



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРОФИЛАКТИКИ, ДИАГНОСТИКИ
КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19»
СПЕЦИАЛЬНОСТЬ «ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА

К ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЙ ПРОГРАММЕ ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ
«АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПРОФИЛАКТИКИ, ДИАГНОСТИКИ
КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19»
СПЕЦИАЛЬНОСТЬ «ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Модуль 3. «Этиологическая лабораторная диагностика коронавирусной
инфекции»

Тема 3.1. Организация работ по лабораторной диагностики COVID-19

Тема 3.2. Клинический материал для выявления РНК вируса COVID-19

Тема 3.3. Выявление РНК вируса COVID-19

Тема 3.4. Интерпретация результатов

Тема 3.5. Перспективы развития лабораторной диагностики COVID-19

По материалам «Временные методические рекомендации Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 5 (08.04.2020)



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Тема 3.1. Организация работ по лабораторной диагностике COVID-19

ПЛАН

Нормативные документы, регламентирующие лабораторную диагностику COVID-19.
Категория лиц, которым в обязательном порядке проводится лабораторное обследование на COVID-19



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Нормативные документы, регламентирующие лабораторную диагностику
COVID-19.

Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 5 (08.04.2020)

Временные методические рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-COVIDn)

СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)»

СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности»

ИНСТРУКЦИЯ Об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-2019)



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Категория лиц, которым в обязательном порядке проводится лабораторное
обследование на COVID-19

Лабораторное обследование на COVID-19 в обязательном порядке проводится следующим категориям лиц:

- 1) Вернувшиеся на территорию Российской Федерацию с признаками респираторных заболеваний;
- 2) Контактировавшие с больным COVID-2019;
- 3) С диагнозом "внебольничная пневмония";
- 4) Старше 65 лет, обратившиеся за медицинской помощью с симптомами респираторного заболевания;
- 5) Медицинские работники, имеющие риски инфицирования COVID-2019 на рабочих местах, – 1 раз в неделю, а при появлении симптомов, не исключающих COVID-2019, – немедленно;
- 6) Находящиеся в учреждениях постоянного пребывания независимо от организационно-правовой формы (специальные учебно-воспитательные учреждения закрытого типа, кадетские корпуса, дома-интернаты, учреждения ФСИН России) и персонал таких организаций – при появлении симптомов респираторного заболевания.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Тема 3.2. Клинический материал для выявления РНК вируса COVID-19

ПЛАН

Клинический материал для выявления РНК вируса COVID-19.

Сбор, хранение и транспортировка диагностического материала. Правила получения биоматериала.

Требования к образцам биоматериала от людей для лабораторной диагностики.

Транспортные среды. Нормативная документация, регламентирующая транспортировку биоматериала.

Правила транспортировки биоматериала.

Направление на исследование для этиологической диагностики COVID-19.

По материалам «Временные методические рекомендации Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 5 (08.04.2020)



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Клинический материал для выявления РНК вируса COVID-19

Для выявления COVID-19 исследуются респираторные диагностические материалы, взятые у пациента:

- мазки из носоглотки и ротоглотки,
- мокрота,
- эндотрахеальный аспират,
- бронхоальвеолярный лаваж.

Могут быть исследованы и другие виды диагностического материала: кровь (сыворотка, цельная кровь), моча.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Сбор диагностического материала

Непременным условием успешного выделения вирусов является **ПРАВИЛЬНЫЙ** сбор клинических материалов и их своевременная доставка в лабораторию!

Выбор времени забора клинического материала очень важен, так как наиболее высокое содержание вируса в дыхательных органах человека регистрируется в течение первых 3 дней после появления признаков заболевания.

В амбулаторных условиях для обследования пациентов применяются следующие алгоритмы: взятие мазка из носа и ротоглотки в 1-й, 3-й и 11-й дни после обращения. Для пациентов взятие и исследование мазков из носа и ротоглотки в день обращения проводится по решению врача.

При помещении пациента в стационар обязательно исследование трех образцов биологических материалов, собранных в течение первых трех дней после появления симптомов заболевания.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Хранение и транспортировка диагностического материала

Температура при транспортировке должна быть $+2^{\circ}$ - $+8^{\circ}$ С.

Время хранения образцов до исследования не должна превышать 5 дней при $+2^{\circ}$ - $+8^{\circ}$ С.

Может быть больше при -20° С или -70° С.

Допускается только однократное замораживание/оттаивание материала!!!

Транспортировка герметично закрытых контейнеров с образцами в лабораторию осуществляется в специальных контейнерах/биксах. Направления и другая документация на бумажных носителях передается в отдельном полиэтиленовом пакете.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Правила получения биоматериала

Взятие диагностического материала, его маркировка и упаковка выполняется медицинским работником, прошедший инструктаж по санитарно-эпидемиологическим требованиям и правилам биологической безопасности при работе с пациентами, потенциально инфицированными микроорганизмами II группы патогенности.

Все процедуры по забору клинического материала выполняет медицинский персонал с использованием **СРЕДСТВ ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ:**

шапочка

противочумный халат

респиратор (класс защиты FFP2)

защитные очки или щиток

резиновые перчатки.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Требования к образцам биоматериала от людей для лабораторной диагностики

Мазок из носоглотки или ротоглотки (зева) берется стерильным тампоном, который, после взятия материала помещается в стерильную пластиковую пробирку с транспортной средой (с учетом рекомендаций производителя применяемых тест-систем/наборов реагентов). Для повышения концентрации вируса носоглоточные и орофарингеальные мазки должны быть помещены в одну пробирку.

Мокрота собирается в одноразовый стерильный пластиковый контейнер объемом – 30-50 мл, герметично закрывающийся завинчивающейся пробкой. Диаметр горлышка контейнера должен быть не менее 30 мм.

Эндотрахеальный аспират, аспират носоглотки или смыв из носа собирается в стерильный одноразовый контейнер.

Ткани биопсии или аутопсии, включая легкие, помещаются в одноразовые контейнеры с физиологическим раствором, содержащим противогрибковые и антибактериальные препараты.

Для идентификации образцов контейнеры/пробирки маркируются в месте сбора с использованием самоклеящихся этикеток с информацией, обеспечивающей однозначную идентификацию образца и его соответствие направлению.

Транспортировка всех образцов может проводиться при температуре 2°-+8° С. Время хранения образцов до исследования не должна превышать 24 часов при +2°-+8° С, более - при -20° С или -70° зок из носоглотки или ротоглотки (зева) берется стерильным тампоном, который, после взятия материала С.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Транспортные среды



Транспортная среда для биопроб СТОП-Ф предназначена для транспортирования и хранения широкого спектра образцов биологического материала человека с целью последующего анализа нуклеиновых кислот (ДНК человека и микроорганизмов, РНК вирусов) методом полимеразной цепной реакции.

Состав транспортной среды – готовый изотонический водно-солевой раствор гарантирует высокую сохранность ДНК и РНК в биологическом материале в течение 48 часов при температуре +18...+25°C и в течение 7 суток при температуре +2...+8°C.

Наличие консерванта препятствует размножению неспецифических микроорганизмов, что позволяет стандартизовать условия последующего ПЦР-анализа.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Нормативная документация, регламентирующая транспортировку биоматериала. Правила транспортировки биоматериала

При необходимости пересылки образцов в лабораторию другого медицинского учреждения выполняются требования к пересылке инфекционных материалов II группы патогенности (СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности»).

Пробирки/контейнеры с образцами вместе с крышкой герметизируют различными пластификаторами (парафин, парафильм и др.); емкость маркируют.

Образцы каждого пациента помещают в индивидуальный герметичный пакет с адсорбирующим материалом и дополнительно упаковывают в общий герметичный пакет.

Два или более образца одного пациента могут быть упакованы в один пластиковый пакет. Запрещается упаковывать образцы клинического материала от разных людей в одну упаковку.

Пакет с контейнерами помещают в герметично закрывающийся контейнер для транспортировки биологических материалов.

Контейнер помещают в пенопластовый термоконтейнер с охлаждающими термоэлементами. Транспортный контейнер печатывается и маркируется. В контейнер желательно поместить одноразовый индикатор, контролирующий соблюдение температуры от 2° до 8 °С.

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



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Направление на исследование для этиологической диагностики COVID-19

Направление на лабораторное исследование оформляется в электронном виде (*через систему удаленной электронной регистрации, или в виде электронного заказа в программе МИС врачом-клиницистом*), или на бумажном носителе.

Направление на лабораторное исследование должно содержать:

- персональные данные пациента, обеспечивающие его однозначную идентификацию;
- наименование направившего биоматериал отделения (организации);
- диагноз заболевания: «пневмония» или «исследование на COVID-19»;
- указание вида диагностического материала;
- дату и время назначения лабораторного исследования;
- дату и время взятия материала;
- фамилию, имя, отчество (при наличии) и должности врача либо другого уполномоченного представителя, назначившего лабораторное исследование.
- фамилию, имя, отчество (при наличии) медицинского работника, осуществившего взятие биоматериала.

При направлении диагностических материалов для исследования в лабораторию другой медицинской организации, помимо сведений, перечисленных выше, должно быть указано наименование медицинской организации, в которую направляется диагностический материал.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Тема 3.3. Выявление РНК вируса COVID-19

ПЛАН

Полимеразная цепная реакция. Специфичность ПЦР.

Выявление РНК вируса SARS-CoV-2 методом ПЦР. Этапы ПЦР-анализа.

Выделение ДНК/РНК.

Перечень зарегистрированных в Российской Федерации диагностических наборов реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2.

Критерии выбора метода.

Причины ложноотрицательных результатов на этапе выделения ДНК/РНК.

Причины ложноположительных результатов на этапе выделения ДНК/РНК.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Полимеразная цепная реакция
Специфичность ПЦР

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) - это метод, имитирующий естественную репликацию нуклеиновой кислоты и позволяющий обнаружить **единственную специфическую молекулу нуклеиновой кислоты**.

Принцип метода заключается в многократном копировании (амплификации) в пробирке определенных участков ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов.

На каждом цикле амплификации синтезированные ранее фрагменты вновь копируются ДНК-полимеразой. Благодаря этому происходит многократное увеличение количества специфических фрагментов ДНК.

ПЦР с обратной транскрипцией - в этом случае перед тем или иным вариантом ПЦР производится реакция обратной транскрипции (РНК в ДНК) с использованием фермента ревертазы.

Этот метод позволяет проводить качественное или количественное обнаружение молекул РНК. Это может использоваться для детекции РНК-содержащих вирусов.

Метод ПЦР позволяет определить наличие возбудителя заболевания, даже если в пробе присутствует всего несколько молекул ДНК возбудителя.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

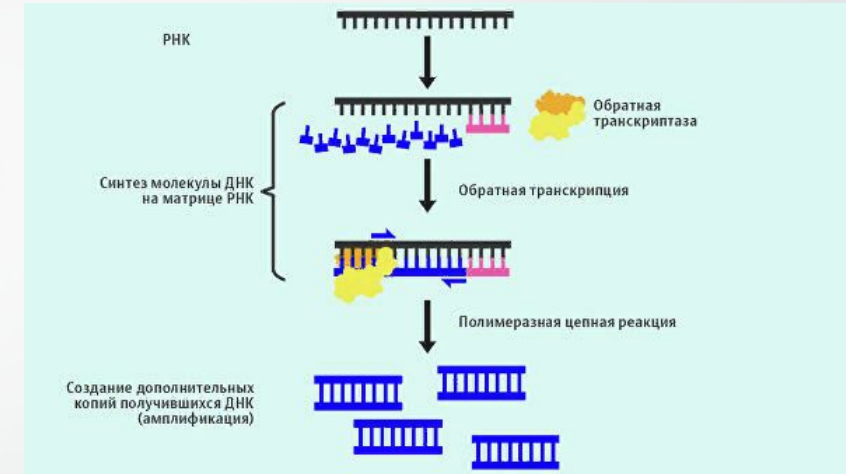
Разновидности ПЦР

- Конвенциональная ПЦР
- Цифровая количественная ПЦР
- ПЦР с обратной транскрипцией - ОТ-ПЦР**
- ПЦР в реальном времени

ОТ-ПЦР используется для обнаружения молекул РНК в образце (РНК-вирусов ВИЧ, коронавирусов и других).

Одноцепочечную молекулу РНК превращают в реакции обратной транскрипции в комплементарную ДНК (кДНК) и далее амплифицируют уже одноцепочечную молекулу ДНК, используя традиционную ПЦР.

Данный процесс называется обратной транскрипцией, так как передача генетической информации при этом происходит в «обратном», относительно транскрипции, направлении.





ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Этапы ОТ-ПЦР анализа

Проведение в лаборатории ПЦР-анализа происходит в три этапа:

1. Выделение ДНК
- 2а. Реакция обратной транскрипции
- 2б. Амплификация ДНК-фрагментов
3. Детекция ДНК-продуктов амплификации





ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

1. Выделение ДНК/РНК

Выделение ДНК — это первоначальный этап проведения ПЦР-диагностики, суть которого заключается в следующем: материал для исследования подвергается специальной обработке.

В процессе обработки происходит расщепление двойной спирали ДНК на отдельные нити.

В материал пациента добавляется специальная жидкость, растворяющая органические вещества, таким образом удаляются липиды, аминокислоты, пептиды, углеводы, белки и полисахариды.

В результате выделяется ДНК или РНК.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

2а. Реакция обратной транскрипции
2б. Амплификация ДНК-фрагментов

Обратная транскрипция (или синтез кДНК) выполняется при участии фермента ревертазы на матрице РНК, в результате чего получается первая цепь кДНК.

Амплификация ДНК представляет собой многократное увеличение числа копий ДНК.

Для проведения этого ПЦР-анализа используется специально программируемое оборудование — ПЦР - термостат или амплификатор.

Амплификация проводится по заданной программе, соответствующей виду определяемой инфекции. В зависимости от программы и вида определяемой инфекции процесс автоматизированной ПЦР занимает от 2 до 3 часов.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

3. Детекция ДНК-продуктов амплификации

Детекция ДНК-продуктов амплификации проводится методами электрофореза или методом гибридизационных зондов.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Выявление РНК вируса SARS-CoV-2 методом ПЦР

Для выявления возбудителя SARS-CoV-2 используются методы амплификации нуклеиновых кислот (без накопления возбудителя), с применением зарегистрированных в установленном порядке на территории Российской Федерации тест-систем, в соответствии с инструкцией по применению.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Перечень зарегистрированных в Российской Федерации
диагностических наборов реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2

Наименование диагностических наборов	Организация производитель
Набор реагентов для выявления РНК коронавируса 2019-nCoV методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией "Вектор-ПЦРrv-2019-nCoV-RG"	ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора
Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов SARS/COVID-19 методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией "Вектор-OneStepПЦР-CoV-RG"	ФБУН ГНЦ ВБ "Вектор" Роспотребнадзора
Набор для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 в биологическом материале методом изотермической амплификации в режиме реального времени в вариантах исполнения	ООО "СМАРТЛАЙФКЕА
Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов, вызывающих тяжелую респираторную инфекцию: MERS-Cov (Middle East respiratory syndrome coronavirus) и SARS-Cov родственных вирусов (Severe acute respiratory syndrome coronavirus, Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2), в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией "АмплиСенс® CoVs-Bat-FL"	ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора
Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом ОТ-ПЦР в режиме реального времени (РеалБест РНК SARS-CoV-2)	АО "Вектор-Бест"



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Перечень зарегистрированных в Российской Федерации
диагностических наборов реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2

Наименование диагностических наборов	Организация производитель
Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 тяжелого острого респираторного синдрома (COVID-19) методом полимеразной цепной реакции "АмплиТест SARS-CoV-2"	ФГБУ "ЦСП" Минздрава России
Набор реагентов для выявления РНК коронавируса SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией ПОЛИВИР SARS-CoV-2	ООО НПФ "Литех"
Набор реагентов для выявления РНК коронавирусов SARS-CoV-2 и подобных SARS-CoV методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (SARS-CoV-2/SARS-CoV)	ООО "ДНК-Технология ТС"
Набор реагентов для выявления РНК SARS-CoV-2 методом петлевой изотермальной амплификации "Изотерм SARS-CoV-2 РНК-скрин"	АО "ГЕНЕРИУМ"



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Критерии выбора метода

- Назначение исследования
- Время выполнения исследования
- Вид биоматериала
- Уровень специфичности
- Уровень чувствительности
- Критерии выбора метода на этапе выделения ДНК/РНК
 - ✓ Эффективное извлечение нуклеиновых кислот
 - ✓ Достаточное количество нуклеиновых кислот
 - ✓ Удаление белков и примеси
 - ✓ Целостность нуклеиновых кислот
 - ✓ Чистота выделенных препаратов



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**Причины ложноотрицательных результатов на
этапе выделения ДНК/РНК**

Дегградация нуклеиновых кислот в образцах. **Необходимо использовать новый образец.**

Потеря осадка содержащие нуклеиновые кислоты в процессе выделения. **Необходимо аккуратно удалять на всех этапах растворы для отмывки.**

Дегградация нуклеиновых кислот после выделения. **Необходимо использовать пластик свободный от ДНК-аз и РНК-аз.**

**Причины ложноположительных
результатов на этапе выделения ДНК/РНК**

Контаминация в процессе выделения.

Контаминация реагентов, используемых при выделении.

Контаминация зоны выделения амплификатами, плазмидами, ДНК.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Тема 3.4. Интерпретация результатов

ПЛАН

Интерпретация результатов.

Дифференциальная диагностика.

Регистрация результатов.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Интерпретация результатов

Проводится согласно инструкции производителя набора для определения РНК SARS-CoV-2

Результаты ПЦР-исследования считаются достоверными, если получены правильные результаты для всех контролей на каждом этапе: на этапе выделения РНК и на этапе амплификации.

В случае получения невалидного результата проводят перестановку ПЦР-исследования. Начиная с этапа выделения РНК.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Дифференциальная диагностика

У всех заболевших с клиническими проявлениями ОРВИ проводят исследования методом ПЦР на возбудители респираторной инфекций:

- Вирусы гриппа Аи В
- Респираторно-синцитиальный вирус (РСВ)
- Вирусы парагриппа
- Риновирусы
- Аденовирусы
- MERS-CoV
- Возбудители бактериальных респираторных инфекций



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Регистрация результатов

В случае получения положительного результата на COVID-19 руководитель лаборатории медицинской организации обязан немедленно проинформировать ближайший территориальный орган Роспотребнадзора и передать материал в Центр гигиены и эпидемиологии в субъекте Российской Федерации.

Медицинские организации, выявившие случай заболевания COVID-19 (в т.ч. подозрительный), вносят информацию о нем в информационную систему (<https://ncov.ncmbr.ru>) в соответствии с письмом Минздрава России №30-4/И/2-1198 от 07.02.2020.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Тема 3.5. Перспективы развития лабораторной диагностики COVID-19

ПЛАН

Перспективы развития лабораторной диагностики COVID-19.

Особенности проведения выборочных обследований населения (возрастных, социальных, профессиональных групп) плановые и по эпидемиологическим показаниям.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Перспективы развития лабораторной диагностики COVID-19

Разработка экспресс тестов диагностики

Разработка тестов для выявления серологических маркеров

Разработка новых наборов для выявления РНК коронавирусов

Разработка методов выявления антигенов коронавируса



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Особенности проведения выборочных обследований населения (возрастных, социальных, профессиональных групп) плановые и по эпидемиологическим показаниям

Выборочное обследований населения - скрининг - метод активного выявления лиц с какой-либо патологией или факторами риска и контроль иммунного состояния населения или отдельных контингентов (возрастных, социальных, профессиональных групп).

Эпидемиологический скрининг- идентификация нераспознанного ранее у пациента заболевания или фактора риска путем опроса, официального обследования, лабораторного исследования или с помощью других процедур.

Эпидемиологический мониторинг- оперативная динамическая оценка состояния и условий развития эпидемического процесса. Эта оценка должна повышать вероятность своевременного вмешательства в течении эпидемического процесса с целью предупреждения заболеваемости и оценки эффективности профилактических мероприятий в данный период времени.

Эпидемиологический мониторинг проводится в плановом порядке (по различным инфекциям) и по эпидемиологическим показаниям по определенной инфекции.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Задачи методы эпидемиологического скрининга

Изучение распространенности заболевания (или группы заболеваний).

Изучение факторов риска, их значение.

Ретроспективная диагностика инфекций.





ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Этапы эпидемиологического мониторинга

- Сбор информации о состоянии заболеваемости (по экстренным извещениям о случаях инфекционных заболеваний, по результатам эпидемиологических обследований, клинические данные, лабораторные исследования (бактериологические, серологические, ПЦР- диагностика).
- Наблюдения за циркуляцией возбудителей среди людей и животных.
- Наблюдение за санитарно-бактериологическим фоном внешней сред.
- Серологический надзор - осуществляется планомерными исследованиями сывороток крови.
- Обработка полученной информации.



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Самостоятельная работа

- Изученные нормативной документации
 - ✓ Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)» Версия 5 (08.04.2020)
 - ✓ Временные методические рекомендациями по лабораторной диагностике нового коронавируса 2019 (2019-COVIDn)
 - ✓ СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)»
 - ✓ СП 1.2.036-95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I-IV групп патогенности»
 - ✓ ИНСТРУКЦИЯ Об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-2019)
- Изучение терминов и составление глоссария (толкование, краткое объяснение терминов)



ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
УЛЬЯНОВСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ КОЛЛЕДЖ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Термины для глоссария

НВЛ – неинвазивная вентиляция легких

ОДН – острая дыхательная недостаточность

ООИ – особо опасная инфекция

ОРВИ – острая респираторная вирусная
инфекция

ОРИ – острая респираторная инфекция

ОРДС – острый респираторный дистресс-
синдром

РСВ – респираторно-синцитиальный вирус

СИЗ – средства индивидуальной защиты

СИЗОД – средства индивидуальной защиты
органов дыхания

СШ – септический шок

ТИБ – транспортировочный изолирующий бокс

ЭКМО – экстракорпоральная мембранная
оксигенация

ТОРИ

ТОРС (SARS)

COVID-19

MERS

MERS-CoV

SARS-CoV

SARS-CoV-2