

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель Министра

Е.Л. Богдан

2026 г.

Регистрационный № 032-0625

**МЕТОД ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ ДИАГНОСТИКИ
ИНФЕКЦИОННОЙ ПАТОЛОГИИ ТОЛСТОЙ КИШКИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: учреждение образования
«Белорусский государственный медицинский университет»;
государственное научное учреждение «Институт генетики и цитологии
Национальной академии наук Беларуси»

АВТОРЫ: Л.И. Кастюкевич, д-р мед. наук, проф. О.Н. Романова, д-р мед.
наук, проф. Л.Э. Макарина-Кибак, к.м.н., доцент Р.Н. Манкевич, к.б.н.,
доцент Е.П. Михаленко, О.М. Малышева, д.б.н., профессор, академик
Национальной академии наук Беларуси А.В. Кильчевский

Минск, 2025

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод дифференциальной диагностики инфекционной патологии толстой кишки. Инструкция предназначена для врачей-лабораторной диагностики, врачей-инфекционистов, врачей-педиатров и иных врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих медицинскую помощь пациентам в стационарных условиях.

1 Показания к применению

К50-К52 Неинфекционный энтерит и колит

К50 Болезнь Крона

К51 Язвенный колит

К52 Другие неинфекционные гастроэнтериты и колиты

2 Противопоказания к применению

Не имеет.

3 Перечень изделий медицинского назначения, реактивов, расходных материалов

3.1 Изделия медицинской техники:

ламинарное укрытие с бактерицидной лампой;

термоциклер с оптическим модулем для проведения ПЦР в режиме реального времени;

компьютер с программным обеспечением для управления прибором ПЦР в режиме реального времени, для биоинформатического анализа и хранения данных;

высокопроизводительный секвенатор;

спектрофотометр для измерения концентрации и определения качества нуклеиновых кислот;

флуориметр для измерения концентрации двуцепочечной ДНК;

термостат на +37 °С;

холодильник-морозильник, поддерживающий диапазон температур в режиме холодильника +4...+8 °С, в режиме морозильника минус 18... минус 20 °С;

центрифуга-вортекс;

центрифуга высокоскоростная (с ротором для пробирок типа «эппендорф», 20 000 g).

3.2 Изделия медицинского назначения:

дозаторы автоматические переменного объема: 2-20, 20-200, 200-1000 мкл;

одноразовые наконечники для автоматических дозаторов с аэрозольным барьером в штативах, стерильные, с маркировкой «RNAse, DNase free», объемом до 10, 100, 200, 1000 мкл;

одноразовая пластиковая посуда (стерильные пробирки типа «эппендорф» объемом 1,5 мл; ПЦР-пробирки / стрипы / планшеты объемом 0,2 мл с маркировкой «RNAse, DNase free»);

штативы для микропробирок и автоматических пипеток;

магнитный штатив для пробирок объемом 0,2 мл

стерильная емкость/флакон с плотно закручивающейся крышкой для сбора биологического материала;

набор для выделения ДНК из образцов биологического материала человека;

набор реагентов для измерения концентрации двуцепочечной ДНК, совместимый с используемым флуориметром;

набор магнитных частиц для очистки ДНК;

мультиплексная ПЦР тест-система для обнаружения ДНК патогенных бактерий рода *Shigella*, рода *Salmonella*, рода *Clostridium*, рода *Streptococcus* энтероинвазивных *E.coli*, термофильных кампилобактерий в

реальном времени или ПЦР тест-системы, позволяющие выявлять каждый из возбудителей в отдельности;

мультиплексная ПЦР тест-система для обнаружения ДНК бактерий рода *Bacteroides*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Veillonella parvula* в реальном времени или ПЦР тест-системы, позволяющие выявлять каждый вид бактерий в отдельности;

Праймеры, фланкированные универсальными адаптерами для высокопроизводительного секвенирования для определения V3-V4 регион гена 16S рРНК:

прямой праймер с адаптером (F) –
TCGTCCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCW
GCAG,

обратный праймер с адаптером (R) –
GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGT
ATСТААТСС;

набор реагентов для высокопроизводительного секвенирования V3-V4 регион гена 16S рРНК согласно рекомендациям к использованию высокопроизводительного секвенатора;

высокоточная смесь для амплификации фрагментов ДНК при проведении высокопроизводительного секвенирования;

этиловый спирт 80%;

деионизированная вода.

4 Описание технологии применения метода

Метод, изложенный в настоящей инструкции, реализуется поэтапно.

Этапы

4.1 Получение и транспортировка биологического материала

Биологическим материалом являются образцы биопсийного материала слизистой оболочки восходящего отдела толстой кишки.

4.1.1. Промаркировать стерильный флакон для сбора образца.

4.1.2. Внести в стерильную пробирку 0,1 мл физиологического раствора. Пробирку закрыть.

4.1.3 Осуществить забор материала с помощью специальных стерильных инструментов согласно установленной процедуре.

4.1.4 Поместить кусочки ткани диаметром не более 5 мм в одноразовую стерильную пробирку, содержащую физиологический раствор. Пробирку плотно закрыть.

4.1.5 Приготовить сопроводительный документ, содержащий шифр на пробирке, № истории болезни, дату забора, предварительный диагноз

4.1.6 Хранить образец в холодильнике при температуре +4...+8 °С не более 48 часов до момента исследования в лаборатории.

4.2 Исследование состава микробиоты в биопсийном материале толстой кишки.

4.2.1 Выделение ДНК

Для выделения ДНК из биологических образцов используют представленные в «Государственном реестре медицинской техники и изделий медицинского назначения Республики Беларусь» наборы, предназначенные для выделения нуклеиновых кислот из биологического материала, в соответствии с прилагаемой инструкцией. Выделенные образцы ДНК в течение месяца хранят при минус 20 °С.

4.2.2 Пробоподготовка образцов ДНК для исследования состава микробиоты в биопсийном материале толстой кишки.

Пробоподготовка образцов ДНК и проведение ПЦР в режиме реального времени проводится согласно инструкции к набору реагентов используемой мультиплексной ПЦР тест-системы.

Пробоподготовка образцов ДНК и секвенирование проводится согласно инструкции к набору реагентов для высокопроизводительного секвенирования V3-V4 регион гена 16S рРНК микроорганизмов.

4.2.3 Определение бактерий

Наличие ДНК бактерий одного или нескольких видов бактерий, таких как *Faecalibacterium prausnitzii* (<5,57%), *Bacteroides ovatus* (<0,089%), *Bacteroides thetaiotaomicron* (<0,156%), *Bacteroides uniformis* (<0,41%), *Veillonella parvula* (>0,068%) в образце из биопсийного материала толстой кишки свидетельствует о воспалительном заболевании кишечника.

Определение энтеропатогенов в образце из биопсийного материала толстой кишки в соответствии с приложением 1 к настоящей инструкции.

5 Принятие управленческого решения

Наличие ДНК бактерий в относительном количестве менее референсного значения для *Faecalibacterium prausnitzii* (<5,57%), *Bacteroides ovatus* (<0,089%), *Bacteroides thetaiotaomicron* (<0,156%), *Bacteroides uniformis* (<0,41%), свидетельствует о воспалительном заболевании кишечника (МКБ-10: К50 Болезнь Крона, К51 Язвенный колит).

Наличие ДНК бактерий *Veillonella parvula* в относительном количестве более референсного значения (>0,068%) свидетельствует о воспалительном заболевании кишечника (МКБ-10: К50 Болезнь Крона, К51 Язвенный колит).

Наличие ДНК бактерий (патогенных, условно-патогенных) свидетельствует о инфекционном колите (МКБ-10: А04 Другие бактериальные кишечные инфекции).

При инфекционном колите оказание медицинской помощи осуществляется согласно клиническому протоколу диагностики и лечения пациентов с инфекционными заболеваниями.

При воспалительном заболевании кишечника осуществляются мероприятия в соответствии с заболеванием (МКБ-10: K50 Болезнь Крона; K51 Язвенный колит).

Возможные ошибки и пути их устранения

При использовании коммерческих наборов реагентов необходимо четко соблюдать рекомендации производителя, изложенные в инструкции.

Не использовать наборы с истекшим сроком годности.

Приложение 1

Перечень для определения ДНК патогенных и условно-патогенных бактерий в биопсийном материале толстой кишки

1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	44	<i>Escherichia coli</i>
2	<i>Aerococcus viridans</i>	45	<i>Mycobacterium avium paratuberculosis</i>
3	<i>Aeromonas hydrophila</i>	46	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
4	<i>Aeromonas salmonicida</i>	47	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
5	<i>Aeromonas sobria</i>	48	<i>Neisseria lactamica</i>
6	<i>Aeromonas veronii</i>	49	<i>Neisseria meningitidis</i>
7	<i>Bacillus cereus</i>	50	<i>Neisseria polysaccharea</i>
8	<i>Bacteroides burgdorferi</i>	51	<i>Flavobacterium sychrophilum</i>
9	<i>Bacteroides fragilis</i>	52	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
10	<i>Bacteroides vulgatus</i>	53	<i>Fusobacterium varium</i>
11	<i>Burkholderia cepacia complex</i>	54	<i>Helicobacter spp.</i>
12	<i>Campylobacter concisus</i>	55	<i>Klebsiella oxytoca</i>
13	<i>Campylobacter jejuni</i>	56	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
14	<i>Candida auris</i>	57	<i>Kluyvera intermedia</i>
15	<i>Citrobacter freundii</i>	58	<i>Kosakonia oryzendophytica</i>
16	<i>Citrobacter rodentium</i>	59	<i>Kosakonia oryziphila</i>
17	<i>Clostridioides difficile</i>	60	<i>Legionella pneumophila</i>
18	<i>Clostridium botulinum</i>	61	<i>Listeria innocua</i>
19	<i>Clostridium perfringens</i>	62	<i>Listeria monocytogenes</i>
20	<i>Corynebacterium striatum</i>	63	<i>Mannheimia haemolytica</i>
21	<i>Cronobacter</i>	64	<i>Morganella morganii</i>
22	<i>Edwardsiella ictaluri</i>	65	<i>Pasteurella multocida</i>
23	<i>Edwardsiella piscicida</i>	66	<i>Photobacterium damsela</i>
24	<i>Edwardsiella tarda</i>	67	<i>Phytobacter massiliensis</i>
25	<i>Elizabethkingia anophelis</i>	68	<i>Pluralibacter gergoviae</i>
26	<i>Enterobacter asburiae</i>	69	<i>Proteus mirabilis</i>
27	<i>Enterobacter bugandensis</i>	70	<i>Providencia alcalifaciens</i>
28	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	71	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
29	<i>Enterobacter chengduensis</i>	72	<i>Pseudomonas putida</i>
30	<i>Enterobacter chuandaensis</i>	73	<i>Ruminococcus gnavus</i>
31	<i>Enterobacter cloaca</i>	74	<i>Salmonella enterica</i>
32	<i>Enterobacter cloacae</i>	75	<i>Serratia marcescens</i>
33	<i>Enterobacter hormaechei</i>	76	<i>Shewanella algae</i>
34	<i>Enterobacter kobei</i>	77	<i>Staphylococcus aureus</i>
35	<i>Enterobacter ludwigii</i>	78	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>
36	<i>Enterobacter mori</i>	79	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
37	<i>Enterobacter oligotrophicus</i>	80	<i>Streptococcus agalactiae</i>
38	<i>Enterobacter roggkampii</i>	81	<i>Streptococcus equi</i>
39	<i>Enterobacter sichuanensis</i>	82	<i>Streptococcus fecalis</i>
40	<i>Enterobacter soli</i>	83	<i>Streptococcus iniae</i>
41	<i>Enterococcus faecalis</i>	84	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
42	<i>Enterococcus faecium</i>	85	<i>Streptococcus pyogenes</i>
43	<i>Escherichia albertii</i>	86	<i>Streptococcus suis</i>