

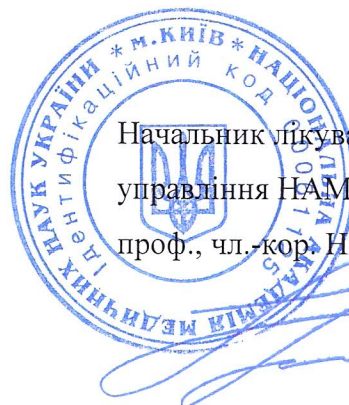
НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ

**ПРАКТИЧНІ ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ ІНФІКУВАННЯ SARS-COV-2 ЗА
ДОПОМОГОЮ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ**

(методичні рекомендації)

Київ – 2020

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ



«ЗАТВЕРДЖЕНО»

Начальник лікувально-організаційного
управління НАМН України, д-р мед.наук,
проф., чл.-кор. НАМН України

І. Д. Шкробанець

„02” 11 2020 р.

**ПРАКТИЧНІ ПІДХОДИ ДО ДІАГНОСТИКИ ІНФІКУВАННЯ SARS-COV-2 ЗА
ДОПОМОГОЮ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ**

(методичні рекомендації)

Установа-розробник:

ДУ „Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України” (ННЦРМ)

Укладачі:

Базика Дмитрій Анатолійович, академік НАМН України, д.м.н., проф.	(044) 452-00-24;
Чумак Анатолій Андрійович, д.м.н., проф., засл. діяч науки і техніки України	(044) 452-00-24;
Абраменко Ірина Вікторівна, д.м.н., проф.	(044) 451-82-63;
Плескач Оксана Яківна, к.м.н., зав. лабораторією	(044) 451-82-63
Шинкаренко Валентина Іванівна, біолог	(044) 451-82-63
Ярошенко Жанна Степанівна, головний лікар клініки	(044) 451-82-61
Зайцева Анастасія Леонідівна, заступник головного лікаря	(044) 406-64-45

Рецензент: завідувач лабораторії імунології ДУ «Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф.Г.Яновського Національної академії медичних наук України», д.м.н., ст.н.с. О.М. Рекалова

Рішення проблемної комісії «Радіаційна медицина», протокол № 2 від 30 вересня 2020 р.

Заступник голови проблемної комісії «Радіаційна медицина» МОЗ та НАМН України, д-р мед.наук, проф. К.М.Логановський

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, скорочень і термінів	5
Вступ	6
Визначення антитіл до SARS-CoV-2 методом імуноферментного аналізу	7
1. Преаналітичний етап	7
2. Аналітичний етап	7
2.1. Вимоги до процедури	7
2.2. Постановка реакції	8
2.3. Облік результатів	8
3. Інтерпретація результатів	8
Висновки	10
Перелік рекомендованої літератури	11

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ІФА	-	Імуноферментний аналіз
ПЛР	-	полімеразна ланцюгова реакція
COVID-19		<i>Coronavirus disease 2019</i> , Коронавірусна хвороба 2019
SARS-CoV-2	■	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i> , раніше відомий як новий коронавірус 2019 (2019-nCoV) ^{[4][5]} — одноланцюговий РНК-вмісний штам виду SARSr-CoV роду бетакоронавірусів, що вперше був генетично виявлений 2019 року в пробі пацієнта з атиповою пневмонією під час спалаху пневмонії в Ухані (Китай) 2019—2020 років

ВСТУП

Пандемія коронавірусної інфекції COVID-19, зумовленої SARS-CoV-2, внесла суттєві корективи у роботу закладів охорони здоров'я і клінік науково-дослідних установ та університетів.

Згідно з нормативними документами МОЗ України госпіталізація пацієнтів з соматичною, онкологічною чи психіатричною патологією дозволяється лише за відсутності інфікування SARS-CoV-2, щоб запобігти подальшому поширенню захворюваності на COVID-19 і призупиненню діяльності медичних установ неінфекційного профілю за рахунок вимушеної самоізоляції контактів з числа персоналу.

«Золотий стандарт» діагностики COVID-19 – полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) в режимі реального часу неможливо забезпечити в повному обсязі через обмежену кількість сертифікованих лабораторій з належним обладнанням, і низьку їх пропускну здатність.

Рациональним кроком у вирішенні проблеми діагностики COVID-19 та своєчасної госпіталізації пацієнтів з неінфекційною патологією було рішення МОЗ України про використання з діагностичною метою методики імуноферментного аналізу (ІФА).

Мета цих методичних рекомендацій – надати покрокову характеристику виявлення антитіл до SARS-CoV-2 методом ІФА і інтерпретації отриманих результатів.

Методичні рекомендації призначені для використання лікарями-лаборантами діагностичних лабораторій, лікарями клінічних підрозділів медичних установ України різних профілів, які займаються діагностикою та лікуванням пацієнтів з соматичною, психіатричною та онкологічною патологією в умовах пандемії COVID-19. Дані, викладені в методичних рекомендаціях, публікуються вперше.

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИТІЛ ДО SARS-COV-2 МЕТОДОМ ІМУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛІЗУ

1. Преаналітичний етап

Взяття крові з вени за допомогою шприца з забезпеченням стандартних умов та вимог для безпеки забору

Усі підготовчі роботи проводяться заздалегідь, до початку процедур венепункції: прибирання і кварцювання приміщення, підготовка необхідного оснащення, перевірка термінів придатності пробірок, голок.

Кров забирає медичний персонал який має професійні навички забору крові.

Процедурний кабінет має бути забезпечений водопровідною водою, мати штучне і природне освітлення, природну вентиляцію.

Стілець і стіл для пацієнта повинні забезпечити максимальну зручність і безпеку.

У тяжкохворих забір крові проводять в палаті відділень.

При взятті зразків крові необхідно слідувати універсальним правилам безпеки при роботі з інфекційно небезпечним матеріалом.

Для кожного пацієнта використовують нову пару рукавичок.

Медичні вироби, які використовуються для взяття венозної крові, відносяться до медичних відходів класів В - небезпечні (ризиковані) відходи, - їх збір, зберігання і утилізацію необхідно проводити, дотримуючись встановлених санітарно-епідеміологічних правил і норм, та інструкцій, прийнятих для медичних організацій охорони здоров'я України.

2. Аналітичний етап

З доставлених в лабораторію зразків крові отримують сироватку шляхом центрифугування.

2.1. ВИМОГИ ДО ПРОЦЕДУРИ:

Усі підготовчі до дослідження етапи плануються і проводяться заздалегідь.

В роботі використовується метрологічно повірене вимірювальне обладнання (спектрофотометр імуноферментний, дозатори).

Прикладена до тест-системи інструкція повинна бути вивчена виконавцем і неухильно виконуватись.

Не дозволяється використання інструкції до тест-систем інших серій та інших виробників.

Не дозволяється використовувати набори з вичерпаним терміном придатності.

Не дозволяється змішувати реактиви з різних серій.

Зразки повинні бути без гемолізу, бактеріального проросту, ліпемії.

Тест-систему, досліджувані зразки, внутрішньолабораторний стандарт до початку проведення аналізу потрібно витримати 30 хвилин при кімнатній температурі.

Відповідно до вимог інструкції у приміщенні для проведення ІФА потрібно забезпечити належний температурний режим (18 - 25⁰ С).

Розчини дезінфектантів повинні бути приготовлені під проведення методики.

2.2. ПОСТАНОВКА РЕАКЦІЇ з використанням діагностичних наборів для виявлення анти- SARS-CoV-2 антитіл здійснюється у суворій відповідності до інструкції виробника.

2.3. ОБЛІК РЕЗУЛЬТАТІВ

Завчасно, за 15 хвилин до обліку результатів імуноферментний спектрофотометр потрібно підготувати до роботи згідно з правилами експлуатації.

Реєстрацію результатів проводять відповідно до вимог інструкції, при цьому якість дослідження перевіряється шляхом оцінки відповідності значень оптичної густини всіх контролів, які додаються до тест – системи.

Тільки після оцінки валідності тесту і якості тестування переходять до оцінки досліджуваних зразків.

Оформляється протокол дослідження і разом з листом роздрукованих на імуноферментному спектрофотометрі результатів підшивається в папку «Протоколи досліджень методом ІФА».

Результат досліджуваного зразка, який видається пацієнту, повинен мати цифрові показники, а не обмежуватись лише констатацією «результат позитивний» чи «результат негативний».

Бланк відповіді лабораторії на досліджуваний зразок повинен мати цифрові показники напівкількісної характеристики результату:

- безумовно негативний,
- безумовно позитивний,
- сумнівний («сіра зона»).

3. Інтерпретація результатів

Дослідження антитіл класу IgM спрямоване на виявлення ранньої імунної відповіді на SARS-CoV-2, згідно зі змінами до стандартів медичної допомоги «Коронавірусна хвороба (COVID-19)», затвердженими наказом Міністерства охорони здоров'я України від 20.05.2020 р. № 1227, використовується з метою відбору пацієнтів для госпіталізації. Якщо антитіла класу IgM до SARS-CoV-2 не виявлені (результат

негативний) пацієнт може бути госпіталізований до неінфекційного стаціонару за профілем патології.

Пацієнти з позитивним результатом на антитіла класу IgM до SARS-CoV-2, а також з сумнівним («сіра зона») підлягають дообстеженню методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) і отримують дозвіл на госпіталізацію лише за умови негативного результату ПЛР.

Дослідження антитіл класу IgG до SARS-CoV-2 спрямоване на виявлення реконвалесцентів COVID-19. Особи позитивні по IgG до SARS-CoV-2, але негативні по IgM є імунними, не становлять епідеміологічної небезпеки і можуть бути госпіталізовані до профільних неінфекційних підрозділів стаціонару.

Наявність антитіл обох класів свідчить про незакінчене формування імунної відповіді, пацієнт потребує дообстеження методом ПЛР.

Сероепідеміологічні дослідження рівнів анти-SARS-CoV-2 антитіл в певних групах населення дозволяють оцінити стан інфікованості, в тому числі безсимптомні випадки, формування колективного імунітету, напруженість імунітету шляхом повторних досліджень через визначені проміжки часу.

ВИСНОВКИ

В методичних рекомендаціях представлено практичні підходи до визначення антитіл до коронавірусу SARS-CoV-2 і запобігання можливому заносу інфекції в стаціонар на етапах підготовки до госпіталізації з приводу соматичної, психоневрологічної та іншої неінфекційної патології.

Детально викладено преаналітичний і аналітичний етапи дослідження, інтерпретацію отриманих результатів.

Сероепідеміологічні дослідження з використанням результатів оцінки анти-SARS-CoV-2 методом ІФА дають можливість відслідковувати рівень інфікованості обстеженої популяції і формування колективного імунітету.

Методичні рекомендації можуть бути впровадженні за умов наявності приладів для проведення ІФА.

ПЕРЕЛІК РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Постанова Кабінету Міністрів України від 11 березня 2020 року № 211 «Про запобігання поширенню на території України гострої респіраторної хвороби COVID-19, спричиненої коронавірусом SARS-CoV-2».
2. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 28 березня 2020 року № 722 «Стандарти медичної допомоги «Коронавірусна хвороба (COVID-19)».
3. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 20 квітня 2020 року № 1227 «Про затвердження Змін до Стандартів медичної допомоги «Коронавірусна хвороба (COVID-19)».
4. ДСТУ EN ISO 15189: 2015 «Медичні лабораторії. Вимоги до якості та компетенції»
5. Закон України «Про протидію поширенню хвороб, зумовлених вірусом імунодефіциту людини (ВІЛ) та правовий та соціальний статус людей, які живуть із ВІЛ».
6. Наказ Міністерства охорони здоров'я України від 21.09.2010 року № 798. « Про затвердження методичних рекомендацій “Хірургічна та гігієнічна обробка рук медичного персоналу.”»