

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

УТВЕРЖДАЮ



Ректор

д.м.н., профессор

/ О.А. Башкина/

04 _____ 2020 г.

**ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ПРОФЕССИОНАЛЬНАЯ ПРОГРАММА
ПОВЫШЕНИЯ КВАЛИФИКАЦИИ**

«Этиологическая (специфическая) лабораторная диагностика COVID-19»

По специальности
«Клиническая лабораторная диагностика»
(срок освоения 36 академических часов)

Астрахань 2020

I. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Введение. Коронавирусная болезнь 2019 года (COronaVIrus Disease 2019), сокращенно обозначаемая как COVID-19, является в настоящее время последней «биологической угрозой», распространенность которой приняла масштабы пандемии. COVID-19 вызывает вирус, содержащий одноцепочечную (+)РНК, принадлежащий к семейству Coronaviridae, названный как «коронавирус-2 тяжелого острого респираторного синдрома» (SARS-CoV-2). Первоначально он назывался «Новый коронавирус 2019 года» или «2019-nCoV».

SARS-CoV-2 имеет высокую идентичность последовательности РНК с РНК гомологичного вируса SARS-CoV, который вызвал вспышку тяжелого острого респираторного синдрома (ТОРС или SARS) в 2003 году. Структурный анализ генома SARS-CoV-2 показал, что SARS-CoV-2, наиболее вероятно, произошел от SARS-подобного коронавируса летучей мыши, который стал патогенным для человека в результате мутаций генов, кодирующих гликопротеин (белок S), образующий шипы вируса, и нуклеокапсидный белок N. Мутация, которая произошла в белке S, особенно важна, так как гликопротеиновый шип вируса опосредует проникновение вируса в клетку через связывание с рецептором клетки и слияние мембран. С другой стороны, белок N регулирует процесс репликации вируса, влияя таким образом на транскрипцию и сборку вирусных частиц. В целом мутации в этих двух белках объясняют уникальные свойства SARS-CoV-2 по сравнению с исходным SARS-CoV, а именно: повышенную инвазивность в сочетании с относительно уменьшенной патогенностью. Геном SARS-CoV-2 с большой вероятностью также включает фрагменты генома коронавируса панголина. При этом участки генома SARS-CoV-2, сходные с геномом летучей мыши, более консервативны, а участки генома SARS-CoV-2, соответствующие генетическим последовательностям коронавируса панголина, значительно менее консервативны, то есть более вариабельны.

В настоящее время выделено три основных генетически отличающихся варианта (типа) SARS-CoV-2: А с двумя подтипами (Т-аллель и С-аллель), В и С. Варианты А и С чаще встречаются за пределами Восточной Азии, то есть у европейцев и американцев. Вариант В наиболее распространен в Восточной Азии.

Благодаря меньшей патогенности SARS-CoV-2 по сравнению с SARS-CoV и MERS-CoV COVID-19 отличается от ранее зарегистрированных тяжелых коронавирусных инфекций (SARS и MERS) более длительным инкубационным периодом, во время которого инфицированный человек является заразным, что увеличивает риск заражения других людей.

Установлено, что до введения широкомасштабных ограничений как карантинных мер в Китае источники инфицирования SARS-CoV-2 не выявлялись в 79% зарегистрированных случаев.

В связи с вышеизложенным, а также из-за отсутствия вакцин и достаточно эффективных этиотропных методов лечения COVID-19, самыми действенными в настоящее время мерами для снижения распространения SARS-CoV-2 являются раннее выявление и изоляция зараженных пациентов, что возможно только при эффективной этиологической диагностике COVID-19.

Мировой опыт этиологической диагностики COVID-19 доказывает необходимость сочетания молекулярно-генетических и специфических иммунологических лабораторных тестов.

В различных странах для выявления РНК SARS-CoV-2 широко применяются методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК): полимеразная цепная реакция с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и изотермальная (изотермическая) амплификация, том числе петлевая изотермическая амплификация (LAMP). Для проведения исследований с использованием МАНК выпускаются как наборы, предназначенные для лабораторного использования, так и тест-системы, и устройства, позволяющие проводить диагностику инфицирования SARS-CoV-2 вне лабораторий, на месте оказания помощи (Point-of-Care – POC).

Достаточно широко в КНР, США, странах ЕС и Великобритании для выявления специфических антител против антигенов SARS-CoV-2 используются иммуноферментный анализ (ИФА) и индивидуальные POC-устройства для иммунохроматографического анализа (ИХА).

Разработанные наборы и тест-системы имеют различные показания к их применению для диагностического тестирования.

Существенную проблему этиологической (специфической) диагностики COVID-19 составляют ложноположительные и ложноотрицательные результаты исследований, которые могут быть связаны как с объективными факторами (изменчивостью вируса, развитием инфекционного процесса, чувствительностью и специфичностью наборов и тест-систем), так и с субъективными факторами (ошибками при выполнении операционных процедур на преаналитических и аналитических этапах исследований, неправильным выбором методов исследований).

Согласно СП 1.3.2322-08, СП 1.3.3118-13, СП 1.2.036-95, МУ 1.3.1877-04, МУ 1.3.2569-09, утвержденным Минздравом России «Временным методическим рекомендациям «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19)», изданным Роспотребнадзором «Временным рекомендациям по лабораторной диагностике новой коронавирусной инфекции, вызванной 2019-nCoV», «Инструкции об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-2019)» необходимо соблюдать меры безопасности при получении, транспортировке, хранении и использовании для специфических исследований биологического материала, полученного от лиц с симптомами COVID-19, реконвалесцентов или потенциально инфицированных SARS-CoV-2.

В связи с высокой значимостью для предотвращения распространения COVID-19 широкомасштабного обследования населения России на

инфицирование SARS-CoV-2, которое может быть реализовано только при подключении лабораторий медицинских организаций, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека III – IV групп патогенности и условия для работы, необходима подготовка специалистов в области клинической лабораторной диагностики, способных эффективно применять МАНК, ИФА и ИХА для этиологической (специфической) диагностики COVID-19 на основе создания новых циклов ДПО.

Программа может быть использована для обучения врачей по специальности «Клиническая лабораторная диагностика».

Цель дополнительной профессиональной программы повышения квалификации врачей по специальности «Клиническая лабораторная диагностика» (далее - программа) в соответствии с положениями частей 1 и 4 статьи 76 Федерального закона «Об образовании в Российской Федерации» ФЗ-273 от 29.12.2012, приказа Минздрава России от 14.04.2020 № 327н заключается в удостоверении образовательных и профессиональных потребностей, профессионального развития человека, обеспечении соответствия его квалификации меняющимся условиям профессиональной деятельности и социальной среды, в том числе условиям этиологической (специфической) диагностики COVID-19.

Данная программа направлена на совершенствование имеющихся и получение новых компетенций, необходимых для профессиональной деятельности, и повышение профессионального уровня в рамках имеющейся квалификации.

Трудоемкость освоения – 36 академических часов (1 академический час равен 45 минутам).

Условия реализации дополнительной профессиональной программы повышения квалификации «Этиологическая (специфическая) лабораторная диагностика COVID-19» включают:

- учебно-методическую документацию и материалы по всем разделам (модулям) специальности;
- материально-технические базы, обеспечивающие организацию всех видов дисциплинарной подготовки:
 - учебные аудитории, оснащенные материалами и оборудованием для проведения учебного процесса;
 - клинические базы в медицинских организациях Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Для формирования профессиональных компетенций, необходимых для проведения профильной помощи (диагностических исследований) в программе отводятся часы на стажировку (практическую отработку навыков) в организациях, расположенных по следующим адресам:

- г. Астрахань, Началовское шоссе, 9;
- г. Астрахань, Началовское шоссе, 7;

г. Астрахань, ул. Белгородская, 7;
г. Астрахань, ул. Кубанская, 3;
г. Астрахань, ул. Чкалова, 80.

II. ПЛАНИРУЕМЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ОБУЧЕНИЯ

Выпускник программы должен обладать **профессиональными компетенциями:**

в профилактической деятельности:

– готовность к осуществлению комплекса мероприятий, направленных на сохранение и укрепление здоровья, а также включающих в себя формирование здорового образа жизни, предупреждение возникновения и (или) распространения заболеваний, их раннюю диагностику, выявление причин и условий их возникновения и развития, а также направленных на устранение вредного влияния на здоровье человека факторов среды его обитания (ПК-1);

в диагностической деятельности:

– готовность к определению у пациентов патологических состояний, симптомов, синдромов заболеваний, нозологических форм в соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (ПК-5);

– готовность к применению диагностических клинико-лабораторных методов исследований и интерпретации их результатов (ПК-6).

Профессиональный стандарт «Специалист в области клинической лабораторной диагностики», регистрационный номер 1117, код 02.032 (утв. приказом Минтруда России от 14.03.2018 № 145н).

Трудовые функции, входящие в профессиональный стандарт (функциональная карта вида профессиональной деятельности)

Обобщенные трудовые функции			Трудовые функции		
код	наименование	уровень квалификации	наименование	код	уровень (подуровень) квалификации
А	Выполнение, организация и аналитическое обеспечение клинических лабораторных исследований третьей категории сложности	7	Организация контроля качества клинических лабораторных исследований третьей категории сложности на преаналитическом, аналитическом и постаналитическом этапах исследований	А/01.7	7
			Освоение и внедрение новых методов клинических лабораторных исследований и медицинских изделий для диагностики <i>in vitro</i>	А/02.7	7
			Выполнение клинических лабораторных исследований третьей категории сложности	А/03.7	7
			Внутрилабораторная валидация результатов клинических лабораторных исследований третьей категории сложности	А/04.7	7
			Организация деятельности находящегося в распоряжении медицинского персонала лаборатории и ведение медицинской документации	А/05.7	7

В	Выполнение, организация и аналитическое обеспечение клинических лабораторных исследований четвертой категории сложности, консультирование медицинских работников и пациентов	8	Консультирование медицинских работников и пациентов	В/01.8	8
			Организационно-методическое обеспечение лабораторного процесса	В/02.8	8
			Выполнение клинических лабораторных исследований четвертой категории сложности	В/03.8	8
			Формулирование заключения по результатам клинических лабораторных исследований четвертой категории сложности	В/04.8	8
			Организация деятельности находящегося в распоряжении медицинского персонала лаборатории и ведение медицинской документации	В/05.8	8
			Оказание медицинской помощи пациентам в экстренной форме	В/06.8	8
			С	Организация работы и управление лабораторией	8
Управление материально-техническими, информационными и кадровыми ресурсами лаборатории	С/02.8	8			
Взаимодействие с руководством медицинской организации и структурными подразделениями медицинской организации	С/03.8	8			
Управление системой качества организации и выполнения клинических лабораторных исследований в лаборатории	С/04.8	8			
Планирование, организация и контроль деятельности лаборатории и ведение медицинской документации	С/05.8	8			
Оказание медицинской помощи в экстренной форме	С/06.8	8			

По окончании обучения врач клинической лабораторной диагностики должен знать:

1) методы молекулярно-генетической и специфической иммунологической лабораторной диагностики вирусных инфекций, в том числе COVID-19, их преимущества и недостатки, используемые клинические, биологические материалы, показания для тестирования;

2) место МАНК, ИФА и ИХА в диагностике вирусных инфекций, в том числе COVID-19;

3) принципы организации работы лаборатории, использующей МАНК, ИФА и ИХА для диагностики инфекций, вызванных микроорганизмами I – IV групп патогенности, без выделения возбудителя;

4) этапы исследований с использованием МАНК, ИФА и ИХА;

5) обеспечение безопасности и качества этиологической (специфической) диагностики вирусных инфекций, вызванных микроорганизмами I – IV групп патогенности.

По окончании обучения врач клинической лабораторной диагностики должен уметь:

1. организовать безопасную и качественную работу лаборатории, использующей МАНК, ИФА и ИХА для диагностики инфекций, вызванных микроорганизмами I – IV групп патогенности, без выделения возбудителя;

2. проводить исследования клинического, биологического материала с применением МАНК, ИФА и ИХА.

По окончании обучения врач клинической лабораторной диагностики должен владеть навыками:

1) сортировки, регистрации и первичной обработки образцов клинического, биологического материала, потенциально инфицированного микроорганизмами I – IV групп патогенности для проведения исследований с применением МАНК, ИФА и ИХА без выделения возбудителя;

2) анализа клинического, биологического материала с использованием МАНК, ИФА и ИХА в строгом соответствии со стандартным протоколом тестирования;

3) соблюдения правил безопасности работы и применения средств индивидуальной защиты в рабочих зонах лаборатории, использующей МАНК, ИФА и ИХА;

4) интерпретирования результатов исследований.

III. ТРЕБОВАНИЯ К ИТОГОВОМУ ЗАЧЕТУ

1. Итоговая аттестация по дополнительной профессиональной программе повышения квалификации врачей «Этиологическая (специфическая) лабораторная диагностика COVID-19» продолжительностью 36 академических часов по специальности «Клиническая лабораторная диагностика» проводится в форме зачета и должна выявлять теоретическую и практическую подготовку врача в соответствии с требованиями квалификационных характеристик и профессиональных стандартов.

2. Обучающийся допускается к итоговой аттестации после изучения учебных модулей в объеме, предусмотренном учебным планом дополнительной профессиональной программы повышения квалификации врачей продолжительностью 36 академических часа по специальности «Клиническая лабораторная диагностика».

3. Лица, освоившие дополнительную профессиональную программу повышения квалификации врачей продолжительностью 36 академических часов по специальности «Клиническая лабораторная диагностика» и успешно прошедшие итоговую аттестацию, получают документ установленного образца – Удостоверение о повышении квалификации.

IV. РАБОЧИЕ ПРОГРАММЫ УЧЕБНЫХ МОДУЛЕЙ

РАЗДЕЛ 1

Введение

Код	Наименования тем, элементов и подэлементов
1.1	Введение
1.1.1	Строение вириона SARS-CoV-2
1.1.2	Таксономическая и филогенетическая характеристика SARS-CoV-2. Взаимосвязь его генетических, инвазивных и патогенетических особенностей
1.1.3	Изменчивость генома, основные генотипы SARS-CoV-2 и их распространение
1.1.4	Особенности антигенов SARS-CoV-2. Иммунный ответ на коронавирусные инфекции

РАЗДЕЛ 2

Молекулярно-генетические и иммунологические методы исследований, используемые для этиологической (специфической) диагностики COVID-19

Код	Наименования тем, элементов и подэлементов
2.1	Молекулярно-генетические методы исследований, используемые для выявления РНК SARS-CoV-2
2.1.1	Секвенирование как метод изучения генома SARS-CoV-2 и его мутаций
2.1.2	Методы амплификации нуклеиновых кислот как основные методы этиологической диагностики COVID-19
2.2	Иммунологические методы выявления иммуноглобулинов, специфических к антигенам SARS-CoV-2
2.2.1	Иммуноферментный анализ (ИФА)
2.2.2	Иммунохроматографический анализ (ИХА)
2.3	Современные подходы к определению соответствия методов этиологической диагностики COVID-19 и тест-систем задачам их использования

РАЗДЕЛ 3

Организация этиологической (специфической) диагностики COVID-19

Код	Наименования тем, элементов и подэлементов
3.1	Алгоритмы обследования пациентов при этиологической диагностике COVID-19
3.2	Сбор, хранение и транспортировка диагностического материала
3.3	Направление на исследование для этиологической диагностики COVID-19
3.4	Наборы реагентов и оборудование, используемые для этиологической диагностики COVID-19
3.5	Обеспечение безопасности и качества этиологической диагностики COVID-19

РАЗДЕЛ 4

Стажировка

Код	Наименования тем, элементов и подэлементов
4.1	Прохождение инструктажа
4.2	Отработка навыков обеспечения безопасности при этиологической диагностике COVID-19
4.3	Отработка навыков выполнения этапов исследования проб на РНК SARS-CoV-2 при использовании МАНК
4.4	Отработка навыков использования ИФА

V. УЧЕБНЫЙ ПЛАН

Цель освоения дисциплины «Этиологическая (специфическая) лабораторная диагностика COVID-19» является систематизация и углубление профессиональных знаний, умений, навыков, освоение новых знаний, методик, обеспечивающих совершенствование профессиональных компетенций по вопросам этиологической (специфической) диагностики COVID-19.

Категория слушателей: врачи клинической лабораторной диагностики.

Трудоемкость освоения: 36 часов.

Форма обучения: очная форма обучения.

Режим занятий: 9 часов в день.

	Наименование разделов дисциплин и тем	Всего часов	В том числе		Форма контроля
			Лекции	СТЖ	
1.	Введение	9	9		Текущий контроль (тесты)
1.1	Введение		9		
1.1.1	Строение вириона SARS-CoV-2		2		
1.1.2	Таксономическая и филогенетическая характеристика SARS-CoV-2. Взаимосвязь его генетических, инвазивных и патогенетических особенностей		3		
1.1.3	Изменчивость генома, основные генотипы SARS-CoV-2 и их распространение		2		
1.1.4	Особенности антигенов SARS-CoV-2. Иммунный ответ на коронавирусные инфекции		2		
2.	Молекулярно-генетические и иммунологические методы исследований, используемые для этиологической (специфической) диагностики COVID-19	9	9		Текущий контроль (тесты)
2.1	Молекулярно-генетические методы исследований, используемые для выявления РНК SARS-CoV-2		4		
2.1.1	Секвенирование как метод изучения генома SARS-CoV-2 и его мутаций		2		
2.1.2	Методы амплификации нуклеиновых кислот как основные методы этиологической диагностики COVID-19		2		
2.2	Иммунологические методы выявления иммуноглобулинов, специфических к антигенам SARS-CoV-2		4		
2.2.1	Иммуноферментный анализ (ИФА)		2		
2.2.2	Иммунохроматографический анализ (ИХА)		2		
2.3	Современные подходы к определению соответствия методов этиологической диагностики COVID-19 и тест-систем задачам их использования		1		
3.	Организация этиологической (специфической) диагностики COVID-19	9	9		
3.1	Алгоритмы обследования пациентов при этиологической диагностике COVID-19		2		
3.2	Сбор, хранение и транспортировка		2		

	диагностического материала				
3.3	Направление на исследование для этиологической диагностики COVID-19		1		
3.4	Наборы реагентов и оборудование, используемые для этиологической диагностики COVID-19		2		
3.5	Обеспечение безопасности и качества этиологической диагностики COVID-19		2		
4.	Стажировка	9		9	
4.1	Прохождение инструктажа			3	
4.2	Отработка навыков обеспечения безопасности при этиологической диагностике COVID-19			2	
4.3	Отработка навыков выполнения этапов исследования проб на РНК SARS-CoV-2 при использовании МАНК			2	
4.4	Отработка навыков использования ИФА			2	
Итоговая аттестация					Заключительный контроль (тесты)
Всего		36	27	9	0

Содержание программ учебных модулей

код	Название темы	Основное содержание
Раздел 1. Введение		
1.1	Введение	Введение. Физические и химические свойства ДНК и РНК. Области практического использования молекулярно-генетических методов. Возможности методов.
1.1.1	Тема 1. Строение вириона SARS-CoV-2	Рассматривается строение вириона SARS-CoV-2 как возбудителя COVID-19.
1.1.2	Тема 2. Таксономическая и филогенетическая характеристика SARS-CoV-2. Взаимосвязь его генетических, инвазивных и патогенетических особенностей	Рассматривается таксономическая и филогенетическая характеристика SARS-CoV-2, взаимосвязь его генетических, инвазивных и патогенетических особенностей.
1.1.3	Тема 3. Изменчивость генома, основные генотипы SARS-CoV-2 и их распространение	Рассматриваются изменчивость генома, основные генотипы SARS-CoV-2 и их распространение, значение мутаций вируса для лабораторной диагностики.
1.1.4	Тема 4. Особенности антигенов SARS-CoV-2. Иммунный ответ на коронавирусные инфекции	Рассматриваются особенности антигенов SARS-CoV-2, иммунный ответ на коронавирусные инфекции, в том числе динамика уровней специфических иммуноглобулинов в течение COVID-19.
Раздел 2. Молекулярно-генетические и иммунологические методы исследований, используемые для этиологической (специфической) диагностики COVID-19		

2.1	Молекулярно-генетические методы исследований, используемые для выявления РНК SARS-CoV-2	Рассматриваются вопросы использования молекулярно-генетических методов для изучения SARS-CoV-2 и диагностики COVID-19.
2.1.1	Тема 5. Секвенирование как метод изучения генома SARS-CoV-2 и его мутаций	Дается схематичное описание основных вариантов секвенирования и используемого для этого оборудования. Рассматриваются вопросы использования секвенирования для изучения генома SARS-CoV-2 и мутаций вируса.
2.1.2	Тема 6. Методы амплификации нуклеиновых кислот как основные методы этиологической диагностики COVID-19	Даются описание методов амплификации нуклеиновых кислот, принципы устройства и работы амплификаторов. Рассматриваются этапы выполнения исследований на основе ОТ-ПЦР, RT-LAMP и RT-SmartAmp, интерпретация полученных результатов.
2.2	Иммунологические методы выявления иммуноглобулинов, специфических к антигенам SARS-CoV-2	Рассматриваются вопросы использования иммунологических методов для диагностики COVID-19.
2.2.1	Тема 7. Иммуноферментный анализ (ИФА)	Даются описание ИФА, сведения об основном оборудовании. Рассматриваются этапы выполнения ИФА, интерпретация полученных результатов.
2.2.2	Тема 8. Иммунохроматографический анализ (ИХА)	Даются описание ИХА, сведения об используемых устройствах. Рассматриваются этапы выполнения ИХА, интерпретация полученных результатов.
2.3	Тема 9. Современные подходы к определению соответствия методов этиологической диагностики COVID-19 и тест-систем задачам их использования	Рассматриваются современные подходы к определению соответствия методов этиологической диагностики COVID-19 и тест-систем задачам их использования.
Раздел 3. Организация этиологической (специфической) диагностики COVID-19		
3.1	Тема 10. Алгоритмы обследования пациентов при этиологической диагностике COVID-19	Рассматриваются алгоритмы обследования пациентов при этиологической диагностике COVID-19 в амбулаторных условиях, при помещении пациента в стационар. Дается перечень респираторных и других видов диагностических материалов для выявления COVID-19/
3.2	Тема 11. Сбор, хранение и транспортировка	Рассматриваются положения документов, регламентирующих правила сбор, хранения и транспортировки диагностического материала, указывается значение соблюдения этих правил для

	диагностического материала	обеспечения на преаналитическом этапе безопасности и качества работы.
3.3	Тема 12. Направление на исследование для этиологической диагностики COVID-19	Рассматривается перечень данных, содержащихся в направлении на лабораторное исследование.
3.4	Тема 13. Наборы реагентов и оборудование, используемые для этиологической диагностики COVID-19	Рассматриваются наборы и оборудование, используемые для этиологической диагностики COVID-19. Даются сведения о готовящихся к выпуску наборах и перспективы использования новых наборов и методов этиологической диагностики COVID-19.
3.5	Тема 14. Обеспечение безопасности и качества этиологической диагностики COVID-19	Рассматриваются положения документов, регламентирующих обеспечение безопасности при выполнении исследований, проведение внешнего и внутреннего контроля качества, причины ложноотрицательных и ложноположительных реакций.
Раздел 4. Стажировка		
4.1	Тема 15. Прохождение инструктажа	Прохождение инструктажа, проведенного сотрудником лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Астраханской области», имеющей санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями инфекционных заболеваний человека II группы патогенности.
4.2	Тема 16. Отработка навыков обеспечения безопасности при этиологической диагностике COVID-19	Отрабатываются навыки обеспечения безопасности при этиологической диагностике COVID-19 с использованием МАНК и ИФА без выделения возбудителя.
4.3	Тема 17. Отработка навыков выполнения этапов исследования проб на РНК SARS-CoV-2 при использовании МАНК	Отрабатываются навыки выполнения этапов исследования проб на РНК SARS-CoV-2 при использовании ОТ-ПЦР и RT-LAMP, проводимых на соответствующем оборудовании, в том числе на амплификаторах серии ДТ (ООО «НПО ДНК-Технология», Россия), серии БИС (ООО «БИС-Н», Россия), Chromo4, серии C1000, серии CFX (Bio-Rad Laboratories, Inc., США), серии Rotor-Gene (QIAGEN GmbH, Германия).
4.4	Тема 18. Отработка навыков ИФА	Отрабатываются навыки выполнения ИФА при определении специфических иммуноглобулинов сыворотки крови при диагностике инфекционных заболеваний.

Примеры заданий для контроля

1. COVID-19 вызывает вирус:

- 1) MERS-CoV
- 2) SARS-CoV
- 3) SARS-CoV-2
- 4) HCoV-OC43

Ответ: 3

2. SARS-CoV-2 принадлежит к подсемейству:

- 1) α -коронавирусов
- 2) β -коронавирусов
- 3) γ -коронавирусов
- 4) δ -коронавирусов

Ответ: 2

3. Тяжело протекающие инфекции нижних дыхательных путей могут вызывать коронавирусы (несколько вариантов):

- 1) HCoV-OC43
- 2) HCoV-NKUI1
- 3) HCoV-229E
- 4) HCoV-NL63
- 5) SARS-CoV
- 6) MERS-CoV
- 7) SARS-CoV-2

Ответ: 1,2,3,4,5,6,7

4. SARS-CoV-2 имеет:

- 1) двуцепочечную ДНК
- 2) одноцепочечную ДНК
- 3) одноцепочечную (+)РНК
- 4) одноцепочечную (-)РНК

Ответ: 3

5. SARS-CoV-2 относится к микроорганизмам:

- 1) I группы патогенности (опасности)
- 2) II группы патогенности (опасности)
- 3) III группы патогенности (опасности)
- 4) IV группы патогенности (опасности)

Ответ: 2

6. К методам амплификации нуклеиновых кислот относятся:

- 1) ПЦР-РВ
- 2) ОТ-ПЦР

- 3) RT-LAMP
 - 4) RT-SmartAmp
 - 5) секвенирование
- Ответ: 1,2,3,4

7. В основе полимеразной цепной реакции лежит процесс:

- 1) трансляции
 - 2) репликации
 - 3) транскрипции
 - 4) трансдукции
- Ответ: 2

8. Многократное увеличение копий ДНК – это:

- 1) амплификация
 - 2) гибридизация
 - 3) секвенирование
 - 4) денатурация
- Ответ: 1

9. Определение нуклеотидной последовательности генома – это:

- 1) амплификация
 - 2) клонирование
 - 3) гибридизация
 - 4) секвенирование
 - 5) денатурация
- Ответ: 4

10. Многократное увеличение копий ДНК получают методом:

- 1) амплификации нуклеиновых кислот
 - 2) гибридизации
 - 3) гель- электрофореза
 - 4) секвенирования
- Ответ: 1

11. Праймеры – это:

- 1) термостабильные ферменты
 - 2) короткие искусственно синтезированные олигонуклеотиды
 - 3) «строительный материал» для синтеза второй цепи ДНК
 - 4) участок ДНК, который необходимо амплифицировать
- Ответ: 2

12. Выберите из списка компоненты ОТ-ПЦР (несколько вариантов):

- 1) праймеры

- 2) обратная транскриптаза (ревертаза)
- 3) термостабильная ДНК-полимераза
- 4) рестриктазы
- 5) буферный раствор
- 6) агароза

Ответ: 1,2,3,5

13. Выберите из списка компоненты RT-LAMP (несколько вариантов):

- 1) внешние праймеры
- 2) обратная транскриптаза (ревертаза)
- 3) Bst ДНК-полимераза
- 4) внутренние праймеры
- 5) буферный раствор
- 6) петлевые праймеры

Ответ: 1,2,3,4,5,6

14. Для работы полимеразы в реакционной среде должны присутствовать:

- 1) ионы калия
- 2) ионы магния
- 3) ионы марганца
- 4) ионы железа

Ответ: 2

15. Прибор, в котором осуществляется ПЦР –

- 1) секвенатор
- 2) амплификатор
- 3) флуориметр
- 4) биореактор

Ответ: 2

16. Установите соответствие стадий ПЦР с процессами, которые происходят:

А) температура 55-80°C	1) 1 этап
Б) репликация ДНК	2) 2 этап
В) денатурация ДНК	3) 3 этап
Г) температура 94-98°C	
Д) отжиг праймеров	
Е) элонгация ДНК	
3) температура около 72°C	

Ответы занесите в таблицу:

А	Б	В	Г	Д	Е	3

Ответ: 2, 3, 1, 1, 2, 3, 3

17. Реакция элонгации ДНК начинается:

- 1) в местах прикрепления ионов магния
- 2) в местах прикрепления ДНК-полимеразы
- 3) в местах прикрепления праймеров
- 4) в произвольном участке ДНК

Ответ: 3

18. Для выявления результатов амплификации применяют (несколько вариантов):

- 1) антитела
- 2) спектрофотометрию
- 3) гель-электрофорез
- 4) зонд с флуоресцентной меткой

Ответ: 3,4

19. Для контроля специфичности обнаруженного продукта амплификации используют:

- 1) гибридизационные зонды
- 2) праймеры
- 3) ДНК-полимеразы
- 4) пирофосфатазы

Ответ: 1

20. Установите соответствие между компонентами ПЦР и их функциями

А) для функционирования ДНК-полимеразы	1) праймеры
Б) строительный материал для ДНК	2) ДНК-полимераза
В) затравка для синтеза комплементарной цепи ДНК	3) ионы магния
Г) катализирует реакцию полимеризации	4) смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов
Д) обеспечивает условия реакции	5) буферный раствор

Ответы занесите в таблицу:

А	Б	В	Г	Д

Ответ: 3, 4, 1, 2, 5

21. Причинами ложноположительных результатов исследований при использовании МАНК являются (несколько вариантов):

- 1) контаминация клинического, биологического материала на преаналитическом или аналитическом этапе
- 2) контаминация помещений и оборудования лаборатории ампликонами
- 3) контаминация реактивов

4) контаминация расходных материалов: наконечников, пробирок и планшетов
Ответ: 1,2,3,4

22. Причинами ложноотрицательных результатов исследований при использовании МАНК являются (несколько вариантов):

- 1) неправильный выбор материала тампона зонда для отбора пробы
- 2) топически неправильный отбор пробы
- 3) неправильный выбор среды для транспортировки или хранения клинического, биологического материала
- 4) несоответствие температурного режима и времени транспортировки или хранения клинического, биологического материала
- 5) нарушение протокола выделения нуклеиновой кислоты
- 6) несоответствие температурного режима и времени транспортировки или хранения выделенной нуклеиновой кислоты
- 7) инактивация реагентов
- 8) неправильное дозирование реагентов
- 9) неправильные режимы амплификации
- 10) мутации в геноме вируса в местах, соответствующих кДНК, комплементарным праймерам или зонду

Ответ: 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10

23. МАНК нужно применять при обследовании пациентов без признаков поражения дыхательной системы (несколько вариантов):

- 1) возвратившихся из зарубежной поездки за 14 дней до обращения
- 2) имевших тесные контакты за последние 14 дней с лицами, находящимися под наблюдением по инфекции, вызванной новым коронавирусом SARS-CoV-2, которые в последующем заболели
- 3) имевших тесные контакты за последние 14 дней с лицами, у которых лабораторно подтвержден диагноз COVID-19
- 4) работавших с больными с подтвержденными и подозрительными случаями COVID-19
- 5) проводивших исследования клинического, биологического материала на COVID-19
- 6) при проведении эпидемиологического расследования
- 7) посетивших места общего пользования

Ответ: 1,2,3,4,5,6

24. Аэрозоль, содержащий жизнеспособные микроорганизмы, может возникнуть при следующих манипуляциях, связанных с выявлением специфических последовательностей геномов микроорганизмов (несколько вариантов):

- 1) открывании пробирки с клиническим, биологическим материалом
- 2) пипетировании смеси, содержащей клинический, биологический материал

- 3) центрифугировании открытой пробирки с клиническим, биологическим материалом
 - 4) перемешивании содержимого открытой пробирки на вортексе
 - 5) хранении закрытой пробирки с клиническим, биологическим материалом в холодильнике
- Ответ: 1,2,3,4

25. К иммунологическим методам, используемым в различных странах для рутинной диагностики COVID-19 относятся (несколько вариантов):

- 1) иммуноферментный анализ (ИФА)
- 2) реакция агглютинации
- 3) иммунохроматографический анализ
- 4) реакция связывания комплемента

Ответ: 1,3

26. Выберите из списка реагенты и расходные материалы ИФА для определения специфических иммуноглобулинов к SARS-CoV-2 (несколько вариантов):

- 1) полимераза
- 2) планшет с сорбированным рекомбинантным антигеном SARS-CoV-2 или сорбированными цельновирионным инактивированным антигеном
- 3) положительный контрольный образец
- 4) отрицательный контрольный образец
- 5) моноклональные мышинные антитела к иммуноглобулинам человека, конъюгированные с пероксидазой хрена
- 6) буферный раствор для разведения сывороток
- 7) хромоген
- 8) субстратный буферный раствор
- 9) концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином
- 10) стоп-реагент

Ответ: 2,3,4,5,6,7,8,9,10

27. Иммуноферментное выявление суммарных антител (IgM и IgG) к SARS-CoV-2 целесообразно применять (несколько вариантов):

- 1) во время инкубационного периода COVID-19
- 2) при наличии клинических симптомов COVID-19 и отрицательных результатах МАНК
- 3) при проведении мероприятий эпидемиологического надзора
- 4) при применении плазмы крови реконвалесцентов для лечения больных и получения иммуноглобулиновых препаратов

Ответ: 2,3

28. Иммуноферментное выявление специфических IgG к SARS-CoV-2 целесообразно применять (несколько вариантов):

- 1) во время инкубационного периода COVID-19
- 2) при наличии клинических симптомов COVID-19 и отрицательных результатах МАНК
- 3) при проведении мероприятий эпидемиологического надзора
- 4) при применении плазмы крови реконвалесцентов для лечения больных и получения иммуноглобулиновых препаратов

Ответ: 2,3,4

29. Аэрозоль, содержащий жизнеспособные микроорганизмы, может возникнуть при следующих манипуляциях, связанных с исследованием методом ИФА (несколько вариантов):

- 1) открывании пробирки с клиническим, биологическим материалом
- 2) пипетировании смеси, содержащей клинический, биологический материал
- 3) центрифугировании открытой пробирки с клиническим, биологическим материалом
- 4) перемешивании содержимого открытой пробирки или лунок планшета
- 5) при работе вошера (промывателя)
- 6) хранении закрытой пробирки с клиническим, биологическим материалом в холодильнике

Ответ: 1,2,3,4,5

30. К средствам индивидуальной защиты сотрудников лаборатории при диагностике COVID-19 относятся (несколько вариантов):

- 1) респиратор
- 2) очки
- 3) защитный костюм
- 4) перчатки
- 5) фартук

Ответ: 1,2,3,4

VII. ОРГАНИЗАЦИОННО-ПЕДАГОГИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ РЕАЛИЗАЦИИ ПРОГРАММЫ

Тематика лекционных занятий:

№	Тема лекции	Содержание лекции	Формируемые компетенции
1.	Строение вириона SARS-CoV-2	1 1.1	ПК-1, ПК-5
2.	Таксономическая и филогенетическая характеристика SARS-CoV-2. Взаимосвязь его генетических, инвазивных и патогенетических особенностей	1 1.2	ПК-1, ПК-5
3.	Изменчивость генома, основные генотипы SARS-CoV-2 и их распространение	1 1.3	ПК-1, ПК-5
4.	Особенности антигенов SARS-CoV-2. Иммунный ответ на коронавирусные инфекции	1 1.4	ПК-1, ПК-5
5.	Молекулярно-генетические методы исследований, используемые для выявления РНК SARS-CoV-2	2 2.1	ПК-1, ПК-5, ПК-6
6.	Иммунологические методы выявления иммуноглобулинов, специфических к антигенам SARS-CoV-2	2 2.2	ПК-1, ПК-5, ПК-6
7.	Современные подходы к определению соответствия методов этиологической диагностики COVID-19 и тест-систем задачам их использования	2 2.3	ПК-1, ПК-5, ПК-6
8.	Алгоритмы обследования пациентов при этиологической диагностике COVID-19	3 3.1	ПК-1, ПК-5, ПК-6
9.	Сбор, хранение и транспортировка диагностического материала	3 3.2	ПК-1, ПК-5, ПК-6
10.	Направление на исследование для этиологической диагностики COVID-19	3 3.3	ПК-1, ПК-5, ПК-6
11.	Наборы реагентов и оборудование, используемые для этиологической диагностики COVID-19	3 3.4	ПК-1, ПК-5, ПК-6
12.	Обеспечение безопасности и качества этиологической диагностики COVID-19	3 3.5	ПК-1, ПК-5, ПК-6

VIII. УЧЕБНО-МЕТОДИЧЕСКОЕ И ИНФОРМАЦИОННОЕ ОБЕСПЕЧЕНИЕ

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Основная литература:

1. Временные методические рекомендации «Профилактика, диагностика и лечение новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Версия 5 (08.04.2020)» (утв. Минздравом России)
2. Временные рекомендации по лабораторной диагностике новой коронавирусной инфекции, вызванной 2019-NCOV. Приложение к письму Роспотребнадзора от 21.01.2020 № 02/706-2020-27
3. Глик Б., Пастернак Дж. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение. – Москва: Мир, 2002
4. Жумина А.Г. Петлевая изотермическая амплификация нуклеиновых кислот: принцип и применение // Вестник Карагандинского

- университета. Серия «Биология. Медицина. География». – 2015. – № 3(79)
5. Инструкция об организации работы по диагностике новой коронавирусной инфекции (COVID-2019). Приложение к письму Роспотребнадзора от 18.03.2020 № 02/4457-2020-27
 6. Кишкун А.А. Руководство по лабораторным методам диагностики для врачей: Учебное пособие для системы послевуз. проф. образ. врачей / А.А. Кишкун; АСМОК. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007
 7. Кишкун А.А. Лабораторные информационные системы и экономические аспекты деятельности лаборатории: Руководство / А.А. Кишкун, А.Л. Гузовский. – М.: Лабора, 2007
 8. Клиническая лабораторная диагностика: Национальное руководство в 2 томах. Том I / АСМОК, научно-практическое общество специалистов лабораторной медицины / гл. ред. В.В. Долгов, В.В. Меньшиков. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013
 9. МУ 3.5.5.1034-01. 3.5.5. Дезинфекционные средства и технологии. Обеззараживание исследуемого материала, инфицированного бактериями I – IV групп патогенности, при работе методом ПЦР. Методические указания (утв. Минздравом России 23.05.2001)
 10. МУ 1.3.1877-04. 1.3. Эпидемиология. Порядок сбора, упаковки, хранения, транспортирования и проведения лабораторного анализа биологического материала от больных (и умерших) пациентов с подозрением на тяжелый острый респираторный синдром (ТОРС). Методические указания (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004)
 11. МУ 1.3.2569-09. 1.3. Эпидемиология. Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I – IV групп патогенности. Методические указания (утв. Роспотребнадзором 22.12.2009)
 12. Методы лабораторной диагностики инфекционных заболеваний бактериальной и вирусной природы : учеб.-метод. пособие / Л.И. Давыдова [и др.]. – Астрахань: АГМА, 2009
 13. Прилуцкий А.С. Коронавирусная болезнь 2019. Часть 1: характеристика КОРОНАВИРУСА, эпидемиологические особенности // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2020. – Т. 24, № 1. – С. 77-86. – URL: <https://vh.dnmu.ru/index.php/VHE-2-2018/article/download/318/327>
 14. Прилуцкий А.С. Коронавирусная болезнь 2019. Часть 2: клиника, диагностика, лечение, профилактика // Вестник гигиены и эпидемиологии. – 2020. – Т. 24, № 1. – С. 87-101. – URL: <https://vh.dnmu.ru/index.php/VHE-2-2018/article/download/319/328>
 15. Ребриков Д.В. ПЦР в реальном времени / Д.В. Ребриков, Г.А. Саматов, Д.Ю. Трофимов. – 4-е изд. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2013

16. Романов Б.К. Коронавирусная инфекция COVID-2019 // Безопасность и риск фармакотерапии. – 2020. – Т. 8, № 1. – С. 3-8. – URL: <https://www.risksafety.ru/jour/article/view/173/229>
17. Сизикова Т.Е. Использование внешних и внутренних контрольных образцов при постановке полимеразной цепной реакции и обратной транскрипции полимеразной цепной реакции / Т.Е. Сизикова, Е.В. Мельникова, А.В. Маношкин, А.А. Петров, Д.Г. Мельников, В.Б. Пантюхов, В.Н. Лебедев // Клиническая лабораторная диагностика. – 2013. – № 3. – С. 41-44
18. СП 1.2.036-95. 1.2. Эпидемиология. Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I – IV групп патогенности. Санитарные правила (утв. Постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 28.08.1995 № 14)
19. СП 1.3.2322-08. Безопасность работы с микроорганизмами III – IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. Санитарно-эпидемиологические правила (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2008 № 4 (ред. от 29.06.2011))
20. СП 1.3.3118-13. Безопасность работы с микроорганизмами I – II групп патогенности (опасности). Санитарно-эпидемиологические правила (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 28.11.2013 № 64)

Дополнительная литература:

1. Донецкая Э.Г. Клиническая микробиология. Руководство / Э.Г. Донецкая. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011
2. Камышников В.С. Техника лабораторных работ в медицинской практике / В.С. Камышников. – 2-е изд., переработанное и дополненное – М.: МЕДпресс-информ, 2011
3. Медицинская лабораторная диагностика: программы и алгоритмы: руководство для врачей / под ред. А.И. Карпищенко. – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2014
4. Назаренко Г.И. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований / Г.И. Назаренко, А.А. Кишкун. – 2-е изд. – М.: Медицина, 2006
5. Методы клинических лабораторных исследований / под ред. В.С. Камышникова. – 4-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2011
6. Общая врачебная практика: диагностическое значение лабораторных исследований: учебное пособие для системы ППОВ / под ред. С.С. Вялова, С.А. Чорбинской. – 4-е изд. – М.: МЕДпресс-информ, 2010
7. Dewar R., Baunoch D., Wojno K., Parkash V., Khosravi-Far R. Viral transportation in COVID-19 pandemic: inactivated virus transportation should be implemented for safe transportation and handling at diagnostics laboratories // Archives of pathology & laboratory medicine. – 16.04.2020.

– DOI: 10.5858/arpa.2020-0175-LE.

8. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014. – Geneva: World Health Organization, 2012
9. Lippi G., Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks // *Clinical chemistry and laboratory medicine*. – 19.03.2020. – PII: /j/cclm.ahead-of-print/cclm-2020-0240/cclm-2020-0240.xml. – DOI: 10.1515/cclm-2020-0240.
10. Stadlbauer D., Amanat F., Chromikova V., Jiang K., Strohmeier S., Arunkumar G.A., Tan J., Bhavsar D., Capuano C., Kirkpatrick E., Meade P., Brito R.N., Teo C., McMahon M., Simon V., Krammer F. SARS-CoV-2 seroconversion in humans: a detailed protocol for a serological assay, antigen production, and test setup // *Current protocols in microbiology*. – 2020. – Vol. 57, № 1. – e100. – DOI: 10.1002/cpmc.100.
11. Vergleich unterschiedlicher Nukleinsäure-Amplifikationssysteme für SARS-CoV-2 [Электронный ресурс] // AGES [сайт]. – 2020. – URL: <https://www.ages.at/en/wissen-aktuell/publikationen/vergleich-unterschiedlicher-nukleinsaure-amplifikationssysteme-fuer-sars-cov-2/>.
12. Zhang Y. Rapid molecular detection of SARS-CoV-2 (COVID-19) virus RNA using colorimetric LAMP / Y. Zhang, N. Odiwuor, J. Xiong, L. Sun, R.O. Nyaruaba, H. Wei, N.A. Tanner // *medRxiv*. – 2020. – DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.02.26.20028373>