



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ
ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
**ЦЕНТРАЛЬНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ**
(ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора)

ОКПО 01897593 ОГРН 1027700046615 ИНН/КПП 7720024671/772001001

111123, Москва, ул. Новогиреевская 3а

тел. (495) 672-10-69, факс (495) 304-22-09, e-mail: crie@pcr.ru, www.crie.ru

Москва

10.12.2019

№ 03/424

Главному внештатному специалисту
Минздрава России по клинической
лабораторной диагностике
д.м.н., профессору
Кочетову А.Г.

Директору
НИИ дезинфектологии
Роспотребнадзора
д.м.н., профессору
Шестопалову Н.В.

О проблеме
деконтаминации помещений
ПЦР-лабораторий

Информационное письмо

Одной из самых актуальных проблем микробиологических отделений лечебно-профилактических организаций во всем мире является контаминация лабораторных помещений микроорганизмами, продуктами их жизнедеятельности, токсинами и, в том числе, нуклеиновыми кислотами, распространение которых приобретает значимость на участках постановки полимеразных цепных реакций (ПЦР). Реакция ПЦР – высокочувствительный метод, теоретически позволяющий обнаруживать наличие всего одной копии фрагмента ДНК искомого микроорганизма в присутствии миллионов других молекул, что делает совершенно необходимым особенно тщательное устройство ПЦР-лаборатории и выдвигает на первый план проблему попадания из внешней среды в реакционную смесь молекул ДНК, способных служить мишенями в реакции амплификации и давать ложноположительные результаты.

Попадание в реакционную пробирку следовых количеств положительной ДНК (специфических продуктов амплификации ДНК -

ампликонов; ДНК-стандарта, используемого в качестве положительного контроля; положительной ДНК клинического образца) приводит к амплификации в процессе ПЦР специфического фрагмента ДНК и, как следствие, к появлению ложноположительных результатов.

В процессе работы могут встретиться два вида контаминации:

1) перекрестная контаминация от пробы к пробе (в процессе обработки клинических образцов или при раскапывании реакционной смеси), приводящая к появлению спорадических ложноположительных результатов;

2) контаминация продуктами амплификации (ампликонами), имеющая наибольшее значение, т.к. в процессе ПЦР ампликоны накапливаются в огромных количествах и являются идеальными продуктами для реамплификации.

Как правило, определить источник контаминации бывает очень трудно и требует значительных затрат времени и средств. Существует несколько способов борьбы с этим неприятным явлением. Одним из них является использование фотохимического воздействия на молекулы ДНК. Для этого используют псорален или изопсорален, которые активируются кратковременным облучением ультрафиолетовым светом. Модифицированные этими соединениями молекулы ДНК не могут участвовать в реакции амплификации.

Однако, как известно, ни одна биологическая или химическая реакция не идёт со 100% эффективностью и, соответственно, после инактивации продуктов амплификации из миллиардов копий амплифицированного фрагмента хотя бы несколько останутся целыми, что существенно снижает ценность такого подхода. Кроме того, всегда остается риск кросс-контаминации от образца к образцу в процессе пробоподготовки.

Таким образом, этот метод лишь в некоторой степени позволяет устранить источник контаминации и не гарантируют от ложноположительных результатов.

Накопленный к настоящему времени опыт работы лабораторий, использующих метод ПЦР для диагностики, позволяет сформулировать основные требования к организации таких лабораторий, проведению самих анализов и процессу обеззараживания помещений.

В методических указаниях от 4 марта 2004 года «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III - IV групп патогенности» написано, что в возникновении контаминации лаборатории проводят следующие мероприятия (Прилож. 3):

- утилизацию всех находящихся в "контаминированной" зоне реактивов;
- утилизацию исследуемых материалов на всех промежуточных стадиях обработки (кроме исходной);
- генеральную уборку, химическую и ультрафиолетовую дезинфекцию всех поверхностей лабораторных помещений;

- дезинфекцию мебели, рабочих поверхностей, а также поверхностей корпусов приборов и оборудования химическим методом и ультрафиолетовым излучением.

Исходя из данных МУ, а также Методических указаний по применению бактерицидных ламп для обеззараживания воздуха и поверхностей в помещениях №11-16/03-06 от 28.02.95, рабочие помещения лаборатории ПЦР должны быть оснащены ультрафиолетовыми лампами с максимумом излучения в области 260 нм (типа ДБ-60) из расчета 2,5 Вт на 1 м³, облучение которыми, с целью обработки помещений и рабочих поверхностей, необходимо проводить в течение 1 часа до начала работы и в течение 1 часа после окончания работы. При этом проведение ПЦР-исследований до завершения деконтаминационных мероприятий не допускается.

В современных условиях ввиду стремительного распространения как количества ПЦР-лабораторий, так и производительности анализов внутри каждой лаборатории (более 40 млн исследований в год в РФ, 2013), столь длительное «простаивание» лаборатории является фактором лимитирующим количество, а часто и качество ПЦР-анализов. В этой связи, совершенствование мероприятий, направленных на инактивацию молекул ДНК, в воздухе и на рабочих поверхностях лаборатории является крайне актуальной задачей.

До сих пор основным типом оборудования для физической дезинфекции помещений ПЦР-лабораторий являются ультрафиолетовые облучатели открытого типа, источником монохромного излучения в которых являются ртутные лампы низкого давления. Данная ультрафиолетовая технология широко используемая для обеззараживания воздуха помещений, исключает открытые поверхности, что нашло отражение в требованиях Руководства Р 3.5.1904-04 «Использование ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха в помещениях». Кроме того, по мнению большого числа пользователей, они недостаточно эффективны в отношении не только продуктов ПЦР, но и микроорганизмов, обладающих высокой степенью устойчивости, в частности, резистентных госпитальных штаммов, плесневых грибов, что снижает биоцидную эффективность обеззараживания воздуха в помещениях.

В связи с этим, необходимо отметить появление новой современной инновационной технологии – импульсной плазменно-оптической технологии, основанной на облучении объектов (воздуха, открытых поверхностей) высокоинтенсивными потоками ультрафиолетового излучения сплошного спектра (УФИСС). На основе этой технологии созданы и внедрены в практического здравоохранение импульсные ультрафиолетовые установки с ксеноновыми лампами для оперативного обеззараживания помещений. Установки характеризуются высокой эффективностью в отношении широкого спектра микроорганизмов всех рангов природной устойчивости независимо от этапов и стадий их развития и распространения. Они предназначены для работы в отсутствие людей, обладают экологической безопасностью, имеют

автоматический контроль управления процессом обеззараживания, возможность дистанционного управления, что особенно важно для обеспечения удобства и безопасности обслуживающего персонала. Ультракороткое время обработки помещения позволяет их использовать в случаях, требующих проведения экстренной (неотложной) дезинфекции.

В исследованиях, проведенных ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора совместно с ФГБУ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева МЗ РФ (ФНКЦ ДГОИ им. Д. Рогачева МЗ РФ), было показано, что технология обработки помещения лаборатории, проводящей ПЦР-исследования, с применением УФ установки с ксеноновой лампой генерирующей импульсное высокоинтенсивное УФИСС, обеспечивает более чем 3х-кратное сокращение количества ложноположительных результатов. Так, эффективность технологии УФИСС в отношении разрушения продуктов ПЦР исследовали в лаборатории молекулярной биологии ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева. В течение 1 месяца импульсную УФ установку с ксеноновой лампой включали на 10 минут перед началом работы ПЦР-лаборатории, еженедельно тестирующей около 200 образцов биоматериала пациентов на более чем 50 видов различных возбудителей, вирусной и бактериальной природы. В результате применения данной установки, количество ложноположительных результатов уменьшилось с 57 до 16 случаев.

При экспериментальном изучении механизма инактивации ампликонов под влиянием УФИСС было установлено, что кратковременное облучение ДНК-ампликонов, находящихся в различном физическом состоянии (раствор, сухое вещество) приводит к полной инактивации ампликона. После облучения УФИСС, ДНК - ампликоны полностью утрачивали способность выступать в качестве матрицы в специфичной к данному ампликону реакции ПЦР. Изучение механизма инактивации методом масс-спектрометрии (МАЛДИ-ТОФ) позволило установить, что ведущим механизмом инактивации является фрагментация молекулы ДНК-ампликона.

Таким образом, использование импульсных УФ установок с ксеноновыми лампами позволяет:

- обеспечить безопасность сотрудников бактериологических лабораторий, работающих с биологическими агентами III - IV групп патогенности;
- проводить деkontаминацию помещений биологических лабораторий от всех видов микроорганизмов, включая их высокоустойчивые штаммы и полирезистентные формы, с эффективностью выше 99,9%;
- обеспечить качество и надежность проведения пробоподготовки и ПЦР-анализа в результате высокоэффективной инактивации микробиологических загрязнителей;
- существенно снизить количество ложноположительных реакций при постановке ПЦР-анализов;

- увеличить пропускную способность (производительность) ПЦР-лабораторий за счет значительного сокращения времени на дезинфекционную обработку.

Очевидно, что новая импульсная плазменно-оптическая технология и установки на ее основе являются значительно более эффективным, надежным и удобным в эксплуатации средством обработки лабораторий по сравнению с другими существующими методами.

Директор института,
академик РАМН, профессор



В.И. Покровский

Зав. лабораторией инфекций, связанных с
оказанием медицинской помощи, д.м.н.

А.В. Тутельян