут затребовать инспекторы и какие ошибки находят. В ходе экспертизы инспекторы могут запросить различные документы, в том числе:

- ~ приказ о допуске персонала к работам с патогенными биологическими агентами;
- ~ приказ о допуске инженерно-технического персонала к обслуживанию оборудования в лаборатории. Эти документы нужно обновлять не реже 1 раза в 2 года и корректировать при поступлении на работу новых специалистов;
- ~ приказ о допуске сотрудников к работе с автоклавами. Персонал, осуществляющий автоклавирование, должен пройти обучение по программе «Безопасная эксплуатация сосудов, работающих под давлением», что является необходимым условием допуска к данной деятельности;
- ~ документы об образовании медицинских и технических работников. Медицинские работники лабораторий должны иметь необходимый набор документов об образовании в соответствии с приказом Минздрава от 08.10.2015 № 707н «Об утверждении Квалификационных требований к медицинским и фармацевтическим работникам с высшим образованием по направлению подготовки “Здравоохранение и медицинские науки”» и приказом Минздрава от 10.02.2016 № 83н «Об утверждении Квалификационных требований к медицинским и фармацевтическим работникам со средним медицинским и фармацевтическим образованием»;
- ~ личные медицинские книжки и прививочные сертификаты сотрудников. Персонал лабораторий должен быть вакцинирован в соответствии с приказом Минздрава от 21.03.2014 № 125н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям», проходить пред-

варительные и периодические медицинские осмотры на основании приказа Минздравсоцразвития от 12.04.2011 № 302н «Об утверждении перечней вредных и (или) опасных производственных факторов и работ, при выполнении которых проводятся обязательные предварительные и периодические медицинские осмотры (обследования), и Порядка проведения обязательных предварительных и периодических медицинских осмотров (обследований) работников, занятых на тяжелых работах и на работах с вредными и (или) опасными условиями труда»;

- ~ журнал регистрации инструктажа на рабочем месте. Если сотрудник лаборатории был в отпуске или на больничном во время проведения инструктажа, то, как только он вернется на рабочее место, заведующий обязан его проинструктировать, сделав запись в журнале;
- ~ журнал регистрации посещений лаборатории;
- ~ приказ о создании комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности;
- ~ план ликвидации аварий при работе с патогенными биологическими агентами;
- ~ журналы регистрации и контроля бактерицидных установок. Эксперты могут расценить как ошибку отсутствие записей о включении бактерицидных облучателей на время, необходимое для эффективного обеззараживания, после проведения генеральной уборки;
- ~ журнал учета качества предстерилизационной обработки (форма № 366/у). Ошибки при заполнении журнала могут быть связаны с неправильным определением числа объектов, подлежащих контролю качества ПСО. Согласно требованиям контроль необходим для 1% одновременно обработанных изделий каждого наименования, но не менее трех единиц;
- ~ журнал контроля работы стерилизаторов воздушного, парового (автоклава) (форма № 257/у). После цикла стерилизации в журнал должны клеиваться химические индикаторы из всех контрольных точек стерилизатора, а не один из них;
- ~ технологический журнал учета отходов классов Б и В (образец в приложении 1);
- ~ графики и журналы учета генеральных уборок;

- ~ договоры на вывоз отходов, стирку спецодежды, обслуживание вентиляции, используемого оборудования;
- ~ технические паспорта и инструкции на лабораторное оборудование, свидетельства о поверке измерительных приборов;
- ~ документы по учету, движению и хранению патогенных биологических агентов.

По каким причинам могут отказать в заключении. Эксперты могут отказать в выдаче заключения, если выявят в лаборатории нарушение соблюдения поточности при движении персонала, исследуемых материалов, содержащих возбудителей инфекций. Нередко отсутствуют должные условия для приема пищи и отдыха работников.

Частая причина несоответствия условий в лаборатории требованиям санитарного законодательства – отсутствие периодической проверки защитной эффективности автономных систем приточно-вытяжной вентиляции и боксов биологической безопасности, установка центрифуг на рабочих столах.

При выявлении недочетов заведующий лабораторией совместно с заинтересованными специалистами медорганизации должны принять меры по их устранению. После этого можно пригласить экспертов повторно.

Шаг 3. Направить документы в Роспотребнадзор, оформить заявление. Получив положительную оценку экспертов, необходимо подготовить документы, чтобы направить их в Роспотребнадзор. Точный перечень лучше уточнить заранее у специалистов Управления Роспотребнадзора в регионе или его территориальных отделов.

Во всех случаях для получения санитарно-эпидемиологического заключения необходимо оформить соответствующее заявление на официальном бланке учреждения с подписью руководителя. Необходимо указать исходящий номер и дату, полное наименование медучреждения в соответствии с уставом, организационно-правовую форму, юридический адрес, фактический адрес обособленных подразделений, в которых осуществляется лабораторная деятельность, виды выполняемых работ (пример – в приложении 2).

- Заведующий лабораторией готовит пояснительную записку, в которой подробно описывают условия работы, включая:
- ~ технологию и характер выполняемых операций, виды и объем проводимых исследований;
 - ~ используемое оборудование и аппаратуру;
 - ~ системы водоснабжения и канализования;
 - ~ систему вентиляции;
 - ~ виды используемых боксов биологической безопасности;
 - ~ наличие санпропускника, индивидуальных шкафов отдельно для личной и рабочей одежды персонала;
 - ~ данные о профессиональном образовании и специальной подготовке сотрудников;
 - ~ сведения о сроках вакцинации персонала, прохождении предварительных и периодических медосмотров, допуске к работе;
 - ~ порядок использования и обеззараживания средств индивидуальной защиты;
 - ~ наличие аварийных укладок и аптечек, средств для экстренной профилактики;
 - ~ используемые средства и оборудование для дезинфекции и стерилизации;
 - ~ порядок обращения с отходами;
 - ~ наличие в лаборатории запирающих устройств, охранной, световой и звуковой сигнализации, решеток на окнах.

Кроме того, руководителю лабораторной службы необходимо позаботиться о наличии планов подразделения с указанием площади и назначения помещений, размещения оборудования, схем движения персонала и материалов, содержащих патогенные биологические агенты (приложение 3). Дополнительно Роспотребнадзор может запросить графические схемы разводки систем вентиляции, отопления, канализации и водоснабжения.

Данные документы готовят совместно с инженерной службой медорганизации. Однако при наличии положительного заключения экспертов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» часть материалов может не понадобиться.

Для получения санитарно-эпидемиологического заключения в Роспотребнадзор необходимо предоставить акты комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности медицинской организации. Пример оформления акта в приложении 4.

После того как Роспотребнадзор получит все необходимые документы, осуществляется их оценка. Если условия биологической безопасности соблюдены, будет вынесено положительное решение. Санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с патогенными биологическими агентами III–IV групп патогенности выдается на срок до 5 лет. Документ утрачивает силу при изменении планировки или назначения помещений, передислокации лаборатории, изменении технологии работ. Действие санитарно-эпидемиологического заключения может быть приостановлено, если в ходе контрольных мероприятий в лаборатории будут выявлены несоответствия порядка выполнения работ требованиям действующего санитарного законодательства, до тех пор, пока нарушения не будут устранены.

Внимание

Для контроля за соблюдением мер биологической безопасности при работе с патогенными биологическими агентами в медицинской организации создается специальная комиссия. В ее состав, как правило, включают заведующего лабораторией, врача-эпидемиолога или его помощника, специалиста по охране труда. Состав, задачи комиссии и периодичность заседаний должны быть утверждены приказом главного врача. Заседания и решения комиссии необходимо активировать и протоколировать.

**Приложение 1. Технологический журнал учета отходов классов Б и В
в структурном подразделении**

Наименование структурного подразделения: клинико-диагностическая лаборатория

Дата	Вид и количество упаковок	Время сдачи на обеззараживание / временное хранение	Ф. И. О. ответственного лица	Подпись ответственного лица
05.10.2019	Пакеты с отходами класса Б – 5 шт.	16.30	Иванова Мария Николаевна	Иванова
	Контейнеры с отходами класса Б – 2 шт.			

**Приложение 2. Образец заявления о выдаче
санитарно-эпидемиологического заключения**

**БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
«ВОРОНЕЖСКАЯ ОБЛАСТНАЯ БОЛЬНИЦА № 3»
(БУЗ «Воронежская областная больница № 3»)**

123000, г. Воронеж, ул. Мира, 54

тел./факс: 55-47-22

Email: bolnitca3@mail.ru

БИК 038857676, ИНН 657306767395

КПП 684038001, ОКПО 740175659, ОКВЭД 85.11.1

___ 20.06.2020 ___ г. № ___ 16/765 ___

на _____ от _____

Руководителю Управления Роспотребнадзора
Воронежской области

Иванову Ивану Ивановичу

от главного врача

БУЗ «Воронежская областная больница № 3»

Петрова Петра Петровича

**Заявление о выдаче санитарно-эпидемиологического заключения
о соответствии санитарным правилам факторов среды обитания,
условий деятельности юридических лиц, индивидуальных
предпринимателей, а также используемых ими территорий, зданий,
строений, сооружений, помещений, оборудования, транспортных
средств**

Наименование юридического лица: Бюджетное учреждение здравоохранения «Воронежская областная больница № 11»

Адрес места нахождения юридического лица: 123000, г. Воронеж, ул. Мира, 54

Индивидуальный номер налогоплательщика (ИНН): 657306767395

Основной государственный регистрационный номер: 45382057576

Фактический адрес осуществления деятельности (выполнения работ, оказания услуг): 123000, г. Воронеж, ул. Мира, 56

Фамилия, имя, отчество, телефон, адрес электронной почты контактного лица: Уткина Любовь Андреевна, +7 (945) 564-96-93, utkinal@mail.ru (заведующая клинико-диагностической лабораторией)

Наименование вида деятельности (выполняемых работ, оказываемых услуг): работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности при выполнении клинических лабораторных исследований в рамках оказания медицинской помощи

К заявлению прилагаются следующие документы:

1. Пояснительная записка.

2. План-схема лаборатории.

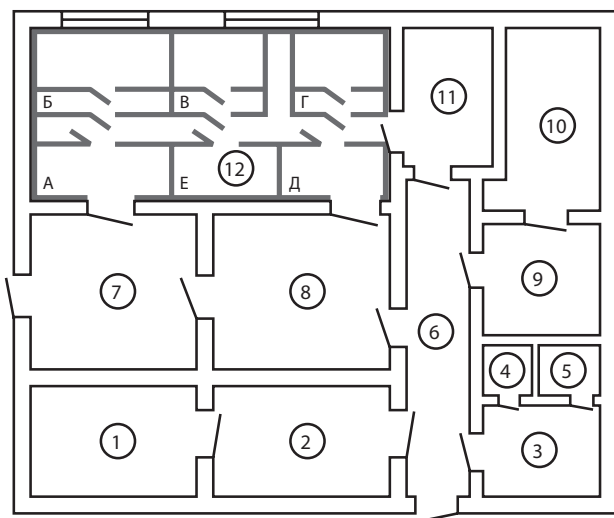
3. Акт комиссии по контролю соблюдения требований биологической безопасности БУЗ «Воронежская областная больница № 3»

Заявитель: Петров Петр Петрович, главный врач БУЗ «Воронежская областная больница № 3»

Подпись: Петров Печать

Заявление принято « ____ » _____ 20__ г., зарегистрировано в журнале под № _____ (подпись, фамилия, имя, отчество, должность сотрудника, принявшего заявление)

Приложение 3. Пример схемы помещений клинико-диагностической лаборатории



- Условные обозначения:
- 1 – кабинет заведующего (10 м²)
 - 2 – комната отдыха персонала (12 м²)
 - 3 – гардероб (6 м²)
 - 4 – туалет (1,25 м²)
 - 5 – душевая (2 м²)
 - 6 – коридор (3,5 м²)
 - 7 – холл (13 м²)
 - 8 – кабинет забора анализов (15 м²)
 - 9 – склад (6,5 м²)
 - 10 – склад (7 м²)
 - 11 – помещение для обеззараживания отходов
 - 12А – зона приема, регистрации и первичной обработки материала (4 м²)
 - 12Б – аналитическая комната № 1 (4,25 м²)
 - 12В – аналитическая комната № 2 (3 м²)
 - 12Г – зона детекции результатов (3 м²)
 - 12Д – зона дезинфекции (3 м²)

Приложение 4. Акт проверки выполнения требований биологической безопасности

Дата 15.06.2020

Наименование учреждения: БУЗ «Воронежская областная больница № 11»

Адрес, телефон: 123000, г. Воронеж, ул. Мира, 54, тел./факс: 55-47-22

Наименование лаборатории: клинико-диагностическая лаборатория

Состав комиссии: заведующая клинико-диагностической лабораторией Мариничева О.П., врач-эпидемиолог Трухалева Н.Г., инженер по охране труда Попова У.М.

Проведена проверка соблюдения требований правил биологической безопасности.

УСТАНОВЛЕНО:

1. Общие данные:

Наличие санитарно-эпидемиологического заключения: отсутствует

Перечень патогенных биологических агентов, с которыми работает лаборатория: микроскопические и серологические исследования на наличие сифилиса, гонореи, вирусных гепатитов В и С, ВИЧ-инфекции, паразитологические исследования на наличие лямблиоза, энтеробиоза, аскаридоза. ПБА: Neisseria gonorrhoeae, Treponema pallidum,

Hepadnaviridae (HbsAg), Flaviviridae (HCV), Lambliа intestinalis, Enterobius vermicularis, Ascaris lumbricoides

Лаборатория располагается в (принадлежность и характеристика здания, этаж): в изолированной части здания на 1-м этаже

Площадь лабораторий общая: 365,1 кв. м, полезная: 230,5 кв. м

Водопровод: имеется, горячее водоснабжение: имеется

Канализация: имеется

Отопление: централизованное

Вентиляция: естественная, принудительная (вытяжная)

Газификации: имеется

Наличие охранной и пожарной сигнализации, сторожевой охраны, ограждения, решеток на окнах: имеются

Число исследований (по каждому виду) в год: биохимические исследования – 10 500; серологические исследования – 8700; микроскопические исследования – 5600; паразитологические исследования – 4050

2. Помещения лаборатории

Зонирование помещений по степени опасности для персонала: помещения лаборатории разделены на «чистую» и «заразную» зоны

Набор помещений:

«заразная» зона: 4 аналитических комнаты, 2 бокса с предбоксами, автоклавная

«чистая» зона: гардероб, душевая, туалет, комната отдыха для персонала, кабинеты врачей, кабинет заведующей, средоварочная, моечная, препараторская, стерилизационная

Наличие санпропускника (набор помещений, их оборудование): нет

Наличие душа санитарного типа: нет

Соблюдение поточности движения (да, нет) персонала: да; ПБА: да, отходов: да

Аппаратурное оформление помещений (предназначение помещения, его оформление): соответствует функциональному назначению помещений

Наличие боксов биологической безопасности, укрытия для центрифуг и т. п.: 1 бокс биологической безопасности 2-го класса, 2 боксированных помещения

3. Технология проведения исследований

Методы исследований, применяемые в лаборатории, технологическая последовательность операций: биохимический, серологический и паразитологический методы

Лабораторные животные, используемые в работе: не используются

Место проведения работ, связанных с риском образования аэрозоля (центрифугирование, гомогенизация, измельчение тканей, шуттелирование и т. п): центрифугирование проводится в боксе биологической безопасности

Условия хранения ПБА на этапах проведения исследования: на этапах исследования ПБА хранятся в закрытых шкафах и на рабочих столах в аналитических «заразной» зоны

Соответствие оборудования рабочих мест характеру работ с учетом технологической последовательности манипуляций с ПБА и требований СП по безопасной работе с ПБА: соответствует

Защитная одежда, применяемая в «заразной» зоне: медицинские халаты, пижамы, медицинская обувь, перчатки, маски

Обеспеченность рабочей и защитной одеждой, соблюдение порядка ее использования: персонал обеспечен спецодеждой в полном объеме, смена рабочей одежды производится 1 раз в неделю. Стирка производится в специализированной прачечной по договору, спецодежда предварительно обеззараживается

Установлена ли система водоснабжения в помещениях «заразной» зоны (да, нет): да

Наличие фильтров тонкой очистки на вытяжной вентиляции из помещения «заразной» зоны: фильтры тонкой очистки отсутствуют

Имеется ли рециркуляция воздуха из бокса (включая боксы биологической безопасности) в помещениях: нет

Кто готовит к работе помещения, аппаратуру, боксы биологической безопасности: лаборанты

Наличие коллекции штаммов микроорганизмов (да, нет): нет

Ее предназначение (государственная, рабочая, авторская): –

Количество штаммов в коллекции (по группам патогенности): –

Наличие ответственного лица за хранение коллекции (Ф. И. О., кем назначен, дата и № приказа): –

Назначение коллекции (выполнение НИР, апробация новых методов исследования, подготовка кадров, контроль диагностических препаратов, без определенного назначения и т. п.): –

Коллекционные штаммы хранятся: –

Ведение учетной документации (наличие журналов по утвержденным формам, замечания по их ведению): документация ведется, замечаний нет

Имеются ли случаи нарушения правил хранения и передачи ПБА (да, нет):
нет

4. Вопросы обеззараживания и контроля обеззараживания:

Система обеззараживания ПБА: обеззараживание рабочими растворами хлорсодержащих дезсредств, автоклавирование (132°, 90 минут)

Контроль эффективности фильтров тонкой очистки (приложить последний акт): нет

Обеспеченность лаборатории бактерицидными лампами, сроки их замены: все помещения «заразной» зоны оснащены бактерицидными лампами, замена осуществляется через 8000 часов работы или при выходе из строя

Обеспеченность дезсредствами, контроль их активности и правильность использования: лаборатория обеспечена дезсредствами в полном объеме, контроль концентрации осуществляется 1 раз в рабочую смену при помощи индикаторных полосок

Перечень дезсредств, применяемых при различных видах работ: 0,1% раствор «Дезинф-хлор» для профилактической дезинфекции, генеральных уборок, обеззараживания медицинских отходов, в том числе содержащих ПБА, «Вирибак» для обеззараживания рабочих поверхностей

Контроль работы паровых и воздушных стерилизаторов (физические и химические тесты, бактериологический контроль), периодичность, наличие журналов: химические тест-индикаторы используются при каждой загрузке, термический контроль – 2 раза в месяц, постановка биотестов – 2 раза в год, регистрируются в журналах ф. № 257/у

Используемые режимы обеззараживания соответствуют требованиям СП по безопасности работы с микроорганизмами соответствующей группы патогенности (да, нет): да

Технологические процессы при влажной уборке помещений, обеззараживании ПБА, деконтаминации оборудования, рабочих поверхностей в помещениях (нарушения требований СП имеются, отсутствуют): соответствуют требованиям СП 1.3.2322-08, нарушения отсутствуют

5. Сведения о персонале:

Штатное расписание:

Врачей 3, из них занято 3, физических лиц 3

Лаборантов 5, из них занято 5, физических лиц 5

Санитарок 3, из них занято 3, физических лиц 3

Наличие профилактических прививок сотрудников: вакцинация проводится согласно национальному календарю профилактических прививок

Прохождение диспансеризации: 1 раз в год

Контроль соблюдения требований биологической безопасности:

Объектовая комиссия по соблюдению требований биологической безопасности создана, приказ от 20.01.2019 № 18

Комиссия проводит проверку режима 2 раза в год, акты проверки (имеются, нет): имеются

Качество проверки: удовлетворительное

Нормативно-методические документы по вопросам биологической безопасности имеются в виде: доступна электронная правовая система «Консультант плюс», имеется копия СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

Аварии при работе с ПБА: не зарегистрированы

Наличие средств ликвидации аварий: в наличии

Наличие аптечки экстренной профилактики: в наличии

Выводы (заключение) комиссии: требования биологической безопасности выполняются в соответствии с СП 1.3.2322-08

Предложения: устранить дефекты отделки стен в аналитической комнате № 1 в срок до 01.07.2020. Оборудовать автономными системами precisely-вытяжной вентиляции с фильтрами тонкой очистки на выходе все аналитические комнаты и боксированные помещения, предусмотреть контроль замены фильтров, оценку эффективности в срок до 01.09.2020

Подписи: Мариничева О.П., Трухалева Н.Г., Попова У.М.

Требования к лабораториям, выполняющим ПЦР-исследования

Чтобы проводить ПЦР-исследования для обнаружения нового коронавируса, лаборатория, помимо наличия лицензии на выполнение работ по клинической лабораторной диагностике или бактериологии и санитарно-эпидемиологического заключения на работу с возбудителями инфекционных болезней человека III–IV групп патогенности, должна соблюдать требования МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности». Расскажем, какие еще требования должна выполнить лаборатория, чтобы проводить ПЦР-тестирование.



Ирина Алексеевна Лебедева,
заведующая КДЛ БУЗ ВО «Вологодский
противотуберкулезный диспансер»

Требования к планировке. ПЦР-исследования лучше проводить в лаборатории, размещенной в отдельно стоящем здании или изолированной его части. Если такая возможность отсутствует, тогда можно оборудовать специальный блок на базе действующей лаборатории при условии организации в ней самостоятельных рабочих зон, соответствующих этапам проведения исследований, поточности движения персонала и материалов, содержащих патогенные биологические агенты.

Помещения, в которых выполняется ПЦР-диагностика, должны быть разделены на боксы, промаркированы и пронумерованы соответствующим образом. В соответствии с этапами выполнения ПЦР-диагностики необходимо выделить следующий набор помещений или рабочих зон:

Рабочая зона 1. Здесь проводится прием материала, его маркировка и регистрация, первичная подготовка, объединение или разделение проб на аликвоты, хранение проб, обеззараживание остатков исследуемого материала. Здесь же допускаются также прием, регистрация, разбор и первичная обработки материала, исследуемого при помощи других методов лабораторной диагностики, например, бактериологических, вирусологических, иммунологических.

Рабочая зона 2. Необходима для выделения и очистки нуклеиновых кислот микроорганизмов.

Рабочая зона 3. Служит для приготовления реакционных смесей, проведения обратной транскрипции, амплификации нуклеиновых кислот и учета результатов амплификации при использовании гибридационно-флуоресцентного метода детекции. Рабочую зону 3 рекомендуется поделить на две подзоны – 3а и 3б, которые размещают в отдельных помещениях. В первой подзоне готовят реакционные смеси и проводят обратную транскрипцию, во второй – остальные перечисленные выше манипуляции.

Рабочая зона 4-1. Предназначена для учета результатов продуктов амплификации нуклеиновых кислот методом электрофореза или гибридационно-ферментным методом детекции, а также очистки продуктов амплификации для секвенирования.

Внимание

При дефиците площадей рабочие зоны 2 и 3 допускается располагать в одном помещении, но при условии использования отдельных боксов биологической безопасности II или III классов.

Рабочая зона 4-2. Необходима для детекции продуктов амплификации нуклеиновых кислот методом секвенирования или на ДНК-чипах.

При использовании различных методов учета результатов продуктов амплификации нуклеиновых кислот внутри рабочих зон 4-1 и 4-2 выделяют отдельные подзоны или отдельные боксированные помещения для каждого типа детекции. Объединение рабочих зон 4-1 и 4-2 строго запрещено. Рабочие зоны 4-1 и 4-2 должны быть изолированы от остальных помещений «заразной» зоны для предотвращения контаминации продуктами амплификации через воздушный поток.

В «заразной» зоне должна быть предусмотрена автоклавная, оснащенная необходимым оборудованием для обеззараживания исследуемого материала. Она может быть общей с подразделениями лаборатории, выполняющими иные виды исследований, при условии соблюдения требований биологической безопасности. В составе самостоятельной ПЦР-лаборатории, помимо рабочих зон, необходимо выделить «чистую» зону, куда могут быть включены комнаты отдыха и приема пищи для персонала, ординаторские, кабинет заведующего, раздевалки для сотрудников, туалет, душевая, складские помещения.

Требования к отделке и оборудованию. Пол и стены в помещениях ПЦР-лаборатории облицовывают кафелем. Потолок, а при необходимости и стены, красят, используя материалы, не изменяющие своих свойств при обработке моющими и дезинфицирующими средствами. Все внутренние поверхности, лабораторная мебель и оборудование должны быть гладкими, не иметь трещин или щелей, устойчивыми к ультрафиолетовому излучению, влажной уборке и обработке дезинфектантами.

Важно

Для передачи исследуемого материала в рабочие зоны 1, 2 и 3 желательно предусмотреть шлюзовые передаточные окна, а в рабочие зоны 4-1 и 4-2 – передаточные окна без шлюзовой системы.

Окна должны иметь надежные запирающие устройства. Допускается использование светозащитных пленок из материалов, устойчивых к дезинфектантам. Установка жалюзи запрещена из-за адсорбции ими пыли.

Все рабочие помещения должны иметь водопровод, канализацию, электричество и отопление, естественное и искусственное освещение, приточно-вытяжную вентиляцию, а также иметь средства пожаротушения. В рабочей зоне 3 объем приточного воздуха должен соответствовать объему на вытяжке, а в рабочих зонах 1 и 2 вытяжка должна преобладать над притоком. Зоны 4-1 и 4-2 целесообразно оснастить автономной системой приточно-вытяжной вентиляции, при этом вытяжка должна преобладать над притоком. В помещениях рабочих зон можно устанавливать кондиционеры, но при условии их выключения на время проведения работ с использованием методов амплификации нуклеиновых кислот и последующей дезинфекции рабочих мест, ежемесячной дезинфекции и замены фильтров. В «заразной» зоне следует предусмотреть наличие ультрафиолетовых бактерицидных облучателей.

Каждая самостоятельная рабочая зона должна быть оснащена необходимым набором соответствующего лабораторного оборудования, которое выбирают с учетом используемых методов диагностики, в том числе боксами биологической безопасности. При подключении амплификационного оборудования рекомендуется использовать источники бесперебойного питания.

Комплекты мебели, пластиковой и стеклянной посуды, расходных материалов, защитной одежды и уборочного инвентаря запрещено переносить из одной зоны в другую. Чтобы соблюсти требования санитарных правил, на них наносят маркировку с указанием принадлежности к тому или иному помещению.

Важно

Если зона 3 разделена на подзоны, то в зоне 3 б вытяжка должна преобладать над притоком.

Используемое в работе оборудование должно быть зарегистрировано в установленном порядке, иметь технический паспорт и рабочую инструкцию по эксплуатации на русском языке, соответствовать нормам безопасности и электромагнитной совместимости. Не реже 1 раза в год проверяют все измерительные приборы.

Безопасные условия выполнения работ. Транспортировку материала, подлежащего исследованию, осуществляют в плотно закрывающихся контейнерах или сумках-холодильниках, выдерживающих дезинфекционную обработку. На дно контейнера укладывают адсорбирующий материал, например, марлю или вату, смоченную дезинфицирующим раствором. В зависимости от вида исследуемого материала, используемой транспортной среды и температурного режима сроки хранения и транспортировки материала могут значительно варьироваться.

При проведении ПЦР-исследований должна строго соблюдаться поточность движения исследуемого материала, проб нуклеиновых кислот, продуктов амплификации. После регистрации, разбора и первичной обработки поступающий на исследование материал подлежит обязательному обеззараживанию в рабочей зоне 1. Его передача в рабочую зону 2 возможна только в закрытых маркированных одноразовых микроцентрифужных пробирках объемом 1,5–2,0 мл. Перенос проб из одной зоны в другую, а также их хранение рекомендуется осуществлять в плотно закрывающихся металлических или пластмассовых контейнерах с их последующей обработкой регламентированными дезинфицирующими средствами после каждого использования.

В рабочих зонах 1 и 2 все манипуляции с материалами, которые могут содержать патогенные биологические агенты, включая процедуры с риском образования аэрозолей,

Важно

Холодильное оборудование должно быть оснащено термометрами и термоиндикаторами либо терморегистраторами.

выполняют в боксах биологической безопасности II или III классов. В зонах 3, 4-1 и 4-2 используют боксы биологической безопасности II и I классов защиты либо ПЦР-боксы. При работе с материалом, содержащим микроорганизмы III–IV групп патогенности, этапы анализа, выполняемые в рабочих зонах 4-1 и 4-2, проводят на лабораторных столах.

По завершении каждой манипуляции на этапах исследования необходимо сменить наконечники для автоматических пипеток. Расходные материалы и наборы реагентов должны в строгости соответствовать имеющемуся лабораторному оборудованию.

После окончания работ все материалы, которые могут содержать патогенные биологические агенты, помещают на хранение в холодильное или морозильное оборудование на время проведения исследований. Условия хранения наборов реагентов и образцов проб должны соответствовать инструкциям по применению. Образцы проб, содержащих нуклеиновые кислоты или ампликоны, хранят в разных холодильниках с реагентами.

Дезинфекционные мероприятия. Перед тем как приступить к выполнению работ, поверхности столов, биологических боксов и оборудования обрабатывают 70% этиловым спиртом. После завершения работ поверхности также подвергают дезинфекции.

Воздух в «заразной» зоне обеззараживают при помощи ультрафиолетовых бактерицидных облучателей в соответствии с утвержденным графиком. Ежедневно в конце рабочего дня проводят влажную уборку с использованием разрешенных к применению дезинфекционных средств. Генеральную уборку в боксированных помещениях выполняют не реже 1 раза в неделю. Каждая рабочая зона лаборатории должна быть обеспечена промаркированным набором

Важно

Выполнение работ в зонах 4-1 и 4-2 должно осуществляться отдельным персоналом, не задействованным на других этапах ПЦР-исследований.

уборочного инвентаря, который используется строго по назначению.

Остатки материала, который может содержать патогенные биологические агенты, использованную лабораторную посуду подвергают автоклавированию. Не допускается слив необеззараженных жидкостей в канализационную сеть. Внутрелабораторный контроль качества дезинфекции и деcontаминации ампликонов проводят путем исследования смывов с поверхностей оборудования и помещений.

Требования к персоналу и охране труда. ПЦР-исследования осуществляют специалисты с высшим и средним медицинским или биологическим образованием, прошедшие обучение на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики. При приеме на работу, а затем ежегодно специалистов направляют на медицинский осмотр с целью выявить противопоказания с учетом специфики трудовой деятельности и ранней диагностики профессиональной патологии. Допуск персонала к работам осуществляется на основании приказа руководителя медицинской организации. Не могут привлекаться к выполнению исследований лица, имеющие медицинские противопоказания к вакцинации, лечению специфическими препаратами, использованию средств индивидуальной защиты. Все сотрудники должны быть привиты в соответствии с календарем профилактических прививок и календарем прививок по эпидемическим показаниям.

При приеме на работу, а затем не реже двух раз в год сотрудники ПЦР-лабораторий проходят инструктаж по соблюдению требований биологической безопасности и охраны труда. Один раз в год осуществляется проверка знаний по охране труда. При изменении характера технологических процессов проводят внеплановый и целевой инструктажи.

Внимание

Выбор типа защитного костюма определяется видом возбудителя, рабочей зоной, оснащением ее боксами биологической безопасности.

Каждая рабочая зона обеспечивается необходимым количеством комплектов спецодежды, включающих комбинезоны или пижамы, медицинские халаты, медицинскую обувь, шапочки, одноразовые медицинские перчатки, маски или респираторы. При работе в помещении детекции продуктов амплификации дополнительно надевают одноразовые бахилы. Предпочтительно использовать одноразовую спецодежду. Средства индивидуальной защиты одевают или снимают в предбоксах, в каждом из которых должен быть отдельный комплект защитной одежды и обуви.

На случай аварийных ситуаций в лаборатории должен быть разработан план ликвидации аварии и сформирован запас дезинфицирующих средств. Кроме того, в специально отведенном месте хранят аварийную аптечку, гидропульт, комплекты рабочей одежды для переодевания пострадавших и защитной одежды для сотрудников, ликвидирующих последствия аварии. Ответственный за комплектование аптечки и аварийной укладки – заведующий лабораторией.

Лабораторная диагностика COVID-19: как повысить качество исследований

Светлана Вячеславовна Кулешова

заведующая КДЛ ФГБУ «Поликлиника № 2» Управления делами
Президента РФ, ассистент кафедры клинической лабораторной
диагностики ФДПО РНИМУ им. Н.И. Пирогова

В перечне диагностических подходов каждой страны, столкнувшейся с новой коронавирусной инфекцией, есть лабораторное подтверждение присутствия вируса в биоматериале пациента. Поскольку «золотым стандартом» для этиологической диагностики COVID-19 является обнаружение РНК вируса методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией в реальном времени (rRT-PCR) в биологическом материале верхних дыхательных путей, качество таких исследований должно рассматриваться как важнейшее условие диагностики.

Лаборатории многих стран мира сталкиваются с одинаковыми проблемами в ходе проведения исследования. Нельзя забывать о напряженных условиях работы, загруженности подразделений и о постоянно обновляющихся сведениях об особенностях вируса. Потенциально возможные ошибки можно традиционно разделить на ошибки преаналитического, аналитического и постаналитического этапов. Минимизировать недочеты на всех трех этапах одновременно сложно, но повлиять на некоторые звенья в этой цепочке – в наших силах.

Проблемы преаналитического этапа

К трудностям преаналитического этапа следует отнести необходимость правильного выполнения процедуры сбора

и маркировки образцов биологического материала, их обработки, транспортировки и хранения, а также тестирование пациентов, получающих антиретровирусную терапию. Все эти обстоятельства влияют на результаты исследования [8].

Выбор биологического материала для исследования. Анализ зарубежных данных показывает, что чувствительность исследования при выявлении РНК вируса в мазках из носоглотки/ротоглотки различно [9]. Отмечены случаи выявления вируса в третьем образце после двух отрицательных в предыдущих исследованиях [7].

Согласно проведенным исследованиям, процент выявления вируса в различных биологических материалах различен [10]. При сходных клинических проявлениях заболевания в более 90% случаев положительный результат выявления РНК получали в образцах бронхоальвеолярной жидкости (БАЛ). На втором месте по выявляемости вируса – образцы мокроты, а за ними следуют мазки из носоглотки.

Случаи, когда исследования для обнаружения вируса в мазках из носоглотки/ротоглотки, одномоментно взятых у пациента, дают и положительные, и отрицательные результаты – проблема не только отечественных лабораторий. Если в паре таких взятых одновременно мазков получены противоположные результаты, чаще вирус обнаруживается в мазках из носоглотки. Причины этого дискутабельны. В качестве одной из версий рассматривают более низкую концентрацию вируса в таком образце. Именно поэтому в «Методических рекомендациях “Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 7 (03.06.2020)”» (далее – 7-е Рекомендации) есть указание на помещение образцов биоматериала обеих локализа-

Внимание

При сопоставлении результатов лабораторных исследований или анализе их расхождений необходимо учитывать данные пациента (клинические проявления, результаты компьютерной томографии), биоматериал, используемый для исследования, а также особенности наборов, с помощью которых выполнялся тест.

ций в одну пробирку: «Для повышения концентрации вируса носоглоточные и орофарингеальные мазки должны быть помещены в одну пробирку».

Ошибки при подготовке к процедуре сбора образцов. Важно уведомить пациентов о правилах подготовки к исследованию. Сбор материала для культуральных исследований и микроскопии необходимо проводить до назначения специфической противомикробной терапии. Материал берут натощак или через 3–4 часа после еды. Перед исследованием пациенту не рекомендуется пить, чистить зубы, полоскать ротовую полость, курить [6]. Но на практике пациенты часто не осведомлены о таких важных требованиях. Как следствие – ложноотрицательные результаты обнаружения РНК вируса. Исключить подобные ошибки помогут памятки для пациентов (образец в приложении).

Ошибки в ходе процедуры сбора образцов. Забор проб биологического материала для выявления РНК нового коронавируса (SARS-CoV-2) должен производиться в определенном объеме и последовательности (правила опубликованы на сайте Департамента здравоохранения Москвы https://mosgorzdrav.ru/uploads/imperavi/ru-RU/pravila_zabora_prob_covid19.pdf):

- 1) Мазки берут сухими стерильными зондами.
- 2) Зонд вводят легким движением ПО НАРУЖНОЙ СТЕНКЕ полости носа на глубину 2–3 см до нижней носовой раковины.
- 3) Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину и удаляют вдоль НАРУЖНОЙ СТЕНКИ полости носа, производя вращательные движения (3–4 см у детей и 5–6 см у взрослых).
- 4) Конец зонда отламывают с расчетом, чтобы он позволил плотно закрыть крышку пробирки.
- 5) Пробирку с раствором и рабочей частью зонда закрывают. Нельзя обрезать зонды ножницами.

Время сбора биоматериала. Концентрация вируса в организме меняется в зависимости от времени, прошедшего после появления первых симптомов у пациента, следовательно,

диагностическая чувствительность выявления РНК вируса методом ПЦР зависит от времени взятия образца на исследование. По данным, озвученным 29.05.2020 года на вебинаре Федерации лабораторной медицины, посвященном проблемам диагностики новой коронавирусной инфекции, в период с 1-го по 7-й день после появления симптомов диагностическая чувствительность исследования составляет 66,7%, с 8-го по 14-й – 54%, с 15-го по 39-й – 45,5%.

Качество расходных материалов. Известно, что для проведения ПЦР-диагностики выделения нуклеиновых кислот необходимы специализированный сертифицированный пластик, расходные материалы (пластик), свободные от РНКаз и ДНКаз [2]. Поскольку такие изделия преимущественно поставляются из-за рубежа, отечественные лаборатории в настоящее время могут испытывают дефицит таких материалов. Это проблема также была озвучена на вебинаре Федерации лабораторной медицины, посвященном проблемам диагностики новой коронавирусной инфекции.

Сбор биоматериала из носоглотки должен производиться с помощью специализированного зонда с мягкой частью, которого в РФ сегодня практически нет. Используются негнущиеся уретральные зонды, которые создают дискомфорт для пациента и в конечном итоге влияют на качество сбора материала. Важно также использовать ворсистый зонд, который забирает больше материала и легко отдает его в транспортную среду.

Транспортировка и хранение образцов биоматериала

К причинам, которые могут повлиять на результат исследования, однозначно относится и качество транспортной

Внимание

Два или более образца одного пациента могут быть упакованы в один пластиковый пакет. Запрещается собирать образцы биологического материала разных пациентов в одну упаковку.

среды, а точнее – сроки и температурный режим транспортировки и хранения биоматериала в транспортном растворе. Наборы разных производителей рекомендуют различные варианты температурных режимов для хранения и транспортировки образцов, предлагают различные объемы контейнера для сбора образцов и объема транспортной среды в них. Перед взятием образцов необходимо согласовать состав транспортной среды и сроки доставки образцов с лабораторией, в которой предполагается выполнение исследований.

Транспортировка и хранение образцов биоматериала должны осуществляться с соблюдением требований СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности», которые закреплены в 7-х Рекомендациях (см. таблицу 1). Это правило часто нарушается, образцы перевозят при комнатной температуре или температуре окружающей среды.

Таблица 1

Сбор, хранение и транспортировка биологического материала

Материал для исследования	Контейнер для упаковки	Температура для транспортировки	Время хранения образцов для исследования
Носоглоточные и орофарингеальные мазки	Стерильная пластиковая пробирка с транспортной средой (с учетом рекомендаций производителя применяемых тест-систем / наборов реагентов)	+2 – +8 °С	Не более 48 часов при +2 – +8 °С. При хранении в транспортной среде, содержащей противогрибковые и антибактериальные препараты, более – при -20 °С или -70 °С
Мокрота	Одноразовый стерильный пластиковый контейнер объемом 30–50 мл, герметично закрывающийся завинчивающейся пробкой. Диаметр горлышка контейнера должен быть не менее 30 мм	+2 – +8 °С	Не более 48 часов при +2 – +8 °С. При хранении в транспортной среде, содержащей противогрибковые и антибактериальные препараты, более – при -20 °С или -70 °С
Эндотрахеальный аспират, аспират носоглотки или смыв из носа	Стерильный одноразовый контейнер	+2 – +8 °С	Не более 48 часов при +2 – +8 °С, более – при -20 °С или -70 °С
Бронхоальвеолярная лаважная жидкость	Стерильный одноразовый контейнер	+2 – +8 °С	Не более 48 часов при +2 – +8 °С, более – при -20 °С или -70 °С

Учитывая, что этиологическая диагностика вируса проводится не в каждом медицинском учреждении, напоминаем требования к направлению на исследование для этиологической диагностики COVID-19: оно оформляется в электронном виде (через систему удаленной электронной регистрации или в виде электронного заказа в программе МИС врачом-клиницистом) или на бумажном носителе (7-е Рекомендации). Направление на исследование для этиологической диагностики COVID-19 должно содержать:

- ~ персональные данные пациента, обеспечивающие его однозначную идентификацию;
- ~ наименование направившего биоматериал отделения (организации);
- ~ предварительный диагноз заболевания: «пневмония» или «ОРВИ» или «обследование контактировавших лиц на COVID-19»;
- ~ указание вида биологического материала;
- ~ дата и время назначения лабораторного исследования;
- ~ дата и время взятия материала;
- ~ Ф. И. О. и должности врача либо другого уполномоченного представителя, назначившего лабораторное исследование;
- ~ Ф. И. О. медицинского работника, осуществившего взятие биоматериала.

При направлении образцов биологического материала для исследования в лабораторию другой медицинской организации помимо сведений, перечисленных выше, должно быть указано наименование ЛПУ, в которое должен поступить материал.

Проблемы аналитического этапа

Организация исследования. Понимая ответственность и важность диагностики в условиях пандемии, лаборатория не должна пренебрегать правилами планировки помещений и организации работы в ПЦР-отделении согласно норматив-

Внимание

Если контрольные образцы не входят в состав используемого набора реагентов, необходимо использовать совместимые контроли (наборы реагентов для контроля эффективности выделения нуклеиновых кислот и отсутствия ингибиторов ПЦР).

ным документам [2]. Это важно и с точки зрения безопасности персонала, и с точки зрения достоверности исследований.

Исследование материала, содержащего (подозрительного на содержание) микроорганизмы I–IV групп патогенности, МАНК осуществляют специалисты с высшим или средним медицинским или биологическим (ветеринарным) образованием, прошедшие подготовку на лицензированных курсах первичной специализации по работе с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности) (только при работе с данными микроорганизмами) или с микроорганизмами III–IV групп патогенности, получившие дополнительное специальное образование на курсах повышения квалификации по молекулярно-биологическим методам диагностики. Допуск персонала к работе в лаборатории осуществляется в порядке, регламентированном действующими санитарными правилами проведения работ с микроорганизмами I–IV групп патогенности. Наборы реагентов и оборудования должны иметь все необходимые разрешительные документы [2].

Желательно организовать автоматизацию ключевых процессов – автоматическое выделение нуклеиновых кислот предпочтительнее ручного. Такой формат работы важен для обеспечения безопасности сотрудников и позволяет избежать перекрестной контаминации.

Применение контрольных образцов. К неправильному (ложноположительному или ложноотрицательному) результату на аналитическом этапе исследования могут привести перекрестная контаминация и разрушение РНК. В процессе выделения нуклеиновых кислот контаминация может иметь место между реагентами, используемыми при выделении НК, и реагентами зоны выделения. От ошибок на данном этапе страшает применение контрольных образцов: внутренний, положительный и отрицательный. Применение контрольных образцов обязательно, однако, к сожалению, не все диагностические наборы укомплектованы ими.

Внимание

Необходимо проводить валидацию каждой серии, используя контрольные образцы.

Особенности постаналитического этапа исследований

Результаты ПЦР-исследования должны считаться достоверными, если получены правильные результаты для всех контрольных образцов на каждом этапе выделения РНК и на этапе амплификации (табл. 2) [3].

Таблица 2

Интерпретация результатов исследования [3]

Результат ПЦР	Искомая НК	ВК	Интерпретация
<i>Анализируемые образцы</i>			
+	✓	-	Обнаружена искомая НК (корректный результат)
	✓	✓	
-	-	✓	Не обнаружена искомая НК (корректный результат)
НД	-	-	Недостоверный результат
<i>Положительный контрольный образец (ПКО)</i>			
+	✓	-	Обнаружен ПКО (корректный результат)
	✓	✓	
-	-	✓	Не обнаружен ПКО (некорректный результат, требует проверки)
НД	-	-	Недостоверный результат
<i>Отрицательный контрольный образец (ОКО)</i>			
+	✓	-	Некорректный результат, требует проверки (контаминация?)
	✓	✓	
-	-	✓	Отрицательный результат (корректный результат)
НД	-	-	Недостоверный результат

Обязательное условие: при получении невалидного результата повторное исследование следует начать с этапа выделения РНК. При выдаче результата следует учитывать характеристики набора реагентов, указанные в инструкции (минимально определяемая концентрация, формат представления результатов и др.).

Внимание

При получении положительного или сомнительного результата на выявления РНК SARS-CoV-2 необходимо проинформировать ближайший территориальный орган Роспотребнадзора и в течение двух часов передать биоматериал в Центр гигиены и эпидемиологии в субъекте РФ [1].

Несомненно, опыт работы лабораторного сообщества по диагностике COVID-19 со временем будет реализован в формате клинических рекомендаций и стандарте оказания медицинской помощи. Отдельные лаборатории, используя собственный опыт, разработают СОПы. В настоящее время необходимо внимательно изучать и применять в ежедневной работе обновления нормативной базы, отслеживать и фиксировать сложности, возникающие в процессе исследований, что обязательно поможет достойно справиться с проблемой лабораторной диагностики COVID-19, неожиданно возникшей перед лабораториями всего мира.

Список использованной литературы

1. Методические рекомендации МР 3.1.0169-20 «Лабораторная диагностика COVID-19» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 30.03.2020 г.).
2. МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности».
3. Основы полимеразной цепной реакции. Методическое пособие. М.: ООО «ДНК-Технология», 2012. – 144 с.
4. СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)».
5. СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных заболеваний».
6. Справочник «Лабораторная диагностика инфекционных болезней» / Под ред. В.И. Покровского, М.Г. Твороговой, Г.А. Шипулина. – М., Издательство «БИНОМ», 2013. – С. 263.
7. Ai Tang Xiaoa, Yi XinTong, Chun Gao, Li Zhu, Sheng Zhang. Dynamic profile of RT-PCR findings from 301 COVID-19 patients in Wuhan, China. A descriptive study// Journal of Clinical Virology.127:104346 April 2020
8. Lippi G., Simundic A., & Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) // Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM) (published online ahead of print), 2020:0285.
9. Li Y., Yao L., Li J. et al. Stability issues of RT-PCR testing of SARS-CoV-2 for hospitalized patients clinically diagnosed with COVID-19 // Journal of Medical Virology. March 2020.
10. WenlingWang, Yanli Xu, Ruqin Gao, Roujian Lu, Kai Han, GuizhenWu, Wenjie Tan Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens JAM Volume 323, Number 18.

ПАМЯТКА

для пациента «Как подготовиться к исследованию на коронавирусную инфекцию»

Прием пациентов для проведения анализов на коронавирусную инфекцию осуществляется только по предварительной записи ежедневно. Возможен также забор материала на дому.

Перед забором мазков необходимо будет заполнить анкету и пройти контрольную термометрию.

Рекомендации по подготовке:

- 1 Сдачу анализов лучше всего проводить утром натощак.
- 2 Если сдача анализов утром натощак невозможна, за 3–4 часа до взятия мазков из ротоглотки (зева) не употребляйте пищу, не пейте, не чистите зубы, не полощите рот/горло, откажитесь от жевательной резинки и курения.
- 3 За 3–4 часа до взятия мазков из носа не закапывайте капли/спреи и не промывайте нос.

Внимание!

- Прием антибактериальных препаратов может повлиять на точность исследования!
- Наше тестирование отражает состояние пациента НА МОМЕНТ взятия биоматериала.

По всем вопросам обращайтесь, пожалуйста, в регистратуру по телефону _____

Как организовать тестирование для выявления возбудителей COVID-19, чтобы уложиться в 48 часов

Елена Валерьевна Тиванова

руководитель направления лабораторной медицины
и продвижения лабораторных услуг ФБУН ЦНИИ эпидемиологии
Роспотребнадзора

Роспотребнадзор ограничил максимальный срок выполнения теста SARS-CoV-2 – с момента получения биологического материала до объявления результатов тестирования должно пройти не более двух суток. По нашей просьбе руководитель направления лабораторной медицины ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора поделилась опытом, как оптимизировать процесс тестирования, чтобы уложиться в 48 часов.*

Мы живем в условиях пандемии уже почти год. Началось все внезапно – о том, что нам необходимо начать тестирование для выявления РНК возбудителя COVID-19 методом ПЦР, мы узнали 27 февраля, а 2 марта мы уже получили первые 150 образцов, 3 марта – 250 образцов, 4 марта – 500, и далее количество исследований только увеличивалось. Пришлось срочно, в течение нескольких дней, разворачивать дополнительные рабочие места, организовывать сбор и доставку биоматериала, перестраивать рабочие потоки

* Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 13.11.2020 № 35 «О внесении изменений в постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 22.05.2020 № 15 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.3597-20 «Профилактика новой коронавирусной инфекции (COVID-19)».

внутри лаборатории. Поначалу было очень трудно – никто не понимал, долго ли это продлится, будут ли расти объемы исследований, на сколько, в какие сроки необходимо набирать дополнительный персонал, достаточно ли имеющихся площадей – ведь в марте тестирование проводили только лаборатории Роспотребнадзора. Была надежда на сезонность вируса, ждали, что эпидемия закончится к началу лета, что вторая волна будет не такая большая, как первая. Надежды не оправдались, и сейчас ясно, что ближайшие полтора-два года нам придется жить в условиях постоянного наращивания объемов тестирования при максимально возможном сокращении сроков выполнения исследования. Эту задачу нельзя решить только увеличением количества персонала, или автоматизацией лаборатории, или увеличением времени ее работы. Основной залог успеха – комплексный подход, детальный разбор каждого этапа выполнения исследования: от взятия биологического материала до момента, когда пациент получит результат, максимальная стандартизация на каждом этапе работы.

Прежде чем приступить к оптимизации каждого этапа, необходимо отметить главное: основное связующее все этапы исследования звено – лабораторная информационная система (ЛИС). Без ЛИС сложно говорить о стройной организации труда, особенно для лабораторий, выполняющих

Внимание

Важно, чтобы ЛИС имела возможность принимать заказы на исследование в электронном виде – неважно, будет ли это система удаленной регистрации или экспорт из таблицы Excel. При оформлении заказа на исследование необходимо указать большое количество дополнительных параметров – паспортные данные, адрес регистрации, фактического проживания, телефон, место работы пациента и т. д. Опыт показал, что ручной ввод в ЛИС всех данных пациента в лаборатории даже с использованием формализованного бланка занимает не менее трех минут на одного пациента, а подтверждение поступления пробы при удаленной регистрации – не более 30 секунд, в основном, за счет проверки корректности заполнения всех необходимых полей при удаленной регистрации. Обязать всех заказчиков заполнять данные в электронном виде невозможно, но наша основная задача – свести их количество к минимуму, таким образом, максимально сэкономив время пребывания образцов в зоне приема биоматериала.

более 1000 исследований в сутки. Главное преимущество ЛИС – ведение базы пациентов, истории всех заказов, база выполненных результатов, возможность быстро найти пациента, отследить его историю.

Взятие биоматериала и доставка в лабораторию

Использование стандартного набора для взятия биологического материала. Для всех заказчиков необходимо использовать стандартный набор для взятия биологического материала (рис. 1, 2). Набор должен включать в себя:

- ~ 2 зонда (один для взятия мазка из носа, другой – из зева);
- ~ пробирку с транспортной средой (рис. 3);
- ~ инструкцию по взятию биологического материала.

При взятии материала из носоглотки рекомендуется ополоснуть зонд в транспортной среде и утилизировать его, а при взятии материала из ротоглотки – поместить зонд в пробирку, обломить и оставить в пробирке. Таким образом мы увеличиваем концентрацию вируса в пробе и не создаем дополнительную нагрузку на лабораторию, используя две



Рис. 1. Стандартный набор для взятия биологического материала, общий вид



Рис. 2. Стандартный набор для взятия биологического материала, состав



Рис. 3. Пробирка с транспортной средой

отдельные пробирки (из зева и носоглотки) с низкой вирусной нагрузкой.

Подготовка инструкции по взятию биоматериала. Разослать наборы реагентов заказчикам недостаточно – необходимо обучить персонал на местах правильно забирать биологический материал, маркировать, хранить до приезда курьера и отправлять в лабораторию. Для этого можно разработать инструкцию, записать видеоролик, разослать его по пунктам взятия биоматериала или разместить на сайте.

Разработка стандартизованных бланков для направления биоматериала на исследования. Для заказчиков, которые не имеют удаленного доступа, необходимо разработать стандартизованные бланки, которые содержат все необходимые для заполнения поля и инструкцию или пример заполнения бланка (рис. 4).

При использовании удаленного доступа желательно сделать все необходимые поля обязательными для заполнения, а поля, в которые вносятся стандартные данные, сделать автозаполняемыми или использовать список шаблонов (например, при вводе адреса при вводе начальных букв «Мо...» открывается список: Москва, Московская область и т. д. Оператору остается только выбрать нужный населенный пункт из списка).

Маркировка образцов при использовании удаленного доступа осуществляется с помощью этикетки со штрихкодом, напечатанной в момент оформления заказа, а при использовании регистрации на бланках желательно выдавать заказчикам предварительно напечатанные парные штрихкод-этикетки, одна из которых наклеивается на пробирку, вторая – на бланк заказа. Все это также должно быть отражено в инструкции для пользователя.

ПЦР-тестирование на COVID-19: как организовать и оптимизировать исследования




 ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ «ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ- ФЕДЕРАЛЬНОЙ СЛУЖБЫ ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И ВЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА»		МЕДИЦИНСКИЕ АНАЛИЗЫ ЭКСПЕРТНОГО УРОВНЯ	
Наименование направляющего учреждения _____ Код направляющего учреждения _____		Фамилия пациента _____ Имя пациента _____	
Отчество пациента _____		Пол пациента <input type="checkbox"/> Мужской <input type="checkbox"/> Женский	
Контактный телефон пациента _____		Дата рождения пациента ДД - ММ - ГГ ГГ	
Беременность <input type="checkbox"/> Да <input type="checkbox"/> Нет		Срок беременности _____ День цикла _____ Менопауза _____	
Диагноз _____		Дата взятия образца ДД - ММ - ГГ	
Сопутствующие хронические заболевания _____		Код по МКБ-10 _____	
Фамилия врача _____ И.О. врача _____		Код пациента _____	
Дополнительные данные о пациенте. Все поля направляющего бланка обязательны для заполнения, информация вносится с документа, удостоверяющего личность. Фамилия, Имя, Отчество пациента указываются полностью.			
Паспортные данные (в соответствии с гражданством):			
Серия _____ Номер _____		Кем выдан _____ Дата выдачи ДД - ММ - ГГ ГГ	
Адрес регистрации пациента. Страна _____		Республика, край, область, автономный округ _____	
Район _____		Город, поселок _____	
Улица _____		Дом _____ Корп./Стр. _____ Кв. _____	
Адрес фактического проживания совпадает с адресом регистрации <input type="checkbox"/> Да <input type="checkbox"/> Нет			
Адрес фактического проживания (указать в случае отличия от Адреса регистрации пациента)			
Страна _____		Республика, край, область, автономный округ _____	
Район _____		Город, поселок _____	
Улица _____		Дом _____ Корп./Стр. _____ Кв. _____	
Место работы/учебы пациента (подчеркнуть нужное) _____		Должность пациента _____	
Адрес работы/учебы пациента (подчеркнуть нужное) _____		Рабочий телефон пациента _____	
Поездки за границу/субъектам РФ (указать Страну, Город, Район откуда прибыл пациент)			
Дата прибытия в РФ ДД - ММ - ГГ		Каким видом транспорта прибыл (номер поезда/рейс самолета/сузда/автомобиля) _____	
Наличие контакта с больными COVID-19/ ОРВИ <input type="checkbox"/> Да <input type="checkbox"/> Нет		Дата контакта ДД - ММ - ГГ	
ФИО контактного больного _____			
«Эплендорф» с бесцветной транспортной средой (для назков)		МЕТОД ПЦР	
ШТРИХ КОД ПРОБЫ _____ или _____		Выберите один из видов биоматериала	
Контейнер пластиковый универсальный (для биожидкостей)		<input type="checkbox"/> назок/отделенное носослитки и ротоглотки <input type="checkbox"/> назок/отделенное носослитки и ротоглотки (самостоятельное взятие) <input type="checkbox"/> мокрота <input type="checkbox"/> аспират из трахеи <input type="checkbox"/> бронхоальвеолярный лаваж	
		<input checked="" type="checkbox"/> 170114 PPK SARS-CoV-2 (COVID-19) (кач.)	
Лицо, направляющее биоматериал на исследование _____		_____ / _____ / _____	
Лицо, отбиравшее биоматериал _____		_____ / _____ / _____	
Лицо, доставившее биоматериал _____		_____ / _____ / _____	
 ОБЩЕЕ КОЛИЧЕСТВО ЗАКАЗАННЫХ АНАЛИЗОВ _____		Бланк заказа заполняется только печатными буквами черной или синей ручкой!	
		<input checked="" type="checkbox"/> Выбрать <input type="checkbox"/> Отменить	
			

Рис. 4. Шаблон лабораторного бланка для направления биоматериала на исследование

Применение единых правил отправки биообразцов. Правила отправки в лабораторию должны быть едины для всех заказчиков и удобны лаборатории. Если регистрация осуществляется в чистой зоне, а прием биоматериала – в заразной, необходимо транспортировать бланки отдельно от образцов. Нам удобно принимать все в заразной зоне, поэтому мы просим прикалывать степлером zip-пакет с пробиркой к бланку – в этом случае при приеме образцов не теряется время на поиск пробы и сопоставление с бланком.

Для всех заказчиков единое правило: к отправленным образцам должен прилагаться перечень (реестр). В случае использования удаленного доступа он формируется в ЛИС автоматически, минимальное условие в случае работы с бланками – бумажный перечень с указанием количества образцов. Перечень проб биоматериала должен **ОБЯЗАТЕЛЬНО** быть подписанным ответственным сотрудником с указанием контактного телефона.

Прием биоматериала в лаборатории

Выделение сотрудников для приема биоматериала. Наш опыт показал, что при круглосуточной доставке большого количества образцов удобнее организовать отдельное подразделение по приему биологического материала. На этом участке у нас работают старший оператор и несколько операторов. Функции старшего оператора – прием и сверка количества поступающих образцов в реестре и фактического количества проб и контакты с заказчиками по всем проблемам, выявленным при регистрации биоматериала. Операторы проверяют полноту и правильность заполнения бланков, если выявят ошибки – информируют старшего оператора. Такая организация работы позволяет устранять ошибки «по горячим следам».

Использование в работе «первичных» пробирок. Отдельное внимание хочу обратить на пробирку с транспортной средой. В настоящее время доступно большое количество пробирок различной формы и размера с транспортной средой для вирусов. Выбор за вами. Но для оптимизации выполнения исследования необходимо использовать такую пробирку,

которая будет подходить для работы на оборудовании, установленном в вашей лаборатории. То есть мы говорим о том, что в работу должна идти первичная пробирка – та, в которую был взят биологический материал. В противном случае вы теряете не только время на «переливание» образца в пробирку для работы, но и приобретаете возможность перепутать образцы различных пациентов.

Закрепление процесса с помощью внутреннего регламента. Передача образцов в лабораторию должна осуществляться в соответствии с внутренним регламентом, который в основном зависит от организации рабочего потока внутри лаборатории. Универсальных советов здесь быть не может, старайтесь организовать передачу образцов таким образом, чтобы они не копились где-то в укромном месте лаборатории, а сразу поступали на выделение нуклеиновых кислот (НК).

Организация работы в лаборатории

Разделение работы с образцами для выявления РНК SARS-COV-2 от работы с остальным биоматериалом. На собственном опыте убедились, что не только прием биоматериала для выявления РНК SARS-CoV-2 должен быть отделен и от лаборатории, и от зоны приема всего остального биоматериала, но и в лаборатории работа с этими образцами должна быть полностью отделена от работы с остальным биоматериалом. Это не значит, что одни сотрудники работают только с «ковидом», а другие – со всем остальным. Нет, ротация сотрудников обязательна – так вы создаете большой коэффициент надежности: сотрудники болеют, уходят в отпуски, увольняются. В случае если сразу несколько сотрудников уходят на больничный, вы можете осуществлять перестановки сотрудников внутри лаборатории, не снижая объемы тестирования и не увеличивая сроки выполнения исследований.

Преимственность всех этапов выполнения исследования. Основные принципы организации работы в лаборатории – преимущественность всех этапов выполнения исследования. Если позволяют возможности ЛИС, при использовании по-

лаутоматических анализаторов необходимо сканировать образцы на каждом этапе выполнения исследования – при поступлении, выделении НК, передаче на обратную транскрипцию, раскапывании ПЦР-смеси, установке в амплификатор и передаче результатов в ЛИС. При использовании автоматизированных комплексов количество сканирований существенно уменьшается, например, при использовании последовательно станций для выделения и станций для скапки количество сканирований сокращается до двух. Если модификации анализаторов позволяют, необходимо использовать двунаправленный интерфейс – для автоматической загрузки лабораторных заданий и автоматической выгрузки результатов.

Также очень полезной функцией ЛИС, сокращающей время выполнения исследований, является настраиваемая автоматическая валидация результатов. Например, при условии прохождения положительных и отрицательных контролей все отрицательные результаты передаются в ЛИС автоматически, без участия врача клинической лабораторной диагностики. Важно заметить, что правила авторизации должны быть не жестко прописаны в ЛИС, а должны иметь возможность самостоятельной настройки в каждой конкретной лаборатории.

Доставка результата пациентам

На авторизации результата процесс выполнения исследования не заканчивается. Важно, чтобы пациент получил свой результат, как только он «выпущен» лабораторией. Существенно сокращает время получения результата автоматическая доставка заказчикам – пациентам или ЛПУ. При ис-

Внимание

Если ЛПУ работает с бумажными бланками, бланки результатов доставляются на следующий день курьером. Для тех, кто хочет получать результаты быстрее, есть возможность отправки результатов на почту ЛПУ. Ответственность за использование защищенных каналов связи лежит на сотрудниках информационно-аналитических отделов лаборатории и ЛПУ-заказчика.

пользовании удаленного доступа результат передается в ЛПУ в течение 30 минут после авторизации его в ЛИС. То же касается и пациентов, заказавших исследование в одном из наших процедурных кабинетов, – они получают СМС о готовности результата и ссылку для его просмотра на сайте.

Таким образом, очень многое зависит от возможностей ЛИС. Но и в случае отсутствия ЛИС, или ее несовершенства, необходимо детально разобрать все этапы выполнения исследования и сделать их максимально стандартными. И конечно, это не под силу одному человеку. Залог успеха в командной работе, когда каждый сотрудник на своем рабочем месте принимает активное участие в организации рабочего процесса. Не бойтесь начинать с нуля, не бойтесь перестраивать процессы в уже в работающей лаборатории – если вам удастся собрать команду единомышленников, у вас все получится!