

## ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА НОВОЙ КОРОНАВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ COVID-19 В МОСКОВСКОМ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОМ ЦЕНТРЕ БОРЬБЫ С ТУБЕРКУЛЕЗОМ ДЕПАРТАМЕНТА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ

*М.А. Краснова, А.И. Исакова, С.Н. Халина, С.Г. Сафонова*  
 ГБУЗ «Московский научно-практический центр борьбы с туберкулезом  
 Департамента здравоохранения города Москвы»

## LABORATORY DIAGNOSTICS OF A NEW CORONAVIRUS INFECTION COVID-19 AT THE MOSCOW RESEARCH AND CLINICAL CENTER FOR TUBERCULOSIS CONTROL OF THE MOSCOW GOVERNMENT HEALTH DEPARTMENT (MRCCTC).

*M.A. Krasnova, A.I. Isakova, S.N. Khalina, S.G. Safonova*

Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 6 от 13.03.2020 г. «О дополнительных мерах по снижению рисков распространения COVID-19» утверждена возможность выявления SARS-Cov-2 на базе лабораторий, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с III–IV группой патогенности с использованием методов, не предполагающих выделение возбудителя с требованием к администрации медицинских учреждений обеспечить лабораторную диагностику новой коронавирусной инфекции в условиях ухудшения эпидемической обстановки в РФ и, в частности, в Москве. Перед МНПЦ борьбы с туберкулезом была поставлена задача организации, оснащения и обеспечения работы ПЦР-лаборатории для выявления SARS-Cov-2 в диагностическом материале сотрудников и пациентов центра, а также лиц с подозрением на COVID-19, обследованных с привлечением мобильных бригад скорой медицинской помощи. Для этого в кратчайшие сроки на базе корпуса № 24 Клиники № 2 был разработан и успешно реализован план реконструкции и оснащения ПЦР-лаборатории для диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19.

**Ключевые слова:** COVID-19, лабораторная диагностика

Коронавирус SARS-Cov-2 относится к порядку *Nidovirales*, *Coronaviridae*, *Coronavirinae*, *Betacoronavirus*, *Sarbecovirus*; его вирион – рибонуклеопротеин с оболочкой. Геном представлен (+)РНК размером до 30 000 нуклеотидов. Особенностью вирусов с (+)РНК-геномом является то, что их геном – это мРНК, которая, попав в цитоплазму клетки, сразу связывается с рибосомами. Таким образом, инфекционный цикл начинается с процесса трансляции, соответственно, непосредственно сами геномные РНК инфекционны даже в случае их депротенизации [1, 7].

*In the context of a worsening epidemic situation in the Russian Federation and, in particular, in Moscow the MRCCTC was tasked with organizing, equipping and maintaining a PCR laboratory to detect SARS-Cov-2 in the diagnostic material of the center's employees and patients, as well as persons with suspected COVID-19 examined with the involvement of mobile ambulance teams. For this, in the shortest possible time a plan was developed and successfully implemented for the reconstruction and equipment of a PCR laboratory for the diagnosis of new coronavirus infection COVID-19.*

**Key words:** COVID-19, laboratory diagnostic

Исходя из пункта 2 приложения № 3 СП 1.3.3118-13 № 64 для работы с микроорганизмами I–II группы патогенности от 15.08.2014 г., коронавирус SARS-Cov-2 отнесен ко II группе патогенности (особо опасные инфекции), что обуславливает и ограничивает проведение лабораторных исследований в соответствии с требованиями биобезопасности для патогенных биологических агентов (ПБА) I–II групп в лабораториях с соответствующим санитарно-эпидемиологическим заключением [4].

В конце января 2020 года ВОЗ объявила новую коронавирусную инфекцию COVID-19 чрезвычайной ситуацией в области

общественного здравоохранения, имеющей международное значение. А 11.03.2020 ВОЗ расценила распространение вируса в мире как пандемию [6, 8].

Постановлением Главного государственного санитарно-го врача Российской Федерации № 6 от 13.03.2020 «О дополнительных мерах по снижению рисков распространения COVID-19» утверждена возможность выявления SARS-CoV-2 на базе лабораторий, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с III–IV группой патогенности с использованием методов, не предполагающих выделение возбудителя, с требованием к администрации медицинских учреждений обеспечить лабораторную диагностику новой коронавирусной инфекции в условиях ухудшения эпидемической обстановки в Российской Федерации и, в частности, в городе Москве [2].

В связи с вышеизложенным руководством Московского научно-практического центра борьбы с туберкулезом (МНПЦ борьбы с туберкулезом) была поставлена задача организации, оснащения и обеспечения работы ПЦР-лаборатории для выявления SARS-CoV-2 в диагностическом материале сотрудников и пациентов центра, а также лиц с подозрением на COVID-19, обследованных с привлечением мобильных бригад скорой медицинской помощи. Для этого в кратчайшие сроки были привлечены немедицинские службы: инженерная, противопожарная, информационная, служба оснащения, контрактная, а также медицинские и научные подразделения: эпидемиологии, клинико-диагностическая лаборатория Клиники № 2 и отдел проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии МНПЦ борьбы с туберкулезом.

Были определены первоочередные задачи:

1. Подбор и обучение кадров, составление графика рабочего времени.
2. Реконструкция и организация лаборатории (на базе ПЦР-лаборатории Клиники № 2 для работы с ПБА III–IV групп) в соответствии с требованиями биобезопасности ПБА I–II групп патогенности.
3. Оснащение лаборатории оборудованием, средствами индивидуальной защиты (СИЗ), лабораторной мебелью, расходными материалами и тестами.

## Подбор и обучение кадров, график рабочего времени

Штат лаборатории укомплектовали сотрудниками из подразделений и филиалов МНПЦ борьбы с туберкулезом. Коллектив ПЦР-лаборатории прошел очное и онлайн-обучение

по специализированным сертификационным программам ФБУЗ «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека и ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России.

Исходя из методологии, количества и маршрутизации диагностического материала был определен оптимальный рабочий график, представленный сменной работой по 24 часа семь дней в неделю. В штат лаборатории было включено четыре смены по три человека: лабораторный медицинский техник (прием материала), лабораторный медицинский техник (пробоподготовка и выделение РНК) и врач/биолог клинической лабораторной диагностики (обнаружение фрагментов нуклеиновых кислот коронавируса SARS-CoV-2 методом обратной транскрипции, совмещенной с полимеразной цепной реакцией в реальном времени – ОТ-ПЦР-РВ, внесение результатов в учетные формы).

## Реконструкция и организация лаборатории в соответствии с требованиями биобезопасности ПБА I–II групп патогенности

Важно отметить, что, несмотря на разрешение Роспотребнадзора организовывать лабораторную диагностику SARS-CoV-2 на базе лабораторий для ПБА III–IV групп, возбудитель не перестает относиться к ПБА II группы, что обуславливает обеспечение работы с соблюдением требований биобезопасности для I–II групп патогенности (особо опасные инфекции). Опосредованно эта необходимость подкреплена и юридическими актами, утверждающими биобезопасность одной из приоритетных задач развития Российской Федерации, а именно указом Президента России от 11 марта 2019 г. № 97 «Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу» [3] и Уголовным кодексом Российской Федерации (статья 248. Нарушение правил безопасности при обращении с микробиологическими либо другими биологическими агентами или токсинами) [5].

В соответствии с СП 1.3.3118-13 № 64 для работы с I–II группой патогенности от 15.08.2014, обобщенную схему лаборатории можно представить в виде крыла красной зоны, где происходит непосредственно работа с ПБА, и крыла зеленой (чистой) зоны, отделенной санпропускником, оборудованным душем (рис. 1).



Рис. 1. Обобщенная схема лаборатории, работающей с патогенными биологическими агентами (ПБА)

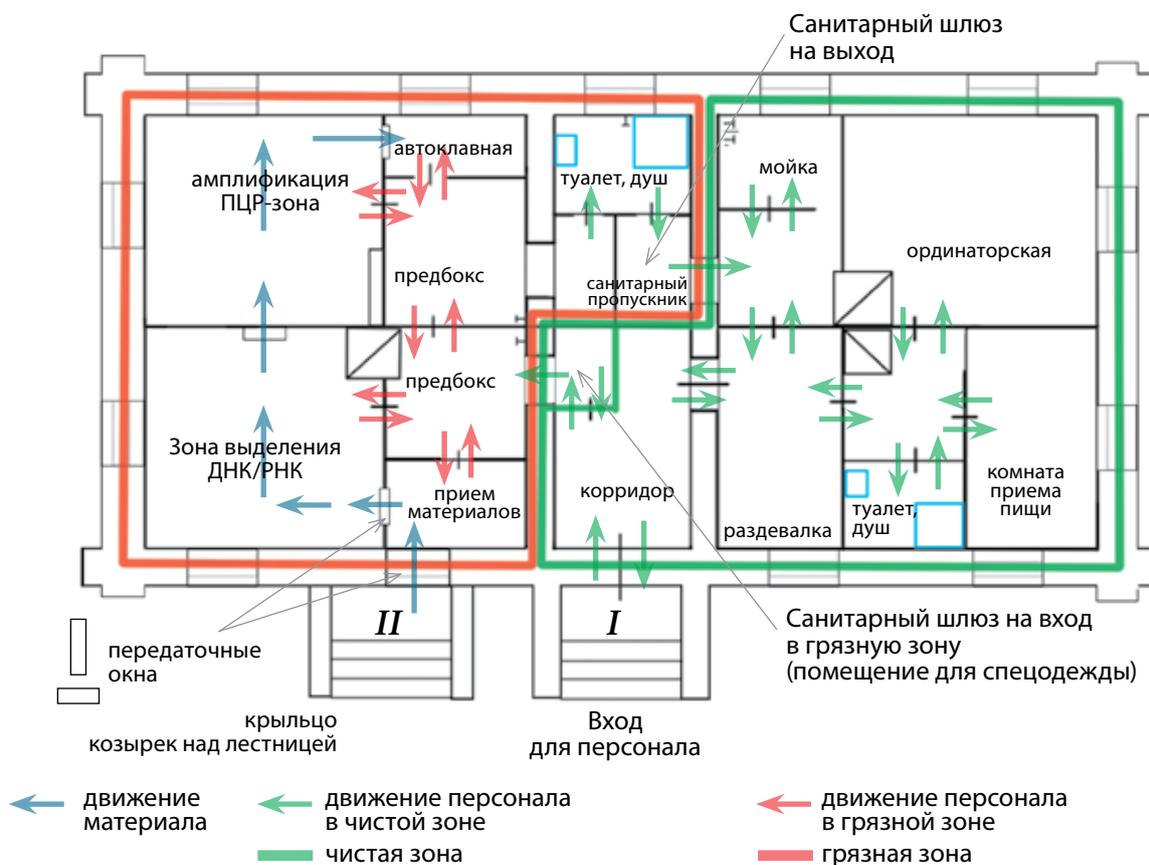


Рис. 2. План ПЦР-лаборатории МНПЦ борьбы с туберкулезом для выявления SARS-CoV-2

Исходя из архитектурных и инженерных особенностей корпуса № 24 Клиники № 2 МНПЦ борьбы с туберкулезом, был разработан и реализован план реконструкции и оснащения ПЦР-лаборатории для диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19 в соответствии с вышеуказанными нормативными документами. План ПЦР-лаборатории для выявления SARS-CoV-2 с зонированием и движением материала и персонала представлен на рисунке 2.

**Красная зона**

Вход в красную зону возможен только через санитарный шлюз, где осуществляется хранение и надевание СИЗ. Шлюз укомплектован аварийной аптечкой ПБА I-II группы патогенности, аварийной аптечкой по ВИЧ-инфекции, запасом СИЗ, зеркалом для контроля надевания СИЗ (рис. 3 и 4).

В рабочей зоне № 1 проходят прием, регистрация и разбор диагностического материала. Материал доставляют



Рис. 3. Вход в красную зону



Рис. 4. Санитарный шлюз



Рис. 5. Прием материала. Передаточный шлюз

в лабораторию со стороны улицы через передаточное окно в контейнерах (тройная упаковка) для патогенов III группы патогенности. В помещении рабочей зоны № 1 проводят удаление третичной упаковки, а удаление вторичной упаковки и разбор проб осуществляют в ламинарном шкафу биологической защиты II класса (рис. 5 и 6).



Рис. 6. Рабочая зона № 1

В рабочей зоне № 2 осуществляют пробоподготовку и выделение РНК. Необходимо отметить, что выделение РНК ПБА возможно только в боксах биологической защиты II класса. Также помещение может быть оснащено кондиционером для использования вне работы с ПБА (рис. 7).



Рис. 7. Рабочая зона № 2

В рабочей зоне № 3 проводят непосредственные ПЦР-исследования путем амплификации проб РНК, выделенных в зоне № 2. Сборку реакционной смеси проводят в ПЦР-боксе, а внесение инфектной РНК – в ламинарном шкафу биологической защиты II класса (рис. 8). Проведение ОТ-ПЦР-РВ осуществляется в планшетном амплификаторе С1000 (BioRad, США) с оптическим модулем CFХ96 (BioRad, США) (рис. 9).

Очень важным является соблюдение условия, что движение биоматериала внутри красной зоны между рабочими помещениями возможно строго через систему передаточных окон, что и было реализовано в ПЦР-лаборатории МНПЦ борьбы с туберкулезом (рис. 10).

Пре- и постаналитические этапы включают в себя регистрацию проб биологического материала и внесение результатов исследования в систему ЕМИАС.



Рис. 8. Рабочая зона № 3



Рис. 9. Проведение ОТ-ПЦР-РВ в планшетном амплификаторе



Рис. 10. Система передачочных окон



Рис. 13. Ординаторская



Рис. 11. Санпропускник. Контейнеры для использованных СИЗ, дезинфекционный раствор и спиртовой антисептик



Рис. 12. Санпропускник. Душевая кабина



Рис. 14. Приточно-вытяжная система вентиляции

Выход из красной зоны осуществляется через санпропускник, где производят смену СИЗ и санитарный душ. Санпропускник укомплектован контейнерами для использованных СИЗ, дезинфицирующим раствором, спиртовым антисептиком и душевой кабиной (рис. 11 и 12).

## Зеленая зона

Зеленая чистая зона предназначена для работы в отсутствии ПБА и в первую очередь связана с заполнением лабораторной отчетности и представлена ежедневными отчетами и реестрами (рис. 13):

- по количеству материала и его территориальной принадлежности;
- по количеству положительных результатов;
- по количеству проведенных исследований;
- по остатку тест-систем;
- по положительным пробам для референс-центра.

Отдельно нужно отметить необходимость организации приточно-вытяжной системы вентиляции, соответствующей требованиям. Вентиляция должна быть паспортизирована и оборудована фильтрами очистки воздуха H13 или H14 класса с ежегодной проверкой эффективности. В рабочей зоне № 1 и

№ 2 вытяжка должна преобладать над притоком, а в рабочей зоне № 3 вытяжка соответствует притоку (рис. 14).

## Оснащение лаборатории оборудованием, средствами индивидуальной защиты (СИЗ), лабораторной мебелью, расходными материалами и тестами

Лаборатория укомплектована всем необходимым для применения ручных методик выделения нуклеиновых кислот и постановки ОТ-ПЦР-РВ как за счет имевшегося оборудования, так и за счет экстренных закупок, осуществленных медицинско-инженерной и контрактной службами центра в период пандемии и, соответственно, дефицита.

Обеспечение лаборатории тест-системами для определения РНК SARS-Cov-2 осуществляется централизованно через подразделения Департамента здравоохранения г. Москвы.

Благодаря сплоченной работе коллектива в кратчайшие сроки был реализован значимый для МНПЦ БТ проект ПЦР-лаборатории для обеспечения диагностики новой коронавирусной инфекции COVID-19. В настоящее время лаборатория успешно выполняет поставленные перед ней задачи и провела более 30 000 исследований.

*Благодарность: являясь непосредственным участником организации и реализации проекта лаборатории и проработав в ней три месяца, автор выражает благодарность всем сотрудникам немедицинских подразделений центра и эпидемиологам, задействованным в создании и обеспечении всем необходимым нашей лаборатории, а также докторам, биологам, медицинским техникам и младшему медицинскому персоналу, участвующим, несмотря на все трудности, в бесперебойной ежедневной круглосуточной работе по выявлению РНК SARS-Cov-2.*

*М.А. Краснова*

## Литература

1. Новикова Н.А. Молекулярные аспекты взаимодействия вирусов с клеткой: Учебное пособие. – Нижний Новгород: Изд-во ННГУ им. Н.И. Лобачевского, 2015. – 87 с.
2. О дополнительных мерах по снижению рисков распространения COVID-19: постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации. [Электронный ресурс] URL: <https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/1d4/postanovlenie-6.pdf>. (Дата обращения 01.11.2020).
3. Об Основах государственной политики Российской Федерации в области обеспечения химической и биологической безопасности на период до 2025 года и дальнейшую перспективу: указ Президента Российской Федерации от 11 марта 2019 г. № 97. [Электронный ресурс] URL: <http://base.garant.ru/72192478/> (Дата обращения 01.11.2020).
4. Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.3118-13 «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)»: постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации. [Электронный ресурс] URL: [https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT\\_ID=3552](https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=3552). (Дата обращения 01.11.2020).
5. Уголовный кодекс Российской Федерации. Глава 26. Экологические преступления. Статья 248. Нарушение правил безопасности при обращении с микробиологическими либо другими биологическими агентами или токсинами. [Электронный ресурс] URL: <http://base.garant.ru/10108000/65eb3e9f0171e6530f8f4e4bf22b508c/> (Дата обращения 01.11.2020).
6. Хронология действий ВОЗ по борьбе с COVID-19 [Электронный ресурс] URL: <https://www.who.int/ru/news/item/29-06-2020-covidtimeline> <https://www.who.int/ru/news/item/29-06-2020-covidtimeline>. (Дата обращения 01.11.2020).
7. Щелканов М.Ю., Попова А.Ю., Дедков В.Г., Акимкин В.Г., Малеев В.В. История изучения и современная классификация коронавирусов (Nidovirales: Coronaviridae) // Инфекция и иммунитет. – 2020. – Т. 10. – № 2. – С. 221-246.
8. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) Situation Report – 39: WHO report. [Электронный ресурс] URL: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200228-sitrep-39-covid-19.pdf?sfvrsn>. (Дата обращения 01.11.2020).

## Сведения об авторах

**Краснова Мария Александровна** – ведущий научный сотрудник отдела проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», кандидат медицинских наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. 8 (495) 603-30-33

e-mail: dna77@mail.ru

**Исакова Александра Ивановна** – врач клинической лабораторной диагностики Централизованной бактериологической лаборатории туберкулеза ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. 8 (499) 268-70-33, тел./факс 8 (499) 785-20-82

**Халина Светлана Николаевна** – заведующая клинико-диагностической лабораторией Клиники № 2 ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы»

Адрес: 111024, г. Москва, ул. Барболина, д. 3

Тел. 8 (499) 268-69-76

e-mail: khalina.s@mail.ru

**Сафонова Светлана Григорьевна** – заведующая отделом проблем лабораторной диагностики туберкулеза и патоморфологии ГБУЗ города Москвы «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы», доктор биологических наук

Адрес: 107014, г. Москва, ул. Стромынка, д. 10

Тел. 8 (499) 268-08-76

e-mail: safonova.s.g@inbox.ru