

## ИНСТРУКЦИЯ по лабораторной диагностике сифилиса

### ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1. На территории Республики Беларусь лабораторная диагностика сифилитической инфекции осуществляется в клиничко-диагностических и серологических лабораториях юридическими лицами всех форм собственности и индивидуальными предпринимателями.

2. Данная инструкция разработана для решения следующих задач:

- определения показаний к обследованию на сифилитическую инфекцию;

- определения спектра диагностических методов, используемых для диагностики сифилитической инфекции;

- установления единых требований к порядку диагностики сифилитической инфекции.

3. Для диагностики сифилиса могут быть использованы нетрепонемные (реакция микропреципитации с инактивированной сывороткой – РМП, реакция быстрых плазменных реагинов – RPR) и трепонемные тесты (иммуноферментный анализ – ИФА, реакция непрямой иммунофлюоресценции – РИФ, реакция пассивной гемагглютинации – РПГА).

3.1. Клинический диагноз первичного сифилиса подтверждается:

- обнаружением *Treponema pallidum* в нативном препарате;

- и/или положительными результатами одного трепонемного и одного нетрепонемного теста.

3.2. Клинический диагноз вторичного и скрытого раннего сифилиса подтверждается:

- положительными результатами одного трепонемного и одного нетрепонемного теста.

3.3. Клинический диагноз позднего сифилиса подтверждается:

- положительными результатами в не менее чем двух трепонемных тестов.

3.4. Клинический диагноз нейросифилиса подтверждается:

- положительными результатами не менее чем двух трепонемных тестов с сывороткой крови;
- результатами комплексной оценки изменений ликвора, с определением степени выраженности показателей воспалительного компонента: морфологический состав (количественный и качественный цитоз), биохимические показатели (общий белок, глобулины/альбумины), расчетные индексы и коэффициенты (альбуминовый коэффициент; IgG-коэффициент; IgG-индекс; РПГА-индекс), а также степени выраженности специфического компонента (нетрепонемный и трепонемный тесты).

4. Инструкция включает в себя следующие приложения:

Приложение 1. Перечень медицинских показаний для обязательного клинико-лабораторного обследования на сифилитическую инфекцию;

Приложение 2. Перечень медицинских показаний для проведения спинномозговой пункции.

Приложение 3. Правила отбора, транспортировки и хранения первичных проб при обследовании пациентов на сифилитическую инфекцию;

Приложение 4. Методика исследования на *Treponema pallidum* в темном поле зрения;

Приложение 5. Методика реакция микропреципитации с кардиолипиновым антигеном;

Приложение 6. Методика реакции быстрых плазменных реагинов;

Приложение 7. Методика выявления суммарных антител (или антител одного класса) к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, плазме, спинномозговой жидкости методом иммуноферментного анализа;

Приложение 8. Методика выявления суммарных антител (или антител одного класса) к *Treponema pallidum* методом реакции пассивной гемагглютинации;

Приложение 9. Методика выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом непрямой иммунофлюоресценции;

Приложение 10. Порядок включения выполненных лабораторией исследований в статистический отчет.

## ПЕРЕЧЕНЬ

медицинских показаний для обязательного клинико-лабораторного обследования на сифилитическую инфекцию

В зависимости от клинической ситуации и контингентов, подлежащих обследованию, для обязательного клинико-лабораторного обследования на сифилитическую инфекцию могут использоваться:

1. Микрореакция преципитации с сывороткой крови (далее – МРП).
2. Тест быстрых плазменных реагинов (далее – RPR).
3. Иммуноферментный анализ (далее – ИФА).
4. Реакция пассивной гемагглютинации (далее – РПГА).
5. Реакция иммунофлюоресценции с абсорбцией (далее – РИФ-абс).

### I. МРП (или RPR) + ИФА (или РПГА) + РИФ-абс

№ п/п	Контингенты, подлежащие обследованию	Кратность
1	Лица, имевшие контакт (половой или тесный бытовой) с больным сифилисом	При первичном обращении

## II. МРП (или RPR) + ИФА (или РПГА)

№ п/п	Контингенты, подлежащие обследованию	Кратность
1	Беременные	Исследование проводится четыре раза: 1. При постановке на учёт. 2. В сроке 18-20 недель. 3. В сроке 30-32 недели. 4. При поступлении в роддом (при отсутствии данных серологического обследования).
2	Невынашивание беременности, преждевременные роды, мертворождение	При первичном обращении
3	Лица, подвергшиеся сексуальному насилию	Исследование проводится дважды: 1. При первичном обращении. 2. Через 6 недель.
4	Лица из «групп риска» (мужчины, имеющие секс с мужчинами (МСМ), работники коммерческого секса)	При первичном обращении
5	Доноры крови, плазмы и других биологических жидкостей и тканей	При каждом обращении

6	Медицинские работники в случае контакта с заразным биологическим материалом пациента, возникающего в результате аварийной ситуации (порез, укол и т.д.)	Исследование проводится дважды: 1. При первичном обращении. 2. Через 6 недель.
7	Мягкий шанкр, паховый лимфогранулематоз, донованоз, эрозивно-язвенные поражения кожи и слизистых любой локализации*	При первичном обращении
8	Психические заболевания	При первичном обращении и далее 1 раз в год

\* дополнительно проводится темнопольная микроскопия отделяемого эрозивных или язвенных дефектов кожи и слизистых оболочек (при отсутствии положительного результата исследования и отрицательных серологических реакциях – не менее трёх раз)

#### IV. ИФА (или РПГА)

№ п/п	Контингенты, подлежащие обследованию	Кратность
1	Поражения органа слуха (тугоухость), нарушение функции вестибулярного аппарата	При первичном обращении
2	Миокардит, аортит, аневризма аорты, приобретенные пороки сердца, воспалительные изменения паренхиматозных органов неясной этиологии	При первичном обращении
3	Остеомиелиты, остеоperiоститы, синовиты	При первичном обращении
4	Менингоневриты, менингиты, энцефалиты, миелиты, полирадикулоневриты, менинговаскулиты по типу ишемических и геморрагических инсультов, васкулиты спинного мозга, объёмные процессы головного и спинного мозга, мононевриты, полиневриты,	При первичном обращении

	плекситы, клинические проявления табеса	
5	ВИЧ-инфекция, носители маркеров парентеральных гепатитов	При первичном обращении и далее 1 раз в год на период диспансерного наблюдения

#### V. МРП (или RPR)

№ п/п	Контингенты, подлежащие обследованию	Кратность
1	Скрининговое обследование с целью выявления инфекций, передаваемых половым путём, в том числе лица с установленным диагнозом ИППП и при анонимном обследовании	При первичном обращении
2	Чесотка, педикулез	При первичном обращении
3	Глоссит, ларингит, сопровождающийся дисфонией	При первичном обращении
4	Геморрой, трещина заднего прохода, проктит, парапроктит	При первичном обращении
5	Высыпания на коже и слизистых оболочках, сопровождающиеся лимфангитом, лимфаденитом; алопеция; температурные реакции на приём антибактериальных препаратов	При первичном обращении
6	Подростки, состоящие на учете в инспекциях по делам несовершеннолетних	При взятии на учет
7	Женщины, направляемые на прерывание беременности или внутриматочные манипуляции	При первичном обращении
8	Пациенты, состоящие на учете в наркологических диспансерах	При первичном обращении и далее 1 раз в год
9	Злокачественные новообразования	При первичном обращении

10	При госпитализации лиц в возрасте старше 13 лет (кроме клинических показаний указанных выше)	При отсутствии данных достоверного результата обследования за последний 1 месяц
11	Лица, подлежащие медицинским и профилактическим осмотрам*	При первичном обращении и далее в соответствии с нормативными документами Министерства здравоохранения Республики Беларусь

\* Реакции могут проводиться, как с сывороткой, так и с плазмой крови.

В случае направления материала для исследования в централизованную лабораторию или лабораторию другого учреждения здравоохранения ответственность за правильность сортировки материала, заполнение направлений и общих ведомостей лежит на направляющем учреждении.

До этапа транспортировки материал должен быть сортирован в зависимости планируемого метода (или сочетания методов), которыми должно быть проведено исследование. При доставке в централизованные лаборатории на каждую группу методов исследования должна заполняться отдельная ведомость ф. №201/у-07.

Приложение № 2  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05.2009 № 488

Перечень медицинских показаний для проведения спинномозговой  
пункции

К показаниям для диагностического исследования спинномозговой жидкости при сифилисе относятся:

Абсолютные показания:

- клинико-неврологическая очаговая симптоматика и микросимптоматика у больных сифилисом любой формы;
- расстройства психической сферы у больных сифилисом любой формы;
- пациенты с несостоятельностью проведенной этиотропной терапии (клинический рецидив, серологический рецидив, серорезистентность);
- сифилис у больных ВИЧ-инфекцией/СПИДом;
- снятие с учета по нейросифилису.

Относительные показания:

- злокачественное течение манифестного сифилиса (алопеция, лейкодерма, пустулезный сифилид);
- поздние формы сифилиса;
- дети, рожденные от матерей, не получавших лечения по поводу сифилиса во время беременности.

К противопоказаниям для диагностического исследования спинномозговой жидкости относятся:

- клинические и инструментальные (КТ, МРТ) признаки отека головного мозга;
- застойные диски зрительных нервов;
- дислокационный синдром;
- объемные процессы головного мозга (опухоли, гуммы, абсцесс, субдуральная гематома);
- острые инфекционные заболевания (ОРВИ, ангина и др.);
- инфекция мягких тканей в месте предполагаемой пункции;

– выраженная тромбоцитопения (менее 40000/мкл) или снижение времени свертывания крови более чем на 50%.

Приложение № 3  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05. 2009 № 488

Правила отбора, транспортировки и хранения первичных проб при  
обследовании пациентов на сифилитическую инфекцию

I. Правила отбора первичной пробы серозного отделяемого с поверхности эрозий, язв, мацерированных, эрозированных, изъязвленных папул, пустул:

1. Наименование процедуры	Отбор первичной пробы серозного отделяемого с поверхности эрозий, язв, мацерированных, эрозированных, изъязвленных папул, пустул.
2. Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры)	Специалист, имеющий диплом установленного образца об окончании высшего медицинского образовательного учебного заведения.
3. Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала	1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000. 2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01. 3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения. 4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г. 5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами». Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».

<p>4. Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Стерильные марлевые салфетки.</li> <li>2. Стерильные медицинские перчатки.</li> <li>3. Ложки Фолькмана.</li> <li>4. Пинцет.</li> <li>5. Лоток.</li> <li>6. Предметные стекла.</li> <li>7. Покровные стекла.</li> <li>8. Бактериологическая петля.</li> <li>9. Стерильный физиологический раствор.</li> <li>10. Маркер.</li> <li>11. Манипуляционный столик.</li> <li>12. Кушетка, гинекологическое кресло.</li> <li>13. Одноразовый гинекологический набор.</li> <li>14. Этиловый спирт 70%; антисептики, разрешенные к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</li> </ol>
<p>5. Методика выполнения процедуры</p>	<p>I. Подготовка к процедуре</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента информированного согласия на предстоящую процедуру.</li> <li>2. Оформить бланк направления для лабораторного исследования.</li> <li>3. Промаркировать предметное стекло, предназначенное для взятия биологического материала.</li> <li>4. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.</li> <li>5. Надеть стерильные медицинские перчатки;</li> <li>6. Обеспечить свободный доступ к язвенному дефекту.</li> <li>7. Тщательно и осторожно очистить поверхность дефект кожи или слизистой с помощью марлевой салфетки, смоченной стерильным физиологическим раствором, не травмируя поверхность.</li> </ol> <p>II. Выполнение процедуры</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Метод раздражения. Стерильной ложкой Фолькмана произвести осторожные (исключая повреждение сосудов),</li> </ol>

	<p>поглаживающие движения по поверхности элемента. Через 10-60 секунд на поверхности элемента образуется прозрачная, слегка опалесцирующая тканевая жидкость. В случае появления кровотечения его следует остановить, прижав ватный тампон к поверхности элемента, после чего продолжить поглаживания. Полученное серозное отделяемое смешать на предметном стекле с равным количеством физиологического раствора, накрыть покровным стеклом, и полученный нативный препарат исследовать под микроскопом.</p> <p>2. Метод сдавливания.</p> <p>После очистки сдавить края эрозии/язвы пальцами или пинцетом, стимулируя выделение серозного экссудата. Собрать экссудат с поверхности бактериологической петлей, браншей пинцета или путем аккуратного прикладывания к поверхности эрозии/язвы стерильного предметного стекла. Полученное отделяемое смешать на предметном стекле с равным количеством физиологического раствора, накрыть покровным стеклом, и полученный нативный препарат исследовать под микроскопом.</p> <p>3. Метод скарификации.</p> <p>Используется при исследовании сухих элементов (розеолы, папулы, эпителизированные эрозии). Поверхность исследуемого элемента скарифицировать. Остановить появляющееся капиллярное кровотечение, и методом раздражения скарифицированной поверхности получить серозную жидкость. Полученное отделяемое смешать на предметном стекле с равным количеством физиологического раствора, накрыть покровным стеклом, и полученный нативный препарат исследовать под микроскопом. Первичная проба хранению не подлежит.</p> <p>III. Окончание процедуры</p>
--	--

	<ol style="list-style-type: none"><li>1. Подвергнуть дезинфекции расходный материал.</li><li>2. Снять перчатки, поместить их в емкость для дезинфекции.</li><li>3. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.</li></ol> <p>В случае получения отрицательного результата при первичном исследовании назначить пациенту примочки с физиологическим раствором, после чего отбор пробы повторить через 24 часа.</p>
--	--

## II. Правила отбора первичной пробы пунктата лимфатического узла:

1. Наименование процедуры	Отбор первичной пробы пунктата лимфатического узла.
2. Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры)	Специалист, имеющий диплом установленного образца об окончании высшего медицинского образовательного учебного заведения.
3. Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.</li> <li>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</li> <li>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</li> <li>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</li> <li>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</li> <li>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</li> </ol>
4. Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Стерильные марлевые салфетки, ватные шарики.</li> <li>2. Стерильные медицинские перчатки.</li> <li>3. Спиртовой раствор йода 5%.</li> <li>4. Этиловый спирт 70%.</li> <li>5. Стерильный пинцет.</li> <li>6. Стерильные пленки.</li> <li>7. Лоток.</li> <li>8. Шприц одноразовый объемом 20 мл.</li> </ol>

	<p>9. Шприц одноразовый объёмом 2 мл.  10. Тонкая игла с наружным диаметром 0,6-0,7 мм.  11. Раствор анестетика, разрешенного к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.  12. Лейкопластырь.  13. Пробирка типа Эппендорф.  14. Маркер.  15. Манипуляционный столик.  16. Кушетка.</p>
<p>5. Методика выполнения процедуры</p>	<p>I. Подготовка к процедуре:  1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента информированного согласия на предстоящую процедуру.  2. Оформить бланк направления для лабораторного исследования.  3. Промаркировать пробирку, предназначенную для первичной пробы пунктата лимфатического узла.  4. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.  5. Надеть стерильные медицинские перчатки.  II. Выполнение процедуры:  1. Пропальпировать плотный, подвижный лимфатический узел без признаков воспаления.  2. Произвести антисептическую последовательную обработку операционного поля над лимфатическим узлом спиртовым раствором йода 5% и спирта 70%, осушить его.  3. Набрать в одноразовый шприц объёмом 2 мл раствор анестетика.  4. Ввести раствор антисептика внутрикожно до образования «лимонной корочки».  5. Набрать в одноразовый шприц объёмом 20 мл стерильный физиологический раствор – 1 мл.  6. Зафиксировать лимфатический узел между двумя пальцами левой руки.  7. Правой рукой ввести в узел иглу, соединённую</p>

со шприцем, в котором находится 1 мл стерильного физиологического раствора комнатной температуры. Прокол произвести у одного из полюсов лимфатического узла и проталкивать иглу по направлению длинной оси до противоположного полюса, нагнетая при этом содержащийся в шприце физиологический раствор в узел.

8. Медленно вывести иглу из узла, одновременно оттягивая поршень шприца на себя.

9. Последовательно обработать операционное поле раствором спирта 70% и спиртовым раствором йода 5%.

10. Наложить стерильную салфетку на место прокола, зафиксировать ее лейкопластырем.

### III. Окончание процедуры

1. Полученную первичную пробу пунктата лимфатического узла поместить в подготовленную маркированную пробирку типа Эппендорф и немедленно доставить в лабораторию.

2. Подвергнуть дезинфекции расходный материал.

3. Снять перчатки, поместить их в емкость для дезинфекции.

4. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.

### III. Правила отбора первичной пробы капиллярной крови:

1. Наименование процедуры	Отбор первичной пробы капиллярной крови.
2. Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры)	Специалист, имеющий диплом установленного образца об окончании среднего специального образовательного учебного заведения.
3. Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.</li> <li>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</li> <li>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</li> <li>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</li> <li>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</li> <li>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</li> </ol>
4. Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Скарификатор.</li> <li>2. Капилляр Панченкова.</li> <li>3. Раствор цитрата натрия трехзамещенный п5%.</li> <li>4. Пробирка (одноразовая или стеклянная) с пробкой.</li> <li>5. Стерильные медицинские перчатки.</li> <li>6. Стерильные ватные шарики.</li> <li>7. 70% этиловый спирт.</li> <li>8. Маркер.</li> </ol>

	<p>9. Стол.</p> <p>10. Антисептики, разрешенные к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</p>
<p>5. Методика выполнения процедуры</p>	<p>I. Подготовка к процедуре:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента информированного согласия на предстоящую процедуру.</li> <li>2. Оформить бланк направления для лабораторного исследования.</li> <li>3. Промаркировать пробирку, предназначенную для отбора первичной пробы.</li> <li>4. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.</li> <li>5. Надеть стерильные медицинские перчатки.</li> </ol> <p>II. Выполнение процедуры:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. В капилляр Панченкова набрать раствор цитрата натрия 5% до метки «К» (100 мкл).</li> <li>2. 25 мкл раствора цитрата натрия 5% вернуть во флакон.</li> <li>3. 75 мкл раствора цитрата натрия 5% поместить в маркированную пробирку.</li> <li>4. Место предполагаемого прокола на пальце обработать спиртом этиловым 70% или другим антисептиком, разрешенным к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</li> <li>5. Место прокола протереть сухим стерильным ватным шариком.</li> <li>6. Произвести прокол скарификатором, первую каплю крови удалить стерильным ватным шариком.</li> <li>7. Капиллярную кровь в объеме 300 мкл (три капилляра) поместить в пробирку с раствором цитрата натрия 5%.</li> <li>8. Место прокола обработать спиртом этиловым 70% или другим антисептиком, прижать к месту прокола сухой стерильный ватный шарик.</li> <li>9. Закрывать пробирку плотно прилегающей</li> </ol>

	<p>резиновой или пластиковой пробкой.</p> <p>III. Окончание процедуры:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Подвергнуть дезинфекции расходный материал.</li><li>2. Поместить пробирку в специальный контейнер для транспортировки, исключить возможность её опрокидывания. Направления поместить отдельно от пробирок.</li><li>3. Снять перчатки, поместить их в ёмкость для дезинфекции.</li><li>4. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.</li><li>5. Транспортировку первичных проб в лабораторию произвести в течение 24 часов без предъявления требований к температурному режиму.</li></ol>
--	---

#### IV. Правила отбора первичной пробы венозной крови:

1. Наименование процедуры	Отбор первичной пробы венозной крови.
2. Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры)	Специалист, имеющий диплом установленного образца об окончании среднего специального образовательного учебного заведения.
3. Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.</li> <li>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</li> <li>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</li> <li>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</li> <li>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</li> <li>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</li> </ol>
4. Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Одноразовый шприц или вакутайнер.</li> <li>2. Пробирка одноразовая с покрытием для быстрого образования сыворотки.</li> <li>3. Стерильные медицинские перчатки.</li> <li>4. Жгут.</li> <li>5. Стерильные ватные шарики.</li> <li>6. Спирт этиловый 70%.</li> <li>7. Маркер.</li> <li>8. Полуавтоматический дозатор переменного</li> </ol>

	<p>объема.</p> <p>9. Наконечники одноразовые к дозатору.</p> <p>10. Манипуляционный столик.</p> <p>Антисептики, разрешенные к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</p>
<p>5. Методика выполнения процедуры</p>	<p>I. Подготовка к процедуре:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента информированного согласия на предстоящую процедуру.</li> <li>2. Оформить бланк направления для лабораторного исследования.</li> <li>3. Промаркировать пробирку, предназначенную для отбора первичной пробы, в соответствии с требованиями лаборатории, где будет проводиться исследование.</li> <li>4. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.</li> <li>5. Надеть стерильные медицинские перчатки.</li> </ol> <p>II. Выполнение процедуры:*</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Наложить жгут проксимальнее места венепункции.</li> <li>2. Пропальпировать вену перед дезинфекцией места венепункции.</li> <li>3. Очистить кожу этиловым спиртом 70% или другим дезинфицирующим средством, разрешенным к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</li> <li>4. Дать коже высохнуть.</li> <li>5. Произвести венепункцию и взятие крови в объеме не менее 5 мл.</li> <li>6. Извлечь иглу из вены, обработать место венепункции 70% этиловым спиртом или другим антисептиком, разрешенным к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</li> <li>7. Место венепункции прижать сухим стерильным ватным тампоном.</li> <li>8. Кровь из шприца внести в маркированную</li> </ol>

	<p>пробирку, выпуская по стенке пробирки медленно, не допуская вспенивания и разбрызгивания.</p> <p>9. Закрывать пробирку плотно прилегающей резиновой или пластиковой пробкой.</p> <p>III. Окончание процедуры:</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Поместить пробирку в специальный контейнер для транспортировки, исключить возможность ее опрокидывания. Направления поместить отдельно от пробирок.</li><li>2. Подвергнуть дезинфекции расходный материал.</li><li>3. Снять перчатки, поместить их в ёмкость для дезинфекции.</li><li>4. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.</li><li>5. Транспортировку первичных проб в лабораторию произвести в течение 24 часов при температуре + 2-25°C.</li><li>6. При необходимости сохранения пробы от 2 до 24 часов в процедурном кабинете пробирки с первичными пробами поместить в холодильник при температуре + 2-8°C.</li><li>7. При необходимости сохранения первичной пробы свыше 24 и до 48 часов произвести отделение сыворотки от сгустка: первичный образец поместить в термостат при температуре +37°C на 20-30 минут, затем в холодильник при температуре + 2-8°C, на 20-30 минут, после чего пробирки подвергнуть центрифугированию при 1000-1500 об./мин в течение 10 минут. Отделившуюся сыворотку перенести в сухую чистую пробирку, предварительно маркированную в соответствии с маркировкой первичной пробы. Для данной манипуляции использовать отдельный наконечник дозатора для каждой пробы. При использовании вакуутайнера дополнительная обработка первичной пробы не проводится.</li><li>8. Пробирку с остатками первичной пробы подвергнуть утилизации в соответствии с</li></ol>
--	--

	Санитарными правилами и нормами 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами»
--	--

\* у новорожденных детей и детей грудного возраста отбор первичной пробы венозной крови может быть произведен из родничковой или пяточной вены

## V. Правила отбора первичной пробы спинномозговой жидкости:

1. Наименование процедуры	Отбор первичной пробы спинномозговой жидкости.
2. Требования к специалистам (кто участвует в выполнении процедуры)	Специалист, имеющий диплом установленного образца об окончании высшего медицинского образовательного учебного заведения.
3. Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.</li> <li>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</li> <li>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</li> <li>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</li> <li>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами». Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</li> </ol>
4. Приборы, инструменты, изделия медицинского назначения	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Стерильные салфетки и ватные шарики.</li> <li>2. Стерильные медицинские перчатки.</li> <li>3. Спиртовой раствор йода 5%.</li> <li>4. Этиловый спирт 70%.</li> <li>5. Стерильный пинцет или пластиковые (деревянные) палочки.</li> <li>6. Стерильные пленки.</li> <li>7. Лоток.</li> <li>8. Одноразовый шприц объемом 2-5 мл.</li> <li>9. Раствор анестетика, разрешенного к применению</li> </ol>

	<p>Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</p> <p>10. Одноразовые иглы с мандренами для проведения люмбальной пункции, диаметр 0,5-0,6 мм, длина 8-12 см.</p> <p>11. Лейкопластырь.</p> <p>12. Две пробирки объемом 10 мл с плотно прилегающей резиновой или пластиковой пробкой.</p> <p>13. Маркер.</p> <p>Манипуляционный столик.</p>
<p>5. Методика выполнения процедуры</p>	<p>I. Подготовка к процедуре:</p> <p>1. Объяснить пациенту ход и цель процедуры; убедиться в наличии у пациента письменного информированного согласия на предстоящую процедуру.</p> <p>2. Оформить бланк направления для лабораторного исследования.</p> <p>3. Промаркировать пробирки, предназначенные для взятия спинномозговой жидкости.</p> <p>4. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.</p> <p>5. Надеть стерильные медицинские перчатки.</p> <p>II. Выполнение процедуры:</p> <p>1. Произвести антисептическую последовательную обработку операционного поля спиртовым раствором йода 5% и этиловым спиртом 70%, осушить его.</p> <p>2. Набрать в одноразовый шприц объёмом 2-5 мл раствор анестетика.</p> <p>3. Ввести раствор антисептика внутрикожно до образования «лимонной корочки»</p> <p>4. Ввести пункционную иглу с мандреном в область L4-L5, L3-L4.</p> <p>5. По достижении субарахноидального пространства извлечь мандрен и самотеком набрать по 2,0-3,0 мл спинномозговой жидкости в каждую из двух, плотно закрываемых пробирок.</p> <p>6. Вставить мандрен в иглу, вывести иглу.</p> <p>7. Последовательно обработать операционное поле</p>

	<p>раствором спирта 70% и спиртовым раствором йода 5%.</p> <p>8. Наложить стерильную салфетку на место прокола, зафиксировать ее лейкопластырем.</p> <p>III. Окончание процедуры:</p> <p>1. Пробы поместить в специальный контейнер для транспортировки, исключив возможность опрокидывания и доставить в лабораторию для исследования в течение не более 15 минут (для определения цитоза немедленно). Транспортировку для серологических исследований спинномозговой жидкости допустимо проводить в течение 2 часов, при температуре + 2-25°C. Направления поместить отдельно от пробирок.</p> <p>2. В случае проведения процедуры в манипуляционной, доставить больного, под контролем среднего медицинского персонала в палату.</p> <p>3. Подвергнуть дезинфекции расходный материал.</p> <p>4. Снять перчатки, поместить их в емкость для дезинфекции.</p> <p>5. Произвести гигиеническую антисептическую обработку рук.</p>
--	---

Приложение № 4  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05.2009 № 488

Методика исследования на *Treponema pallidum* в темном поле зрения

1. Наименование метода	Исследование на <i>Treponema pallidum</i> в темном поле зрения.
2. Принцип метода	Визуальная оценка отраженного свечения <i>Treponema pallidum</i> на темном поле при боковом освещении.
3. Биологический материал для исследования	Серозное отделяемое с поверхности эрозий, язв, мацерированных, эрозированных, изъязвленных папул или пустул. Пунктат лимфатического узла.
4. Условия транспортировки проб	Исследование пробы проводят сразу после ее взятия.
5. Подготовка проб к исследованию	См. приложение № 3 «Обор, транспортировка и хранение первичных проб при обследовании пациентов на сифилитическую инфекцию»
6. Оборудование, инструменты и материалы	1. Световой микроскоп, снабженный конденсором темного поля с окуляром 10-12× и объективом 40×. 2. Источник света мощностью не менее 200 Вт. 3. Дистиллированная вода. 4. Пипетка или дозатор для нанесения воды. 5. Предметное стекло. 6. Покровное стекло. 7. Лоток. 8. Дезинфицирующие средства, разрешенные к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь. 9. Пинцет.
7. Подготовка к	Исследование пробы проводят сразу после ее

<p>проведению анализа</p>	<p>взятия. Подготовка микроскопа: – на верхнюю линзу темнопольного конденсора нанести каплю дистиллированной воды или каплю масла для микроскопии; – поместить препарат на столик микроскопа; – поднять конденсор, избегая образования пузырьков; – включить источник света.</p>
<p>8. Процедура анализа</p>	<p>Провести оценку не менее десяти полей зрения.</p>
<p>9. Учет и оценка результата</p>	<p>В темном поле определяются: - нейтрофильные лейкоциты – в виде округлых, ярко светящихся зернистых образований; - лейкоциты – серовато-темные, тускло светящиеся клетки округлой формы; - клетки эпителия – круглые или неправильной формы клетки, значительно крупнее лейкоцитов и ярко светящиеся; - эритроциты – в виде темных элементов круглой формы, окаймленных светящейся полоской; - микроорганизмы, обладающие определенными морфологическими характеристиками и характерными движениями. Во время исследования проводится дифференциальная диагностика морфологических признаков <i>Tr. pallidum</i> с <i>Tr. refringers</i>, <i>Tr. phagedenis</i>, <i>Tr. denticola</i>, <i>Tr. microdentium</i>, <i>Tr. buccalis</i>, <i>Tr. vincenti</i>. Характеристика <i>Tr. pallidum</i>: - тонкая спираль, длиной 6-20 мкм, толщиной 0,13-0,15 мкм, с равномерными 10-13 (6-20) завитками, с характерными сгибательными, маятнокообразными, вращательными и плавными поступательными движениями. Характеристика <i>Tr. refringers</i>: - спираль длиной 5-8 мкм, толщиной 0,2-0,3 мкм, с</p>

	<p>2-3 завитками, с быстрыми поступательными, очень быстрыми вращательными, выраженными волнообразными движениями, отсутствием сгибательных и маятнокообразных движений.</p> <p>Характеристика <i>Tr. phagedenis</i>:</p> <p>- спираль длиной 10-12 мкм, толщиной 0,2-0,25 мкм, с 10-12 (10-30) завитками, с медленными свободными, с резкими толчками поступательными движениями, внезапно переходящими от медленных к быстрым вращениям на месте, колебательными движениями с резкими толчками отсутствием сгибательных и маятнокообразных движений.</p> <p>Характеристика <i>Tr. denticola</i>:</p> <p>- спираль длиной 8 (6-16) мкм, толщиной 0,15-0,2 мкм, с 6-8 (6-16) завитками, с медленными свободными поступательными, с резкими толчками, мягкими, крутящимися, колебательными движениями отсутствием сгибательных и маятнокообразных движений.</p> <p>Характеристика <i>Tr. microdentium</i>:</p> <p>- спираль длиной 5-10 мкм, толщиной 0,2-0,3 мкм (короче и толще бледной трепонемы), сильнее преломляет свет, имеет заостренные завитки, перемещается медленнее без сгибательных движений.</p> <p>Характеристика <i>Tr. buccalis</i>:</p> <p>- спираль имеет от 3 до 10 широких неравномерных завитков, сильно преломляет свет, активно двигается.</p> <p>Характеристика <i>Tr. vincenti</i>:</p> <p>- спираль с 2-3 плоскими неравномерными завитками, тонкая и нежная, движется активно, хаотично, ярко светится.</p> <p>Образец заключения: «<i>Tr. pallidum</i> обнаружена» и «<i>Tr. pallidum</i> не обнаружена».</p>
10. Контроль качества	<p>На преаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- взятие первичной пробы;</li> <li>- правильность маркировки первичной пробы;</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- исправность микроскопа;</li> <li>- соответствие показателей внешней среды: температуры воздуха, влажности, освещенности рабочего места, тем условиям, которые необходимы для проведения исследования.</li> </ul> <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- выполнение методики исследования в соответствии с инструкцией.</li> </ul> <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- правильность внесения результатов в бланк исследования,</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul>
<p>11. Нормативные ссылки</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.</li> <li>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</li> <li>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</li> <li>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</li> <li>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</li> <li>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</li> <li>7. Приказ МЗ РБ №351 от 16.12.1998 г. «О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД».</li> <li>8. Инструкция №113-0801 от 05.09.2001 г.</li> </ol>

	<p>«Гигиеническая и хирургическая антисептика кожи рук медицинского персонала».</p> <p>9. Постановление Главного государственного санитарного врача РБ №71 от 11.07.2003 г. «Об утверждении и введении санитарных правил устройства, содержания и эксплуатации ЛПО».</p>
12. Безопасность персонала	В соответствии с требованиями нормативных документов

Приложение № 5  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05.2009 № 488

Методика реакции микропреципитации с кардиолипидным антигеном\*

1. Наименование метода	Реакция микропреципитации с кардиолипидным антигеном (РМП).
2. Принцип метода	Образование комплекса антиген-антитело при взаимодействии сыворотки, плазмы, СМЖ больного сифилисом и эмульсии кардиолипидного антигена, имеющего вид преципитата белого цвета.
3. Биологический материал для исследования	Нативная инактивированная сыворотка крови. Спинномозговая жидкость (СМЖ). Плазма крови.
4. Условия транспортировки проб	Пробирки с кровью, сывороткой, плазмой, СМЖ транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре +2-25°C. При невозможности немедленной доставки пробы в лабораторию, пробы хранятся в холодильнике при температуре +2-8°C не более 24 часов. В лаборатории пробы исследуются в течение 24 часов, при необходимости сохранения образца до 72 часов, отделяется сыворотка и хранится при температуре +2-8°C. При необходимости хранения биологического материала в течение более длительных сроков производят замораживание сыворотки, СМЖ при разделении его на несколько дублирующих проб по 0,5-1,0 мл в маркированных пробирках типа Эппендорф. Замораживание при температуре -18-20°C позволяет хранить образцы в течение 1-1,5 месяцев, при низких температурах -70°C срок их хранения практически не лимитируется. Образцы с плазмой исследуются в день взятия, хранению не подлежат.

<p>5. Подготовка проб к исследованию</p>	<p>Для получения сыворотки образцы крови помещаются в термостат при +37°C на 15-30 минут или оставляются при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещаются в холодильник при +4°C на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергаются центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-3000 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производится при комнатной температуре или при температуре +2-8°C бытового холодильника. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания его в обязательном порядке несколько раз тщательно перемешиваются перед выполнением исследования.</p> <p>Образцы, в которых сформирован кровяной сгусток и достаточное количество сыворотки могут быть исследованы без подготовки</p> <p>Перед проведением исследования образцы сыворотки подвергают инактивированию при +56°C в течение 30 минут.</p> <p>Пробирки со стабилизированной кровью (плазма) в лаборатории отстаивают перед исследованием при комнатной температуре в течение 30-60 минут или центрифугируют 7-10 минут при скорости вращения 1000-1500 оборотов в минуту.</p> <p>Подготовка проб СМЖ не проводится.</p>
<p>6. Оборудование, инструменты и материалы</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Набор для РМП.</li> <li>2. Круглодонный иммунологический планшет для макротитрования.</li> <li>3. Дозаторы пипеточные переменного объема, позволяющие отбирать 50 мкл, 150 мкл, 2 мл и 10 мл жидкости.</li> <li>4. Наконечники для дозатора универсальные.</li> <li>5. Пробирки (стеклянные или одноразовые).</li> </ol>

	<p>6. Физиологический раствор.</p> <p>7. Шейкер (орбитальный ротор).</p> <p>8. Центрифуга с горизонтальным ротором, развивающая ускорение 1000-3000 оборотов в минуту.</p> <p>9. Источник искусственного направленного света.</p> <p>10. Стаканы мерные химические.</p> <p>11. Вата медицинская гигроскопическая.</p> <p>12. Перекись водорода.</p> <p>13. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов.</p> <p>14. Маркер.</p> <p>15. Средства индивидуальной защиты персонала.</p>
7. Реагенты	<p>Набор для РМП:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- спиртовой раствор кардиолипинового антигена (холестерин – 0,98%, кардиолипид – 0,03%, лецитин – 0,27% в абсолютизированном этиловом спирте;</li> <li>- холинхлорид 70%;</li> <li>- 0,9% раствор хлорида натрия (физиологический раствор).</li> </ul>
8. Подготовка к проведению анализа	<p>Перед использованием компоненты набора выдержать при температуре +18-27°C в течение 30 минут.</p> <p>В случае выпадения кристаллов во флаконах с раствором холинхлорида прогреть их при температуре +37±1°C до полного растворения кристаллов, после чего флаконы интенсивно встряхнуть.</p> <p>Приготовление эмульсии кардиолипинового антигена:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- в пробирку внести 2,0 мл свежеприготовленного физиологического раствора, затем добавить равное количество спиртового раствора антигена кардиолипинового для РМП, быстро и тщательно перемешать содержимое пробирки. При смешивании раствор становится непрозрачным, образуются хлопья белого цвета;</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- смесь оставить при температуре +20<sup>0</sup>С на 30 минут;</li> <li>- для осаждения липидов смесь центрифугировать при 1500 оборотов в минуту в течение 15 минут;</li> <li>- надосадочную жидкость удалить;</li> <li>- к 30,0 мл изотонического раствора хлорида натрия добавить 5 мл 70% раствора холинхлорида. Раствор перемешать и использовать в течение 2 недель, хранить при температуре 2-8<sup>0</sup>С;</li> <li>- к осадку антигена кардиолипинового добавить 7 мл приготовленного раствора холинхлорида и тщательно перемешать;</li> <li>- готовую эмульсию кардиолипинового антигена хранить при температуре 2-8<sup>0</sup>С без доступа света, использовать в течение срока, указанного производителем.</li> </ul> <p>Для приготовления большего количества эмульсии рекомендуется ее готовить не в одной пробирке или большом флаконе, а в нескольких пробирках, внося в каждую из них по 2 мл антигена.</p> <p>В иных случаях необходимо следовать инструкции производителя.</p>
<p>9. Процедура анализа</p>	<p>Планшет для макротитрования размечается для проведения анализа, для каждой пробы выделяется 1 лунка.</p> <p>Качественный вариант:</p> <p>В лунку планшета для макротитрования внести по 150 мкл исследуемых образцов и добавить 50 мкл эмульсии кардиолипинового антигена. Перед использованием эмульсию кардиолипинового антигена тщательно ресуспензировать. Содержимое планшета тщательно перемешать путем встряхивания на шейкере в течение 5 минут. В каждую лунку добавить 150 мкл изотонического раствора хлорида натрия, перемешать. Учет реакции проводить через 5 минут.</p> <p>Все образцы биологического материала, показавшие при скрининге положительные результаты,</p>

	<p>необходимо исследовать в количественном варианте РМП.</p> <p>Количественный вариант:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- в лунки иммунологического планшета со 2-й по 8-ю (10-ю) вносят по 150 мкл свежеприготовленного физиологического раствора хлорида натрия;</li> <li>- в 1-ю и 2-ю лунки ряда вносят по 150 мкл исследуемого образца биологического материала. Многократным пипетированием во второй лунке перемешивают содержимое и переносят 150 мкл полученного разведения (1:2) в третью лунку;</li> <li>- данную операцию повторяют во всех лунках ряда, по окончании разведения из последней лунки избыток материала 150 мкл удаляют; таким образом, получают серию разведений: от цельного биологического материала к 1:2, 1:4, ... и до 1:128 (8-я лунка) или 1:512 (10-я лунка);</li> <li>- во все лунки каждого ряда добавляют по 50 мкл хорошо ресуспензированной эмульсии кардиолипидного антигена, помещают планшет для постоянного перемешивания на горизонтальную площадку орбитального шейкера на 5 минут. По окончании процедуры во все лунки вносят по 150 мкл физиологического раствора и через 5 минут учитывают результаты исследования.</li> </ul>
<p>10. Учет и оценка результата</p>	<p>Учет результатов производится в проходящем свете при освещенности не ниже 300 люкс по наличию в реакционной смеси преципитатов (хлопьев) белого цвета по системе «четырёх плюсов»:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- крупные хлопья преципитата белого цвета распределяются равномерно по всему объему лунки, либо имеют тенденцию к расположению по периферической части лунки, при этом реакционная среда полностью прозрачная – результат «резкоположительный 4+»;</li> <li>- хлопья средней величины распределены по всему объему лунки, реакционная среда практически прозрачна – результат «положительный 3+»;</li> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- мелкие хлопья преципитата распределены по объему лунки, реакционная среда имеет белесоватый оттенок – результат «слабоположительный – 2+ или 1+»;</li> <li>- наличие очень мелких хлопьев, сомнение в наличии преципитата; при покачивании планшета частицы антигена демонстрируют перламутровые переливы реакционной среды – результат «сомнительный»;</li> <li>- преципитата нет, реакционная среда непрозрачная, при покачивании планшета частицы кардиолипинового антигена перемещаются, формируя перламутровые переливы белого цвета в центре лунки – результат «отрицательный».</li> </ul> <p>Учет количественного варианта реакции производят по стандартной методике. При этом титром антител считают последнее разведение, где обнаружен преципитат.</p>
<p>11. Контроль качества</p>	<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>- качество биологического материала. Запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипидемичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов);</li> <li>- контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения;</li> <li>- соответствие показателей внешней среды: температура воздуха, влажность;</li> <li>- качество лабораторной посуды.</li> </ul> <p>На аналитическом этапе оценивается.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем</li> </ul>

	<p>активности (отрицательные, положительные, слабоположительные сыворотки);</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- соблюдение температурного режима и времени инактивирования образца;</li> <li>- исполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя;</li> <li>- учет результатов с контрольным материалом и испытуемым образцом в соответствии с официально признанными критериями.</li> </ul> <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- правильность внесения результатов в бланк исследования;</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul>
<p>12. Нормативные ссылки</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.</li> <li>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</li> <li>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</li> <li>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</li> <li>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</li> <li>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</li> <li>7. Приказ МЗ РБ №351 от 16.12.1998 г. «О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме</li> </ol>

	<p>ВИЧ/СПИД».</p> <p>8. Инструкция №113-0801 от 05.09.2001 г. «Гигиеническая и хирургическая антисептика кожи рук медицинского персонала».</p> <p>9. Постановление Главного государственного санитарного врача РБ №71 от 11.07.2003 г. «Об утверждении и введении санитарных правил устройства, содержания и эксплуатации ЛПО».</p>
13. Безопасность персонала	В соответствии с требованиями нормативных документов.

\* Описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя

Приложение № 6  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05.2009 № 488

Методика реакции быстрых плазменных реагинов\*

1. Наименование метода	Реакция быстрых плазменных реагинов (RPR).
2. Принцип метода	Образование комплекса «антиген-антитело», имеющего вид флоккулята черного цвета, при взаимодействии сыворотки, плазмы или СМЖ больного сифилисом и суспензии кардиолипинового антигена с древесным углем.
3. Биологический материал для исследования	Нативная сыворотка крови. Плазма крови. Спинномозговая жидкость (СМЖ).
4. Условия транспортировки проб	Пробирки с кровью, сывороткой, плазмой, СМЖ транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре + 2-25°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре + 2-8°C не более 24 часов. В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов. При необходимости сохранения пробы до 72 часов, отделяется сыворотка и хранится при температуре + 2-8°C. При необходимости хранения проб в течение более длительных сроков в лаборатории производят их замораживание в маркированных пробирках типа Эппендорф, предварительно разделив первичную пробу на несколько дублирующих по 0,5-1,0 мл. Замораживание при температуре -18-20°C позволяет хранить пробы в течение 1-1,5 месяцев; при температуре -70°C срок хранения не лимитируется. Образцы с плазмой исследуются в день взятия, хранению не подлежат.

<p>5. Подготовка проб к исследованию</p>	<p>Образцы крови помещают в термостат при +37°C на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещают в холодильник при + 2-8°C на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре + 2-8°C бытового холодильника. Перед выполнением исследования после оттаивания для гомогенизации содержимого пробирки его несколько раз тщательно перемешивают.</p> <p>Перед проведением исследования образцы сыворотки могут быть инактивированы при + 56°C в течение 30 минут или исследоваться без предварительной инактивации в зависимости от требований производителя.</p> <p>Пробирки со стабилизированной кровью (плазма) в лаборатории отстаивают перед исследованием при комнатной температуре в течение 30-60 минут или центрифугируют 7-10 минут при скорости вращения 1000-1500 оборотов в минуту.</p> <p>Подготовка проб СМЖ не проводится.</p>
<p>6. Оборудование, инструменты и материалы</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Набор для RPR.</li> <li>2. Дозаторы пипеточные переменного объема, позволяющие отбирать 50 мкл, 16 мкл жидкости.</li> <li>3. Наконечники для дозатора универсальные.</li> <li>4. Пластиковые палочки, если они не входят в состав набора.</li> <li>5. Маркер.</li> <li>6. Пробирки (стеклянные или одноразовые).</li> <li>7. Орбитальный ротор.</li> <li>8. Центрифуга с горизонтальным ротором, развивающая ускорение 1000-3000 оборотов в минуту.</li> </ol>

	<p>9. Перекись водорода.</p> <p>10. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов.</p> <p>11. Средства индивидуальной защиты персонала.</p> <p>12. Дезинфицирующие растворы, разрешенные к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</p>
7. Реагенты	<p>Набор для RPR:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– готовая к применению суспензия кардиолипинового антигена, сорбированного на мелкодисперсных частицах угля;</li> <li>– положительная контрольная сыворотка (стабилизированная инактивированной сывороткой крови человека);</li> <li>– отрицательная контрольная сыворотка (стабилизированная инактивированной сывороткой крови человека);</li> <li>– картонные или пластиковые карточки с выдавленными неглубокими 18-мм лунками для проведения в них реакции;</li> <li>– диспенсор со съемной иглой для дозированного раскапывания суспензии антигена;</li> <li>– пластиковые палочки для распределения пробы по поверхности карточки.</li> </ul>
8. Подготовка к проведению анализа	<p>Перед использованием компоненты набора выдержать при температуре +18-27С в течение 30 минут.</p> <p>Произвести маркировку карточки предназначенной для выполнения исследования.</p> <p>Ампулу (флакон) с кардиолипиновым антигеном тщательно встряхнуть, при необходимости перелить содержимое в диспенсер, надеть дозирующую иглу.</p>
9. Процедура анализа	<p>Качественный вариант:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- пипеточным дозатором набрать по 50 мкл контрольных и испытуемых проб сыворотки</li> </ul>

(плазмы крови или спинномозговой жидкости) и внести в соответствующую лунку карточки;

- этим же наконечником или индивидуальной пластиковой палочкой распределить образец биологического материала внутри очерченной зоны лунки;

- наконечник и палочку сбросить в ёмкость с дезинфицирующим раствором;

- в каждую лунку добавить по одной капле (или по 16 мкл) хорошо ресуспензированного кардиолипинового антигена;

- карточку поместить на платформу горизонтального шейкера (ротора) для постоянного перемешивания содержимого лунок в течение 8 минут при скорости вращения 150 оборотов в минуту;

- через 8 минут приступить к учету результатов реакции.

Количественный вариант:

- в количественном варианте исследуются все пробы, показавшие при скрининге положительные или слабopоложительные результаты;

- в лунки карточки со 2-ой по 5-ую (для проб со слабopоложительным результатом качественного исследования) или 10-ую внести по 50 мкл свежеприготовленного изотонического раствора натрия хлорида;

- в первую и вторую лунки карточки внести по 50 мкл исследуемого образца биологического материала;

-многократным пипетированием во второй лунке перемешать содержимое, стараясь избежать образования пены;

- перенести 50 мкл полученного разведения (1:2) в третью лунку;

- данную операцию повторять последовательно во всех лунках карточки, из последней лунки 50 мкл удалить в емкость с дезинфицирующим раствором (получают серию разведений: от цельного биологического материала к 1:2, 1:4, ... до 1:16 (5

	<p>лунка) или до 1:512 (10 лунка));</p> <p>- во все лунки карточки добавить по 16 мкл хорошо ресуспензированной суспензии кардиолипинового антигена, поместить планшет для постоянного перемешивания на горизонтальную площадку орбитального шейкера на 8 минут.</p>
<p>10. Учет и оценка результата</p>	<p>Карточку расположить на столе или держать в руках и слегка покачивать, учет результатов производится визуально (для более четкой регистрации разрешается применять лупу двукратного увеличения).</p> <p>Произвести оценку результатов с положительным и отрицательным контролями. При несоответствии результатов исследования контролей заявленным производителем набора, результаты исследования аналитической серии регистрации не подлежат, тест провести заново.</p> <p>Критерием позитивности является образование в исследуемой реакционной смеси частиц флоккулята различной величины и просветления реакционной среды:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- крупные и средней величины агрегаты угольных частиц черного цвета располагаются по всему объему лунки, имеют тенденцию к расположению ближе к периферической части лунки, реакционная среда практически полностью прозрачная – результат «положительный»;</li> <li>- редкие и мелкие агрегаты угольных частиц, хлопья преципитата распределены по периферии реакционной лунки, реакционная среда имеет гомогенную структуру – результат «слабоположительный»;</li> <li>- видимые агрегаты угольных частиц в пробе отсутствуют, реакционная среда гомогенной структуры либо частицы угля собираются в центральной части лунки, формируя пятно черного цвета – результат «отрицательный».</li> </ul>

	<p>Учет результатов количественного варианта производят по стандартной методике. Титром антител считают последнее разведение, показавшее положительный результат при RPR тестировании. Если производителем предусмотрена оценка позитивности по системе плюсов «+», необходимо следовать инструкции производителя, предварительно уведомив лечащего врача о порядке учета и интерпретации результатов исследования.</p>
<p>11. Контроль качества</p>	<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>- качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипидемичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов);</li> <li>- контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения;</li> <li>- соответствие показателей внешней среды: температура воздуха, влажность;</li> <li>- качество лабораторной посуды.</li> </ul> <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные, слабоположительные сыворотки);</li> <li>- соблюдение температурного режима и времени инактивирования образца;</li> <li>- исполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя;</li> <li>- учет результатов с контрольным материалом и испытуемым образцом в соответствии с официально признанными критериями.</li> </ul>

	<p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-правильность внесения результатов в бланк исследования;</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul>
12. Нормативные ссылки	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.</li> <li>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</li> <li>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</li> <li>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</li> <li>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</li> <li>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</li> <li>7. Приказ МЗ РБ №351 от 16.12.1998 г. «О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД».</li> <li>8. Инструкция №113-0801 от 05.09.2001 г. «Гигиеническая и хирургическая антисептика кожи рук медицинского персонала».</li> <li>9. Постановление Главного государственного санитарного врача РБ №71 от 11.07.2003 г. «Об утверждении и введении санитарных правил устройства, содержания и эксплуатации ЛПО».</li> </ol>
13. Безопасность	В соответствии с требованиями нормативных

персонала	документов.
-----------	-------------

\* Описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя

Приложение № 7  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05. 2009 № 488

Методика выявления суммарных антител (или антител одного класса)  
к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, плазме, спинномозговой  
жидкости методом иммуноферментного анализа\*

1. Наименование метода	Выявление суммарных антител (или антител одного класса) к <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке крови, плазме, ликворе методом иммуноферментного анализа.
2. Принцип метода	Образование комплекса антиген-антитело на твердофазном носителе в присутствии конъюгата, меченного ферментом, хромогена, изменение рН и окрашивания реакгентной смеси, интенсивность которого пропорциональна концентрации антител.
3. Биологический материал для исследования	Нативная сыворотка крови. Плазма крови. Спинномозговая жидкость.
4. Условия транспортировки проб	Пробирки с кровью, сывороткой, плазмой, ликвором транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре +2-25°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре +2-8°C не более 24 часов. В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов. При необходимости сохранения образца до 72 часов, отделяется сыворотка и хранится при температуре +2-8°C. При необходимости хранения биологического материала в течение более длительных сроков в лаборатории производят замораживание проб в маркированных пробирках типа Эппендорф, предварительно разделив первичную пробу на

	<p>несколько дублирующих по 0,5-1,0 мл. Замораживание при температуре <math>-18-20^{\circ}\text{C}</math> позволяет хранить образцы в течение 1-1,5 месяцев, при температуре <math>-70^{\circ}\text{C}</math> срок хранения не лимитируется. Первичные пробы с плазмой исследуются в течение 24 часов с момента отбора, хранению не подлежат.</p>
<p>5. Подготовка проб к исследованию</p>	<p>Образцы крови помещают в термостат при <math>+37^{\circ}\text{C}</math> на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещают в холодильник при <math>+2-8^{\circ}\text{C}</math> на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре <math>+2-8^{\circ}\text{C}</math> бытового холодильника. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания его несколько раз тщательно перемешивают перед выполнением исследования. Пробирки со стабилизированной кровью (плазма) в лаборатории центрифугируют 7-10 минут при скорости вращения 1000-1500 оборотов в минуту. Подготовка проб СМЖ не проводится.</p>
<p>6. Оборудование, инструменты и материалы</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Набор реактивов для проведения иммуноферментного анализа.</li> <li>2. Фотометр для измерения оптической плотности.</li> <li>3. Полу- или автоматическое устройство для промывания планшет.</li> <li>4. Пипетки одноканальные автоматические.</li> <li>5. Пипетки автоматические многоканальные.</li> <li>6. Наконечники для автоматических пипеток разного объема.</li> <li>7. Термостат суховоздушный.</li> <li>8. Мерные цилиндры.</li> <li>9. Ванночки для реагентов или чашки Петри.</li> </ol>

	<p>10. Крышка для планшета или клейкая лента.</p> <p>11. Маркер.</p> <p>12. Вата медицинская гигроскопическая.</p> <p>13. Бумага фильтровальная.</p> <p>14. Спирт этиловый 50%, 70%, 96%.</p> <p>15. Перекись водорода.</p> <p>16. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов.</p> <p>17. Средства индивидуальной защиты персонала.</p>
7. Реагенты	<p>Набор реактивов для проведения иммуноферментного анализа:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– иммуносорбент: рекомбинантные антигены <i>Treponema pallidum</i> (ультразвученный, рекомбинантный, полипептидный);</li> <li>– инактивированный положительный контрольный образец;</li> <li>– инактивированный отрицательный контрольный образец;</li> <li>– конъюгат: смесь рекомбинантных белков <i>Treponema pallidum</i> и моноклональных антител, конъюгированных с пероксидазой хрена;</li> <li>– субстрат;</li> <li>– концентрат фосфатно-солевого буферного раствора;</li> <li>– разводящий буферный раствор для сывороток;</li> <li>– разводящий буферный раствор для конъюгата;</li> <li>– буферный раствор для субстрата;</li> <li>– стоп-реагент.</li> </ul>
8. Подготовка к проведению анализа	<p>Перед использованием компоненты набора выдержать при температуре +18-27°C в течение 30 минут.</p> <p>В случае выпадения кристаллов во флаконах с реагентами прогреть их при температуре +37±1°C до полного растворения кристаллов, после чего флаконы интенсивно встряхнуть.</p> <p>Освободить от упаковочного пакета, необходимое для анализа количество стрипов и закрепить их в</p>

	<p>рамках. Неиспользованные стрипы хранить в плотно закрытом пакете при температуре +2-8 °С в течение срока, указанного производителем.</p> <p>Разведение концентратов производить в соответствии с требованиями инструкции по проведению анализа.</p> <p>Перед внесением проб планшет промыть соответствующим раствором с помощью автоматического устройства или 8-канальной автоматической пипетки, если этого требует инструкция производителя.</p> <p>Произвести разметку планшета и внести соответствующую нумерацию в протокол исследования.</p>
<p>9. Процедура анализа</p>	<p>В лунки планшета внести раствор для разведения сыворотки в количестве указанном производителем; Внести контрольные и испытуемые образцы в соответствии с разметкой планшета.</p> <p>Каждый образец после внесения пипетировать до изменения цвета разводящего раствора, если это предусмотрено инструкцией. Планшет закрыть крышкой (заклеить лентой) и инкубировать при +37°С в течение периода времени, указанного в инструкции.</p> <p>Удалить реагентную смесь и промыть планшет раствором для промывания в соответствии с инструкцией производителя, остатки влаги удалить.</p> <p>Во все лунки внести конъюгат в рабочем разведении. Планшет закрыть крышкой (заклеить лентой) и инкубировать при +37°С в течение периода времени, указанного производителем.</p> <p>Удалить реагентную смесь и промыть планшет раствором для промывания, остатки влаги удалить.</p> <p>В каждую лунку внести субстрат. Инкубировать при комнатной температуре (+20-25°С) в защищенном от света месте в течение периода времени, указанного производителем.</p> <p>Остановить реакцию путем внесения в каждую</p>

	лунку стоп-раствора.
10. Учет и оценка результата	<p>Производится после остановки реакции на спектрофотометре со светофильтром с длиной волны, указанной производителем. Выведение спектрофотометра на нулевой уровень осуществляется по воздуху.</p> <p>Критерии приемлемости результатов:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- значения оптической плотности (ОП) в лунках, с контролем конъюгата и отрицательным контролем не превышает указанного в паспорте;</li> <li>- значения ОП в лунках, с положительном контролем не ниже, указанного в паспорте.</li> </ul> <p>Для учёта результатов применяется формула:  <math>ОП_{крит} = ОП_{ср. (К-)} + k,</math>  где <math>ОП_{крит}</math> – граничное значение ОП,  <math>ОП_{ср. (К-)}</math> – среднее арифметическое значение ОП отрицательных контрольных проб,  <math>k</math> – коэффициент, указанный производителем.</p> <p>Проба считается положительной, если её ОП превышает расчетное значение <math>ОП_{крит.}</math></p> <p>Проба считается отрицательной, если её значение ниже <math>ОП_{крит.}</math></p> <p>Значение ОП, которое находится в промежутке <math>ОП_{крит.} \pm 10\%</math> считается неопределенным (серая зона). Проба с положительным и неопределенным результатами повторно тестируется не менее чем в 2-х лунках, предпочтительнее – на тест-системе другого производителя.</p> <p>Образцы заключения:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. результат ИФА положительный;</li> <li>2. результат ИФА отрицательный;</li> <li>3. результат ИФА неопределённый.</li> </ol>
11. 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> </ul>

	<ul style="list-style-type: none"> <li>- выполнение требований маркировки проб и соответствия маркировки пробы маркировке направления;</li> <li>- качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипидемичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов);</li> <li>- контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения;</li> <li>- соответствие показателей внешней среды – температура воздуха, влажность;</li> <li>- качество дистиллированной воды на соответствие требованиям производителя набора;</li> <li>- качество лабораторной посуды;</li> <li>- правильность установки лабораторной мебели (отсутствие в непосредственной близости источников вибрации, угол наклона лабораторного стола не более 5°).</li> </ul> <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные);</li> <li>- исполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя;</li> <li>- внесение пробы и реагентов в центр лунки, не касаясь дна и краев;</li> </ul> <p>- качество промывки планшетов: необходимо заполнять лунки в объеме не менее, чем 300 мкл раствора, избегать переполнения и перетекания жидкости в соседние лунки, тщательно осушить лунки после каждого этапа промывки.</p> <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- правильность внесения результатов в бланк исследования;</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul>
12. Нормативные ссылки	1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.

	<p>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</p> <p>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</p> <p>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</p> <p>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</p> <p>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</p> <p>7. Приказ МЗ РБ №351 от 16.12.1998 г. «О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД».</p> <p>8. Инструкция №113-0801 от 05.09.2001 г. «Гигиеническая и хирургическая антисептика кожи рук медицинского персонала».</p> <p>9. Постановление Главного государственного санитарного врача РБ №71 от 11.07.2003 г. «Об утверждении и введении санитарных правил устройства, содержания и эксплуатации ЛПО».</p>
13. Безопасность персонала	В соответствии с требованиями нормативных документов

\* Описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя.

Приложение № 8  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05.2009 № 488

Методика выявления суммарных антител (или антител одного класса)  
к *Treponema pallidum* методом реакции пассивной гемагглютинации\*

1. Наименование метода	Реакция пассивной гемагглютинации (РПГА, ТРРА, ТРНА).
2. Принцип метода	Взаимодействие антител и антигенов <i>Treponema pallidum</i> , конъюгированных с эритроцитами животных, завершается образованием агглютинатов.
3. Биологический материал для исследования	Нативная сыворотка крови. Спинномозговая жидкость (СМЖ).
4. Условия транспортировки проб	Пробирки с кровью, СМЖ транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре +2-25°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре +2-8°C не более 24 часов. В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов. При необходимости сохранения образца до 72 часов, отделяется сыворотка и хранится при температуре +2-8°C. При необходимости хранения биологического материала в течение более длительных сроков в лаборатории производят замораживание проб в маркированных пробирках типа Эппендорф, предварительно разделив первичную пробу на несколько дублирующих по 0,5-1,0 мл. Замораживание при температуре -18-20°C позволяет хранить образцы в течение 1-1,5 месяцев, при температуре -70°C срок хранения не лимитируется.
5. Подготовка проб к исследованию	Образцы крови помещают в термостат при +37°C на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина,

	<p>затем помещают в холодильник при +2-8°C на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре +2-8°C бытового холодильника. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания его несколько раз тщательно перемешивают перед выполнением исследования. Подготовка проб СМЖ не проводится.</p>
<p>6. Оборудование, инструменты и материалы</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Набор для РПГА.</li> <li>2. Дозаторы пипеточные переменного объема, позволяющие отбирать 100 мкл, 90 мкл, 80 мкл, 20 мкл, 10 мкл жидкости.</li> <li>3. Наконечники для дозатора универсальные.</li> <li>4. Пробирки (стеклянные или одноразовые).</li> <li>5. Планшеты иммунологические с U-образным дном.</li> <li>6. Центрифуга с горизонтальным ротором, развивающая ускорение 1000-3000 оборотов в минуту.</li> <li>7. Перекись водорода.</li> <li>8. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов.</li> <li>9. Маркер.</li> <li>10. Средства индивидуальной защиты персонала.</li> <li>11. Дезинфицирующие растворы, разрешенные к применению Министерством здравоохранения Республики Беларусь.</li> <li>12. Оборудование для автоматизированного учета результатов.</li> </ol>
<p>7. Реагенты</p>	<p>Набор для РПГА:  — тест-эритроциты — эритроциты животных, сенсibilизированные антигеном <i>Treponema</i></p>

	<p>pallidum (вместо эритроцитов животных производителем могут использоваться частицы латекса);</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– контрольные эритроциты;</li> <li>– буферный раствор для разведения проб;</li> <li>– раствор для разведения эритроцитов;</li> <li>– положительный и отрицательный контроли;</li> <li>– мерные дозирующие пипетки для тест-эритроцитов и контрольных эритроцитов;</li> <li>– иммунологические планшеты с 96 лунками для постановки реакции (в состав набора могут не включаться).</li> </ul>
<p>8. Подготовка к проведению анализа</p>	<p>Перед использованием компоненты набора выдержать при температуре +18-27С в течение 30 минут.</p> <p>Произвести маркировку планшета:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– ряды 1, 2, 7, 8 – предварительное разведение проб;</li> <li>– ряды 3, 9 – проведение реакции с контрольными эритроцитами;</li> <li>– ряды 4, 10 – проведение реакции с тест-эритроцитами;</li> <li>– ряд 12 – контрольные пробы.</li> </ul> <p>Вскрыть флаконы с контрольными и тест-эритроцитами и развести их указанным в инструкции количеством раствора для разведения. Тщательно перемешать плавными покачивающими движениями для обеспечения равномерной взвеси.</p>
<p>9. Процедура анализа</p>	<p>Качественный вариант:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- внести в лунки планшета требуемое в инструкции количество буферного раствора для разведения проб;</li> <li>- произвести разведение контрольных и исследуемых проб в соответствии с инструкцией;</li> <li>- внести контрольные и тест-эритроциты в соответствующие ряды;</li> <li>- перемешать реагентную смесь путем аккуратного постукивания в течение 30 секунд или на шейкере;</li> </ul>

	<p>- планшет накрыть крышкой, оставить при комнатной температуре в неподвижном состоянии, учет результатов произвести через 60 минут.</p> <p>В количественном варианте исследуются все пробы, показавшие при скрининге положительные или слабopоложительные результаты.</p> <p>Количественный вариант:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- в лунки планшета со 2-й по 10-ю внести требуемое инструкцией производителя количество раствора для разведения сыворотки;</li> <li>- в 1-ю и 2-ю лунки планшета внести исследуемую пробу в количестве, предусмотренном инструкцией;</li> <li>- многократным пипетированием во 2-ой лунке перемешать содержимое, стараясь избежать образования пены;</li> <li>- перенести требуемое количество полученного разведения последовательно во все лунки;</li> <li>- во все лунки планшета добавить тест-эритроциты в количестве, предусмотренном инструкцией производителя;</li> <li>- перемешать реагентную смесь путем аккуратного постукивания в течение 30 секунд или на шейкере;</li> <li>- планшет накрыть крышкой, оставить при комнатной температуре в неподвижном состоянии, учет результатов производят через 60 минут.</li> </ul>
<p>10. Учет и оценка результата</p>	<p>При автоматизированном учете результатов реакции необходимо следовать инструкции производителя прибора автоматизированного учёта.</p> <p>При визуальном учете: учесть результаты положительного и отрицательного контролей. При несоответствии результатов критериям, заявленным производителем набора, тестирование проводится повторно.</p> <p>Критерием оценки результатов РПГА является форма и характер осадка эритроцитов на дне лунок иммунологического планшета:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- эритроциты располагаются ровным слоем по всему дну лунки, высокое содержание специфических</li> </ul>

	<p>антител в пробе – результат «резко положительный»;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- эритроциты располагаются на большей части дна лунки, при этом по периферии осадка формируется заметное кольцо из осадка эритроцитов – результат «положительный»;</li> <li>- эритроциты располагаются на небольшой части дна лунки, в центральной части формируется плотное кольцо из осадка эритроцитов с заметным просветлением в центральной части – результат «слабоположительный»;</li> <li>- компактный осадок в центральной части дна лунки на чистом окружающем фоне – результат «отрицательный».</li> </ul> <p>Если производителем предусмотрена оценка позитивности по системе плюсов «+», необходимо следовать инструкции производителя, предварительно уведомив лечащего врача о порядке учета и интерпретации результатов исследования.</p>
<p>11. Контроль качества</p>	<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>- качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипидемичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов);</li> <li>- контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения;</li> <li>- соответствие показателей внешней среды – температура воздуха, влажность;</li> <li>- качество лабораторной посуды;</li> <li>- правильность установки лабораторной мебели (отсутствие в непосредственной близости</li> </ul>

	<p>источников вибрации, угол наклона лабораторного стола не более 5°).</p> <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные);</li> <li>- выполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя.</li> </ul> <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- правильность внесения результатов в бланк исследования;</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul>
<p>12. Нормативные ссылки</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.</li> <li>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</li> <li>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</li> <li>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</li> <li>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</li> <li>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</li> <li>7. Приказ МЗ РБ №351 от 16.12.1998 г. «О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД».</li> </ol>

	<p>8. Инструкция №113-0801 от 05.09.2001 г. «Гигиеническая и хирургическая антисептика кожи рук медицинского персонала».</p> <p>9. Постановление Главного государственного санитарного врача РБ №71 от 11.07.2003 г. «Об утверждении и введении санитарных правил устройства, содержания и эксплуатации ЛПО».</p>
13. Безопасность персонала	В соответствии с требованиями нормативных документов

\* Описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя

Приложение № 9  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05.2009 № 488

Методика выявления суммарных антител к *Treponema pallidum* в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом непрямой иммунофлюоресценции\*

1. Наименование метода	Выявление суммарных антител к <i>Treponema pallidum</i> в сыворотке крови, спинномозговой жидкости методом непрямой иммунофлюоресценции (РИФабс, РИФ-200, РИФц).
2. Принцип метода	Выявление комплекса антиген-антитело с помощью иммуноглобулинов диагностических флюоресцирующих антивидовых против иммуноглобулинов человека.
3. Биологический материал для исследования	Нативная сыворотка крови. Спинномозговая жидкость.
4. Условия транспортировки проб	Пробирки с кровью, сывороткой, СМЖ транспортируются в лабораторию в специальном закрытом контейнере при температуре +2-25°C. При невозможности немедленной доставки, пробы хранятся в холодильнике при температуре +2-8°C не более 24 часов. В лаборатории первичные пробы исследуются в течение 24 часов. При необходимости сохранения образца до 72 часов, отделяется сыворотка и хранится при температуре +2-8°C. При необходимости хранения биологического материала в течение более длительных сроков в лаборатории производят замораживание проб в маркированных пробирках типа Эппендорф, предварительно разделив первичную пробу на несколько дублирующих по 0,5-1,0 мл. Замораживание при температуре -18-20°C позволяет

	хранить образцы в течение 1-1,5 месяцев, при температуре $-70^{\circ}\text{C}$ срок хранения не лимитируется.
5. Подготовка проб к исследованию	Образцы крови помещают в термостат при $+37^{\circ}\text{C}$ на 15-30 минут или оставляют при комнатной температуре для образования сгустка фибрина, затем помещают в холодильник при $+2-8^{\circ}\text{C}$ на 30 минут, после чего пробирки с венозной кровью подвергают центрифугированию в течение 10 минут при скорости вращения ротора 1000-1500 оборотов в минуту. Сыворотка переносится в другую пробирку для последующего тестирования. Оттаивание сыворотки крови для проведения исследования производят при комнатной температуре или при температуре $+2-8^{\circ}\text{C}$ бытового холодильника. Для гомогенизации содержимого пробирки после оттаивания его несколько раз тщательно перемешивают перед выполнением исследования. Подготовка проб СМЖ не проводится.
6. Оборудование, инструменты и материалы	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Набор для реакции непрямой иммунофлюоресценции.</li> <li>2. Микроскоп люминисцентный с ртутно-кварцевой лампой, иммерсионной системой, окуляром 4× или 5×, фильтрами СЗС-7 или СЗС-14; ФС-1; БС-8.</li> <li>3. Пипетки одноканальные автоматические.</li> <li>4. Пипетки автоматические многоканальные.</li> <li>5. Наконечники для автоматических пипеток разного объема.</li> <li>6. Термостат суховоздушный.</li> <li>7. Центрифуга.</li> <li>8. Влажная камера.</li> <li>9. Мерные цилиндры.</li> <li>10. Емкости для промывки стекол.</li> <li>11. Нефлуоресцирующее иммерсионное масло (диметилфталат).</li> <li>12. Маркер.</li> <li>13. Вата медицинская гигроскопическая.</li> </ol>

	<p>14. Бумага фильтровальная.  15. Спирт этиловый.  16. Перекись водорода.  17. Контейнеры для сбора твердых и жидких отходов.  18. Средства индивидуальной защиты персонала.</p>
<p>7. Реагенты</p>	<p>Набор для реакции непрямой иммунофлюоресценции:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– стекло предметное с фиксированным инактивированным антигеном <i>Treponema pallidum</i>;</li> <li>– положительный контрольный образец;</li> <li>– слабоположительный контрольный образец;</li> <li>– отрицательный контрольный образец;</li> <li>– конъюгат: антитела к иммуноглобулинам человека, меченные флюорохромом;</li> <li>– сорбент: лиофилизированный экстракт из культуры <i>Treponema pallidum</i>, дезинтегрированных ультразвуком;</li> <li>– концентрат фосфатного буферного раствора;</li> <li>– физиологический раствор.</li> </ul>
<p>8. Подготовка к проведению анализа</p>	<p>Необходимое количество предметных стекол с антигеном выдержать при температуре +18-27°C в течение 30 минут; стекла с антигеном без упаковки, хранению не подлежат.</p> <p>Концентрат фосфатного буферного раствора тщательно взболтать, в случае выпадения кристаллов, прогреть при температуре +37±1°C до полного растворения кристаллов, после чего флаконы интенсивно встряхнуть.</p> <p>Содержимое флакона развести дистиллированной водой в соответствии с инструкцией производителя.</p> <p>Приготовить предварительное и рабочее разведения сорбента в соответствии с инструкцией.</p> <p>Приготовить предварительное и рабочее разведения конъюгата в соответствии с инструкцией. Рабочее разведение конъюгата разведению не подлежит.</p> <p>Контрольные образцы и инактивированные</p>

	<p>исследуемые пробы развести:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– для РИФ-200 – буферным раствором в 200 раз;</li> <li>– для РИФабс – сорбентом в рабочем разведении в 5 раз;</li> <li>– для РИФц – использовать неразведенную СМЖ.</li> </ul>
<p>9. Процедура анализа</p>	<p>Нанести исследуемые пробы на антиген, фиксированный на стекле, равномерно покрывая препарат. Избегать касания наконечником поверхности стекла.</p> <p>Поместить препарат во влажную камеру, инкубировать при температуре <math>+37\pm 1^{\circ}\text{C}</math> в течение 30 минут.</p> <p>Препараты промыть в соответствии с инструкцией производителя.</p> <p>Высушить в термостате при температуре <math>+37\pm 1^{\circ}\text{C}</math> в течение 20-25 минут до полного высыхания.</p> <p>На препарат нанести раствор конъюгата в рабочем разведении, поместить во влажную камеру при температуре <math>+37\pm 1^{\circ}\text{C}</math> в течение 30 минут.</p> <p>Препарат отмыть в новой порции отмывающего раствора в соответствии с инструкцией производителя. Высушить в термостате при температуре <math>+37\pm 1^{\circ}\text{C}</math> в течение 20-25 минут до полного высыхания.</p> <p>Готовые препараты необходимо предохранять от воздействия света.</p> <p>Исследование препарата проводить сразу после окончания реакции, нанеся на поверхности одну каплю нефлюоресцирующего иммерсионного масла.</p> <p>Если инструкция предусматривает отклонение от описанной процедуры анализа, необходимо следовать инструкции производителя.</p> <p>Количественный вариант:</p> <p>В количественном варианте исследуются все пробы, показавшие положительные результаты.</p> <p>В чистых, сухих пробирках приготовить последовательные разведения пробы от 1:5 до 1:2560 (при необходимости и более): в 10 пробирок</p>

	<p>внести по 80 мкл сорбента в рабочем разведении; в 1-ю пробирку добавить 20 мкл сыворотки крови, из первой пробирки после тщательного перемешивания перенести 20 мкл во вторую; повторить процедуру последовательно до 10-ой пробирки; 20 мкл из 10-й пробирки удалить в дезинфицирующий раствор. Процедуру анализа повторить в отношении каждого разведения в соответствии описанной выше.</p> <p>При постановке количественного варианта по РИФ-200 сыворотка крови разводится буферным раствором от 1:200 до 1:51200 (при необходимости и более).</p>
<p>10. Учет и оценка результата</p>	<p>Учет результатов реакции осуществлять путем оценки интенсивности свечения <i>Treponema pallidum</i> под воздействием ультрафиолетового света в люминисцентном микроскопе.</p> <p>Критерии приемлемости результатов:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>– положительный контрольный образец дает свечение 4+;</li> <li>– слабоположительный контрольный образец дает свечение 2+;</li> <li>– отрицательный контрольный образец не дает свечения.</li> </ul> <p>Проба считается положительной, если препарат дает блестящее зелено-желтое свечение (4+), яркое зелено-желтое свечение (3+).</p> <p>Проба считается слабоположительной, если свечение бледно-зеленого цвета.</p> <p>Отрицательными считаются образцы, если трепонемы окрашены незначительно интенсивнее фона или не дают свечения вообще.</p>
<p>11. Контроль качества</p>	<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</li> </ul>

	<p>соответствия маркировки пробы маркировке направления;</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- качество биологического материала (запрещается тестирование гемолизированных, гиперлипидемичных (хилезных), гипербилирубинемичных (желтушных) образцов);</li> <li>- контроль диагностикума (внешнее состояние, срок годности), условия и сроки хранения;</li> <li>- соответствие показателей внешней среды – температура воздуха, влажность;</li> <li>- качество лабораторной посуды;</li> <li>- правильность установки лабораторной мебели (отсутствие в непосредственной близости источников вибрации, угол наклона лабораторного стола не более 5°).</li> </ul> <p>На аналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- включение официально зарегистрированных контрольных материалов с различным уровнем активности (отрицательные, положительные, слабоположительные);</li> <li>- исполнение методики постановки в соответствии с инструкцией производителя;</li> <li>- качество промывки стекол соответствует инструкции производителя;</li> <li>- использование для учета реакции нефлюоресцирующего иммерсионного масла и предусмотренных производителем светофильтров;</li> <li>- учет результатов с контрольным материалом и испытуемым образцом в соответствии с официально признанными критериями.</li> </ul> <p>На постаналитическом этапе оценивается:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- правильность внесения результатов в бланк исследования;</li> <li>- своевременное доведение информации до врача, назначившего исследование.</li> </ul>
12. Нормативные ссылки	1. Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности с гельминтами. СП 17-129РБ 2000.

	<p>2. Применение ультрафиолетового бактерицидного излучения для обеззараживания воздуха и поверхностей в лечебно-профилактических учреждениях от 01.06.2001. №26-01-01.</p> <p>3. Приказ МЗ РБ от 25 ноября 2002 г. №165 О проведении дезинфекции и стерилизации учреждениями здравоохранения.</p> <p>4. Методические указания МУ №90-9908 «Контроль качества стерилизации изделий медицинского назначения» Минск, 1999 г.</p> <p>5. Санитарные правила и нормы 2.1.7.14-20-2005 «Правила обращения с медицинскими отходами».</p> <p>6. Инструкция 4.2.10-22-1-2006 «Методы микробиологического контроля санитарно-гигиенического состояния помещений в организациях здравоохранения и стерильности изделий медицинского назначения».</p> <p>7. Приказ МЗ РБ №351 от 16.12.1998 г. «О пересмотре ведомственных нормативных актов, регламентирующих вопросы по проблеме ВИЧ/СПИД».</p> <p>8. Инструкция №113-0801 от 05.09.2001 г. «Гигиеническая и хирургическая антисептика кожи рук медицинского персонала».</p> <p>9. Постановление Главного государственного санитарного врача РБ №71 от 11.07.2003 г. «Об утверждении и введении санитарных правил устройства, содержания и эксплуатации ЛПО».</p>
13. Безопасность персонала	В соответствии с требованиями нормативных документов

\* Описана типовая процедура. Если в инструкции производителя указаны иные требования к отбору, хранению и транспортировке проб, процедуре анализа и учёту результатов, то необходимо следовать инструкции производителя

Приложение № 10  
к приказу Министерства  
здравоохранения Республики Беларусь  
20.05.2009 № 488

Порядок включения выполненных лабораторией исследований в  
статистический отчёт

При составлении статистического отчёта о количестве выполненных исследований в лаборатории руководствоваться следующими нормами:

1. Исследование на бледную трепонему в тёмном поле – 1 исследование.
2. МРП с кардиолипидным антигеном качественный вариант – 1.
3. МРП количественный вариант – 1.
4. RPR качественный вариант – 1.
5. RPR количественный вариант – 1.
6. ИФА – 1.
7. РПГА качественный вариант – 1.
8. РПГА количественный вариант – 1.
9. РИФ абс. + РИФ-200 качественный вариант – 2 исследования.
10. РИФ абс. + РИФ-200 количественный вариант – 2.
11. Исследование ликвора в одной серореакции – 1 (в двух – 2 и т.д.).
12. Общеклиническое исследование ликвора:
  - цитоз – 1 исследование;
  - общий белок – 1;
  - реакция Панди – 1;
  - реакция Нонне-Апельта – 1;
  - реакция Ланге – 1.
13. Биохимическое исследование ликвора: 1 показатель – 1 исследование.