



МІНІСТЭРСТВА  
АХОВЫ ЗДАРОЎЯ  
РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ

МИНИСТЕРСТВО  
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

ЗАГАД

ПРИКАЗ

20.05.2009 № 486

г. Минск

г. Минск

Об утверждении инструкции по  
лабораторной диагностике хламидиоза

На основании Положения о Министерстве здравоохранения Республики Беларусь, утвержденного постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 23 августа 2000 г. № 1331, в редакции постановления Совета Министров Республики Беларусь от 1 августа 2005 г. № 843, в целях совершенствования организации медицинской помощи населению республики

ПРИКАЗЫВАЮ:

1. Утвердить инструкцию по лабораторной диагностике хламидиоза (далее - Инструкция);
2. Начальникам управления здравоохранения областных исполнительных комитетов, председателю комитета по здравоохранению Мингорисполкома, руководителям республиканских организаций здравоохранения принять необходимые меры для внедрения Инструкции в практическую работу.
3. Ректорам медицинских университетов, ректору Белорусской медицинской академии последипломного образования внедрить Инструкцию в учебный процесс.
4. Контроль за исполнением приказа возложить на начальника управления организации медицинской помощи Волжанкину Г.В.

Заместитель Министра

В.Е.Шевчук

## ИНСТРУКЦИЯ по лабораторной диагностике хламидиоза

### ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. На территории Республики Беларусь лабораторная диагностика хламидийной инфекции осуществляется в клинико-диагностических, микробиологических, бактериологических и молекулярно-биологических лабораториях.

2. Данная инструкция разработана для решения следующих задач:

- определения показаний к обследованию на хламидийную инфекцию;
- определения спектра диагностических методов, используемых для диагностики хламидийной инфекции;
- установления единых требований к порядку диагностики хламидийной инфекции.

3. Основным методом диагностики хламидийной инфекции являются методы амплификации нуклеиновых кислот (МАНК). Применение методов иммуноферментного анализа, направленного на выявление антител к возбудителю *Chlamydia trachomatis*, посева на живые клеточные культуры допустимо при проведении научно-исследовательских работ. Методика реакции прямой иммунофлуоресценции, направленная на выявление антигенов *Chlamydia trachomatis*, может использоваться в качестве отборочного теста.

4. Инструкция включает в себя следующие приложения:

Приложение 1. Показания к обследованию на хламидийную инфекцию;

Приложение 2. Взятие, транспортировка и хранение клинического материала;

Приложение 3. Молекулярно-биологическая диагностика хламидийной инфекции;

Приложение 4. Диагностика хламидийной инфекции с использованием реакции прямой иммунофлуоресценции.

Приложение 5. Культуральная диагностика хламидийной инфекции.

Приложение № 1  
к приказу Министерства здравоохранения  
Республики Беларусь  
20.05.2009 № 486

Перечень медицинских показаний для обследования на хламидийную инфекцию

| Показания                                                                                                                                                                                                               | Рекомендуемый вид исследований |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------|
| <b>МУЖЧИНЫ</b>                                                                                                                                                                                                          |                                |
| воспалительные заболевания половых путей (уретрит, эпидидимит, простатит, парауретрит, дизурия, кольцевидный баланит и баланопостит, деферентит, фуникулит, куперит; везикулит; колликулит; проктит и/или проктоколит). | МАНК                           |
| бесплодие, эпидидимит, орхит, орхоэпидидимит, простатит                                                                                                                                                                 | МАНК                           |
| плановые оперативные вмешательства на органах мочеполовой системы                                                                                                                                                       | МАНК                           |
| воспалительные заболевания суставов                                                                                                                                                                                     | МАНК                           |
| длительно текущий конъюнктивит неустраненной этиологии.                                                                                                                                                                 | МАНК                           |
| длительно текущий назофарингит неустраненной этиологии.                                                                                                                                                                 | МАНК                           |
| <b>ЖЕНЩИНЫ</b>                                                                                                                                                                                                          |                                |
| воспалительные заболевания половых путей (выделения из мочеполовых органов; уретрит, вульвовагинит, цервицит, ВЗОМТ, бартолинит, пельвиоперитонит,                                                                      | МАНК                           |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                    |      |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| посткоитальные или межменструальные кровянистые выделения из половых путей, дизурия).                                                                                                                                                                                              |      |
| воспалительные заболевания малого таза, хронические боли в области малого таза, бесплодие.                                                                                                                                                                                         | МАНК |
| женщины, которым ранее проводилось лечение влагалищной части шейки матки (консервативное, хирургическое лечение) без предварительного углубленного обследования.                                                                                                                   | МАНК |
| женщины с ранним сексуальным дебютом (до 17 лет).                                                                                                                                                                                                                                  | МАНК |
| перед проведением медицинских вмешательств: прерывание беременности, проведение репродуктивных технологий (ЭКО, ИКСИ, инсеминация донорской спермой), проведение внутриматочных вмешательств, введение внутриматочных систем, плановыми операциями на органах мочеполовой системы. | МАНК |
| женщины с отягощенным акушерско-гинекологическим анамнезом, планирующие беременность.                                                                                                                                                                                              | МАНК |
| беременные женщины при постановке на учет.                                                                                                                                                                                                                                         | МАНК |
| беременные с осложненным течением настоящей беременности: кольпит, цистит, пиелонефрит, кондиломатоз, угроза прерывания, истмико-цервикальная недостаточность, хориоамнионит, преждевременное излитие околоплодных вод.                                                            | МАНК |
| воспалительные заболевания суставов неустановленной этиологии.                                                                                                                                                                                                                     | МАНК |

|                                                                                                                                                           |                                        |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| длительно текущий конъюнктивит<br>неустановленной этиологии.                                                                                              | МАНК                                   |
| длительно текущий назофарингит<br>неустановленной этиологии.                                                                                              | МАНК                                   |
| НОВОРОЖДЕННЫЕ                                                                                                                                             |                                        |
| длительно текущий конъюнктивит<br>неустановленной этиологии.                                                                                              | МАНК                                   |
| длительно текущий назофарингит<br>неустановленной этиологии.                                                                                              | МАНК                                   |
| новорожденные с осложнением<br>перинатального периода: внутриутробная<br>инфекция, конъюнктивит, заболевания<br>органов дыхания, заболевания ЛОР–органов. | МАНК                                   |
| ЛИЦА                                                                                                                                                      |                                        |
| предполагающие у себя наличие хламидийной<br>инфекции.                                                                                                    | МАНК                                   |
| имевшие половой контакт с лицом с<br>установленной хламидийной инфекцией.                                                                                 | МАНК                                   |
| при обследовании на другие ИППП.                                                                                                                          | МАНК                                   |
| подвергшиеся половому насилию.                                                                                                                            | МАНК или культуральное<br>исследование |
| группы риска: MSM, лица, занимающиеся<br>коммерческим сексом.                                                                                             | МАНК                                   |

Приложение № 2  
к приказу Министерства здравоохранения  
Республики Беларусь  
20.05.2009 № 486

Правила отбора, транспортировки и хранения первичных проб

| Метод исследования | Материалы и оборудование, инструментарий                                                                                                                                         | Обследуемый очаг/биоматериал | Правила взятия                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               | Сроки и условия хранения и транспортировки                                                                                                                                                                                                   | Примечания                                                                                                                                                 |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| МАНК               | Зонд универсальный;<br>стерильный марлевый (ватный) тампон;<br>стерильный контейнер для мочи;<br>вагинальное зеркало;<br>ложка Фолькмана;<br>одноразовые пробирки с транспортной | Уретра, мужчины              | Подготовка к взятию проб:<br>помассировать уретру от основания пениса к его головке перед взятием уретрального материала, область наружного отверстия уретры очистить с помощью стерильного марлевого тампона, крайнюю плоть отвести назад.<br>Взятие материала:<br>осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана в наружное отверстие мочеиспускательного канала (на глубину 3-4 см) и слегка нажимая на переднюю стенку уретры собрать материал. | Непосредственно после взятия материал помещается в пробирку с транспортной средой.<br>Пробы из уретры и цервикального канала могут храниться при комнатной температуре +18-+22 °С в течение 6 часов, при +2-+8°С в течение 2-х недель, при - | Взятие проб осуществляется следуя инструкции только стерильными одноразовыми и инструментами.<br>Детям препубертатного возраста мазки берутся из наружного |
|                    |                                                                                                                                                                                  | Предстательная               | Сбор материала:<br>- получение материала                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                            |

|  |         |                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                         |
|--|---------|--------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | средой. | железа             | рекомендуется проводить после мочеиспускания;<br>- провести ректальный массаж предстательной железы;<br>- материал для исследования собрать из наружного отверстия уретры.                                                                                                                                                                                                     | 20°С – 1 месяц, если иное не предусмотрено Производителем тест-систем.<br>Секрет предстательной железы хранится при комнатной температуре (+18-+22 °С) в течение 6 часов, при +2-+8°С в течение 1-х суток, при -20°С – 1 неделя, если иное не предусмотрено Производителем тест-систем.<br>Моча хранится при комнатной температуре +18-+22 °С в течение 6 часов, при +2-+8°С в течение 1-х суток. | отверстия мочеиспускательного канала мягким зондом или собирается моча. Допускается однократное размораживание образца. |
|  |         | Сперма             | Забор спермы осуществлять в стерильные одноразовые флаконы или пробирки.                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                         |
|  |         | Уретра, женщины    | Подготовка к взятию образцов:<br>наружное отверстие очистить с помощью стерильного тампона, при отсутствии свободных выделений провести легкий массаж уретры.<br>Взятие материала:<br>осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана в наружное отверстие мочеиспускательного канала (на глубину 1-2 см) и слегка нажимая на переднюю стенку уретры собрать материал. |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                         |
|  |         | Цервикальный канал | Подготовка к взятию образцов:<br>ввести гинекологическое зеркало и очистить наружное отверстие цервикального канала от выделений при помощи стерильного тампона.                                                                                                                                                                                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |                                                                                                                         |

|  |  |                                                |                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |
|--|--|------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
|  |  |                                                | <p>Взятие материала:<br/>осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана цервикальный канал (на глубину 2 см) и вращая его, собрать материал.</p>                                                                                                            | <p>Отделяемое<br/>конъюнктивы<br/>хранится при<br/>комнатной<br/>температуре в<br/>течение 6 часов,<br/>при +2-8°C в<br/>течение 3-х суток,<br/>при -20°C – 1<br/>месяц.<br/>Клинический<br/>материал,<br/>помещенный, в<br/>транспортную<br/>среду, должен<br/>транспортировать<br/>ся при +18-+22°C<br/>в течение 2 часов,<br/>свыше 2 часов +2-<br/>+8°C в сумке-<br/>холодильнике.</p> |  |
|  |  | Задний свод влагалища                          | <p>В случае избытка слизи и обильных выделений удалить их стерильным ватным тампоном. Проводят универсальным зондом или ложкой Фолькмана по поверхности слизистой в области заднего свода влагалища и эктоцервикса и переносят в пробирку с транспортной средой.</p> |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |
|  |  | Влагалище (у девочек препубертатного возраста) | <p>Взятие материала:<br/>Универсальный зонд или ложка Фолькмана осторожно вводится через гименальное отверстие во влагалище и вращательными движениями производится взятие материала.</p>                                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |
|  |  | Моча                                           | <p>Для исследования собирается первые 10-20 мл мочи (первая порция), выпущенной в стерильный контейнер.</p>                                                                                                                                                          | <p>Моча должна<br/>быть доставлена в<br/>лабораторию в<br/>течение 3 часов<br/>без</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |  |
|  |  | Конъюнктива                                    | <p>Взятие материала:<br/>отводят нижнее веко и универсальным</p>                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |  |

|                           |                                                                                                             |                          |                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                                    |                                        |
|---------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
|                           |                                                                                                             |                          | зондом или стерильным тампоном проводят по поверхности конъюнктивы нижнего века по направлению к внутреннему углу глаза. Исследование из каждого глаза проводят отдельным тампоном. | дополнительного замораживания или охлаждения. Пробирка с клиническим материалом помещается в герметичную емкость для транспортировки в сопровождении соответствующего направления. |                                        |
|                           |                                                                                                             | Ротогло-тка              | Мазки взять универсальными зондами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки.                                                        |                                                                                                                                                                                    |                                        |
|                           | Иглы Паркер-Пирсона; стерильные медицинские перчатки; стерильные ватные шарики; спирт этиловый 70%; маркер. | Сино-виаль-ная жид-кость | Получение синовиальной жидкости производится методом стандартной биопсии с использованием иглы Паркер-Пирсона.                                                                      |                                                                                                                                                                                    |                                        |
| Метод прямой имму-нофлюо- | Зонд универсаль-ный; стерильный                                                                             | Уретра, мужчи-ны         | Подготовка к взятию проб: помассировать уретру от основания пениса к его головке перед взятием уретрального материала, область                                                      | Непосредственно после взятия материала готовят мазок-                                                                                                                              | В случае несоблюден-ия правил взятия и |

|                |                                                                                                                                        |                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ресцен-<br>ции | марлевый<br>тампон;<br>ложка<br>Фолькмана;<br>вагинальное<br>зеркало;<br>предметные<br>стекла<br>трехлуночные;<br>покровные<br>стекла. |                         | наружного отверстия уретры очистить с помощью стерильного марлевого тампона, крайнюю плоть отвести назад.<br>Взятие материала:<br>осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана в наружное отверстие мочеиспускательного канала (на глубину 3-4 см) и слегка нажимая на переднюю стенку уретры собрать материал.                                                                                      | отпечаток,<br>касаясь<br>поверхности<br>лунки<br>предметного<br>стекла.<br>Приготовленный<br>мазок<br>высушивают на<br>воздухе.<br>Высушенный<br>мазок фиксируют<br>холодным<br>ацетоном в<br>течение 1-2 мин.<br>Стекло с<br>фиксированным<br>мазком может<br>храниться при<br>температуре +4°C<br>в течение 3<br>суток, при -20 °C<br>- в течение 1<br>месяца. Каждое<br>стекло с<br>образцом | условий<br>доставки<br>образцов<br>(разбитые,<br>непромар-<br>кированные,<br>склеенные<br>друг с<br>другом<br>стекла,<br>отсутствие<br>материала на<br>стекле)<br>образцы не<br>подлежат<br>исследова-<br>нию<br>методом<br>прямой<br>иммуно-<br>флуоресцен-<br>ции. |
|                |                                                                                                                                        | Уретра,<br>женщи-<br>ны | Подготовка к взятию образцов:<br>наружное отверстие очистить с помощью стерильного тампона, при отсутствии свободных выделений провести легкий массаж уретры.<br>Взятие материала:<br>осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана в наружное отверстие мочеиспускательного канала (на глубину 0,5-2 см) и слегка нажимая на переднюю стенку уретры собрать материал вращательными движениями зонда. |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                      |
|                |                                                                                                                                        | Цервик<br>альный        | Подготовка к взятию образцов:<br>ввести гинекологическое зеркало и                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                      |

|                     |                                                                                                                                                           |                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |                                                                                                                                                                                                            |                                                                                                    |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                     |                                                                                                                                                           | канал           | очистить наружное отверстие цервикального канала от выделений при помощи стерильного тампона.<br>Взятие материала:<br>осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана в цервикальный канал (на глубину 1-2 см), собрать материал вращательным движением зонда и извлечь, избегая соприкосновения инструмента со стенками влагалища.                                                                                                                  | маркируется и помещается в контейнер для транспортировки в сопровождении направления.                                                                                                                      |                                                                                                    |
| Культуральный метод | Зонд универсальный;<br>стерильный марлевый тампон;<br>ложка Фолькмана;<br>вагинальное зеркало;<br>контейнер для мочи;<br>стерильные медицинские перчатки; | Уретра, мужчины | Подготовка к взятию проб:<br>помассировать уретру от основания пениса к его головке перед взятием уретрального материала, область наружного отверстия уретры очистить с помощью стерильного марлевого тампона, крайнюю плоть отвести назад.<br>Взятие материала:<br>осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана в наружное отверстие мочеиспускательного канала (на глубину 3-4 см) и слегка нажимая на переднюю стенку уретры собрать материал. | Сразу после взятия материал помещается в транспортную среду.<br>В транспортной среде материал от больного может храниться при температуре +4°C - +8°C в течение 24-х часов.<br>Промаркированная пробирка с | Взятие проб осуществляется строго следуя инструкции только стерильным и одноразовым инструментами. |

|  |                     |                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                                                      |  |
|--|---------------------|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------|--|
|  | транспортная среда. | Уретра, женщин     | <p>Подготовка к взятию образцов: наружное отверстие очистить с помощью стерильного тампона, при отсутствии свободных выделений провести легкий массаж уретры.</p> <p>Взятие материала: осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана в наружное отверстие мочеиспускательного канала (на глубину 0,5-2 см) и слегка нажимая на переднюю стенку уретры собрать материал вращательными движениями зонда.</p> | транспортной средой доставляется в лабораторию в сумке-холодильнике. |  |
|  |                     | Цервикальный канал | <p>Подготовка к взятию образцов: ввести гинекологическое зеркало и очистить наружное отверстие цервикального канала от выделений при помощи стерильного тампона.</p> <p>Взятие материала: осторожно ввести универсальный зонд или ложку Фолькмана в цервикальный канал (на глубину 1-2 см), собрать материал вращательным движением зонда и извлечь, избегая соприкосновения тампона со стенками влагалища.</p>      |                                                                      |  |

|  |                                                                        |                                                |                                                                                                                                                                                                                                              |  |  |
|--|------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|
|  |                                                                        | Влагалище (у девочек препубертатного возраста) | Взятие материала:<br>Универсальный зонд или ложка Фолькмана осторожно вводится через гименальное отверстие во влагалище и вращательными движениями производится взятие материала.                                                            |  |  |
|  |                                                                        | Конъюнктив                                     | Взятие материала:<br>отводят нижнее веко и универсальным зондом или стерильным тампоном проводят по поверхности конъюнктивы нижнего века по направлению к внутреннему углу глаза. Исследование из каждого глаза проводят отдельным тампоном. |  |  |
|  |                                                                        | Рото-глотка                                    | Мазки взять универсальными зондами вращательными движениями с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки.                                                                                                                 |  |  |
|  | Иглы Паркер-Пирсона;<br>стерильные медицинские перчатки;<br>стерильные | Синовиальная жидкость                          | Получение синовиальной жидкости производится методом стандартной биопсии с использованием иглы Паркер-Пирсона.                                                                                                                               |  |  |

|  |                                                           |  |  |  |  |
|--|-----------------------------------------------------------|--|--|--|--|
|  | ватные<br>шарики;<br>спирт<br>этиловый<br>70%;<br>маркер. |  |  |  |  |
|--|-----------------------------------------------------------|--|--|--|--|

Приложение № 3  
к приказу Министерства здравоохранения  
Республики Беларусь  
20.05.2009 № 486

Методика молекулярно-биологической диагностики хламидийной инфекции

| Название                                | Метод амплификации нуклеиновых кислот МАНК                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-----------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Принцип                                 | <p>Диагностика <i>Chlamydia trachomatis</i> посредством обнаружения в образцах первичных проб нуклеиновых кислот возбудителя.</p> <p>Основные принципы организации ПЦР-лабораторий и проведения молекулярно-биологического метода диагностики изложены в инструкции МЗ РБ «Организация работ в лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)» рег. № 090-1008 от 13.11.2008г.</p> |
| Биологический материал для исследования | <ul style="list-style-type: none"> <li>- соскоб эпителиальных клеток из уретры;</li> <li>- соскоб эпителиальных клеток из цервикального канала;</li> <li>- отделяемое из заднего свода влагалища;</li> <li>- сперма;</li> <li>- секрет предстательной железы;</li> <li>- моча;</li> <li>- соскоб из конъюнктивы;</li> <li>- соскоб из ротоглотки;</li> <li>- синовиальная жидкость.</li> </ul>         |
| Подготовка проб к исследованию          | <p>В случае хранения проб в морозильной камере, пробирки с образцами первичных проб следует выдержать при комнатной температуре до их полного оттаивания.</p> <p>Не допускается повторное замораживание-оттаивание проб.</p>                                                                                                                                                                           |
| Оборудование, инструменты и материалы   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ПЦР- боксы для проведения ПЦР-исследований (не менее 2 шт.);</li> <li>2. холодильники на 2-8 °С с морозильной камерой (не менее 3 шт.);</li> <li>3. твердотельные термостаты для микропробирок (не менее 2 шт.);</li> </ol>                                                                                                                                  |

|  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  | <p>4. высокоскоростная (до 14000 об/мин) микроцентрифуга для пробирок типа «Eppendorf»;</p> <p>5. микроцентрифуги-вortexы для микропробирок (не менее 3 шт.);</p> <p>6. амплификатор (термоциклер) или амплификатор с детекцией результатов амплификации в режиме реального времени;</p> <p>7. ПЦР-детектор флуоресценции;</p> <p>8. источник постоянного тока для электрофореза;</p> <p>9. камера для горизонтального электрофореза с плашками и гребенками для приготовления геля;</p> <p>10. трансиллюминатор для детекции продуктов амплификации в агарозном геле;</p> <p>11. видеосистема для регистрации изображений;</p> <p>12. компьютер;</p> <p>13. микроволновая печь для приготовления агарозного геля или магнитная плитка-мешалка;</p> <p>14. одноразовые пластиковые микропробирки типа «Eppendorf» 1,5 мл;</p> <p>15. одноразовые пластиковые микропробирки 0,5 или 0,2 мл;</p> <p>16. наборы автоматических дозаторов переменного объема (отдельно для этапа выделения, амплификации выделенной нуклеиновой кислоты и детекции продуктов амплификации методом гель-электрофореза);</p> <p>17. одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема, тестированные на отсутствие ДНК/РНК;</p> <p>18. одноразовые наконечники с аэрозольным барьером для дозаторов переменного объема, тестированные на отсутствие ДНК/РНК;</p> <p>19. стеклянные стаканы;</p> <p>20. стеклянные колбы;</p> <p>21. стеклянные палочки;</p> <p>22. штативы для микропробирок;</p> <p>23. штативы для автоматических дозаторов;</p> <p>24. емкости для дезинфекции;</p> <p>25. дезинфицирующие средства;</p> |
|--|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

|                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                 | <p>26. бактерицидные облучатели;</p> <p>27. контейнеры для транспортировки образцов первичных проб;</p> <p>28. средства индивидуальной защиты (одноразовые перчатки, маски и др).</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Реагенты                        | <ul style="list-style-type: none"> <li>- набор реагентов, зарегистрированных в МЗ РБ, для выделения нуклеиновых кислот из проб первичных образцов;</li> <li>- набор реагентов, зарегистрированных в МЗ РБ, для проведения амплификации нуклеиновых кислот с детекцией методом гель-электрофореза;</li> <li>- набор реагентов, зарегистрированных в МЗ РБ, для проведения амплификации нуклеиновых кислот с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени;</li> <li>- набор реагентов, зарегистрированных в МЗ РБ, для детекции продуктов амплификации методом гель-электрофореза;</li> <li>- дистиллированная вода;</li> <li>- 70% этиловый спирт.</li> </ul>                                                |
| Подготовка к проведению анализа | <p>Все работы проводятся с использованием одноразовых расходных материалов, спецодежда меняется при переходе из одного помещения (зоны) в другое.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Процедура анализа               | <p>Процедура включает в себя следующие этапы:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- пробоподготовка (выделение нуклеиновых кислот и удаление ингибиторов ПЦР) из образцов первичных проб или чистой культуры микроорганизма;</li> <li>- проведение амплификации;</li> <li>- детекция и учет продуктов амплификации.</li> </ul> <p>Технология проведения этапов анализа описана в соответствующих инструкциях и рекомендациях Производителей тест-систем.</p> <p>Организацию работ на всех этапах, а также обеззараживание проб необходимо проводить в соответствии с инструкцией МЗ РБ «Организация работ в лабораториях, использующих метод полимеразной цепной реакции (ПЦР)» рег. № 090-1008 от 13.11.2008г.</p> |

|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Учет и оценка результатов             | <p>Результаты амплификации анализируют с помощью: гель-электрофореза, флуоресцентного ПЦР-детектора или с использованием амплификатора с детекцией продуктов амплификации в режиме реального времени. Проведение учета и оценки полученных результатов осуществляется согласно инструкциям Производителей тест-систем.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Заключение лабораторного исследования | <p>Нуклеиновая кислота, специфичная для <i>Chlamydia trachomatis</i>, обнаружена.</p> <p>Нуклеиновая кислота, специфичная для <i>Chlamydia trachomatis</i>, не обнаружена.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Контроль качества                     | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- взятие биологического материала в соответствии с требованиями;</li> <li>- выполнение требований хранения и доставки материала в лабораторию;</li> <li>- выполнение требований маркировки проб и соответствия маркировки пробы маркировке направления;</li> <li>- контроль реагентов (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения;</li> <li>- качество лабораторной посуды.</li> </ul> <p>Мероприятия аналитического этапа:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- включение официально зарегистрированных контрольных материалов;</li> <li>- соблюдение технологии выполнения процедуры в соответствии с инструкцией производителя тест-систем;</li> <li>- учет результатов испытуемого образца в сравнении с контрольным материалом.</li> </ul> <p>Внутренний контрольный образец, добавляемый на стадии выделения нуклеиновой кислоты, позволяет судить о наличии в пробах веществ, ингибирующих ПЦР, а также о качестве пробоподготовки.</p> <p>Технология проведения реакции амплификации подразумевает обязательную постановку наряду с опытными пробами положительных и отрицательных контрольных образцов. Положительный контроль этапа</p> |

|                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|----------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                    | <p>амплификации включает в себя все компоненты реакции, но вместо материала клинического образца прошедшего пробоподготовку вносится контрольный препарат нуклеиновой кислоты. Отрицательный контроль включает в себя все компоненты реакции, но вместо материала клинического образца прошедшего пробоподготовку вносится буфер или деионизованная вода. Отрицательный контроль необходим для проверки компонентов реакции на отсутствие в них специфической нуклеиновой кислоты или клеток возбудителя вследствие контаминации, и для исключения получения ложноположительных результатов.</p> <p>Внутрилабораторный контроль качества проводят не реже 1 раза в месяц путем исследования шифрованных контрольных панелей содержащих «положительные» и «отрицательные» пробы. Контрольные панели могут быть приготовлены в лаборатории или использованы референс-панели, зарегистрированные в МЗ РБ.</p> <p>В рамках внутрилабораторного контроля качества 1 раз в месяц, а также при подозрении и для выявления возможной контаминации лаборатории нуклеиновыми кислотами, следует проводить исследования смывов с рабочих поверхностей и оборудования.</p> <p>Для обеспечения внешнего контроля качества проводимых исследований используются референс-панели, разрешенные к применению на территории РБ.</p> <p>Мероприятия постаналитического этапа:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- правильность внесения результатов в бланк исследования и формулировка лабораторного заключения;</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul> |
| Перечень возможных ошибок при выполнении и пути их | <p>Появление специфической полосы в отрицательном контроле свидетельствует о наличии контаминации реактивов или проб. В этом случае результаты анализа по всем пробам считаются недействительными. Контаминация может быть спорадическая (появление</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |

|                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| устранения                      | <p>ложноположительных результатов в некоторых пробах) и тотальная (появление ложноположительных результатов в каждой пробе) Требуется повторить анализ проб, а также предпринять меры по выявлению источника контаминации.</p> <p>Появление неспецифических продуктов амплификации при их детекции методом электрофореза: дополнительные полосы, «шмеры». Появление в дорожках неспецифических полос на разных уровнях свидетельствует о неверном температурном режиме в ячейках амплификатора, или об отсутствии «горячего старта». При этом необходимо отрегулировать температурный режим в ячейках амплификатора и использовать «горячий старт» до начала циклов амплификации.</p> <p>Отсутствие в пробе полос внутреннего контроля и специфического фрагмента амплификации ДНК свидетельствует об ошибке в процедуре подготовки клинического материала, а результаты, полученные по данной пробе, считаются недействительными. Требуется повторить анализ пробы, начиная с этапа выделения.</p> <p>При проведении детекции в режиме реального времени значение порогового цикла в пробе выше параметра указанного Производителем тест-системы свидетельствует об ошибке. Следует повторить анализ пробы, начиная с этапа пробоподготовки.</p> |
| Противопоказания для применения | Противопоказаний для применения метода нет.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

Приложение № 4  
к приказу Министерства здравоохранения  
Республики Беларусь  
20.05.2009 № 486

Методика диагностики хламидийной инфекции с использованием реакции  
прямой иммунофлуоресценции

|                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Название                             | Диагностика хламидийной инфекции с использованием реакции прямой иммунофлуоресценции (РИФ)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| Принцип                              | Метод основан на взаимодействии хламидийных антител, меченых ФИТЦ, с поверхностным антигеном <i>Chlamydia trachomatis</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Материал для исследования            | - соскоб из уретры;<br>- соскоб из цервикального канала;<br>- отделяемое из заднего свода влагалища у девочек.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Необходимое оборудование и материалы | 1. Люминисцентный микроскоп (или оптический микроскоп с люминисцентной насадкой) с системой фильтров для ФИТЦ (возбуждающий свет длиной волны <490 нм и эмиссией 520 нм);<br>2. термостат;<br>3. влажная камера;<br>4. перчатки медицинские;<br>5. емкости для сбора и обработки стекол;<br>6. предметные стекла трехлуночные;<br>7. покровные стекла;<br>8. дозаторы переменного объема;<br>9. карандаш для маркировки стекол. |
| Реагенты                             | - ацетон или 96° этиловый спирт;<br>- дистиллированная вода;<br>- буферный раствор pH 7-8,5;<br>- нефлуоресцирующее иммерсионное масло;<br>- дезинфицирующие растворы;<br>- коммерческий набор для проведения реакции прямой иммунофлуоресценции, зарегистрированный в МЗ РБ.                                                                                                                                                   |
| Подготовка к проведению анализа      | Высушенный на воздухе мазок фиксируют холодным ацетоном или 96° этиловым спиртом в течение 1-2 мин. Стекло с фиксированным мазком может храниться при                                                                                                                                                                                                                                                                           |

|                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                               | <p>температуре +4°C в течение 3 суток, при -20 °C - в течение 1 месяца.</p> <p>Приготовление реагентов проводится в соответствии с инструкцией Производителя.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Постановка реакции прямой иммунофлуоресценции | <p>Постановка реакции прямой иммунофлуоресценции проводится в соответствии с инструкцией Производителя.</p> <p>Рекомендуется использовать масляную иммерсию с объективом МИ 90х и окулярами 4-7х, либо водно-иммерсионную систему с объективами ВИ 60-70х и окулярами 7х. Используют микроскоп с фильтрами, обеспечивающими возбуждающий свет с длиной волны не более 490 нм и эмиссию с длиной волны 520 нм.</p>                                                                                                                                                                                                       |
| Учет и оценка результатов                     | <p>Для оценки качества взятия материала просматривают не менее 10 полей зрения, используя увеличение люминисцентного микроскопа х400. В одном поле зрения должно быть не менее 5 клеток цилиндрического эпителия.</p> <p>Результат считается положительным, если в мазке регистрируют ярко-зеленое свечение в виде кофейного зерна (элементарные тельца – основной критерий положительного результата). Эпителиальные клетки окрашены в красно-оранжевый цвет.</p> <p>Результат считается отрицательным, если в мазке отсутствует специфическое свечение при обязательном наличии не менее 50 эпителиальных клеток.</p> |
| Заключение лабораторного исследования         | <p>Антиген, специфичный для <i>Chlamydia trachomatis</i>, выявлен.</p> <p>Антиген, специфичный для <i>Chlamydia trachomatis</i>, не выявлен.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
| Контроль качества                             | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- взятие биологического материала;</li> <li>- выполнение требований хранения и доставки материала в лабораторию;</li> <li>- выполнение требований маркировки проб и соответствия маркировки пробы маркировке направления;</li> <li>- контроль приготовления реагентов, условия и сроки</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                  |

|                                                                      |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                      | <p>хранения;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- качество лабораторной посуды.</li> </ul> <p>Мероприятия аналитического этапа:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- включение официально зарегистрированных контрольных материалов;</li> <li>- соблюдение технологии постановки реакции прямой иммунофлуоресценции в соответствии с инструкцией Производителя;</li> <li>- учет результатов в соответствии с официально признанными критериями.</li> </ul> <p>Мероприятия постаналитического этапа:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- правильность внесения результатов в бланк исследования и формулировка лабораторного заключения;</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul> |
| <p>Перечень возможных ошибок при выполнении и пути их устранения</p> | <p>Нарушение техники взятия, правил хранения и транспортировки клинического материала.</p> <p>Неудовлетворительное техническое состояние оборудования. Оборудование, используемое для проведения реакции прямой иммунофлуоресценции, должно иметь соответствующие сертификаты о государственной поверке и метрологической аттестации.</p> <p>Нарушение методики проведения реакции иммунофлуоресценции. Постановка реакции РИФ для выявления антигена, специфичного для возбудителя <i>Chlamydia trachomatis</i>, должна проводиться в строгом соответствии с данной инструкцией</p>                                                                                                                                                                           |
| <p>Противопоказания для применения</p>                               | <p>Данный метод не может быть использован в решении спорных вопросов.</p> <p>Метод не может быть использован в качестве критерия излеченности.</p> <p>Метод не может применяться для исследования биологического материала, полученного неинвазивным способом (моча, сперма).</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |

Приложение № 5  
к приказу Министерства здравоохранения  
Республики Беларусь  
20.05.2009 № 486

Методика культуральной диагностики хламидийной инфекции

|                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Название                                | Культуральный метод диагностики хламидийной инфекции                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| Принцип                                 | Метод основан на выделении культуры <i>Chlamydia trachomatis</i> с использованием специальных питательных сред.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Биологический материал для исследования | <ul style="list-style-type: none"> <li>- соскоб из уретры;</li> <li>- соскоб из цервикального канала;</li> <li>- отделяемое из заднего свода влагалища;</li> <li>- сперма;</li> <li>- секрет предстательной железы;</li> <li>- соскоб из конъюнктивы;</li> <li>- соскоб из ротоглотки;</li> <li>- синовиальная жидкость.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                 |
| Оборудование, инструменты и материалы   | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Камера Горяева;</li> <li>2. светооптический микроскоп с иммерсионным объективом;</li> <li>3. инвертный микроскоп;</li> <li>4. стерильные пенфлаконы или культуральные панели;</li> <li>5. водяная баня;</li> <li>6. шейкер;</li> <li>7. центрифуга с горизонтальным ротором;</li> <li>8. эксикатор или CO<sub>2</sub>-инкубатор;</li> <li>9. автоклав;</li> <li>10. влажная камера или чашка Петри с увлажненным фильтром;</li> <li>11. средства индивидуальной защиты персонала;</li> <li>12. предметные стекла;</li> <li>13. карандаш для маркировки стекол.</li> </ol> |
| Реагенты                                | <ul style="list-style-type: none"> <li>- культура клеток McCoу; линии L-929, Hela и др.</li> <li>- ростовая среда;</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |

|                                 |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |
|---------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- 0,02% раствор Версена;</li> <li>- 0,25% раствор трипсина;</li> <li>- раствор трипанового синего;</li> <li>- среда роста: среда Игла с 3% glutамина, содой, NEPERES, 5-7% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) и гентамицином (20 мкг/мл);</li> <li>- изолирующая среда: среда Игла с 3% glutамина, содой, NEPERES, гентамицином (20 мкг/мл), эмбриональная телячья сыворотка (ЭТС) в количестве 10% от общего объема, 40% раствор глюкозы (1,25 мл на 100 мл среды);</li> <li>- транспортная среда на основе сахарозо-фосфатного буфера;</li> <li>- раствор Хенкса;</li> <li>- метанол или формалин;</li> <li>- дистиллированная вода;</li> <li>- HCl для корректирования pH;</li> <li>- изолирующая среда.</li> </ul>                                                                                                                                                                      |
| Подготовка к проведению анализа | <p>Ведение культуры клеток</p> <p>Для ведения культуры McCoу, L-929, Hela и др. используется ростовая среда. Пересев клеток проводится на 4 сутки.</p> <p>Для более быстрого и полного снятия клеток со стекла к 0,02% раствору Версена добавляют 0,25% раствор трипсина в соотношении 2:1.</p> <p>Контроль качества культуры клеток проводится прижизненно под светоптическим микроскопом. В работу берутся клетки с отсутствием зернистости в цитоплазме и четкими границами. Подсчет клеток выполняют по общепринятой методике в камере Горяева с использованием трипанового синего.</p> <p>Приготовление клеточного монослоя.</p> <p>Суспензия клеток McCoу, линии L-929, Hela и др. в ростовой среде в концентрации 50-100 тыс./мл разливается по 2 мл в стерильные пенфлаконы, содержащие на дне подложки (покрывные стекла), или по 1 мл – в лунки специальных 24-луночных культуральных панелей типа «Costar» с подложками</p> |

|                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                   | <p>или без них.</p> <p>Монослой на поверхности покровных стекол должен стать слитным через 2 суток. Его следует оценивать в инвертном микроскопе. Нельзя работать с культурой, если среда мутная, щелочная или контаминирована. Следует подобрать концентрацию клеток таким образом, чтобы формирование монослоя происходило через 2 суток. Если крышки культуральных панелей не обеспечивают герметичность, культуру инкубируют во влажной атмосфере CO<sub>2</sub> (около 5%) с тем, чтобы регулировать pH.</p> <p>Клеточный монослой можно формировать непосредственно на дне лунки панели. Отсутствие подложки увеличивает площадь монослоя, упрощает процесс его снятия при проведении пассажей. При наличии погружного объектива индикацию хламидий можно выполнять в лунках панелей.</p>                                                                                                                       |
| Процедура анализа | <p>Образцы биологического материала, если они были заморожены, оттаивают на водяной бане при 37°C. Во флаконы, содержащие клинический материал, добавляют по 2-3 мл изолирующей среды.</p> <p>Для придания образцам однородности их встряхивают на шейкере.</p> <p>Маркируют лунки панелей.</p> <p>Перед заражением из лунок с монослоем McCoу линии L-929, Hela и др. удаляют ростовую среду. Для повышения чувствительности культуры клеток к хламидиям можно проводить предварительную обработку клеток DEAE-декстраном.</p> <p>После удаления ростовой среды проводят инокуляцию образцов и контролей на монослой в количестве 0,5 мл на лунку панели. Панель помещают в центрифугу с горизонтальным ротором и центрифугируют при 2500-3000 g в течение 1 часа. Необходимая температура (33-35°C) в центрифуге обычно достигается от выделения тепла самим ее механизмом при такой скорости. Центрифуга может</p> |

|                           |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                           | <p>быть подогрета холостым ходом или обдувом горячим воздухом.</p> <p>После центрифугирования зараженную культуру на 2 часа помещают в CO<sub>2</sub>-инкубатор (или эксикатор) при 37°C.</p> <p>Удаляют инокулят, после чего в каждую лунку или флакон вносят по 1-2 мл изолирующей среды с циклогексимидам. Панели инкубируют в CO<sub>2</sub>-инкубаторе в течение 24-72 часов, а флаконы помещают в обычный термостат на этот же период.</p> <p>Исследование зараженной культуры проводится после 24-часового инкубирования при использовании иммунофлуоресцентного метода и спустя 48-72 часа при использовании окраски по Романовскому-Гимзе.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |
| Учет и оценка результатов | <p>Оценка полученных результатов может проводиться одним из следующих методов:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- окраска по Романовскому-Гимзе.</li> </ul> <p>Готовый жидкий краситель перед окрашиванием мазков разводят из расчета 1-2 капли красителя на 1 мл дистиллированной воды.</p> <p>Мазки, фиксированные в метиловом спирте, окрашивают раствором (1 мл готовой жидкой краски + 2 мл основного буферного раствора + 47 мл дистиллированной воды) в течение 40—120 мин (продолжительность окрашивания подбирают эмпирически) при 37°C во влажной камере (закрытая чашка Петри с увлажнённым фильтром на дне). После окрашивания мазки промывают в проточной воде и высушивают на воздухе.</p> <p>Препарат микроскопируют, начиная с малого увеличения (объектив x10), затем переводят на большое увеличение (объектив x40), затем используют иммерсию (объектив x100 иммерсионный), окуляр x7 или x10.</p> <p>При детекции с использованием окраски по Романовскому-Гимзе в зараженной культуре выявляются включения элементарных телец хламидий в виде нескольких, обычно зернистых, микроколоний</p> |

|                                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|---------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                       | <p>сине-фиолетового цвета;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- выявление хламидий с помощью иммунофлуоресцентного метода проводится согласно инструкции Производителя к прилагаемой тест-системе.</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
| Заключение лабораторного исследования | <p>Возбудитель <i>Chlamydia trachomatis</i> выявлен.<br/>Возбудитель <i>Chlamydia trachomatis</i> не выявлен.</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
| Контроль качества                     | <p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- взятие биологического материала в соответствии с требованиями;</li> <li>- выполнение требований хранения и доставки материала в лабораторию;</li> <li>- выполнение требований маркировки проб и соответствия маркировки пробы маркировке направления;</li> <li>- контроль растворов красителей (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения;</li> <li>- контроль транспортных и питательных сред, реагентов (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения;</li> <li>- качество лабораторной посуды.</li> </ul> <p>Мероприятия аналитического этапа:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- включение официально зарегистрированных контрольных материалов;</li> <li>- соблюдение технологии окраски в соответствии с инструкцией производителя;</li> <li>- контроль качества среды;</li> <li>- учет результатов в соответствии с официально признанными критериями.</li> </ul> <p>Мероприятия постаналитического этапа:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- правильность внесения результатов в бланк исследования и формулировка лабораторного заключения;</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul> |
| Перечень возможных                    | <p>Нарушение техники взятия, правил хранения и транспортировки клинического материала. Техника</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

|                                         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ошибок при выполнении и пути устранения | <p>взятия материала, правила хранения и транспортировки биологического материала должны проводиться в строгом соответствии с Приложением 2 настоящей инструкции.</p> <p>Неудовлетворительное техническое состояние оборудования. Оборудование, используемое для проведения культуральных исследований, должно иметь соответствующие сертификаты о государственной поверке и метрологической аттестации.</p> <p>Нарушение методики проведения культурального исследования, окраски по Романовскому-Гимзе, реакции прямой иммунофлуоресценции. Проведение культурального исследования с последующей окраской по Романовскому-Гимзе или постановкой реакции прямой иммунофлуоресценции для выявления возбудителя <i>Chlamydia trachomatis</i> должно проводиться в строгом соответствии с инструкцией производителя тест-системы, а также настоящей инструкцией.</p> |
| Противопоказания для применения         | Противопоказаний для применения нет.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |