



**Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил и норм "**  
**Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию и эксплуатации**  
**референс-лаборатории и лаборатории полимеразной цепной реакции"**

*Утративший силу*

Приказ и.о. Министра здравоохранения Республики Казахстан от 12 августа 2005 года № 399. Зарегистрирован в Министерстве юстиции Республики Казахстан 22 августа 2005 г. № 3804. Утратил силу приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от от 30 июня 2010 года № 476

**Сноска. Утратил силу приказом Министра здравоохранения РК от 30.06.2010 № 476.**

В соответствии с подпунктом 10) статьи 7 и подпунктом 3) статьи 17 Закона Республики Казахстан "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения", **ПРИКАЗЫВАЮ:**

1. Утвердить прилагаемые санитарно-эпидемиологические правила и нормы "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию и эксплуатации референс-лаборатории и лаборатории полимеразной цепной реакции".

2. Комитету государственного санитарно-эпидемиологического надзора Министерства здравоохранения Республики Казахстан (Байсеркин Б.С.) направить настоящий приказ на государственную регистрацию в Министерство юстиции Республики Казахстан.

3. Департаменту организационно-правовой работы Министерства здравоохранения Республики Казахстан (Акрачкова Д.В.) после государственной регистрации настоящего приказа в Министерстве юстиции Республики Казахстан обеспечить его официальное опубликование.

4. Контроль за исполнением настоящего приказа возложить на вице-министра здравоохранения, Главного государственного санитарного врача Республики Казахстан Белоног А.А.

5. Настоящий приказ вводится в действие со дня его официального опубликования.

*И.о.Министра*

У т в е р ж д е н ы      п р и к а з о м  
И . о . м и н и с т р а      з д р а в о о х р а н е н и я  
Р е с п у б л и к и      К а з а х с т а н  
от 12 августа 2005 года N 399

# **Санитарно-эпидемиологические правила и нормы "Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию и эксплуатации референс-лаборатории и лаборатории полимеразной цепной реакции"**

## **1. Общие положения**

1. Настоящие санитарно-эпидемиологические правила и нормы (далее - санитарные правила) предназначены для физических и юридических лиц, независимо от форм собственности, деятельность которых связана с проектированием, строительством, реконструкцией и эксплуатацией в референс-лаборатории и лаборатории полимеразной цепной реакции.

2. Руководители организаций, имеющих в своем составе референс-лаборатории и лаборатории полимеразной цепной реакции, должны обеспечивать соблюдение требований настоящих санитарных правил.

3. В настоящих санитарных правилах использованы следующие термины и определения:

1) референс-лаборатория - лаборатория, предназначенная для проведения референтно-экспертных исследований различных объектов на наличие патогенных биологических агентов (далее - ПБА), идентификации выделенных культур; проведения эпидемиологической, бактериологической разведки и осуществляет консультативно-методическую работу; совершенствует методы диагностики ПБА; занимается подготовкой кадров по современным методам диагностики ПБА;

2) полимеразная цепная реакция (далее - ПЦР) - это метод, позволяющий найти в исследуемом материале небольшой участок генетической информации любого организма среди огромного количества других участков и многократно размножить его, имитируя естественную репликацию дезоксирибонуклеидов (далее - ДНК), в количестве достаточном для визуального учета методом гель-электрофореза. Высокая чувствительность и специфичность метода дает возможность непосредственного обнаружения инфекционного агента и проведения генотипирования.

## **2. Санитарно-противоэпидемические требования к размещению и помещениям лаборатории**

4. Устройство и условия работы референс-лаборатории и лаборатории полимеразной цепной реакции должны соответствовать требованиям санитарно-эпидемиологических правил и норм "Санитарно-эпидемиологические

требования к устройству и условиям работы микробиологических, вирусологических и паразитологических лабораторий", утвержденных приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от 21 января 2004 года N 63, зарегистрированным в Реестре государственной регистрации нормативно-правовых актов Республики Казахстан - за N 2692 (далее - Приказ N 63).

5. Лаборатория должна иметь набор помещений площадей в соответствии с приложениями 1, 2, 3, 4 к Приказу N 63.

6. Территория земельного участка должна быть обнесена сплошным, оборудованным ограждением.

7. Вход и въезд на территорию разрешаются только по специальным постоянным или разовым пропускам, подписанным руководителем организации.

8. На территории должны быть асфальтированные (бетонированные) площадки с установленными на них бункерами (металлическими контейнерами) для сбора предварительно обеззараженного мусора и других отходов. Площадки подвергаются систематической очистке и дезинфекции.

9. На входной двери лаборатории, имеющей запирающее устройство, должно быть обозначено название (номер) лаборатории и международный знак "Биологическая опасность".

10. Текущий контроль работы оборудования для стерилизации и дезинфекции зараженных объектов должен осуществляться сотрудниками лаборатории соответствующих лабораторий. Бактериологический контроль эффективности работы паровых стерилизаторов должны проводиться 1 раз в месяц отделами биологического и технологического контроля лаборатории.

11. Плановый контроль безопасности сточных вод должен проводиться 1 раз в 10 дней специалистами референс-лаборатории. Контроль работы канализационной системы должен проводиться инженерной службой лаборатории.

12. Плановый контроль измерительных приборов должен проводиться в соответствии с Законом Республики Казахстан "Об обеспечении единства измерений" N 53-III от 07 июня 2000 года.

13. Боксированные помещения и микробиологические комнаты должны иметь автономную систему приточно-вытяжной вентиляции, изолированную от других вентиляционных систем здания, оборудованную фильтрами тонкой очистки (далее - ФТО) на выходе, проверенными на защитную эффективность (после монтажа и подготовки к использованию, не реже одного раза в год при наличии фильтров предварительной очистки воздуха от крупнодисперсных частиц не реже одного раза в полугодие при отсутствии фильтров предварительной очистки воздуха от крупнодисперсных частиц в системе подаваемого в бокс и

выводимого из него воздуха, после перемещения или ремонта бокса).

14. При отсутствии в помещении приточно-вытяжной вентиляции или ФТО на выходе вытяжной вентиляции, в "заразной" зоне при работе с инфицированным материалом, зараженным или подозрительным на зараженность возбудителями бактериальных инфекций I-II групп патогенности, следует использовать боксы биологической безопасности (далее - ББ) II класса, для вирусов - III класса.

15. Работы, связанные с высоким риском образования аэрозоля (центрифугирование, гомогенизация, измельчение, интенсивное встряхивание, обработка ультразвуком, вскрытие объектов с зараженным материалом, большие объемы и высокая концентрация ПБА и другие) должны проводить в отдельных боксовых помещениях или боксах ББ III класса. Внутри боксов ББ устанавливают необходимое оборудование. Боксы ББ допускается соединить между собой, создавая технологические линии. Места ввода коммуникаций и соединения боксов между собой должны быть герметизированы.

16. Для защиты рабочих столов от попадания прямого солнечного света должны использовать светозащитные пленки, жалюзи из материала, устойчивого к дезинфицирующим средствам.

17. При расположении референс-лаборатории в одном блоке с несколькими профильными лабораториями общими для них могут быть - блок для работы с инфицированными животными, комнаты для приготовления питательных сред и другие помещения.

18. По числу технологических операций полимеразной цепной реакции помещения лаборатории должна делиться на три основные производственные зоны: зона подготовки проб - "пре-ПЦР"; зона постановки самой полимеразной цепной реакции - "ПЦР", зона для детекции результатов - "пост-ПЦР".

19. При организации лаборатории полимеразной цепной реакции для каждой зоны должны выделяться изолированные боксы, снабженные предбоксниками.

20. Основным требованием в лаборатории полимеразной цепной реакции - это размещение комнаты электрофореза, которую должны изолировать подальше от двух других зон (другой этаж, другое здание или отдаленный бокс с предбоксником в лаборатории).

21. Все производственные помещения должны оборудоваться бактерицидными лампами.

22. Для переодевания, хранения верхней одежды, приема пищи и складского помещения для лабораторных материалов должны выделяться отдельные вспомогательные помещения.

### **3. Санитарно-эпидемиологические требования к условиям эксплуатации в лаборатории**

23. Приборы, оборудование и средства измерений, используемые в работе лаборатории должны быть технически исправны, иметь технический паспорт и рабочую инструкцию по эксплуатации с учетом требований биологической безопасности. Средства измерения должны подвергаться метрологическому контролю в установленные сроки.

24. При проведении диагностических исследований в референс-лаборатории должны использоваться официально разрешенные методы исследований, стандартное оборудование и расходные материалы. Оборудование и аппаратура должны эксплуатироваться согласно нормативно-технической документации. Инструкции по их эксплуатации должны вывешиваться на рабочих местах.

25. Ввод в эксплуатацию нового оборудования, приборов, а также использование новых методик, предназначенных для работы с ПБА, должны осуществляться после заключения режимной комиссии и комиссии по технике безопасности об их соответствии требованиям противоэпидемического режима работы с ПБА и правилам безопасной работы персонала согласно глав 3 , 4 , 5  
П р и к а з а                     Н                     6 3                     .

26. Планово-предупредительный ремонт лабораторного оборудования и инженерных систем обеспечения биологической безопасности подразделений должны осуществляться в соответствии с утвержденным графиком таких работ.

27. При поступлении на работу и, в дальнейшем, ежеквартально должен проводиться инструктаж по технике безопасности для всех работников л а б о р а т о р и и .

28. Для работы с ПБА должны применяться боксы ББ II-III класса.

29. Скорость воздушного потока в проеме бокса ББ II класса должна составлять 0,4-0,75 метров в секунду (далее - м/сек.), разрежение в боксах ББ III класса 20 миллиметров (далее - мм) водяного столба по отношению к помещению лаборатории. Все работы в боксах ББ должны проводить на специальных поддонах с салфетками, смоченными дезинфицирующим раствором .

30. Перед началом работы в боксе ББ должны включить вентиляцию, для боксов ББ III класса должны проверить наличие отрицательного давления по шкале боксового манометра (направление и величину скорости движения воздуха в открытом проеме боксов ББ II класса определяют при их установке и после проведения ППР). Должны проверяться исправность оборудования в боксе , наличие аварийного запаса дезинфицирующих средств и загружаться материал.

31. Вся работа должна выполняться ближе к задней стенке бокса ББ II класса

и быть видимой снаружи.

32. После удаления контейнеров с ПБА, дверь бокса ББ должны закрывать, внутри бокса должны включить бактерицидные лампы.

33. Во время работы двери боксов и предбоксов должны быть закрытые. Выход из боксов во время проведения работ не допускается.

34. Все виды работ с биологическим материалом I-II групп патогенности, должны проводить с соблюдением принципа парности (не менее двух человек, один из которых - врач или научный сотрудник). Время непрерывной работы с таким материалом ограничивают четырьмя часами, после которых устанавливают 30-60 минутный перерыв.

35. Не допускается оставлять после окончания работы на открытых местах или в не опечатанных хранилищах нефиксированные мазки, не разрешается оставлять на столах и в боксах биологической безопасности засеянную посуду.

36. Работу с высокими концентрациями ПБА и большими объемами (более 500 миллилитров в емкости) должны проводить в боксах ББ II-III класса или противочумном костюме соответствующего типа.

37. Ампулы с высушенными культурами должны вскрываться в помещении музея (коллекции) живых культур в боксе биологической безопасности. Вскрытую ампулу должны накрывать стерильным марлевым тампоном на 1-2 минуты, затем в ампулу вносить раствор для приготовления взвеси, которую далее высевают на твердые и жидкие питательные среды.

38. По окончании работы с ПБА объекты с посевами должны переноситься в хранилища (сейфы, холодильники, термостаты).

39. Хранение ПБА, их учет и уничтожение должны осуществляться согласно Приказу N 63 .

40. Для индивидуальной защиты персонала должны использовать защитную одежду, перед сдачей в стирку защитные костюмы должны обеззараживаться. Тип защитной одежды зависит от характера выполняемой работы в соответствии с Приказом N 63 .

41. Дезинфекция различных объектов при работе с биологическим материалом I-II групп патогенности должны проводиться в соответствии с действующими инструкциями и руководствами.

42. Емкости со сгустками крови (пробирки, флаконы) должны обеззараживаться только с использованием дезинфицирующего раствора. При погружении необходимо соблюдать осторожность (емкость берут анатомическим пинцетом так, чтобы одна его бранша вошла немного внутрь, и погружают ее в наклонном положении до полного заполнения раствором). При правильном погружении воздушные пузыри не образуются, и емкость опускается на дно. После погружения всех емкостей пинцет должен обеззараживаться.

43. Использованные пипетки полностью погружают в дезинфицирующий раствор, избегая образования в каналах пузырьков воздуха. В дальнейшем должны проводиться обеззараживание в автоклаве.

44. Перенос заразного материала в автоклавную должен осуществляться в емкостях для автоклавирования, поставленных в металлические поддоны с высокими (20 сантиметровыми) бортиками, производит младший и средний персонал в сопровождении ответственного лица, допущенного к работе с ПБА. На время переноса материала в автоклавную другое движение на пути его следования должно прекращаться.

45. В контейнерах для автоклавирования по верхнему краю боковых стенок должны быть отверстия, обеспечивающие свободную циркуляцию пара. Целостность контейнеров и поддонов должно проверяться перед каждым использованием.

46. Контейнеры для транспортирования ПБА изготавливают из прочного, антикоррозийного материала. Дно должно быть выстлано мягким, адсорбирующим материалом в количестве, достаточном для поглощения всей жидкости в случае утечки. Крышка должна плотно закрываться.

47. Передача обеззараженного материала из референс-лаборатории лабораториям внутри организации и за его пределы должна допускаться после проверки на специфическую стерильность.

48. При проведении серологических исследований на бактериальные инфекции должна проводиться предварительная обработка материала. Сыворотки и суспензии крови обеззараживают добавлением мертиолята натрия, до концентрации 1:10000, с последующим прогреванием их при 56 градусах Цельсия (далее -  $^{\circ}$ С) в течение 30 минут. Для забора крови и смывов с внутренних органов допускается использование фильтровальной бумаги, пропитанной мертиолятом натрия в концентрации 1:1000, обеззараживание наступает после часовой экспозиции при комнатной температуре.

49. Эффективность обработки контролируют пробой на отсутствие возбудителя ("специфическую стерильность").

50. При необходимости проведения срочного анализа на наличие антигенов возбудителей I-II групп и отсутствии времени для обработки материала или постановки пробы на отсутствие возбудителя инфекции серологические реакции должны проводиться в "заразной" зоне с соблюдением требований биологической безопасности, обусловленных видовыми особенностями ПБА.

51. В случае необходимости срочного транспортирования обезвреженного материала без контроля на отсутствие возбудителя инфекции его перевозят как заразный материал.

52. Вынос из "заразной" зоны лаборатории оборудования, лабораторной или хозяйственной посуды, реактивов, инструментов должен производиться после их дезинфекции и с разрешения руководителя лаборатории.

53. Перед уходом из помещения сотрудники должны проверить отключение газа, воды, ненужных приборов. Помещения "заразной" зоны лаборатории должны опечатываться и запираются на замок. Открывание и снятие печатей, запирающие и опечатывание всей лаборатории должны производиться сотрудниками (научные сотрудники, врачи, лаборанты), имеющими соответствующее разрешение руководителя лаборатории. Режим обеззараживания суспензий внутренних органов или костного мозга животных, материала от больных людей, субстратов гнезд птиц и млекопитающих, погадок хищных птиц, а также бактериальных взвесей должны определяться видом возбудителя:

1) возбудителя чумы обеззараживают добавлением проверенного на бактерицидное действие формалина до 1-2 процентов (далее - %) конечной концентрации с последующей экспозицией не менее 12 часов или до концентрации 4% с экспозицией при комнатной температуре в течение одного часа;

2) возбудителей бруцеллеза и туляремии обеззараживают кипячением в течение 20 минут с последующим добавлением формалина до 2 % концентрации и экспозицией в течение двух часов при комнатной температуре;

3) возбудителей холеры обеззараживают кипячением в течение 30 минут;

4) возбудителя сапа обеззараживают добавлением формалина до 4 % концентрации с последующей экспозицией в течение 12 часов;

5) возбудителя сибирской язвы обеззараживают кипячением в течение 60 минут с последующим добавлением формалина до 4 % концентрации и экспозицией до одного часа;

б) качество мертиолята натрия и формалина подлежит обязательному контролю.

#### **4. Санитарно-эпидемиологические требования к планировке помещений и условиям работы ПЦР-диагностических лабораторий**

54. Лаборатория должна быть разделена на следующие зоны (комнаты):

1) помещение для подготовки проб (далее - пре-ПЦР-зона);

2) помещение для постановки самой ПЦР (далее - ПЦР-зона);

3) помещение для детекции результатов ПЦР (далее - пост-ПЦР-зона).

55. Все три зоны должны быть изолированными боксами, снабженными предбоксниками. Помещение детекции продуктов амплификации (



пост-ПЦР-зона) как можно дальше изолировать от двух других зон (другой этаж, другое здание или отдаленный бокс с предбоксом в лаборатории).

56. Должны исключить движение воздушного потока из пост-ПЦР в пре-ПЦР-помещения. Работа в лаборатории должна быть организована в направлении от пре-ПЦР к пост-ПЦР-помещению.

57. В комнате приготовления реакционной смеси и в комнате обработки клинических образцов должны быть установлены настольные боксы с ультрафиолетовыми лампами.

58. Клинические образцы должны храниться отдельно от реагентов.

59. Каждое помещение ПЦР-диагностической лаборатории должно иметь свой набор реагентов, автоматических пипеток, наконечников, пластиковой и стеклянной посуды, лабораторного оборудования, халатов и перчаток, используемых только в данном помещении и не выносящихся в другие ПЦР-помещения. Оборудование, материалы и инвентарь в каждой комнате должны иметь соответствующую маркировку.

60. Необходимо однократно использовать пробирки и наконечники для автоматических пипеток. Обязательно менять наконечники при переходе от одной пробы к другой с целью предотвращения перекрестной контаминации в процессе выделения ДНК или при раскапывании реакционной смеси.

61. Однократно использовать перчатки в комнате обработки клинических образцов, приготовления реакционной смеси и постановки смеси.

62. Для автоматических пипеток должны использовать наконечники с аэрозольным барьером (или наконечники с ватными фильтрами, приготовленными в помещении, в котором не ведутся работы с ДНК) при обработке клинических образцов, а также при внесении выделенной ДНК в реакционную пробирку.

63. В пре-ПЦР и пост-ПЦР-помещениях лаборатории должны работать разные сотрудники. Каждый сотрудник лаборатории должен иметь персональный набор автоматических пипеток и реагентов.

64. Следует полностью исключить проведение в ПЦР-диагностической лаборатории работ, связанных с получением (клонированием) и выделением рекомбинантных плазмид, содержащих последовательности ДНК или фрагментов генов возбудителей, которые диагностируются в данной лаборатории.

65. Использовать суховоздушные термостаты (не следует использовать водяные бани, так как заполняющая их вода, просачиваясь в недостаточно плотно закрытые пробирки, может стать источником контаминации).

66. Персонал, работающий в ПЦР-диагностической лаборатории должен пройти соответствующее обучение.

67. Обработка рабочей одежды из пре- и пост-ПЦР-помещений должна производиться отдельно.

68. Каждое помещение должно иметь свой отдельный набор инвентаря для обработки и уборки рабочего места (ватно-марлевые тампоны, пинцет, 70% этанол, дезинфицирующий раствор и другие) и источники ультрафиолетового излучения, которые эффективно инактивируют ДНК-матрицы.

69. При манипуляции с клиническим материалом рабочую поверхность до и после исследования обрабатывают дезинфицирующим раствором (указанным для данного возбудителя) и затем 70% этанолом.

70. В комнате приготовления реакционной смеси рабочую поверхность должны обрабатывать 70% этанолом с целью борьбы с пылью.

## **5. Санитарно-эпидемиологические требования к проведению ПЦР-анализа**

71. При работа в пре-ПЦР-зоне должны:

1) производить забор клинических образцов только в одноразовые пластиковые пробирки или в стеклянные пробирки, предварительно обработанные в течение одного часа хромовой смесью, тщательно промытые дистиллированной водой и прокаленные;

2) работать только в одноразовых перчатках;

3) использовать одноразовые наконечники для автоматических пипеток аэрозольным барьером;

4) менять наконечники при переходе от одной пробы к другой;

5) сбрасывать использованные пробирки и наконечники в одноразовые контейнеры или в специальную емкость с одной нормальным раствором соляной кислоты (далее - 1Н раствором HCl).

72. При работе в ПЦР-зоне должны:

1) работать только в одноразовых перчатках;

2) готовить смесь реактивов для ПЦР, рассчитанную на все пробы, включая контрольные, и затем - раскапывать ее по пробиркам;

3) использовать автоматические пипетки с переменным объемом и одноразовые наконечники;

4) в каждый момент работать только с одной пробиркой;

5) применять во всех случаях постановки ПЦР отрицательные и положительные контроли в соответствии с инструкцией по применению диагностических наборов;

6) добавлять подготовленные к ПЦР исследуемые образцы в реакционные смеси одноразовыми наконечниками с аэрозольным барьером в последнюю

очередь. Использованные наконечники сбрасывать в емкость с 1Н раствором HCl

73. При работе в пост-ПЦР-зоне должны:

1) производить анализ продуктов ПЦР в изолированной комнате сотрудником лаборатории, не производящим обработки клинических образцов и операций с реакционной смесью;

2) работать только в одноразовых перчатках;

3) оборудование, реактивы, халаты, перчатки, а также уборочный инвентарь, используемые в комнате детекции продуктов амплификации (пост-ПЦР-помещение), хранить только в этой комнате и не попадать в пре-ПЦР-помещения;

4) работать в комнате детекции продуктов амплификации в сменной обуви.

74. Рабочие поверхности, оборудование и материалы должны облучаться ультрафиолетом с максимумом излучения в области 260 нанометров (нм). Облучение должно проводиться в течение одного часа до начала работы и в течение одного часа после окончания работы.

75. Использованные наконечники для автоматических пипеток, пробирки и другие загрязненные ДНК материалы должны обрабатываться реагентами, вызывающими деградацию ДНК (1Н HCl, 10% гипохлоритом натрия или 10% хлорной известью).

76. Для оценки качества работы ПЦР-диагностической лаборатории должны периодически применяться зашифрованные внутрिलाбораторные контрольные положительные и отрицательные образцы.