

**ПРИКАЗ МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**  
**19 августа 2025 г. N 939**

**ОБ УТВЕРЖДЕНИИ ПОРЯДКА ОРГАНИЗАЦИИ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ**

На основании подпункта 8.3 пункта 8 Положения о Министерстве здравоохранения Республики Беларусь, утвержденного постановлением Совета Министров Республики Беларусь от 28 октября 2011 г. N 1446, в целях совершенствования деятельности лабораторий, использующих полимеразную цепную реакцию, ПРИКАЗЫВАЮ:

1. Утвердить:

Положение о порядке организации работы лабораторий, использующих полимеразную цепную реакцию (далее - ПЦР) и другие методы амплификации нуклеиновых кислот (далее - МАНК) (прилагается);

Правила взятия, транспортировки, хранения и предобработки биологического материала для ПЦР-диагностики и других МАНК (прилагаются).

2. Руководителям организаций, подчиненных Министерству здравоохранения, начальникам главных управлений по здравоохранению облисполкомов, председателю комитета по здравоохранению Мингорисполкома, главным врачам областных центров гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Минского городского центра гигиены и эпидемиологии, городских, районных, зональных и районных в городах центров гигиены и эпидемиологии, иным заинтересованным обеспечить выполнение настоящего приказа.

3. Контроль за исполнением настоящего приказа возложить на первого заместителя Министра здравоохранения Горбича Ю.Л.

Министр

А.В.Ходжаев

УТВЕРЖДЕНО  
Приказ  
Министерства здравоохранения  
Республики Беларусь  
19.08.2025 N 939

**ПОЛОЖЕНИЕ**  
**О ПОРЯДКЕ ОРГАНИЗАЦИИ РАБОТЫ ЛАБОРАТОРИЙ, ИСПОЛЬЗУЮЩИХ**  
**ПОЛИМЕРАЗНУЮ ЦЕПНУЮ РЕАКЦИЮ (ДАЛЕЕ - ПЦР) И ДРУГИЕ МЕТОДЫ**  
**АМПЛИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ (ДАЛЕЕ - МАНК)**

ГЛАВА 1  
ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. Настоящее Положение определяет порядок работы лабораторий, использующих ПЦР и (или) другие МАНК в организациях здравоохранения.

2. Лабораторная диагностика, а также исследовательская работа с применением ПЦР и (или) других МАНК осуществляется в вирусологических, бактериологических, клинико-диагностических, санитарно-микробиологических, научно-исследовательских и иных лабораториях организаций здравоохранения, осуществляющих медицинскую деятельность, в порядке, установленном законодательством.

3. Для целей настоящих правил используются основные термины и их определения в значениях, установленных Законом Республики Беларусь от 18 июня 1993 г. N 2435-XII "О здравоохранении", Законом Республики Беларусь от 23 июня 2008 г. N 356-3 "Об охране труда", Законом Республики Беларусь от 7 января 2012 г. N 340-3 "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения", а также следующие термины и их определения:

аликвота - точно измеренная дольная часть образца (объем раствора), взятая для анализа, сохраняющая свойства основного образца;

ампикон - специфический фрагмент дезоксирибонуклеиновой кислоты (далее - ДНК), полученный с помощью технологии амплификации ДНК, такой как ПЦР;

амплификация - процесс образования дополнительных копий участков ДНК;

ДНК - полимер дезоксирибонуклеотидов, существующий в двухцепочечной или одноцепочечной форме;

контаминация - попадание из внешней среды в реакционную смесь специфических и неспецифических молекул нуклеиновых кислот, способных служить мишенями в реакции амплификации и давать ложноположительные результаты;

МАНК - молекулярно-биологические методы, основанные на синтезе *in vitro* множества копий ДНК из одной исходной матрицы;

нуклеиновые кислоты (далее - НК) - макромолекулы, являющиеся носителем генетической информации или выступающие в качестве посредника при синтезе полипептидной цепи;

ПЦР - ферментативная реакция, позволяющая амплифицировать НК *in vitro*;

рибонуклеиновая кислота (далее - РНК) - полимер рибонуклеотидов, существующий в двухцепочечной или одноцепочечной форме.

## ГЛАВА 2

### ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К ПОМЕЩЕНИЯМ ЛАБОРАТОРИЙ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИХ РАБОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЦР И (ИЛИ) ДРУГИХ МАНК

4. Размещение лабораторий, осуществляющих работы с использованием ПЦР и (или) других МАНК для I - IV групп риска условно-патогенных микроорганизмов (далее - УПМ) и патогенных биологических агентов (далее - ПБА), разрешается при условии соблюдения ими требований Санитарных норм и правил "Требования безопасности при осуществлении работ с УПМ и ПБА, к организации и проведению их учета, хранения, передачи и транспортировки", утвержденных постановлением Министерства здравоохранения Республики Беларусь от 6 января 2017 г. N 2, и организации в такой лаборатории самостоятельных или выделенных в составе других функциональных помещений рабочих зон, соответствующих этапам ПЦР и (или) других МАНК.

5. Работу с УПМ и ПБА III - IV групп риска методами ПЦР и (или) других МАНК проводят только при наличии в организации здравоохранения разрешения о возможности проведения соответствующих работ в лаборатории, выданного в установленном законодательством порядке. Исследования по обнаружению в клинических и биологических образцах генома ПБА III группы риска без накопления возбудителя могут проводиться в лабораториях, осуществляющих свою деятельность с ПБА II группы риска.

6. Размещение лабораторий, осуществляющих работы с использованием ПЦР и (или) других МАНК, не связанные с определением УПМ и ПБА I - IV групп риска, разрешается на базе лабораторий различного профиля при условии соблюдения требований настоящих правил.

## ГЛАВА 3

### ТРЕБОВАНИЯ К ФУНКЦИОНАЛЬНЫМ ПОМЕЩЕНИЯМ ЛАБОРАТОРИЙ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИХ РАБОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЦР И (ИЛИ) ДРУГИХ МАНК

7. Лаборатории, осуществляющие работы с использованием ПЦР и (или) других МАНК, должны иметь следующие последовательно расположенные отдельные рабочие помещения.

Рабочее помещение 1 (пре-ПЦР, рабочая зона 1) - прием биоматериала, его маркировка, сортировка и регистрация в журнале (на бумажном или электронном носителе, в том числе в медицинской (лабораторной) информационной системе), первичная подготовка биоматериала для последующего выделения НК из анализируемых проб (концентрирование путем центрифугирования, фильтрации, иммуносорбции, суспендирование, перевод сухих и плотных материалов в жидкую фазу, иное), объединение или аликвотирование проб, утилизация и хранение проб, утилизация

остатков исследуемого биоматериала.

В лабораториях, самостоятельно осуществляющих разработку и приготовление реакционных смесей, выделяется отдельное помещение для хранения реагентов, приготовления и аликвотирования реакционных смесей (рабочее помещение 1.1).

Рабочее помещение 2 (ПЦР, рабочая зона 2) - выделение НК из анализируемых проб, приготовление и внесение реакционных смесей. Для этих целей в рабочем помещении 2 должны быть оборудованы 3 рабочих участка.

Рабочий участок 2.1 - выделение НК.

Рабочий участок 2.2 - приготовление реакционных смесей.

Рабочий участок 2.3 - соединение НК, контрольных образцов и реакционной смеси.

Подготовленные пробы из рабочего участка 2.3 передают в рабочее помещение 3 только в закрытых пробирках.

Рабочее помещение 3 (пост-ПЦР, рабочая зона 3) - проведение обратной транскрипции, амплификации НК, а также учет результатов амплификации гибридационно-флуоресцентным методом.

При использовании в качестве методов детекции электрофореза (секвенирования) и (или) гибридационно-ферментного метода в лаборатории выделяется отдельное рабочее помещение 4 (рабочая зона 4), которое должно быть расположено как можно дальше от других рабочих помещений лаборатории. Оснащение рабочего помещения 4 будет отличаться в зависимости от используемого метода детекции.

8. При наличии в лаборатории ПЦР-анализаторов с замкнутым циклом исследования (экстракция, амплификация, детекция) допускается объединение рабочих помещений 1 и 2.

9. При применении в лаборатории методов ПЦР-анализа, не требующих выделения НК из образцов ("директ" ПЦР), внесение образца в реакционную смесь производится на рабочем участке 2.1 (с целью обеспечения надлежащего уровня биобезопасности).

10. Категорически запрещается автоклавировать содержимое ПЦР-пробирок, прошедших этап амплификации.

11. При применении гибридационно-флуоресцентного метода детекции категорически запрещается открывать пробирки после проведения амплификации НК.

#### ГЛАВА 4

#### ТРЕБОВАНИЯ К СОДЕРЖАНИЮ И ОБОРУДОВАНИЮ ПОМЕЩЕНИЙ ЛАБОРАТОРИЙ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИХ РАБОТЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПЦР И (ИЛИ) ДРУГИХ МАНК

12. Планировочные решения и размещение оборудования должны обеспечивать поточность движения исследуемого биоматериала и полностью исключить воздухообмен между рабочим помещением 3 и другими помещениями.

13. Стены, потолок и пол помещений лаборатории должны быть покрыты гладким материалом без щелей, устойчивым к действию моющих и дезинфицирующих средств.

14. Во всех помещениях лаборатории устанавливают бактерицидные облучатели (лампы, рециркуляторы).

15. При наличии в помещении оборудования, для эксплуатации которого требуются определенные условия окружающей среды, в лаборатории должны быть установлены кондиционеры.

16. В рабочих помещениях лаборатории окна должны быть плотно закрыты. Для защиты рабочих поверхностей от попадания прямого солнечного света используют конструкции из материала, устойчивого к дезинфицирующим средствам и не адсорбирующего пыль.

17. Каждое рабочее помещение должно иметь свой набор мебели, оборудования, реагентов, автоматических дозаторов, одноразовых наконечников, пластиковой и стеклянной посуды, защитной одежды, резиновых перчаток, уборочного инвентаря и др., перемещение которых в другое рабочее помещение запрещено. Все перечисленное должно быть промаркировано с идентификацией рабочего помещения.

18. Примерный перечень оснащения и размещения оборудования, изделий медицинского назначения и иных материалов по рабочим помещениям и участкам лабораторий, использующих ПЦР и (или) другие МАНК, представлены в приложении 1.

Количество оборудования, изделий медицинского назначения и иных материалов определяется потребностями, организацией работы, объемом исследований конкретной лаборатории.

19. После завершения каждого этапа исследования рабочие поверхности, оборудование и материалы следует обрабатывать спиртосодержащим дезинфицирующим раствором с последующим облучением ультрафиолетом в течение 1 часа.

20. Для ежедневной уборки каждого из помещений необходимо использовать отдельный уборочный инвентарь.

21. Генеральная уборка помещений проводится один раз в неделю в три этапа с использованием растворов дезинфицирующих средств в концентрациях согласно инструкции по их применению:

на первом этапе - с использованием щелочесодержащего моющего дезинфектанта;

на втором - кислотосодержащего моющего дезинфектанта;

на третьем этапе - дезинфектанта без моющего эффекта. Обязательным является последующее ультрафиолетовое облучение в течение 2 часов.

22. Работа на всех этапах должна проводиться только с использованием одноразовых расходных материалов (пробирок, наконечников для автоматических пипеток, перчаток).

23. При переходе от пробы к пробе наконечники должны использоваться однократно.

24. Отработанные наконечники, пробирки, прошедшие этап дезинфекции, подлежат последующей утилизации в соответствии с нормативными документами Министерства здравоохранения.

25. В целях предотвращения контаминации в лаборатории применяется следующее: разделение функциональных рабочих зон; соблюдение поточности и направления движения анализируемых образцов; использование отдельной рабочей (защитной одежды) в каждом рабочем помещении; использование одноразовых неопудренных перчаток, наконечников для дозаторов с фильтрами, защищающими от аэрозоля, одноразовых пластиковых пробирок, посуды, наконечников; химическая и УФ-дезинфекция всех поверхностей рабочих помещений.

26. Для предупреждения контаминации лаборатории нуклеиновыми кислотами и (или) ампликонами, а также проведения мероприятий по деконтаминации руководствуются перечнем мероприятий согласно приложению 2.

27. Проведение ПЦР и (или) других МАНК-исследований до завершения деконтаминационных мероприятий не допускается.

28. Проведение ПЦР и (или) других МАНК-исследований разрешается после завершения деконтаминационных мероприятий при условии получения отрицательных результатов контрольных смывов с рабочих поверхностей.

29. Результаты смывов с объектов внешней среды оформляются протоколом результатов смывов по форме согласно приложению 3.

30. Объем проведенных деконтаминационных мероприятий фиксируется в журнале деконтаминационных мероприятий по форме согласно приложению 4.

Приложение 1  
к Положению о  
порядке  
организации работы  
лабораторий,  
использующих  
полимеразную  
цепную реакцию  
(далее - ПЦР) и

другие методы  
амплификации  
нуклеиновых кислот  
(далее -  
МАНК)

**ПРИМЕРНЫЙ ТАБЕЛЬ  
ОСНАЩЕНИЯ И РАЗМЕЩЕНИЕ ОБОРУДОВАНИЯ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО  
НАЗНАЧЕНИЯ И ИНЫХ МАТЕРИАЛОВ ПО РАБОЧИМ ПОМЕЩЕНИЯМ И УЧАСТКАМ  
ЛАБОРАТОРИЙ, ИСПОЛЬЗУЮЩИХ ПЦР И (ИЛИ) ДРУГИЕ МАНК**

N п/п	Наименование рабочих помещений, участков
	Рабочее помещение 1
1	Бокс биологической безопасности II - III класса защиты
2	Центрифуга лабораторная с роторами или адаптерами для пробирок разного объема (1,5 - 2 мл, 10 - 15 мл и др.)
3	Микроцентрифуга-вортекс
4	Набор дозаторов переменного объема
5	Холодильники с камерами, поддерживающими температуру от плюс 2 до плюс 8 °С, минус 20 °С (отдельно для хранения биоматериала и реагентов)
6	Морозильная камера, поддерживающая температуру минус 70 °С (при необходимости)
7	Бактерицидный облучатель (лампа, рециркулятор)
8	Персональный компьютер
9	Одноразовые пробирки разного объема с завинчивающимися или защелкивающимися крышками (1,5 мл, 2 мл, 5 мл, 10 мл, 15 мл и др.)
10	Одноразовые наконечники с аэрозольным фильтром для дозаторов переменного объема
11	Одноразовые микропробирки для ПЦР объемом 0,5 мл
12	Штативы для дозаторов, пробирок, наконечников
13	Емкости для дезинфекции использованных расходных материалов и биоматериала
14	Дезинфицирующие средства
15	Салфетки для обработки поверхностей, оборудования
16	СИЗ (перчатки неопудренные, халат, шапочка, маска и др.)
	Рабочее помещение 2, участок 2.1
17	Бокс биологической безопасности II - III класса защиты
18	Автоматическая станция для выделения НК (при необходимости)
19	Микроцентрифуга до 12 000 г для пробирок объемом 1,5 - 2,0 мл
20	Микроцентрифуга-вортекс
21	Комплект дозаторов переменного объема
22	Вакуумный отсасыватель медицинский с колбой-ловушкой
23	Твердотельный термостат или термошейкер для пробирок объемом 1,5 - 2,0 мл с диапазоном рабочих температур от плюс 25 до плюс 100 °С
24	Холодильники с камерами, поддерживающими температуру от плюс 2 до плюс 8 °С, минус 20 °С (отдельно для хранения биоматериала и реагентов)
25	Бактерицидный облучатель (лампа, рециркулятор)
26	Магнитные штативы для пробирок 1,5 - 2 мл и др. (при необходимости)
27	Штативы для дозаторов, пробирок, наконечников
28	Одноразовые пробирки типа Эппендорф объемом 1,5 мл, 2 мл

29	Емкости для дезинфекции биоматериала
30	Емкости для дезинфекции использованных расходных материалов
31	Дезинфицирующие средства
32	Салфетки для обработки поверхностей, оборудования
33	СИЗ (перчатки неопудренные, халат, шапочка, маска и др.)
	Рабочее помещение 2, участок 2.2
34	Ультрафиолетовый бокс для стерильных работ
35	Микроцентрифуга/вортекс
36	Холодильник с камерами, поддерживающими температуру от плюс 2 до плюс 8 °С, минус 20 °С (отдельно для хранения НК и реагентов)
37	Бактерицидный облучатель (лампа, рециркулятор)
38	Комплект дозаторов переменного объема
39	Штативы для дозаторов, пробирок, наконечников
40	Наборы реагентов для ПЦР
41	Одноразовые пробирки для ПЦР объемом 0,2 мл и (или) пробирки и крышки в стрипах и (или) планшеты и пленки в зависимости от модели используемого амплификатора
42	Одноразовые наконечники с аэрозольным фильтром и без аэрозольного фильтра для дозаторов переменного объема
43	Емкость для дезинфекции использованных расходных материалов
44	Дезинфицирующие средства
45	Салфетки для обработки поверхностей, оборудования
46	СИЗ (перчатки неопудренные, халат, шапочка, маска и др.)
	Рабочее помещение 2, участок 2.3
47	Ультрафиолетовый бокс для стерильных работ
48	Микроцентрифуга-вортекс
49	Комплект дозаторов переменного объема
50	Бактерицидный облучатель (лампа, рециркулятор)
51	Штативы для дозаторов, пробирок, наконечников
52	Одноразовые наконечники с фильтром и без фильтра для дозаторов переменного объема
53	Емкость для дезинфекции использованных расходных материалов
54	Дезинфицирующие средства
55	Салфетки для обработки поверхностей, оборудования
56	СИЗ (перчатки неопудренные, халат, шапочка, маска и др.)
	Рабочее помещение 3
57	Амплификатор (в соответствии с используемым методом детекции), включая ПЦР-анализаторы с замкнутым циклом исследования (экстракция, амплификация, детекция)
58	Компьютер
59	Емкость для дезинфекции использованных расходных материалов
60	Дезинфицирующие средства
61	Салфетки для обработки поверхностей, оборудования
62	Бактерицидный облучатель (лампа, рециркулятор)
63	СИЗ (перчатки неопудренные, халат, шапочка, маска и др.)
	Рабочее помещение 4
	Для электрофоретической детекции продуктов ПЦР и (или) других МАНК:

64	Камера для горизонтального электрофореза
65	Источник постоянного тока с напряжением 150 - 460 В
66	Ультрафиолетовый трансиллюминатор с кабинетом для просмотра гелей
67	Видеосистема с цифровой видеокамерой для регистрации результатов
68	Компьютер (должен быть связан через компьютерную сеть с компьютером, располагающимся в чистой зоне и предназначенным для анализа результатов электрофореза)
69	Аквадистиллятор
70	Микроволновая печь для плавления агарозы
71	Бактерицидный облучатель (лампа, рециркулятор)
72	Холодильник с камерой, поддерживающей температуру от плюс 2 до плюс 8 °С
73	Колба коническая из термостойкого стекла для плавления агарозы объемом 250 мл
74	Мерный цилиндр объемом 1 л
75	Штатив для микропробирок на 0,5 мл
76	Дозатор автоматический 10 - 40 мкл
77	Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема до 200 мкл в штативе
78	Емкость для дезинфекции использованных расходных материалов
79	Пластиковая емкость объемом 5 л для дезактивации буфера и гелей, содержащих бромид этидия
Для гибридизационно-ферментной детекции продуктов ПЦР и (или) других МАНК:	
80	Термостат планшетный, поддерживающий температуру плюс 37 °С
81	Вошер (при необходимости)
82	Планшетный спектрофотометр
83	Компьютер (должен быть связан через компьютерную сеть с компьютером, располагающимся в чистой зоне и предназначенным для анализа результатов гибридизации)
84	Холодильник с камерой, поддерживающей температуру от плюс 2 до плюс 8 °С
85	Бактерицидный облучатель (лампа, рециркулятор)
86	Восьмиканальный дозатор до 200 мкл
87	Комплект дозаторов переменного объема
88	Одноразовые наконечники для дозаторов переменного объема
89	Мерный цилиндр объемом 1 л
90	Емкость для дезинфекции использованных расходных материалов

Приложение 2  
к Положению о порядке  
организации работы  
лабораторий,  
использующих  
полимеразную  
цепную реакцию (далее -  
ПЦР) и  
другие методы  
амплификации

**ПЕРЕЧЕНЬ МЕРОПРИЯТИЙ,  
НАПРАВЛЕННЫХ НА ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ КОНТАМИНАЦИИ ЛАБОРАТОРИИ  
НУКЛЕИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ И (ИЛИ) АМПЛИКОНАМИ, А ТАКЖЕ ПРОВЕДЕНИЯ  
МЕРОПРИЯТИЙ ПО ДЕКОНТАМИНАЦИИ**

1. Мероприятия, направленные на предупреждение контаминации лаборатории НК и (или) ампликонами, включают:

отбор смывов с объектов внешней среды для проведения лабораторного контроля на наличие НК и (или) ампликонов возбудителей инфекционных заболеваний;

проведение мероприятий по деконтаминации - в случае обнаружения НК и (или) ампликонов возбудителей инфекционных заболеваний на объектах внешней среды;

отбор контрольных смывов с объектов внешней среды для контроля качества деконтаминационных мероприятий.

2. Общие правила отбора смывов с объектов внешней среды:

2.1. Отбор смывов производится 1 раз в квартал согласно графику либо при возникшей необходимости.

2.2. Смывы берутся фельдшером-лаборантом, прошедшим обучение процедуре отбора смывов у врача-эпидемиолога отделения инфекционно-эпидемиологического контроля либо у фельдшера-лаборанта лаборатории.

2.3. Накануне взятия смывов готовят стерильные тампоны (зонды) и пробирки, содержащие 0,5 мл ТЕ-буфера (10 mM Tris, 1 mM ЭДТА). Пробирки подписывают согласно планируемому для отбора точкам по количеству точек отбора и для контроля стерильности раствора и ватных тампонов.

2.4. Отбор смывов производят перед началом работы или если это невозможно, то в перерыве после проведения санитарной обработки.

2.5. Процедура отбора смывов:

надевают одноразовые перчатки (без талька);

берут пробирку, содержащую 0,5 мл ТЕ-буфера и стерильный тампон (зонд);

производят отбор смывов стерильным тампоном (зондом), предварительно смоченным в ТЕ-буфере: мелкие предметы полностью протирают стерильным тампоном (зондом), смоченным в ТЕ-буфере; на крупных предметах намечают участок 10 x 10 см, тампоном (зондом) проводят по размашистой волнистой линии из левого нижнего угла до правого верхнего угла и из левого верхнего угла до правого нижнего угла;

открывают пробирку, не касаясь внутренней поверхности крышки, помещают тампон (зонд) в ТЕ-буфер, вращают его, избегая разбрызгивания раствора, и, отжав избыток жидкости о стенки пробирки, удаляют тампон (зонд) из пробирки. Использованный тампон (зонд) утилизируют в соответствии с требованиями законодательства.

2.6. Допускается пулирование смывов, но не более 10 в 1 пробирку.

3. Порядок исследования смывов:

3.1. Полученные суспензии перемешивают на вортексе в течение 1 мин, после чего центрифугируют при 2 500 об/мин в течение 10 с. Для проверки на ингибирование рекомендуется добавление в каждую пробирку смыва внутреннего контрольного образца (далее - ВКО) из тест-системы в объеме, используемом при выделении образцов. Дополнительно в пробирку с ТЕ-буфером добавить ВКО (для контроля самого выхода ВКО). Критерий принятия - отставание по каналу детекции ВКО в пробирках со смывами не более чем на 2 цикла по сравнению с пробиркой без смывов.

3.2. Для проведения реакции амплификации необходимо использовать необходимый объем жидкости в соответствии с инструкцией по применению к набору реагентов и новые (невскрытые) наборы реагентов.

3.3. После получения результатов исследования оформляют протокол результатов смывов по форме согласно приложению 3.

4. В отобранных смывах должны полностью отсутствовать НК и (или) ампликоны возбудителей инфекционных заболеваний.

5. В случае обнаружения НК и (или) ампликонов возбудителей инфекционных заболеваний на объектах внешней среды проводят комплекс мероприятий по деконтаминации:

5.1. Работников, проводящих мероприятия по деконтаминации, обеспечивают отдельными одноразовыми халатами, одноразовыми шапочками, одноразовыми бахилами и перчатками, одноразовыми салфетками, емкостями для приготовления необходимого объема моющих и дезинфицирующих растворов.

5.2. Каждое рабочее помещение лаборатории обрабатывают работники, работающие в нем.

5.3. Утилизируют все реагенты и расходные материалы, находящиеся в контаминированном помещении, а также контаминированный исследуемый биоматериал, находящийся в работе.

5.4. Готовят моющие и дезинфицирующие растворы.

5.5. Для обработки каждого рабочего помещения используют отдельный набор уборочного инвентаря, который после уборки подвергается утилизации.

5.6. Каждое рабочее помещение лаборатории разбивают на участки, обработку которых осуществляют последовательно с использованием для каждого участка одноразовых салфеток достаточного размера:

участок 1 - внутренние поверхности бокса биологической безопасности и оборудование внутри него;

участок 2 - внешние поверхности бокса биологической безопасности;

участок 3 - шкафы для расходного материала;

участок 4 - холодильники для хранения реактивов, образцов проб;

участок 5 - оборудование, которое используют в работе, располагающееся вне бокса биологической безопасности;

участок 6 - поверхности помещения (стены, окна, потолок, двери и т.д.);

участок 7 - пол.

5.7. Поверхности каждого участка вначале обрабатывают моющим раствором (согласно инструкции по применению) для удаления жировых загрязнений.

5.8. Затем на поверхность наносят хлорсодержащий дезинфицирующий раствор (согласно инструкции по применению), разрешенный к применению для этих целей в установленном порядке. Остатки дезинфицирующего средства тщательно удаляют водой.

5.9. Мероприятия, описанные в подпунктах 5.7 и 5.8 настоящего пункта, повторяют еще раз.

5.10. После завершения обработки проводят обеззараживание поверхностей ультрафиолетовым излучением в течение 1 часа.

5.11. Проводится замена всей рабочей/защитной одежды контаминированной зоны.

6. Случаи контаминации регистрируют в журнале деконтаминационных мероприятий по форме согласно приложению 4 с указанием деконтаминационных мероприятий и результатов внутрилабораторного контроля.

7. Контроль качества деконтаминационных мероприятий:

7.1. По завершении деконтаминационных мероприятий повторно отбирают смывы для исследования на наличие НК и (или) ампликонов возбудителей инфекционных заболеваний.

7.2. В случае получения в контрольных смывах положительных результатов амплификации обработку повторяют.

7.3. В случае получения неудовлетворительных результатов при использовании способа пулирования смывов (пункт 2.6) контрольные смывы отбирают отдельно с каждой поверхности в отдельные пробирки для последующего отдельного исследования.

8. После проведения обработки дезинфицирующими средствами рабочих помещений лаборатории возможно выявление ингибирования ПЦР и (или) других МАНК. Это выражается в выявлении в исследуемых внутренних контрольных образцах и положительных контрольных образцах отсутствия порогового цикла  $C_t$  соответствующей ДНК (РНК). В этом случае проводится повторное удаление дезинфицирующих средств с поверхностей.

Приложение 3  
к Положению о порядке  
организации работы  
лабораторий,  
использующих  
полимеразную  
цепную реакцию (далее -  
ПЦР) и  
другие методы  
амплификации  
нуклеиновых кислот  
(далее -  
МАНК)

Форма

Протокол результатов смывов N \_\_\_\_

Дата проведения смывов: \_\_\_\_\_  
 Дата исследования смывов: \_\_\_\_\_  
 ФИО работника, проводившего  
 смывы: \_\_\_\_\_  
 ФИО работника, проводившего  
 исследование смывов: \_\_\_\_\_

N пробирки	Место проведения смывов	Количество смывов	Результаты смывов
Наименование (номер) рабочего помещения:			
1	Ручки дверей предбоксника, бокса	4	
2	Стол: рабочая поверхность, ручки	3	
3	Ламинарный бокс: рабочая и наружная поверхности, термостат, дозатор, штатив, вортекс, центрифуга, внутренняя поверхность защитного стекла, отсасыватель	9	
4	Станция для выделения НК: блок управления (клавиатура), внутренняя поверхность защитного стекла, поверхность прибора	3	
5	Поверхности и ручки холодильника и лабораторной мебели	10	

Заключение \_\_\_\_\_  
 Врач клинической  
 лабораторной диагностики  
 (врач-лаборант, биолог) \_\_\_\_\_  
 Фельдшер-лаборант \_\_\_\_\_

Приложение 4  
к Положению о порядке  
организации работы  
лабораторий,  
использующих  
полимеразную  
цепную реакцию (далее -  
ПЦР) и  
другие методы  
амплификации  
нуклеиновых кислот  
(далее -  
МАНК)

Журнал деконтаминационных мероприятий

N п/п	Основание для проведения деконтаминационных мероприятий	Проведенные деконтаминационные мероприятия	Дата отбора смыва	Место отбора смыва	Результаты исследования смывов	ФИО и подпись работника, проводившего деконтаминационные мероприятия

## **ПРАВИЛА ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ И ДРУГИХ МАНК**

### **ГЛАВА 1 ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ**

1. Настоящие Правила устанавливают порядок взятия, транспортировки, хранения и предобработки биоматериала для ПЦР (МАНК), которые позволяют оптимизировать и унифицировать получение качественного биоматериала (далее - Правила взятия, транспортировки, хранения и предобработки биоматериала для ПЦР (МАНК)).

2. Настоящие Правила предназначены для врачей клинической лабораторной диагностики, врачей-лаборантов, врачей-инфекционистов, иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам и использующих в своей практике ПЦР (МАНК).

3. Материалы и оборудование, необходимые для взятия, транспортировки, хранения и предобработки биоматериала для ПЦР (МАНК), представлены в приложении к настоящим Правилам.

4. Для целей настоящих Правил используются основные термины и их определения в значениях, установленных Законом Республики Беларусь от 18 июня 1993 г. N 2435-XII "О здравоохранении", Законом Республики Беларусь от 23 июня 2008 г. N 356-3 "Об охране труда", Законом Республики Беларусь от 7 января 2012 г. N 340-3 "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения", а также следующие термины и их определения:

зонд универсальный флокированный (далее - зонд флокированный) - одноразовый инструмент для отбора биоматериала (мазка) со слизистых оболочек носоглотки, ротоглотки, уретры, цервикального канала, слизистой прямой кишки, анального отверстия, имеющий на рабочей поверхности синтетическое флокированное покрытие, обеспечивающее адгезию биологического клеточного материала на своей поверхности;

зонд урогенитальный с полимерной рабочей частью (далее - зонд урогенитальный) - одноразовый инструмент для отбора биоматериала (мазка) со слизистых оболочек уретры, цервикального канала, имеющий на рабочей поверхности синтетическое флокированное покрытие, обеспечивающее адгезию биологического клеточного материала на своей поверхности;

муколитик - инактивирующий реагент, обладающий муколизующими свойствами, предназначенный для обработки мокроты перед проведением исследований методом ПЦР (МАНК).

### **ГЛАВА 2 ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ БИОМАТЕРИАЛА ДЛЯ ПЦР/МАНК**

5. Взятие биоматериала осуществляют в одноразовых неопудренных перчатках стерильными одноразовыми инструментами в стерильные одноразовые флаконы, пробирки, контейнеры.

6. В случаях, где необходимо использование транспортной среды, взятие биоматериала производят в пробирки с транспортной средой.

7. Сразу после взятия биоматериала пробирки, флаконы, контейнеры плотно закрывают, не касаясь их внутренней поверхности и внутренней поверхности крышек.

8. При переносе биоматериала из пробирок, флаконов, контейнеров в новые используют только отдельные одноразовые стерильные наконечники с аэрозольными барьерами.

9. В целях предотвращения контаминации проб и рабочих поверхностей открытие пробирок, флаконов, контейнеров и работа с биоматериалом проводятся без резких движений и не допуская разбрызгиваний и расплескиваний. Перед открытием пробирок с биоматериалом необходимо осадить капли кратковременным центрифугированием.

10. Для транспортировки биоматериала используют охлаждающие элементы в необходимом количестве.

11. При работах по выделению и очистке НК используют расходные материалы (пластиковые пробирки и наконечники) только с маркировкой "DNase-, RNase-free".

12. При использовании оптических методов детекции ПЦР (в том числе ПЦР-РВ, анализ кривых плавления и др.) необходимо использовать ПЦР-пробирки, предназначенные для оптических методов детекции и адаптированные для используемого амплификатора.

### ГЛАВА 3

#### ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ ОБРАЗЦОВ КРОВИ ДЛЯ ПЦР/МАНК

13. Пробы плазмы используют при проведении качественных и количественных исследований ПЦР (МАНК), пробы сыворотки крови используют только при проведении качественных исследований ПЦР (МАНК).

14. Для получения плазмы взятие венозной крови производят натошак или через 3 часа после приема пищи из локтевой вены с помощью стандартной вакуумной системы (игла диаметром 0,8 - 1,1 мм; наполнитель пробирки - 6% ЭДТА). В целях предотвращения свертывания крови пробирку аккуратно переворачивают несколько раз вверх дном, чтобы кровь тщательно перемешалась с антикоагулянтом, иначе выделение НК станет невозможным. Гепарин в качестве антикоагулянта использовать нельзя.

15. Плазму крови получают центрифугированием пробирок с цельной кровью при 800 - 1 600 g в течение 20 минут при комнатной температуре. Затем плазму в объеме не менее 1 мл переносят отдельными наконечниками с аэрозольным фильтром в стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл, пробирки маркируют.

16. Для получения сыворотки взятие венозной крови производят натошак или через 3 часа после приема пищи из локтевой вены с помощью стандартной вакуумной системы (игла диаметром 0,8 - 1,1 мм; пробирки без антикоагулянта).

17. Для получения сыворотки пробирки с кровью отстаивают при комнатной температуре в течение 30 минут до полного образования сгустка или помещают в термостат при 37 °С на 15 минут. Затем центрифугируют при 800 - 1 600 g в течение 10 минут при комнатной температуре. Полученную сыворотку в объеме не менее 1 мл переносят отдельными наконечниками с аэрозольным фильтром либо пастеровскими пипетками в стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл, пробирки маркируют. Сыворотка не должна быть гемолизированной.

18. Для выявления лейкотропных вирусов пробирки с цельной кровью центрифугируют при 800 - 1 600 g в течение 20 минут при комнатной температуре. После удаления плазмы клетки крови (лейкоцитарную фракцию цельной крови, лейкоцитарную пленку) отбирают следующим образом: используя наконечник с аэрозольным фильтром, аккуратно собирают лейкоцитарную массу с поверхности осадка клеток в объеме 0,2 мл и переносят в стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5 - 2,0 мл, пробирки маркируют.

19. Условия хранения и транспортировки биоматериала и предварительно обработанных проб:

19.1. Образцы цельной крови:

при температуре 20 - 25 °С - в течение 2 часов с момента взятия;

при температуре 2 - 8 °С - в течение 6 часов с момента взятия для количественного определения НК; в течение 12 часов - для качественного определения НК;

недопустимо замораживание.

19.2. Образцы плазмы и сыворотки:

при температуре 2 - 8 °С - в течение 5 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;

допускается только однократное замораживание/оттаивание биоматериала, поэтому образцы плазмы или сыворотки для длительного хранения необходимо аликвотировать небольшими (0,1 - 0,2 мл) порциями в отдельные стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5 - 2,0 мл.

#### ГЛАВА 4

### ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ БИОМАТЕРИАЛА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ УРОГЕНИТАЛЬНОГО ТРАКТА ДЛЯ ПЦР/МАНК

20. Для диагностики инфекций мочеполовой системы, в том числе инфекций, передающихся половым путем (далее - ИППП), используют различный биоматериал - соскобное отделяемое или мазок со слизистых оболочек, мочу, секрет предстательной железы, сперму. Выбор биоматериала зависит от диагностической задачи, пола пациента и определяется лечащим врачом.

21. Для взятия соскобного отделяемого и мазков используют одноразовые урогенитальные зонды, зонды флокированные, зонды-тампоны, цитощетки. Соскобы и мазки помещают в пробирку с транспортной средой. Условия хранения и транспортировки биоматериала определяются инструкцией к транспортной среде и набору реагентов для выделения и очистки НК.

22. При взятии соскобного отделяемого цервикального канала доступ к цервикальному каналу обеспечивают с помощью одноразового стерильного гинекологического зеркала. Цитощеткой производят взятие биоматериала в пробирку со специальной транспортной средой, содержащей муколитик. Для исследования на вирус папилломы человека (далее - ВПЧ) необходимо достаточное количество эпителиальных клеток, так как вирус является внутриклеточным агентом. Слизь и отделяемое влагалища с поверхности шейки матки удаляют стерильным марлевым тампоном или специальным зондом, покрытым впитывающим материалом, затем вводят рабочую часть цитощетки в цервикальный канал и делают два - три полных оборота по часовой стрелке, извлекают цитощетку и помещают ее рабочую часть, содержащую взятый биоматериал, в пробирку с транспортной средой следующим образом: перед помещением взятого биоматериала в пробирку ручку цитощетки обламывают на 1 см от ее рабочей части, далее обламывают не более 1 см пластиковой основы рабочей части цитощетки и оставляют в пробирке с транспортной средой, пробирку маркируют. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде цервикальной слизи и крови. У беременных и молодых нерожавших женщин, когда не требуется скрининговая диагностика ВПЧ-инфекции, для взятия биоматериала из цервикального канала можно использовать зонд флокированный или зонд урогенитальный. Биоматериал отбирают так же, как описано выше, только обламывать зонд необходимо по специальной насечке. Для этого опускают рабочую часть зонда в пробирку с транспортной средой и, когда зонд упрется в дно пробирки, дополнительным усилием сгибают тонкую часть зонда, погрузив в пробирку его расширенную часть до насечки, затем обламывают и оставляют зонд в пробирке. В случае если невозможно обломить рабочую часть цитощетки или флокированного зонда, максимально полно смывают биоматериал с их рабочей части в пробирку с транспортной средой, прижав ее к внутренней стороне пробирки и вращая по 5 - 10 раз по часовой и против часовой стрелки. Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части цитощетки или флокированного зонда, поскольку это может привести к перекрестной контаминации биоматериалом и, как следствие, получению ложноположительных результатов. Перед проведением процедуры экстракции НК для растворения слизи содержимое пробирки тщательно перемешивают на вортексе, капли биоматериала со стенок пробирки и внутренней части крышки осаждают центрифугированием в режиме 1 500 - 3 000 об/мин в течение 5 секунд, после чего содержимое пробирки аккуратно перемешивают пипетированием.

23. Взятие соскобного отделяемого или мазка из влагалища производят с помощью зонд-тампона или урогенитального зонда в пробирку с транспортной средой. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде слизи и крови. Рабочей частью зонда вращательным движением проводят по поверхности боковых стенок влагалища,

максимально полно собирая отделяемое. Зонд переносят в пробирку с транспортной средой. Рабочую часть зонда, содержащую исследуемый биоматериал, обламывают и оставляют в пробирке с транспортной средой. Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части зонда. В случае использования транспортной среды с муколитиком ее цвет может измениться за счет изменения pH. Пробирку плотно закрывают крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, маркируют. Перед проведением процедуры экстракции НК капли биоматериала со стенок пробирки и внутренней части крышки осаждают центрифугированием в режиме 1 500 - 3 000 об/мин в течение 5 секунд, после чего содержимое пробирки аккуратно перемешивают на вортексе, избегая разбрызгивания и попадания материала на внутреннюю часть крышки.

24. Условия хранения и транспортировки соскобного отделяемого цервикального канала:

- при температуре 2 - 8 °С - в течение 1 суток;
- при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;
- при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;
- допускается лишь однократное замораживание/оттаивание биоматериала.

25. Сбор мочи для исследования проводится после тщательного туалета наружных половых органов, чтобы в мочу не попали выделения из них. Желательно закладывать тампон во влагалище перед сбором материала для предупреждения контаминации мочи отделяемым из влагалища. Также не следует производить сбор мочи во время менструации. Для анализа отбирают первую порцию утренней мочи в количестве 15 - 25 мл в сухой стерильный флакон.

26. Условия хранения и транспортировки нативных и предварительно обработанных образцов мочи:

- при температуре 2 - 8 °С - в течение 1 суток;
- при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;
- при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;
- допускается лишь однократное замораживание/оттаивание биоматериала.

27. У мужчин для взятия соскоба из уретры головку полового члена в области наружного отверстия уретры предварительно обрабатывают тампоном, смоченным стерильным физиологическим раствором. Производят массаж уретры. При наличии свободно стекающих из уретры выделений их удаляют сухим тампоном. Вводят флюорированный зонд или зонд урогенитальный в уретру на глубину 1 - 2 см. Несколькими вращательными движениями производят соскоб эпителиальных клеток и переносят зонд в пробирку с транспортной средой, обламывают и оставляют в пробирке. Недопустимо использование многоразовых ножниц для обрезания рабочей части зонда. Пробирку плотно закрывают крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, маркируют. Перед проведением процедуры экстракции НК капли материала со стенок пробирки и внутренней части крышки осаждают центрифугированием в режиме 1 500 - 3 000 об/мин в течение 5 секунд, после чего содержимое пробирки аккуратно перемешивают на вортексе, избегая разбрызгивания и попадания материала на внутреннюю часть крышки. Допустимо умеренное присутствие примесей в виде слизи, крови и гноя.

28. Перед получением секрета простаты головку полового члена обрабатывают стерильным ватным тампоном. Секрет простаты отбирают после предварительного массажа простаты через прямую кишку. Массаж простаты проводят несколькими энергичными движениями с надавливанием от основания к верхушке. После окончания массажа простаты ее секрет в количестве 0,5 - 1 мл собирают в одноразовую стерильную сухую пластиковую пробирку объемом 2 мл или стерильный сухой контейнер объемом 50 - 60 мл. Пробирку плотно закрывают крышкой, не допуская зазора и смятия внутренней части крышки, маркируют. При невозможности получить секрет сразу после массажа простаты собирают первую порцию мочи (в которой содержится секрет простаты) в количестве 15 - 25 мл (см. правила забора мочи).

Условия хранения и транспортировки секрета простаты:

- при комнатной температуре - в течение 6 часов;
- при температуре 2 - 8 °С - в течение 1 суток;
- при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;  
допускается лишь однократное замораживание/оттаивание биоматериала.

29. Получение спермы следует осуществлять в сухой стерильный контейнер объемом 50 - 60 мл.

Условия хранения и транспортировки спермы:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;

при температуре 2 - 8 °С - в течение 1 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;

допускается лишь однократное замораживание/оттаивание биоматериала.

30. Непосредственно перед выделением НК 0,05 мл спермы переносят, используя наконечник с фильтром, в стерильную одноразовую пробирку объемом 1,5 мл и добавляют 0,15 мл транспортной среды, пробу тщательно перемешивают на вортексе.

## ГЛАВА 5

### ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ БИОМАТЕРИАЛА ИЗ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ

31. В качестве клинического материала из желудочно-кишечного тракта (далее - ЖКТ) наиболее информативно использовать пробы фекалий. Для этих целей образец фекалий в количестве примерно 1 г отдельным наконечником с аэрозольным фильтром или одноразовой лопаткой переносят в специальный стерильный флакон.

32. При исследовании нативных фекалий без предшествующего замораживания готовят фекальную суспензию (при водянистой консистенции фекалий суспензию не готовят). В соответствующее пробам количество микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 мл вносят по 0,8 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. В каждую пробирку отдельным наконечником с аэрозольным фильтром (или одноразовой лопаткой) вносят 0,1 г (0,1 мл) фекалий и тщательно ресуспендируют на вортексе до образования гомогенной суспензии.

33. При невозможности исследования биоматериала в течение суток и/или необходимости его длительного хранения к 10 - 20% суспензии фекалий в фосфатном буфере (или стерильном изотоническом растворе натрия хлорида) добавляют глицерин в конечной концентрации 10 - 15%. После тщательной гомогенизации и экспозиции с глицерином в течение 30 - 40 мин подготовленные таким образом пробы замораживают.

34. Для приготовления бактериальной фракции фекалий используют фекалии водянистой консистенции, свежеприготовленную суспензию фекалий или суспензию, подвергавшуюся замораживанию с глицерином.

35. Пробирки с суспензией (водянистыми фекалиями) центрифугируют при 7 000 - 12 000 g в течение 5 мин. Отдельным наконечником с фильтром из каждой пробирки отбирают бактериальную фракцию в объеме 0,05 мл (верхняя бело-желтая часть образовавшегося осадка). При отсутствии осадка или бело-желтого пограничного слоя между осадком и супернатантом со дна пробирки или с границы осадка или супернатанта отбирают 0,1 мл бактериальной фракции. Отобранную часть пробы, содержащую высокую концентрацию бактерий, переносят в новую микроцентрифужную пробирку объемом 1,5 мл, содержащую 0,8 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида. Проводят тщательное ресуспендирование осадка на вортексе с последующим центрифугированием при 7 000 - 12 000 g в течение 15 мин. Супернатант удаляют, а осадок ресуспендируют на вортексе в 0,3 мл стерильного изотонического раствора натрия хлорида.

36. Для приготовления осветленного экстракта фекалий для выявления вирусных агентов используют фекалии водянистой консистенции, свежеприготовленную суспензию фекалий или суспензию, подвергавшуюся замораживанию с глицерином. Взвесь фекалий интенсивно гомогенизируют на вортексе. Осветляют полученную суспензию путем центрифугирования при 10 000 g в течение 5 минут. Супернатант (0,1 мл) смешивают с отрицательным контрольным образцом в соотношении 1:1 и используют непосредственно для выделения ДНК или РНК. При необходимости хранения супернатант отбирают в отдельную одноразовую пробирку.

37. Условия хранения и транспортировки фекалий и предварительно обработанных проб:

Образцы нативных фекалий:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;

при температуре 2 - 8 °С - в течение 3 суток.

Фекальная суспензия с глицерином, бактериальная фракция и осветленный фекальный экстракт:

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца.

## ГЛАВА 6

### ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ БИОМАТЕРИАЛА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ ОРГАНА ЗРЕНИЯ, ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ

38. Слезную жидкость в количестве не менее 0,5 мл собирают одноразовыми пластиковыми пипетками в одноразовые стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5 - 2,0 мл. Для усиления слезоотделения проводят провокацию слезоточивым веществом (обычно используют нашатырный спирт).

39. Условия хранения и транспортировки слезной жидкости:

при температуре 2 - 8 °С - в течение 1 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;

допускается лишь однократное замораживание/оттаивание материала.

40. Отделяемое конъюнктивы отбирают сухим флокированным зондом под местной анестезией (2 капли раствора дикаина). Оттянув нижнее веко, вращающими движениями проводят зонд 45 раз по конъюнктиве, захватывая внешний и внутренний углы глаза. После взятия биоматериала зонд помещают в одноразовую стерильную пробирку с защелкивающейся крышкой объемом 2 мл, содержащую соответствующую транспортную среду. Погрузив рабочую часть зонда в транспортную среду, аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 2 см от рабочей части и оставляют рабочую часть зонда с биоматериалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой и маркируют.

41. Условия хранения и транспортировки отделяемого конъюнктивы:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;

при температуре 2 - 8 °С - в течение 3 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца.

## ГЛАВА 7

### ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ БИОМАТЕРИАЛА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ РЕСПИРАТОРНОГО ТРАКТА И РОТОВОЙ ПОЛОСТИ, ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ

42. Мазки из полости носа отбирают сухими флокированными зондами. Зонд вводят легким движением по наружной стенке носа на глубину 2 - 3 см до нижней раковины. Затем зонд слегка опускают книзу, вводят в нижний носовой ход под нижнюю носовую раковину, делают вращательное движение и удаляют вдоль наружной стенки носа. После взятия биоматериала зонд помещают в стерильную одноразовую пробирку с защелкивающейся крышкой, содержащую соответствующую транспортную среду, и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 2 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой и маркируют.

43. Условия хранения и транспортировки мазков из полости носа:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;

при температуре 2 - 8 °С - в течение 3 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;

допускается только однократное замораживание/оттаивание биоматериала.

44. Мазки из ротоглотки (с поверхности миндалин, небных дужек и задней стенки ротоглотки) отбирают вращательными движениями сухими стерильными флокированными зондами. После взятия биоматериала зонд помещают в стерильную одноразовую пробирку со специальной транспортной средой и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 2 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с биоматериалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой и маркируют.

45. Условия хранения и транспортировки мазков из ротоглотки:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;

при температуре 2 - 8 °С - в течение 3 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;

допускается лишь однократное замораживание/оттаивание биоматериала.

46. Взятие мокроты осуществляют в количестве не менее 1,0 мл в одноразовые градуированные стерильные флаконы с широким горлом и завинчивающимися крышками объемом не менее 50 мл.

47. Перед выделением НК необходимо провести разжижение мокроты, используя раствор муколитика ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  - 77,4 мМ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  - 22,6 мМ, **ВМЭ** - 99,4 мМ, 5% азид натрия в конечной концентрации 0,05%). В емкость с мокротой добавляют муколитик в соотношении 5:1 (5 частей муколитика к 1 части мокроты), ориентируясь по градуировке емкости. В процессе разжижения мокроты (20 - 30 минут) емкость периодически встряхивают. Затем автоматической пипеткой, используя наконечник с фильтром, отбирают 1 мл разжиженной мокроты, помещают в пробирку с завинчивающейся крышкой или в микроцентрифужную пробирку с защелкой на 1,5 мл и центрифугируют при 5 000 - 7 000 г в течение 10 минут. Удаляют 0,8 мл надосадочной жидкости, осадок клеток перемешивают с 0,2 мл оставшейся жидкости. Допускается выделение ДНК (РНК) из 0,1 мл разжиженной мокроты без стадии центрифугирования.

48. Условия хранения и транспортировки мокроты и предварительно обработанных проб:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;

при температуре 2 - 8 °С - в течение 3 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;

допускается лишь однократное замораживание/оттаивание материала.

49. Взятие бронхоальвеолярного лаважа (далее - БАЛ) или промывных вод бронхов осуществляют в одноразовые градуированные стерильные флаконы с широким горлом и завинчивающимися крышками объемом не менее 50 мл.

50. Промывные воды бронхов или БАЛ перемешивают путем переворачивания флакона. Автоматической пипеткой, используя наконечник с фильтром, отбирают 1 мл клинического материала, помещают в пробирку с завинчивающейся крышкой или пробирку с защелкой на 1,5 мл и центрифугируют при 7 000 г в течение 10 минут. Удаляют 0,9 мл надосадочной жидкости, осадок клеток перемешивают с 0,1 мл оставшейся жидкости.

51. Условия хранения и транспортировки промывных вод бронхов или БАЛ и предварительно обработанных проб:

при температуре 2 - 8 °С - в течение 1 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;

при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;

допускается лишь однократное замораживание/оттаивание биоматериала.

52. Перед получением слюны необходимо провести трехкратное полоскание полости рта физиологическим раствором. Слюну отбирают в одноразовые сухие стерильные пробирки в количестве не менее 1,0 мл, пробирки маркируют.

53. Условия хранения и транспортировки слюны и предварительно обработанных проб:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;

при температуре 2 - 8 °С - в течение 1 суток;

при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;  
при температуре минус 70 °С - более 1 месяца.

#### ГЛАВА 8

### ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ МАТЕРИАЛА, ПОЛУЧЕННОГО ИЗ СОДЕРЖИМОГО КОЖНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ, ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ

54. Взятие мазков из кожных элементов (везикулы, буллы, пустулы, язвенные поражения) производят стерильным флокированным зондом. Если элемент имеет сохранившуюся кожу, то ее предварительно протирают спиртом. Элемент (везикула, булла, пустула) вскрывают с использованием стерильной иглы, скарификатора. Из вскрывшегося элемента материал отбирают в местах с сохраненной тканью, делают 2 - 3 вращательных движения рабочей поверхностью флокированного зонда в центре поражения. После взятия биоматериала зонд помещают в стерильную одноразовую пробирку со специальной транспортной средой и аккуратно обламывают пластиковый стержень на расстоянии не более 2 см от рабочей части, оставляя рабочую часть зонда с материалом в транспортной среде. Пробирку плотно закрывают крышкой и маркируют.

55. Условия хранения и транспортировки мазков из кожных элементов:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;  
при температуре 2 - 8 °С - в течение 3 суток;  
при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;  
при температуре минус 70 °С - более 1 месяца;  
допускается лишь однократное замораживание/оттаивание материала.

#### ГЛАВА 9

### ПОРЯДОК ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ И ХРАНЕНИЯ МАТЕРИАЛА СПИННОМОЗГОВОЙ ЖИДКОСТИ ДЛЯ ПЦР-ДИАГНОСТИКИ

56. Спинномозговую жидкость (далее - СМЖ) получают путем проведения люмбальной пункции (в исключительных случаях - субокципитальной или из боковых желудочков мозга).

57. СМЖ в объеме не менее 0,5 мл собирают в одноразовые стерильные пластиковые пробирки объемом 1,5 или 2,0 мл и маркируют.

58. Условия хранения и транспортировки СМЖ:

при комнатной температуре - в течение 6 часов;  
при температуре 2 - 8 °С - в течение 1 суток;  
при температуре минус 20 °С - в течение 1 месяца;  
при температуре минус 70 °С - более 1 месяца.

Приложение  
к Правилам взятия,  
транспортировки,  
хранения и  
предобработки  
биологического  
материала для  
ПЦР-диагностики и  
других МАНК

### МЕДИЦИНСКИЕ ИЗДЕЛИЯ, НЕОБХОДИМЫЕ ДЛЯ ВЗЯТИЯ, ТРАНСПОРТИРОВКИ, ХРАНЕНИЯ И ПРЕДОБРАБОТКИ БИОМАТЕРИАЛА ДЛЯ ПЦР И (ИЛИ) ДРУГИХ МАНК

N	Наименование медицинских изделий
---	----------------------------------

п/п	
1	Одноразовые полипропиленовые микроцентрифужные пробирки с завинчивающимися или плотно закрывающимися крышками объемом 1,5 мл или 2,0 мл
2	Одноразовые полипропиленовые пробирки с завинчивающимися крышками объемом 10 мл
3	Пластиковый контейнер объемом 60 мл
4	Пробирки с ЭДТА-К3 объемом 2 - 10 мл (в зависимости от методики экстракции НК)
5	Зонд универсальный флокированный либо зонд уrogenитальный с полимерной рабочей частью
6	Цитощетка
7	Одноразовые наконечники для пипеток переменного объема с аэрозольным барьером до 200 и до 1 000 мкл
8	Штативы для микропробирок объемом 1,5 мл (штативы для наконечников)
9	Емкость с дезинфицирующим раствором
10	Халат и одноразовые резиновые перчатки
11	Центрифуга лабораторная настольная
12	Холодильник на 2 - 8 °С, на минус 20 °С и минус 70 °С

-----