

Тестирование на вирусную инфекцию Зика в лабораторных условиях

Временное руководство

23 марта 2016 г.

WHO/ZIKV/LAB/16.1



Всемирная организация
здравоохранения

1. Введение

1.1 Справочная информация

Недавний рост числа случаев микроцефалии и других неврологических расстройств, возможно, связанных с вирусной инфекцией Зика, способствовал увеличению спроса на лабораторные исследования для выявления этой инфекции. К приоритетным группам для проведения диагностического тестирования следует относить лиц с клиническими проявлениями и беременных женщин, не имеющих симптомов заболевания, которые могли контактировать с вирусом Зика. В данном документе содержатся руководящие указания в отношении действующих стратегий проведения исследований на заражение вирусной инфекцией Зика. По мере появления дополнительной информации этот документ будет пересматриваться и обновляться.

1.2 Целевая аудитория

Это временное руководство предназначено для использования персоналом лабораторий, проводящих тестирование на вирусную инфекцию Зика, и практикующих врачей-клиницистов и работников сферы общественного здравоохранения, обеспечивающих клиническое ведение заболеваний или эпиднадзор.

2. Временные рекомендации

2.1 Образцы

Вирус Зика обнаруживался в цельной крови (также в сыворотке и плазме), моче, спинномозговой жидкости, амниотической жидкости, сперме и слюне. Появляется все больше фактических данных, свидетельствующих о том, что вирус Зика сохраняется в моче и сперме в течение более длительного времени, чем в цельной крови или слюне [3].

В то время как продолжается сбор данных о длительности персистенции вируса в слюне, спинномозговой жидкости, сперме и продуктах оплодотворения, для целей настоящего документа у пациентов, пришедших на обследование, рекомендуется брать на анализ цельную кровь/сыворотку и/или мочу.

Вместе с тем, при наличии возможности, ВОЗ рекомендует собирать и другие типы образцов для проведения подтверждающего тестирования или для

изучения связи между вирусной инфекцией Зика и неврологическими осложнениями, микроцефалией и возможной передачей инфекции половым путем.

- **Образцы для тестирования нуклеиновых кислот (NAT):** цельная кровь, сыворотка, собранные в сухую пробирку, и/или моча, собранная у пациентов, у которых симптомы присутствуют в течение семи или менее дней
- **Серологический анализ (определение IgM):** цельная кровь, собранная в сухую пробирку, и сыворотка, полученная у пациентов, симптомы у которых присутствуют в течение семи или более дней. Во всех возможных случаях необходимо собрать парные образцы сыворотки с разницей в 2-3 недели, при этом оптимально, если первый образец сыворотки будет получен в течение первых пяти дней от начала заболевания.

В дополнение к информации о пациенте, указанной для полученных образцов (полное имя, дата рождения, адрес, дата и время сбора и т.д.), необходимо также зафиксировать следующую информацию:

- **симптомы, дата появления, продолжительность симптомов, контакты с пациентами с подтвержденной вирусной инфекцией Зика (и тип контакта, например грудное вскармливание, половой партнер);**
- **полные сведения о поездках (сроки, место, продолжительность пребывания); и**
- **анамнез вакцинаций, особенно в отношении вакцинации против флавивирусов, включая вирус желтой лихорадки, вирус японского энцефалита и, при возможности, вирус денге.**

Во время вспышки тестирование всех пациентов с подозрением на заражение вирусом Зика будет экономически нецелесообразно, особенно в районах широкого распространения. При сборе анализов и проведении тестирования приоритет следует отдавать следующим группам:

- **пациенты, имеющие половые контакты с партнерами с подтвержденным заболеванием или с подозрением на него;**
- **пациенты, соответствующие критериям выявления заболевания, при подозрении на заражение, сопровождающемся неврологическими расстройствами;**

- беременные женщины, совершившие поездку в районы с текущей передачей вируса Зика и/или имевшие половой контакт с партнерами с подтвержденным заболеванием или с подозрением на него;
- беременные женщины из районов с текущей передачей вируса Зика с подтвержденными или подозреваемыми врожденными пороками развития головного мозга плода;
- новорожденные с микроцефалией или неврологическими расстройствами, рожденные в областях с идущей передачей вируса Зика или от женщин, совершивших поездки в районы, пораженные вирусом Зика, во время беременности;
- младенцы, у матерей которых был обнаружен вирус Зика, особенно при грудном вскармливании; и
- мертвый плод или самопроизвольный аборт у женщин, проживавших во время беременности в районах распространения вируса Зика или совершивших туда поездку.

2.2 Стратегия проведения тестирования

Используемая лабораториями стратегия проведения тестирования должна определяться с учетом имеющихся ресурсов и рабочих процессов в каждой из лабораторий. Подходы к тестированию на основе этих стратегий будут меняться в зависимости от распространенности вирусов, циркулирующих в районе, где побывали пациенты.

ВОЗ рекомендует следующие стратегии:

- **NAT** у пациентов с симптомами, появившимися менее семи дней назад.
- **Серологический анализ и/или NAT** у пациентов с симптомами, появившимися семь или более дней назад. Серологический анализ является предпочтительным методом для образцов, полученных от пациентов с симптомами, появившимися более семи дней назад. Следует с осторожностью интерпретировать отрицательные результаты исследований при использовании NAT. Они не исключают инфицирования, так как времени быстро снижается через семь дней после начала симптомов и может не обнаруживаться на нижней границе чувствительности.

а. Предлагаемый алгоритм тестирования для предполагаемых случаев заражения арбовирусной инфекцией, выявленных в течение семи дней после возникновения симптомов (приложение 1, рис. 1)

Наличие вируса Зика может быть подтверждено с помощью таких методов NAT, как ОТ-ПЦР, для обнаружения характерных для вируса Зика последовательностей в вирусном геноме. Лабораториям, применяющим общие методы анализа для выявления всего рода флавивирусов в сочетании с секвенированием или другие традиционные

молекулярные методы, такие как мультиплексные пробы для выявления флавивирусов, следует обеспечить обновление внутрилабораторных праймеров для обнаружения последних линий вируса Зика. Для проведения специфических видов анализа на вирус Зика были опубликованы последовательности праймеров и наборы проб [5].

Ввиду наличия документально подтвержденных случаев множественного инфицирования вирусом Зика и другими арбовирусами и принимая во внимание эндемический характер распространения флавивирусов, анализ на вирус Зика следует проводить последовательно или параллельно в дополнение к анализу на лихорадку денге и чикунгунью.

б. Предлагаемый алгоритм тестирования для предполагаемых случаев заражения инфекцией, вызванной арбовирусом, по истечении более семи дней после возникновения симптомов (приложение 1, рис. 2)

Серологическое тестирование на вирус Зика следует проводить только в лабораториях, имеющих опыт выполнения серологического анализа флавивирусов. К рекомендуемым серологическим исследованиям относятся иммуноферментный анализ (ИФА) и реакция иммунофлюоресценции (РИФ), которые позволяют обнаруживать антитела класса IgM с помощью вирусных лизатов, супернатанта клеточной культуры или рекомбинантных белков, а также пробы на нейтрализацию, такие как реакция нейтрализации бляшкообразования (РНБ). Хотя РНБ, как правило, обеспечивает наибольшую специфичность, для серологических исследований характерна кросс-реактивность, особенно у пациентов, переболевших флавивирусной инфекцией ранее или получивших прививку. Стратегия проведения тестирования для пациентов, поступивших через семь или более дней после возникновения симптомов, делает упор на серологический анализ IgM ввиду наличия реагентов. Определение IgM необходимо проводить беременным женщинам в зонах эндемического распространения вируса или беременным женщинам, которые могли контактировать с переносчиком или заразиться вирусом Зика половым путем. В случае необходимости проведения дальнейших исследований более высокую специфичность можно обеспечить с помощью сравнительных реакций нейтрализации.

В целом, наличие IgM к вирусу Зика в отсутствие IgM к лихорадке денге или другим флавивирусам говорит о недавнем контакте с вирусом Зика (рис. 2). Для лабораторий, проводящих РНБ, четырехкратный рост титров нейтрализующих антител в отсутствие роста титра антител к другим флавивирусам является еще одним свидетельством недавнего заражения вирусом Зика. По мере появления дополнительной информации будут предоставлены дальнейшие руководящие указания относительно серологических исследований.

с. Диагностика *in vitro* на вирус Зика, которая может использоваться в пунктах медицинской помощи или рядом с ними

Присутствует значительный интерес и необходимость в быстрой и простой для использования диагностике вирусной инфекции Зика *in vitro* в месте оказания медицинской помощи или рядом с ним. При выборе методов диагностики *in vitro* в пункте медицинской помощи следует внимательно изучать результаты государственной экспертизы качества, безопасности или эффективности.

2.3 Обработка и хранение образцов

При использовании коммерческих наборов сбор, транспортировка и хранение образцов должны осуществляться в соответствии с инструкциями производителя. Во всех других случаях образцы рекомендуются хранить в холодильнике при температуре 2-8°C и исследовать в течение 48 часов. В случае задержки при проведении исследования на срок более 48 часов необходимо отделить сыворотку и хранить ее отдельно. Все типы образцов могут храниться в замороженном виде при температуре -20°C до семи дней. Для хранения образцов в течение более семи дней их необходимо заморозить и хранить при температуре -70°C. Не следует допускать повторного замораживания и оттаивания образцов.

Необходимо регулярно контролировать и регистрировать температуру, чтобы выявить ее возможные колебания. Для хранения замороженных образцов не подходят бытовые холодильники/морозильные камеры с широким диапазоном колебаний температуры.

2.4 Биобезопасность

Диагностические лабораторные исследования, включая анализ полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) и серологические исследования клинических образцов, полученных от пациентов с подозреваемым или подтвержденным заражением вирусом Зика, должны проводиться в соответствии с уровнем биологической безопасности 2 (УББ-2), как это описано в третьем издании «Практического руководства по биологической безопасности в лабораторных условиях» ВОЗ [4].

Любые исследования на наличие вируса Зика должны проводиться сотрудниками, обученными соответствующим техническим процедурам и технике безопасности, в надлежащем образом оборудованных лабораториях. В любых обстоятельствах следует придерживаться национальных руководящих принципов по биобезопасности в лабораторных условиях.

2.5 Транспортировка образцов

Образцы, заведомо или предположительно содержащие вирус Зика, могут транспортироваться на сухом льду в качестве биологических препаратов категории B, UN3373.

Необходимо соблюдать международные правила, как это описано в «Рекомендациях ВОЗ по правилам перевозки инфекционных материалов 2015-2016 гг.» [6].

2.6 Выбор диагностики *in vitro*

Необходимо рассмотреть состав и результативность диагностических продуктов с тем, чтобы обеспечить безопасность и эффективность тестирования. На сегодняшний день лишь немногие представленные на рынке методы диагностики *in vitro* прошли государственную экспертизу качества, безопасности или эффективности.

Ряд учреждений разработали собственные методы диагностики вируса Зика. ВОЗ рекомендует лабораториям, желающим разрабатывать и проводить собственные ОТ-ПЦР, заказывать у своих обычных поставщиков опубликованные последовательности праймеров/зондов, диагностирующие все циркулирующие линии вируса Зика, и убедиться, что используемый тест достоверно выявляет вирус в каждом типе образцов. Аналогичным образом, при использовании коммерческих наборов лаборатории должны следовать инструкциям фирм-производителей для данного типа образцов и, при необходимости, валидировать свои исследования для разных типов образцов и включать в них соответствующие механизмы (внутреннего) контроля процессов и внешнего контроля качества. Материалы для контроля качества можно получить в глобальном Европейском вирусном архиве (<http://global.european-virus-archive.com/>), а скоро доступ к ним будет открыт через программу ВОЗ по международным эталонным биологическим препаратам. Региональные бюро ВОЗ, возможно, смогут оказать помощь в этом процессе.

В ответ на потребность в качественной диагностике вируса Зика *in vitro*, ВОЗ разработала чрезвычайную процедуру для оценки использования и внесения в перечень [7]. Эта процедура позволяет оценивать достаточность фактических данных, свидетельствующих о том, что преимущества использования данной диагностики вируса Зика перевешивают ожидаемые риски в имеющихся условиях. После внесения в перечень ВОЗ производитель также обязан отчитываться по вопросам проведения и качества диагностики. Учитывая последствия постановки неверного диагноза, ВОЗ настоятельно рекомендует применять для диагностики инфицирования вирусом Зика только те средства диагностики *in vitro*, которые прошли независимую всестороннюю оценку качества, безопасности и эффективности.

3. Разработка руководства

3.1 Благодарности

В разработке данного временного руководства участвовали следующие лица: д-р Emma Aarons, министерство здравоохранения Англии; профессор John Aaskov, Квинслендский технологический

университет, Австралия; д-р Daniel Bailey, министерство здравоохранения Англии; д-р Cristina Domingo Carrasco, Центр биологических угроз и особых патогенов, Германия; д-р Sebastien Cognat, Департамент по глобальному потенциалу в области предупреждения и ответных действий, ВОЗ/Лион; Kara Durski, Возникающие и эпидемические зоонозные заболевания, ВОЗ/штаб-квартира; д-р Pierre Formenty, Возникающие и эпидемические зоонозные заболевания, ВОЗ/штаб-квартира; д-р Maria Guadalupe Guzman, Институт тропической медицины Педро Коурри, Куба; д-р Pamela Herple, ВОЗ/ЕРБ; профессор Marion Koormans, Национальный институт общественного здравоохранения и окружающей среды, Нидерланды; д-р Isabelle Leparac-Goffart, Французский национальный референс-центр по арбовирусам; д-р Jairo Mendez Rico, ВОЗ/АМРБ; Robyn Meurant, Преквалификация, ВОЗ/штаб-квартира; д-р Jorge Munoz, Центры по контролю и профилактике заболеваний Соединенных Штатов Америки; Dhamari Naidoo, Возникающие и эпидемические зоонозные заболевания, ВОЗ/штаб-квартира; д-р Karen Nahapetyan, ВОЗ/ВСРБ; д-р Lee Ching Ng, Национальное агентство по охране окружающей среды, Сингапур; д-р Claudius Nuebling, Технологии, стандарты и нормы, ВОЗ/штаб-квартира; д-р Christopher Oxenford, Департамент по глобальному потенциалу в области предупреждения и ответных действий, ВОЗ/Лион; г-жа Irena Prat, Департамент по основным лекарственным средствам и изделиям медицинского назначения, ВОЗ/штаб-квартира; д-р Chantal Ruesken, Медицинский Центр Университета Эразмус, Нидерланды; г-жа Anita Sands, Преквалификация, ВОЗ/штаб-квартира; д-р Jonas Schmidt-Chansit, Институт им. Бернхарда Нохта, Германия; д-р Willy Urassa, Преквалификация, ВОЗ/штаб-квартира; д-р Herve Zeller, Европейский центр по профилактике и контролю заболеваний.

3.2 Методы разработки руководства

Эксперты в области лабораторного тестирования и вирусологии были найдены с помощью существующих сетей Центров сотрудничества ВОЗ, включая экспертов из Северной и Южной Америки, Европы и региона Западной части Тихого океана. Группа экспертов приняла участие в телеконференции, состоявшейся

18 февраля 2016 года, на которой она рассмотрела проекта руководства. После соответствующего обращения участники направили свои письменные отзывы, которые были включены в пересмотренный документ. Второй этап обзора состоялся в марте 2016 года после проведения 14-15 марта 2015 года в Женеве, Швейцария, консультации ВОЗ по досье и требованиям к лабораторной оценке для чрезвычайной процедуры для оценки использования и внесения в перечень для диагностики вируса Зика.

3.3 Декларация интересов

В результате анализа полученных деклараций интересов не было выявлено конкурирующих интересов. Для разработки данного временного руководства не использовались никакие особые средства.

4. Библиография

1. Garcia E, Yactayo S et al. Zika virus infection: global update on epidemiology and potentially associated clinical manifestations. Weekly Epidemiological Record 2016; 91: 73-81. Имеется по адресу: <http://www.who.int/wer/en>
2. Hill S, Russell K, et al. Transmission of Zika Virus Through Sexual Contact with Travelers to Areas of Ongoing Transmission — Continental United States, 2016. Morbidity and Mortality Weekly Report ePub: 26 February 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6508e2er>
3. Gourinat AC, O'Connor O et al. Detection of Zika virus in urine. Emerg Infect Dis. [Internet]. 2015 Jan. Имеется по адресу: <http://dx.doi.org/10.3201/eid2101.140894>
4. Всемирная организация здравоохранения. Практическое руководство по биологической безопасности, третье издание. Женева, 2004 г. Имеется по адресу: http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_CSR_LYO_2004_11/ru/
5. Charrel RN, Leparac-Goffart I et al. State of knowledge on Zika virus for an adequate laboratory response [Submitted]. Bull World Health Organ E-pub: 10 Feb 2016. doi: <http://dx.doi.org/10.2471/BLT.16.171207>
6. Всемирная организация здравоохранения. Рекомендации по правилам Перевозки инфекционных материалов 2015-2016. Женева, 2015 г. Имеется по адресу: http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_2015.2/ru/
7. World Health Organization. Emergency Use Assessment and Listing (EUAL) Procedure for Zika Virus Disease (IVDs) [Webpage]. Accessed 20 Feb 2016. Имеется по адресу: http://www.who.int/diagnostics_laboratory/eual-zika-virus/zika/en/

© Всемирная организация здравоохранения, 2016 г.

Все права защищены. Публикации Всемирной организации здравоохранения имеются на веб-сайте ВОЗ (www.who.int) или могут быть приобретены в Отделе прессы ВОЗ, Всемирная организация здравоохранения, 20 Avenue Appia, 1211 Geneva 27, Switzerland (тел.: +41 22 791 3264; факс: +41 22 791 4857; эл. почта: bookorders@who.int). Запросы на получение разрешения на воспроизведение или перевод публикаций ВОЗ - как для продажи, так и для некоммерческого распространения - следует направлять в Отдел прессы ВОЗ через веб-сайт ВОЗ (http://www.who.int/about/licensing/copyright_form/en/index.html).

Обозначения, используемые в настоящей публикации, и приводимые в ней материалы не отражают какого-либо мнения Всемирной организации здравоохранения относительно юридического статуса какой-либо страны, территории, города или района или их органов власти, либо относительно делимитации их границ. Пунктирные линии на географических картах обозначают приблизительные границы, в отношении которых пока еще может быть не достигнуто полное согласие.

Упоминание конкретных компаний или продукции некоторых изготовителей не означает, что Всемирная организация здравоохранения поддерживает или рекомендует их, отдавая им предпочтение по сравнению с другими компаниями или продуктами аналогичного характера, не упомянутыми в тексте. За исключением случаев, когда имеют место ошибки и пропуски, названия патентованных продуктов выделяются начальными прописными буквами.

Всемирная организация здравоохранения приняла все разумные меры предосторожности для проверки информации, содержащейся в настоящей публикации. Тем не менее, опубликованные материалы распространяются без какой-либо четко выраженной или подразумеваемой гарантии. Ответственность за интерпретацию и использование материалов ложится на пользователей. Всемирная организация здравоохранения ни в коем случае не несет ответственности за ущерб, возникший в результате использования этих материалов.

Приложение 1. Алгоритмы тестирования

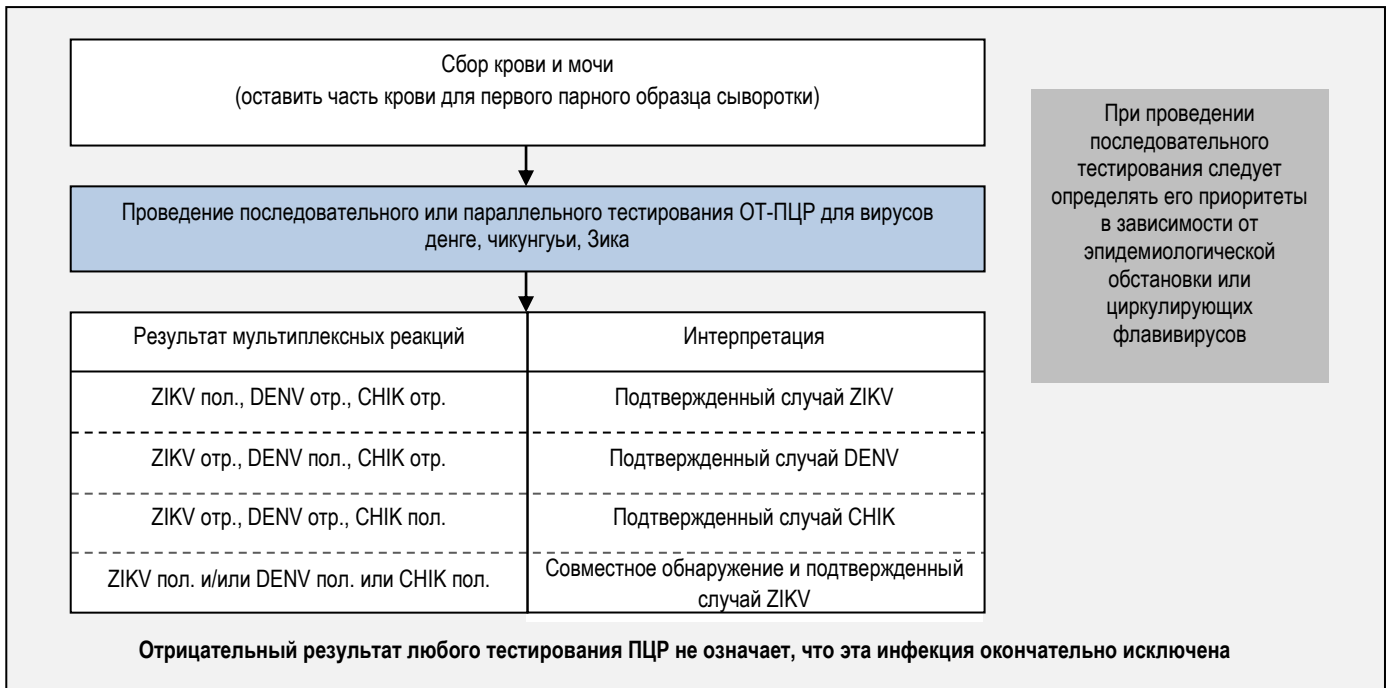


Рисунок 1. Предлагаемый алгоритм тестирования для предполагаемых случаев заражения арбовирусной инфекцией, выявленных в течение семи дней после возникновения симптомов

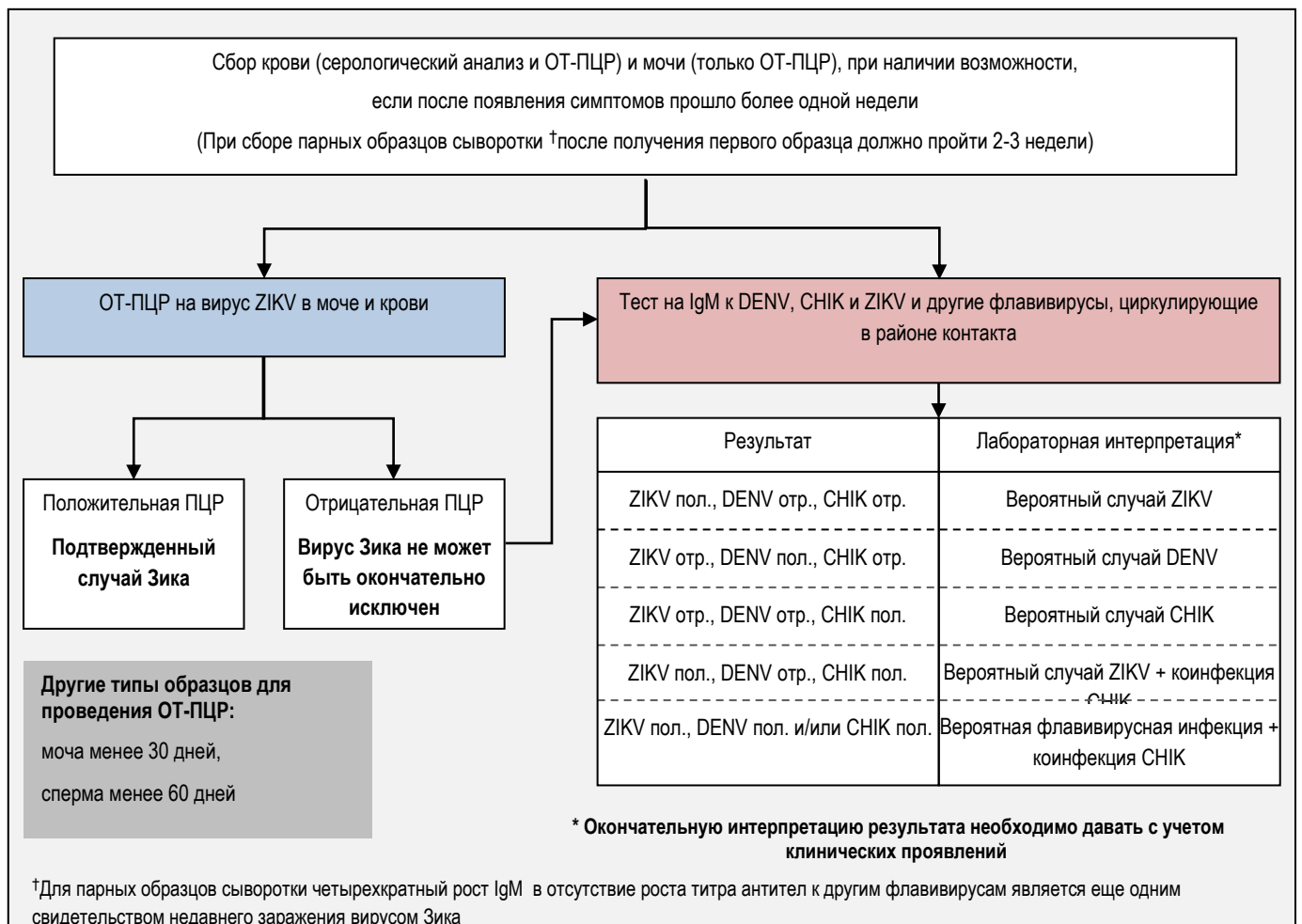


Рисунок 2. Предлагаемый алгоритм тестирования для предполагаемых случаев заражения арбовирусной инфекцией по истечении более семи дней после возникновения симптомов