

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ



Первый заместитель Министра

Д.Л. Пиневиц

«*11 ноября*» 20 *15* г.

Регистрационный № *216-10215*

**МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИЙ, ОБУСЛОВЛЕННЫХ
MYCOPLASMA GENITALIUM**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: Государственное учреждение образования «Белорусская медицинская академия последипломного образования»

АВТОРЫ: к.м.н., доцент Шиманская И.Г., Руденкова Т.В., к.м.н., доцент Савочкина Ю.В., Климова Л.В., д.м.н., доцент Костюк С.А., к.м.н. Рубаник Л.В., д.м.н., профессор Полещук Н.Н.

Минск, 2015

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод диагностики инфекций, обусловленных *Mycoplasma genitalium*, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на диагностику инфекций урогенитального тракта.

Инструкция предназначена для врачей-акушер-гинекологов, врачей-урологов, врачей-неонатологов, врачей-дерматовенерологов.

ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ, РЕАГЕНТОВ, ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ, ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ И Т.Д.

Набор реагентов для выделения ДНК из биологического материала. Набор реагентов для выявления ДНК *Mycoplasma genitalium*. Амплификатор, высокоскоростная центрифуга, праймеры и зонды. Питательная среда для культивирования *Mycoplasma genitalium*.

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

- А50-А64 Инфекции, передающиеся половым путем, в том числе:
- А63.8 Другие уточненные заболевания, передающиеся преимущественно половым путем
- А64 Болезни, передающиеся половым путем, неуточненные
- N70-N77 Воспалительные болезни женских тазовых органов
- N80-N98 Невоспалительные болезни женских половых органов, в том числе:
 - N83 Невоспалительные поражения яичника, маточной трубы и широкой связки матки
 - N88 Другие невоспалительные болезни шейки матки
 - N87 Дисплазия шейки матки
 - N89 Другие невоспалительные болезни влагалища
 - N94 Болевые и другие состояния, связанные с женскими половыми органами и менструальным циклом

- N96 Привычный выкидыш
- N97 Женское бесплодие
- N98.0 Инфекция, связанная с искусственным оплодотворением
- O00-O08 Беременность с абортивным исходом
- O23 Инфекция мочеполовых путей при беременности
- O60-O75 Осложнения родов и родоразрешения
- O85-O92 Осложнения, связанные преимущественно с послеродовым периодом, в том числе:
 - O85 Послеродовой сепсис
 - O86 Другие послеродовые инфекции
 - O98.3 Другие инфекции, передающиеся преимущественно половым путем, осложняющие беременность, деторождение или послеродовой период
- N40-N51 Болезни мужских половых органов, в том числе:
 - N30 Цистит
 - N34 Уретрит и уретральный синдром (неспецифические и негонококковые уретриты (N34.1))
 - N37 Поражения уретры при болезнях, классифицированных в других рубриках
 - N39.0 Инфекция мочевыводящих путей без установленной локализации
 - N41 Воспалительные болезни предстательной железы
 - N45 Орхит и эпидидимит
 - N46 Мужское бесплодие

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ

Противопоказаний к использованию метода не имеется.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА С УКАЗАНИЕМ ЭТАПОВ

I этап – преаналитический.

При диагностике инфекций, обусловленных *Mycoplasma genitalium*, с использованием методов молекулярно-генетического анализа и культурального метода, биологическим материалом служит соскоб эпителиальных клеток. Взятие биологического материала у женщин осуществляют до проведения мануального исследования. Ложкой Фолькмана или стерильным одноразовым зондом берут соскоб эпителиальных клеток из заднего и боковых сводов влагалища. Взятие соскоба у мужчин проводят с использованием ложки Фолькмана или стерильного одноразового зонда из передней трети уретры.

Полученный биологический материал вносят

- в стерильные полипропиленовые пробирки объемом 1,5 мл, содержащие 200 мкл транспортной среды – при использовании в дальнейшем методов молекулярно-генетического анализа.

- в стерильные флаконы объемом 10,0 мл, содержащие 5,0 мл транспортной среды для сохранения жизнеспособности микробных клеток – при использовании в дальнейшем культурального метода.

II этап – диагностический.

Проведение молекулярно-генетического анализа (ПЦР) для качественного выявления ДНК *Mycoplasma genitalium* в биологическом материале пациентов. При выявлении ДНК возбудителя в пробе, необходимо проведение молекулярно-генетического анализа (ПЦР) для выявления генетических маркеров резистентности к антибактериальным лекарственным средствам (тетрациклины, макролиды) у *Mycoplasma genitalium*. Для этого в пробирку вносят мастер-микс для Taq-ПЦР, смеси праймеров и зондов для генов: tet, 23S

РНК и house-keeping гена GAPDH (однокопийный ген человека):

tet –f – AGTGTCTTACCCCAATCCCATAGCC

tet –r – CCATACGTCCATTGTGTCAGTCCG

tet –p – FAM-GGGCTGGCGATACGTTTACGGTGGA

23S –f – TGAAGACACCCGTTAGGCGCAA

23S –r – CGAACTTGCATCAATTGCTCCTACC

23S –p – ROX-GGAAAGACCCCGTGAAGCTTTACTG

GAPDH –f– CCTGGTCACCAGGGCTGCTTTTAA

GAPDH –r– CGGTGCCATGGAATTTGCCA

GAPDH –p– JOE-ATGACCCCTTCATTGACCTCAACTACA

Детекцию проводят по отдельным каналам: FAM/Green – для tet-гена; ROX/Orange – для гена 23S РНК; JOE/Yellow – для house-keeping гена GAPDH.

При выявлении tet-гена делают заключение о наличии у *Mycoplasma genitalium* устойчивости к антибактериальным лекарственным средствам группы тетрациклинов. При выявлении гена 23S РНК делают заключение о наличии у *Mycoplasma genitalium* устойчивости к антибактериальным лекарственным средствам группы макролидов.

Для выявления *Mycoplasma genitalium* с использованием культурального метода проводят посев биологического материала пациента на культуральную среду содержащую основу микоплазматического бульона – 0,35 г, триптон – 1 г, пептон – 0,53 г, глюкозу – 0,5 г, дистиллированную воду – 61,5 мл, среда для поддержания роста микроорганизмов с глютамином, но без NaHCO_3 – 5 мл, свежий дрожжевой экстракт (25%) – 3,5 мл, дрожжевой раствор (2%) – 10 мл, эмбриональную сыворотку крупного рогатого скота (предварительно прогретую при 56°C в течение 1 ч.) – 17 мл,

феноловый красный (0,1%) – 2 мл., 100 мл 0,6% агарозы, ципрофлоксацин – 0,25 мкг/мл, полимиксин В – 500 мкг/мл, флуконазол – 50 мкг/мл, инсулин 0,05 ед/мл. После внесения биологического образца в питательную среду, пробу помещают в термостат и инкубируют при 37°C и атмосфере 10% (vol/vol) CO₂ в течение 28 дней.

Оценка результата культивирования проводится визуально по изменению окраски культуральной среды. Если изменений в окраске не произошло и среда сохранила красный цвет, то делают заключение об отсутствии *Mycoplasma genitalium* в биологическом материале пациента. Если произошло изменение окраски культуральной среды с красной на желтую, то делают заключение о присутствии *Mycoplasma genitalium* в биологическом материале пациента.

Для определения чувствительности *Mycoplasma genitalium* к антибактериальным лекарственным средствам проводят посев биологического материала на среду с внесением лекарственных средств (тетрациклины, макролиды). Условия культивирования и оценка результатов проводятся также как при выявлении микроорганизма.

ПЕРЕЧЕНЬ ВОЗМОЖНЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ ИЛИ ОШИБОК ПРИ ВЫПОЛНЕНИИ И ПУТИ ИХ УСТРАНЕНИЯ

Возможные ошибки могут быть связаны с неправильной интерпретацией данных лабораторных исследований, а также непереносимостью пациентами лекарственных средств.

Приложение 1. Организационная схема метода диагностики инфекций, обусловленных *Mycoplasma genitalium*.

