

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

_____ Д.Л. Пиневиц

07.09.2018

Регистрационный № 078-0618

**АЛГОРИТМ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ И
ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ БЕТА-ГЕРПЕСВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: Государственное учреждение
«Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и
микробиологии»

Учреждение образования «Белорусский государственный медицинский
университет»

АВТОРЫ: канд. биол.наук., доцент Орлова С.В., д-р.мед.наук, профессор
Карпов И.А., Штыров А.А., канд.мед.наук, доцент Стома И.О., Рудько Г.Ф.

Минск, 2018

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложены алгоритм лабораторной диагностики и тактика лечения инфекции, вызванной бета-герпесвирусами человека 6 типа (ВГЧ-6), 7 типа (ВГЧ-7) и цитомегаловирусом (ЦМВ), которые могут быть использованы в комплексе медицинских услуг, направленных на лабораторную диагностику и лечение бета-герпесвирусных инфекций с дифференциацией на латентную и активную форму.

Инструкция предназначена для врачей-вирусологов, инфекционистов, эпидемиологов, врачей лабораторной диагностики и врачей других специальностей, оказывающих специализированную медицинскую помощь пациентам.

1. ПЕРЕЧЕНЬ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ, РЕАКТИВОВ

Медицинская техника:

- термоциклер для проведения ПЦР в режиме реального времени;
- компьютер с программным обеспечением для управления амплификатора;
- бокс ламинарный;
- автоклав;
- центрифуга – вортекс;
- микроцентрифуга с охлаждением (с ротором для пробирок типа «Эппендорф», не менее 13 000 об/мин);
- анализатор иммуноферментный;
- холодильник с морозильной камерой (от +4°C до +8°C, от минус 18°C до минус 20°C);
- термостат с рабочей температурой 37⁰ С;
- дозаторы автоматические переменного объема (от 0,1 до 10 мкл, от 20 до 200 мкл, от 100 до 1000 мкл).

Изделия медицинского назначения:

- наконечники с фильтром: 10мкл, 100мкл, 200 мкл, 1000 мкл;

- пластиковые микропробирки одноразовые объемом 0,2; 0,5; 1,5 мл;
- штативы для микропробирок, автоматических дозаторов и наконечников;
- вакутайнеры с ЭДТА;
- набор реагентов для выделения ДНК из клинических образцов;
- набор реагентов для выявления ДНК герпесвируса 6 типа;
- набор реагентов для выявления ДНК герпесвируса 7 типа;
- набор реагентов для выявления ДНК цитомегаловируса;
- тест-системы для выявления антител против герпесвируса 6 типа;
- тест-системы для выявления антител против цитомегаловируса.

Реактивы:

- вода деионизированная, стерильная свободная от нуклеаз;
- перекись водорода (ТУ 6-02-57075 ОСЧ);
- спирт этиловый (ГОСТ 5962-67).

2. ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Клинико-лабораторные и/или эпидемиологические данные о возможности развития бета-герпесвирусной инфекция (В 34.9, В 25.0, В 27.9).

3. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Отсутствуют.

4. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследований являются:

- сыворотка крови;
- лейкоциты крови;
- ликвор (спинномозговая жидкость);
- слюна.

5. ВЗЯТИЕ КЛИНИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ВИРУСОЛОГИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

5.1. *Сыворотка крови.* Взятие сыворотки осуществляется общепринятым рутинным методом.

Условия хранения: образцы сыворотки хранят при температуре от +4°C до +8°C, не более 24 часов, при температуре минус 20°C не более 1 года. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

5.2. *Лейкоциты крови.* Для получения лейкоцитов осуществляют забор крови в одноразовый шприц объемом 5 мл или специальную вакуумную систему типа Vacutainer (с 6 % ЭДТА). Кровь из шприца аккуратно (без образования пены) переносят в одноразовую пластиковую пробирку с антикоагулянтом (6 % раствор ЭДТА в соотношении 1:20). Пробирку закрывают крышкой и осторожно переворачивают несколько раз (для перемешивания с антикоагулянтом, в противном случае кровь свернется, и выделение ДНК станет невозможным).

Условия хранения: образцы крови хранят при температуре от +4°C до +8°C не более 24 часов. Замораживание материала не допускается.

5.3. *Слюна.* Взятие слюны осуществляется в одноразовые стерильные пробирки типа «эппендорф» объемом 1,5 мл или стерильный пенициллиновые флаконы в количестве 0,2-1,0 мл общепринятым методом.

Условия хранения: образцы слюны хранят при температуре от +4°C до +8°C не более 6 часов, в замороженном виде - не более 1 года. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

5.4. *Ликвор.* Взятие ликвора осуществляется общепринятыми методами. Категорически запрещается взятие ликвора в пробирки с консервантом.

Условия хранения: образцы ликвора хранят при температуре от +4°C до +8°C не более 24 часов, при температуре минус 20°C не более 1 года. Допускается только однократное замораживание-оттаивание материала.

6. ПОРЯДОК ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ

Лабораторная диагностика бета-герпесвирусных инфекций проводится с дифференциацией на латентную и активную форму в соответствии с алгоритмом, представленным на рисунке.

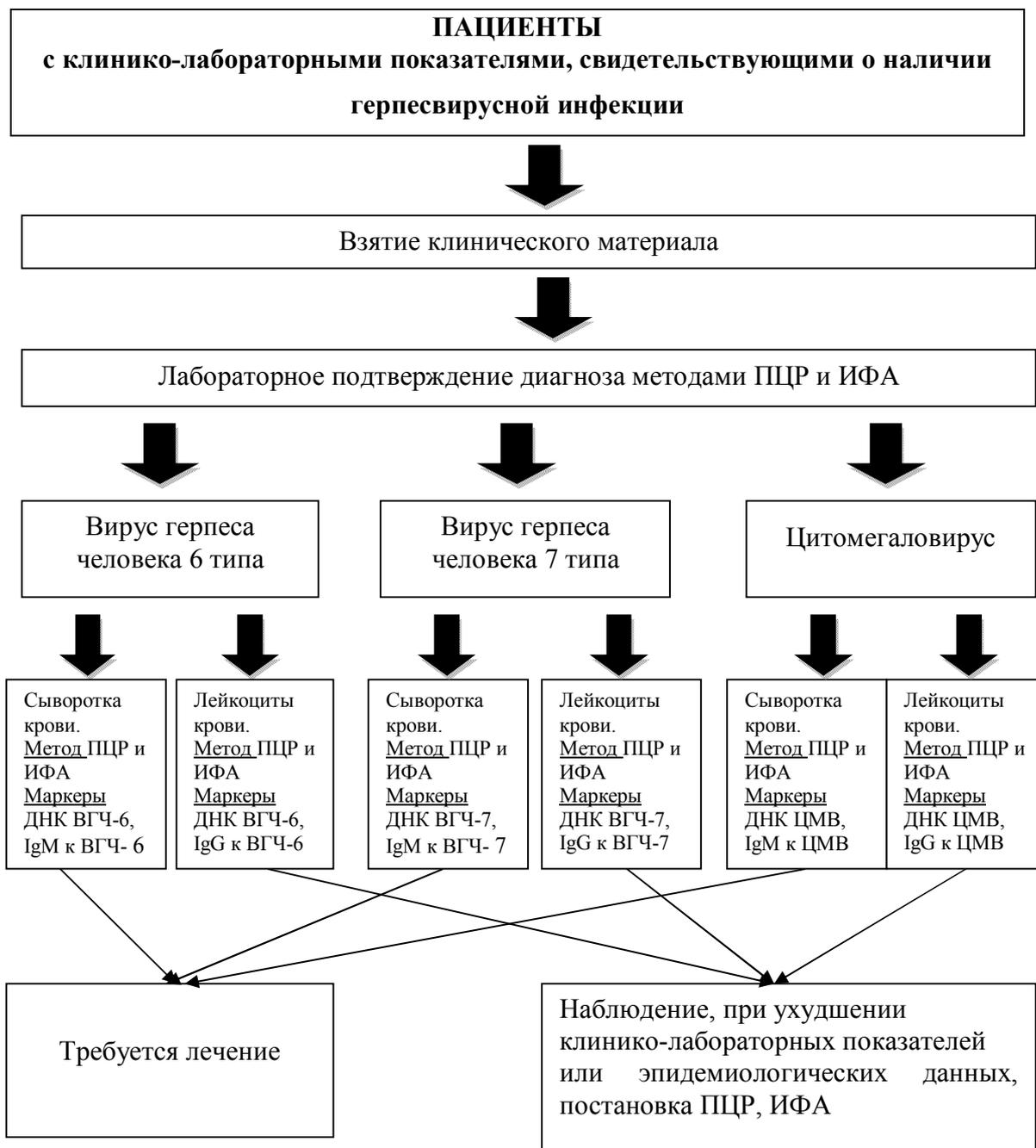


Рисунок – Алгоритм лабораторной диагностики бета-герпесвирусной инфекции

6.1. Определяют ДНК ВГЧ 6, ДНК ВГЧ 7, ДНК ЦМВ в сыворотке крови – маркеры активной формы инфекции.

6.2. Определяют ДНК ВГЧ 6, ДНК ВГЧ 7, ДНК ЦМВ в лейкоцитах крови – маркеры латентной формы инфекции.

6.3. Определяют антитела IgM в сыворотке крови – маркеры активной формы инфекции.

6.4. Определяют антитела IgG в сыворотке крови – маркеры латентной формы инфекции.

6.5. При выявлении маркеров активной формы инфекции назначают антивирусное лечение.

7. ДЕТЕКЦИЯ МАРКЕРОВ

7.1. Выделение ДНК из проб клинического материала

Выделение ДНК из жидких образцов клинического материала осуществляется с использованием наборов, основанных на адсорбции ДНК на силикагелевом носителе с последующей элюцией, зарегистрированных в установленном порядке. Постановка реакции проводится в соответствии с инструкцией производителя к набору.

7.2. Постановка полимеразной цепной реакции

Постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляется с использованием диагностических наборов, зарегистрированных в установленном порядке. Наиболее эффективно использование наборов с гибридизационно-флюоресцентной детекцией в режиме реального времени .

Учет результатов проводится с использованием специального оборудования в соответствии с инструкцией производителя.

7.3. Постановка иммуноферментного анализа

Постановка иммуноферментного анализа (ИФА) осуществляется с использованием диагностических наборов, в соответствии с инструкцией производителя.

8. ПОСТАНОВКА ДИАГНОЗА

Дифференциальную диагностику активной и латентной форм инфекции проводят методами ПЦР и/или ИФА, определяя ДНК и/или антитела к исследуемым возбудителям.

8.1. Постановка диагноза активной формы инфекции

Лабораторное подтверждение наличия ДНК бета-герпесвирусов и/или IgM антител в сыворотке крови, является основанием для постановки диагноза:

- «ВГЧ 6 –инфекция активная форма»;
- «ВГЧ 7–инфекция активная форма»;
- «ЦМВ–инфекция активная форма».

8.2. Постановка диагноза латентной формы инфекции

Детекция ДНК бета-герпесвирусов в лейкоцитах крови, и отсутствие IgM антител в сыворотке крови свидетельствует о латентной форме инфекции. Ухудшение клинико-лабораторных показателей является показанием для повторного проведения ПЦР и/или ИФА.

9. ТАКТИКА ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ПОДТВЕРЖДЕННОЙ АКТИВНОЙ ФОРМОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ

9.1. Этиотропное лечение

Этиотропное лечение инфекций, вызванных ВГЧ-6, ВГЧ-7, ЦМВ показано:

- при диагностике энцефалитов;
- в комплексе лабораторных исследований реципиентов до и после трансплантации органов и тканей;
- в комплексе лабораторных исследований пациентов гематологического и онкологического профиля при проведении химиотерапевтического лечения.

В случае обнаружения других клинических форм инфекций решение принимается индивидуально.

9.2. Режимы дозирования противовирусных лекарственных средств

Режимы дозирования противовирусных лекарственных средств (ЛС) с активностью против ВГЧ-6, ВГЧ-7, ЦМВ инфекций (у пациентов с нормальной функцией почек):

- валацикловир - 5 мг/кг каждые 12 часов в/в;

- ганцикловир - 5 мг/кг каждые 12 часов в/в.

Продолжительность лечения определяется индивидуально с учетом клинической и вирусологической динамики.

10. ВОЗМОЖНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ПРИ ПОСТАНОВКЕ ПЦР И ИХ УСТРАНЕНИЕ

10.1. Отсутствие специфического сигнала амплификации в пробе положительного контроля свидетельствует о недостоверности полученных результатов. Отсутствие специфического сигнала амплификации в пробе положительного контроля указывает на внесение в реакционную смесь ингибиторов реакции.

Пути устранения:

- на всех стадиях постановки, во избежание внесения ингибиторов реакции, необходимо использование одноразовой пластиковой посуды и наконечников;

- для разведения выделенной РНК/ДНК применяется только РНК/ДНК-элюэнт, входящий в состав набора для выделения, или H₂O с маркировкой «для молекулярной биологии» во избежание загрязнения препарата РНКазы/ДНКазы.

10.2. Наличие специфического сигнала амплификации в образце отрицательного контроля свидетельствует о контаминации проб.

Пути устранения:

- соблюдение пространственного разделения рабочих зон, использование отдельных наборов посуды, пипеток и отдельных комплектов спецодежды для каждой из рабочих зон;

- строгий запрет на перенос оборудования, пипеток, расходных материалов, халатов из одной зоны в другую;

11. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Противопоказаниями для назначения лекарственных средств, являются:

1. Беременность, лактация.
2. Повышенная чувствительность к данному лекарственному средству в анамнезе.
3. Подагра.

Не следует назначать ганцикловир одновременно с другими лекарственными средствами, вызывающими нейтропению.