

Утверждаю
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты
прав потребителей
и благополучия человека,
Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации
Г.Г.ОНИЩЕНКО
25 мая 2011 г.

Дата введения: 1 июня 2011 г.

**4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ.
БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**ПОРЯДОК
ОРГАНИЗАЦИИ И ПРОВЕДЕНИЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ
ДЛЯ ЛАБОРАТОРИЙ ТЕРРИТОРИАЛЬНОГО, РЕГИОНАЛЬНОГО
И ФЕДЕРАЛЬНОГО УРОВНЕЙ**

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
МУК 4.2.2870-11**

1. Разработаны Федеральным казенным учреждением здравоохранения "Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт" Роспотребнадзора (Ю.М. Ломов, Э.А. Москвитина, Н.Р. Телесманич, В.Д. Кругликов, И.Я. Черепяхина, В.В. Балахнова, И.В. Архангельская); Федеральным казенным учреждением здравоохранения "Российский научно-исследовательский противочумный институт "Микроб" Роспотребнадзора (В.В. Кутырев, Е.С. Казакова, И.Н. Шарова, Н.А. Осина, С.А. Щербакова, Н.И. Смирнова); Федеральным казенным учреждением здравоохранения "Иркутский научно-исследовательский противочумный институт" Роспотребнадзора (С.В. Балахонов, Л.Я. Урбанович, Л.В. Миронова, Е.С. Куликалова, А.С. Кожевникова); Федеральным казенным учреждением здравоохранения "Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт" Роспотребнадзора (В.Н. Савельев); Федеральным казенным учреждением здравоохранения "Противочумный центр" Роспотребнадзора (В.Е. Безсмертный, С.М. Иванова); Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения "Федеральный центр гигиены и эпидемиологии" Роспотребнадзора (В.Г. Сенникова, М.В. Зароченцев, В.В. Мордвинова); Федеральным государственным учреждением науки Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора (И.А. Дятлов, С.Ф. Бикетов, Е.И. Баранова, М.В. Храмов, Е.А. Тюрин); Федеральным государственным бюджетным учреждением "ГИСК им. Л.А. Тарасевича" Минздравсоцразвития (И.В. Борисевич, Л.В. Саяпина).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г. Онищенко 25 мая 2011 г. и введены в действие с 1 июня 2011 г.

3. Введены впервые.

1. Область применения

1.1. Настоящие методические указания определяют порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней, формы и методы их взаимодействия, номенклатуру и объем исследования, требования к лабораториям, специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований, материально-техническому обеспечению исследований, биологической безопасности проведения работ.

1.2. Настоящие методические указания предназначены для специалистов органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор в Российской Федерации, специалистов противочумных учреждений, органов управления здравоохранением и лечебно-профилактических учреждений.

2. Нормативные ссылки

2.1. Федеральный закон от 30.03.1999 N 52-ФЗ "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения".

2.2. Постановление Правительства Российской Федерации от 29.10.2007 N 720 "О внесении изменений в п. 5 Положения о лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний, утвержденного Постановлением Правительства Российской Федерации от 22.01.2007 N 31".

2.3. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 24.02.2009 N 11 "О представлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера" (зарегистрировано в Минюсте РФ 10.04.2009 N 13745).

2.4. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 07.07.2009 N 415н "Об утверждении квалификационных требований к специалистам с высшим и послевузовским медицинским и фармацевтическим образованием в сфере здравоохранения" (зарегистрирован в Минюсте РФ 09.07.2009 N 14292).

2.5. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 17.03.2008 N 88 "О мерах по совершенствованию мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней".

2.6. Санитарные правила "Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности". СП 1.2.036-95 (утв. Постановлением Госкомсанэпиднадзора РФ от 28.08.1995 N 14).

2.7. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы "Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами". СанПиН 2.1.7.2790-10 (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 09.12.2010 N 163. Зарегистрировано в Минюсте РФ 17.02.2011 N 19871).

2.8. Санитарно-эпидемиологические правила "Безопасность работы с микроорганизмами I - II групп патогенности (опасности)". СП 1.3.1285-03 (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 15.04.2003 N 42 "О введении в действие санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.1285-03". Зарегистрировано в Минюсте РФ 10.05.2003 N 4545).

2.9. Санитарно-эпидемиологические правила "Порядок выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I - IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами". СП 1.3.1318-03 (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 30.04.2003 N 85 "О введении в действие санитарно-эпидемиологических правил СП 1.2.1318-03". Зарегистрировано в Минюсте РФ 19.05.2003 N 4558).

2.10. Санитарно-эпидемиологические правила "Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней". СП 1.3.2322-08 (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2008 N 4 "Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322-08". Зарегистрировано в Минюсте РФ 21.02.2008 N 11197).

2.11. Санитарно-эпидемиологические правила "Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней". Дополнения и изменения N 1 к СП 1.3.2322-08". СП 1.3.2518-09 (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 02.06.2009 N 42. Зарегистрировано в Минюсте РФ 08.07.2009 N 14280).

2.12. Санитарно-эпидемиологические правила "Санитарная охрана территории Российской Федерации". СП 3.4.2318-08 (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 22.01.2008 N 3 "Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.4.2318-08". Зарегистрировано в Минюсте РФ 03.04.2008 N 11459).

2.13. Санитарно-эпидемиологические правила "Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой на территории Российской Федерации". СП 3.1.1.2521-09 (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 09.06.2009 N 43 "Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.1.1.2521-09". Зарегистрировано в Минюсте РФ 09.07.2009 N 14285).

2.14. Методические указания "Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I - IV групп патогенности": МУ 1.3.2569-09.

2.15. Методические указания "Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии": МУ 3.3.2.2124-06.

2.16. Методические указания "Лабораторная диагностика холеры": МУК 4.2.2218-07.

2.17. Методические указания "Профилактика холеры. Организационные мероприятия. Оценка противоэпидемической готовности медицинских учреждений к проведению мероприятий на случай возникновения очага холеры": МУ 3.1.1.2232-07.

2.18. Методические указания "Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чумы, сибирской язвы, холеры, туляремии, бруцеллеза, сапа и мелиоидоза) к антибактериальным препаратам": МУК 4.2.2495-09.

2.19. Методические указания "Методы контроля бактериологических питательных сред": МУК 4.2.2316-08.

2.20. Методические указания "Серологические методы в диагностике холеры": МУК 4.2.2315-08. Дополнения к МУК 4.2.2218-07 "Лабораторная диагностика холеры".

3. Перечень сокращений

АБП - антибактериальные препараты
ИФА - иммуноферментный анализ
ЛПУ - лечебно-профилактическое учреждение
МУ - методические указания
МУК - методические указания по контролю
МФА - метод флуоресцирующих антител
ООИ - особо опасные инфекции
ПБА - патогенный биологический агент
ПЦР - полимеразная цепная реакция
ПЧС - противочумная станция
РАО - реакция агломерации объемная
РА - реакция агглютинации
РИВ - реакция иммобилизации вибрионов
РВА - реакция вибриоцидных антител
СанПиН - санитарные правила и нормативы
СП - санитарные правила
ИХ-тест - иммунохроматографический тест

4. Общие положения

Характеристика болезни и возбудителя холеры

Холера - особо опасная инфекционная болезнь с диарейным синдромом, фекально-оральным механизмом передачи возбудителя инфекции, водным, пищевым и контактным путями распространения.

Возбудитель холеры - холерный вибрион относится к семейству *Vibrionaceae*, роду *Vibrio* и виду *Vibrio cholerae*.

К виду *Vibrio cholerae* отнесены граммотрицательные, аспорогенные, полиморфные, слегка изогнутые или прямые палочки длиной 1,5 - 3,0 мкм и шириной 0,2 - 0,6 мкм, с одним полярно расположенным жгутиком, который длиннее тела клетки в 2 - 3 раза.

Холерные вибрионы быстро размножаются в 1%-й пептонной воде, образуя через 6 - 8 ч на поверхности среды нежную пленку. Через 24 ч роста пленка становится грубой, среда слабо мутнеет. На поверхности плотного питательного агара (щелочной агар, pH 8,0) через 18 - 24 ч инкубации рост холерных вибрионов проявляется в формировании крупных (2 - 3 мм), гладких, прозрачных колоний с ровным краем, которые легко эмульгируются в физиологическом растворе. В косо проходящем свете они отсвечивают голубоватым цветом. На элективной среде TCBS на зеленом фоне среды колонии вибрионов круглые, гладкие с ровным краем, плоские, желтого цвета. При более длительной инкубации желтый цвет колоний часто переходит в зеленый цвет.

Холерные вибрионы образуют индофенолоксидазу - тест дифференциации от представителей семейства *Enterobacteriaceae*, ферментируют глюкозу в аэробных и анаэробных условиях до кислоты без газа - тест дифференциации от представителей родов *Pseudomonadaceae*, декарбоксилируют лизин и орнитин, но не дигидролизуют аргинин - тесты дифференциации от представителей других семейств (*Aeromonas* spp., *Plesiomonas* spp., *Enhydrobacter* spp., *Photobacterium* spp.) и отдельных видов рода *Vibrio*.

Помимо этого, холерные вибрионы расщепляют до кислоты без газа сахарозу, маннозу, крахмал, маннит, не расщепляют арабинозу, салицин, дульцит, инозит. В отдельных случаях ферментацию маннозы холерными вибрионами возможно определить только в анаэробных условиях. Холерные вибрионы восстанавливают нитраты в нитриты, образуют индол, разжижают желатину, продуцируют нейраминидазу, лецитиназу, триглицероллипазу.

V. cholerae по наличию специфического О-антигена распределяются на серологические группы. В настоящее время известно 206 серологических О групп холерных вибрионов. Возбудителями холеры являются холерные вибрионы О1 и О139 серологических групп. Холерные вибрионы других не О1/не О139 серологических групп могут вызывать спорадические или групповые случаи диарей, не склонные к эпидемическому распространению.

Холерные вибрионы O1 серогруппы по различиям в полисахаридном компоненте О-антигена делятся на три серовара: Огава, Инаба и Гикошима. Серовар Гикошима не стабилен и реверсирует в один из основных сероваров, преимущественно - Огава. Известен R-антиген холерных вибрионов, описаны штаммы, агглютинирующие RO сывороткой и не агглютинирующие сыворотками O1, Огава или Инаба.

У холерных вибрионов имеется общий жгутиковый H-антиген.

Холерные вибрионы в пределах O1 серогруппы делятся на два биовара: классический и эльтор, имеющие существенные фенотипические и генетические отличия. Деление на биовары основывается на чувствительности к холерным диагностическим бактериофагам - классическому и эльтор, чувствительности к 50 ед./мл полимиксина В, агглютинации куриных эритроцитов, образовании ацетилметилкарбинола в реакции Фогес-Проскауэра.

Холерные вибрионы являются носителями умеренных фагов с низкой литической активностью. Известны фаги, активные в отношении холерных вибрионов O1 и не O1, включая O139 серологическую группу, а также с более узким спектром литического действия, в пределах отдельных групп штаммов, например ctx^+ и ctx^- холерных вибрионов.

Одним из основных факторов вирулентности (и эпидемической значимости) холерных вибрионов, определяющих тяжесть клинической картины при холере, является холерный энтеротоксин или СТ (от англ. - cholera toxin), синтез которого контролируется кластером генов $ctxAB$.

Описан ряд дополнительных токсинов: Zot и Ace токсины, цитотоксический комплекс RTX, цитототонический фактор Cef, термостабильный токсин ST, NMDCY токсин, шигаподобный токсин Slf, WO7 токсин, cholix toxin. Не менее важным фактором вирулентности холерных вибрионов являются токсин-корегулируемые пили адгезии или TCP (от англ. - toxin-coregulated pilus) - ключевой фактор колонизации. За синтез пилей TCP отвечают гены $tcpA-F$, среди них ген $tcpA$ - за биосинтез основной субъединицы пилей.

Нетоксигенные штаммы холерных вибрионов обладают гемолитической активностью, которая включает активность нескольких компонентов: рициноподобного галактозоспецифичного лектина ($hlyA$) и комплекса ферментов гидролаз, ведущим из которых является липаза ($lipA$). Гемолитическая активность является ведущим фактором патогенности у штаммов возбудителей холеры O1 и O139 серогрупп, не имеющих ген холерного токсина. Такие штаммы могут вызывать спорадические случаи диареи различной степени тяжести, но не склонны к широкому распространению. Способность к гемолизу эритроцитов барана в тесте Грейга, коррелирующая с липазной активностью, является визуализированным тестом, свидетельствующим о том, что штамм не может вызывать тяжелую клиническую картину холеры и не способен к широкому эпидемическому распространению.

Понятие эпидемической значимости базируется на определении комплекса показателей:

- прямые - выявление гена холерного токсина в ПЦР и определение активности его продукции на кроликах-сосунках;

- косвенные - отсутствие гемолитической, липазной активности, поздняя ферментация маннита, высокая адгезивная активность *in vitro* (на модели эритроцитов).

Холерные вибрионы имеют две хромосомы: первую (или большую размером 2 960 т.п.н.) и вторую (или малую размером 1 070 т.п.н.). На большой хромосоме *V. cholerae* расположены гены патогенности: $ctxAB$, кодирующий биосинтез СТ, гены, определяющие продукцию дополнительных холерных токсинов, гены $tcpA-F$, кодирующие продукцию TCP, а также гены, необходимые для репликации, транскрипции, репарации ДНК, биосинтеза клеточной стенки и О-антигена. Биосинтез O1 антигена определяет кластер генов, обозначенный как wbe . Продукция O139 антигена кодируется кластером генов, также локализованном на большой хромосоме и имеющим обозначение wbf . Выявление с помощью ПЦР генов wbe и wbf , специфичных для холерных вибрионов O1 и O139 серологических групп, позволяет определить серогруппу возбудителя холеры. На малой хромосоме, помимо генов с неустановленной функцией, локализованы структурные гены $hlyA$, отвечающие за синтез термолабильного гемолизина, а также остров интегров, содержащий гены, кодирующие антибиотикоустойчивость, и участвующий в приобретении новых генов. Следует отметить, что ген $hlyA$ присутствует в хромосоме всех штаммов *V. cholerae*, как способных к биосинтезу термолабильного гемолизина, так и не продуцирующих этот белок. Однако в гене $hlyA$ холерных вибрионов классического биовара, в отличие от такового *V. cholerae* эльтор, имеется делеция протяженностью 11 п.н., вследствие чего продукция гемолизина вибрионами этого биовара невозможна.

Штаммы холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, содержащие гены $ctxAB$ и $tcpA-F$, вызывают холеру и являются эпидзначимыми. Эти штаммы не лизируют эритроциты барана в пробе Грейга. Эпидемически не значимые штаммы холерных вибрионов, не содержащие генов $ctxAB$ и $tcpA-F$, лизируют эритроциты барана в пробе Грейга. Нетоксигенные (не содержащие гена холерного токсина) $ctxAB$ варианты холерных вибрионов O1, также как и других серогрупп могут

вызывать спорадические (единичные) или групповые (при общем источнике инфицирования) заболевания, не склонные к эпидемическому распространению.

Известна изменчивость холерных вибрионов по морфологии колоний и клеток, по образованию некультивируемых и Л-форм, по агглютинабельности диагностическими О, Инаба и Огава сыворотками (вплоть до полной утраты) и агглютинабельности RO сывороткой. Нередко сочетается изменчивость по культурально-морфологическим признакам, агглютинабельности холерными сыворотками и чувствительности к фагам.

Холерные вибрионы О1 и О139 серогрупп, как правило, чувствительны к набору антибактериальных препаратов. Однако широкое применение антибактериальных препаратов в очагах холеры способствовало увеличению резистентности холерных вибрионов к ним.

При проведении лабораторной диагностики холеры регламентируется использование зарегистрированных диагностических препаратов и тест-систем в соответствии с прилож. 4, позволяющих выявлять определенные фено- и генотипические признаки холерных вибрионов.

5. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий территориального уровня

5.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий лечебно-профилактических учреждений

5.1.1. Требования к бактериологическим лабораториям лечебно-профилактических учреждений, осуществляющим диагностические исследования на холеру

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Лечебно-профилактические учреждения, лаборатории которых осуществляют диагностические исследования на холеру, должны иметь лицензию на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III - IV групп патогенности (опасности).

Лаборатории ЛПУ должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими санитарными правилами о порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I - IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами.

Учет, хранение, передача и транспортирование выделенных культур холерных вибрионов (подозрительных) должны осуществляться в соответствии с действующими нормативными документами о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по сбору, хранению и удалению отходов лечебно-профилактических учреждений.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных и распорядительных документов.

Требования к специалистам и вспомогательному персоналу, участвующим в выполнении исследований на холеру

Исследования на холеру могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, окончившие соответствующие курсы по специальности "Бактериология", имеющие допуск к работе с ПБА III - IV групп на основании приказа руководителя учреждения.

Специалисты должны повышать квалификацию не реже одного раза в пять лет и иметь сертификат специалиста.

Инженерно-технический персонал, дезинфекторы и санитарки проходят специальную подготовку по месту работы в соответствии с должностными обязанностями.

Необходимый уровень подготовки специалистов с высшим медицинским (биологическим) образованием и средним медицинским образованием, повышение их квалификации по лабораторной диагностике холеры представлен в прилож. 1.

Требования к знаниям и умениям специалистов ЛПУ, выполняющих бактериологические исследования на холеру, приведены в прилож. 2.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая бактериологическая лаборатория должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники должны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней III - IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими нормативными документами.

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на холеру в лабораториях ЛПУ включает:

- контроль качества питательных сред, диагностических препаратов, дистиллированной воды, химических реактивов и дезинфицирующих средств;
- своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
- контроль качества стерилизации лабораторной посуды;
- контроль работы паровых и суховоздушных стерилизаторов;
- контроль работы бактерицидных ламп;
- контроль температурного режима работы холодильников и термостатов;
- проверка состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;
- проверка санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на холеру

Для проведения диагностических исследований на холеру в лабораториях ЛПУ должны быть в наличии:

- питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 3, 8);
- диагностические препараты, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 4, 8);
- химические реактивы (прилож. 5);
- приборы, оборудование, расходные материалы (прилож. 6).

5.1.2. Номенклатура и объем исследований

В лабораториях ЛПУ проводят диагностические исследования материала от лиц, подлежащих обследованию на холеру при проведении эпидемиологического надзора в соответствии с требованиями действующих санитарных правил по профилактике холеры, в периоды обследования дифференцированно для территорий, различных по типам эпидемических проявлений холеры.

В лабораториях ЛПУ проводят диагностические исследования материала в следующем объеме:

- 1) посев на среды накопления и дифференциально-диагностические, выделение культуры, подозрительной на холерный вибрион по морфологическим признакам;
- 2) идентификация культуры, подозрительной на холерный вибрион, по следующим тестам:
 - ферментация на полиуглеводной среде;
 - определение индофенолоксидазы;
 - микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
 - слайд-агглютинация с холерными диагностическими сыворотками;
- 3) экспресс и ускоренная диагностика: методы МФА и РИВ (при исследовании материала с подозрением на холеру).

5.1.3. Порядок лабораторной диагностики холеры в лабораториях лечебно-профилактических учреждений

Отбор и транспортировка проб клинического материала

При проведении бактериологического анализа на холеру исследуется клинический материал: испражнения, рвотные массы, желчь и секционный материал от умерших, причиной смерти которых явились кишечные инфекции неустановленной этиологии.

Отбор, упаковка и транспортирование проб клинического материала для исследования осуществляются в соответствии с действующими методическими указаниями по лабораторной диагностике холеры.

Материал от больных забирает медицинский персонал ЛПУ немедленно при выявлении больного, до начала лечения антибиотиками. Кратность отбора проб - в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими правилами по эпидемиологическому надзору за холерой.

В зависимости от времени забора материала и времени работы лаборатории пробы на исследование отбирают в соответствии со следующей схемой:

1. При круглосуточном режиме работы лаборатории материал забирают в нативном виде, в 5 - 10 мл 1%-й пептонной воды pH 8,4 ± 0,1 (транспортная среда) или в 50 мл 1%-й пептонной воды pH 8,4 ± 0,1 (1-я среда накопления).

2. При односменной работе лаборатории:

а) при взятии материала в 6.00 - 10.00 ч утра и доставке в бактериологическую лабораторию до 10 ч утра материал забирают в 5 - 10 мл 1%-й пептонной воды (транспортная среда) или в 50 мл 1%-й пептонной воды (1-я среда накопления);

б) при взятии материала после 10 ч утра и доставке в течение рабочего дня лаборатории материал забирают в 5 - 10 мл 1%-й пептонной воды (транспортная среда);

в) при взятии материала по окончании рабочего дня лаборатории и доставке в лабораторию до 10 ч утра следующего рабочего дня материал забирают в 5 - 10 мл 1%-й пептонной воды (транспортная среда);

г) при взятии материала в выходные дни лаборатории и доставке материала до 10 ч утра следующего рабочего дня материал забирают в 50 мл 1%-й пептонной воды с теллуридом калия (транспортная среда).

Флаконы и пробирки с 1%-й пептонной водой должны быть этикетированы с указанием названия среды и даты ее изготовления. При этом 1%-я пептонная вода хранится при температуре не выше (10 ± 0,2) °C.

От больных тяжелой формой материал направляют в лабораторию нативным и в 1%-й пептонной воде. В транспортную среду вносят 1 - 2 мл или 1 - 2 г материала на 5 - 6 мл среды.

Обильные водянистые испражнения и рвотные массы в количестве 10 - 20 мл отбирают из индивидуального судна в стерильные контейнеры объемом 60 - 100 мл стерильными ложками или автоматической пипеткой переменного объема.

У больных легкими формами - 1 - 2 г испражнений собирают в стерильный контейнер объемом 60 - 100 мл или петлю (зонд) ректальную стерильную смачивают стерильным физиологическим раствором и вводят в прямую кишку на глубину 5 - 6 см. Материал помещают в пробирку с транспортной средой.

Желчь берут при дуоденальном зондировании в лечебном учреждении. В отдельные полимерные контейнеры объемом 60 мл собирают две порции: из желчного пузыря и желчных протоков (В и С). Материал доставляют нативным.

Пробы маркируют, обрабатывают снаружи дезинфицирующим раствором, упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой-молнией, заполняют бланк-направление и помещают в контейнер (кейс) для транспортировки биологического материала на исследование.

При необходимости пробы сохраняют при комнатной температуре (24,0 ± 1,0 °C) в биксе, ящике, шкафу в специально выделенной комнате, закрывающейся на замок.

Исследование клинического материала

Профилактические исследования клинического материала на холеру проводят в течение рабочего дня, диагностические исследования материала от больного с подозрением на холеру, а также в случае выделения культуры, подозрительной на холерный вибрион - в условиях круглосуточного режима работы лаборатории с включением экспресс и ускоренных методов диагностики. При исследовании материала от больных холерой (подозрительных) среды накопления с ингибиторами не используются.

Методы исследования клинического материала на холеру в лабораториях ЛПУ: бактериологический и ускоренные (слайд-агглютинация, РИВ и МФА).

Все изолированные от людей культуры, подозрительные на холерные вибрионы, независимо от результатов слайд-агглютинации холерными сыворотками, передаются для дальнейшей идентификации в установленном порядке.

1. Исследование клинического материала на холеру при круглосуточном режиме работы лаборатории

I этап исследования

Посев нативного материала (испражнения, рвотные массы и др.) и материала, доставленного в транспортной среде, в первую жидкую среду накопления (1%-ю пептонную воду) и на плотные питательные среды: щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

Материал, доставленный в 5 мл 1%-й пептонной воды, полностью засевают в 50 мл среды накопления.

При доставке материала в 50 мл 1%-й пептонной воды не позже 2 ч после забора пробу помещают в термостат на 6 ч (первая среда накопления). При доставке в более поздние сроки 5 мл материала засевают в 50 мл 1%-й пептонной воды.

Материал от лиц, принимавших антибиотики, активные по отношению к возбудителю холеры, засевают в большой объем жидкой накопительной среды (200 - 300 мл) и на 2 чашки щелочного агара. Посевы инкубируют при 37 °С в течение 24 ч, производя высев через каждые 8 - 10 ч на пластинки щелочного агара. Вторую среду накопления при этом не используют.

Постановка ускоренных методов исследования с нативным материалом: МФА и РИВ.

При получении положительного результата в двух методах выдают устный предварительный положительный ответ по предусмотренной в учреждении схеме, в соответствии с действующими методическими указаниями по лабораторной диагностике холеры.

II этап исследования

(через 6 - 8 ч от начала исследования)

Высев с первой среды накопления на щелочной агар, элективную среду и во вторую среду накопления (1%-ю пептонную воду).

Постановка ускоренных методов исследования с материалом из I среды накопления при отрицательных результатах в МФА и РИВ на I этапе исследования.

Выдача устного предварительного положительного ответа при положительном результате в двух методах по предусмотренной схеме.

III этап исследования

(через 12 - 16 ч от начала исследования)

Высев из второй среды накопления на щелочной агар.

Просмотр посевов на щелочном агаре, засеянных на I этапе исследования, в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа.

Производят отбор подозрительных колоний на полиуглеводную среду и щелочной или другой питательный агар для накопления культур.

При наличии достаточного количества подозрительных колоний ставят следующие тесты:

- определение индофенолоксидазы;
- микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
- слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO, при отрицательном результате - с сывороткой O139 серогруппы;
- постановка МФА, РИВ.

Выдача устного предварительного положительного ответа при положительном результате в двух методах (наличие индофенолоксидазы, положительный результат слайд-агглютинации, МФА или РИВ) по предусмотренной схеме.

IV этап исследования

(через 18 - 24 ч от начала исследования)

Просмотр посевов на щелочном агаре и на элективной среде, сделанных на I - II этапах исследования в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа.

Отбор колоний, подозрительных на колонии холерных вибрионов, постановка тестов, предусмотренных на III этапе исследования.

Отсев подозрительных на холерные вибрионы колоний на одну из полиуглеводных сред и щелочной агар для накопления культуры.

Выдача устного предварительного положительного ответа об обнаружении в исследуемом материале культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;

- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками;
- положительные результаты ускоренной диагностики методами МФА и РИВ.

V этап исследования
(через 24 - 36 ч от начала исследования)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре, постановка тестов, предусмотренных на III этапе исследования.

Выдача устного предварительного положительного ответа об обнаружении в исследуемом материале культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;
- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками;
- положительные результаты ускоренной диагностики методами МФА и РИВ.

Подготовка выделенной культуры к транспортированию.

Передача выделенной культуры для идентификации в установленном порядке.

2. Исследование клинического материала на холеру при односменной работе лаборатории

В течение рабочей недели для отбора проб используют 1%-ю пептонную воду без теллурита калия в объеме 5 - 10 мл (транспортная среда) или 50 мл (среда накопления).

В качестве 1-й или 2-й среды накопления используют 1%-ю пептонную воду (рН 8,4 ± 0,1) с теллуридом калия в конечной концентрации 1:100 000 - 1:200 000 в соответствии с результатами его контроля.

1-й вариант. Клинический материал поступил в лабораторию до 10 ч утра. Время взятия материала - 6.00 - 10.00 ч утра.

I этап исследования

а) материал доставлен в транспортной среде (5 - 10 мл 1%-й пептонной воды) или нативным (испражнения, рвотные массы и др.).

Посев материала в 50 мл 1%-й пептонной воды - 1-я среда накопления. Кроме того, нативный материал засевают на плотные питательные среды: щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

б) материал доставлен не позже 2 ч после забора в 50 мл 1%-й пептонной воды. Помещают в термостат на инкубацию как 1-ю среду накопления.

II этап исследования
через 6 ч (в течение 1-го рабочего дня)

Пересев с 1-й среды накопления во 2-ю среду накопления с теллуридом калия и высев на щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

III этап исследования
через 24 - 26 ч от начала исследования (в начале 2-го
рабочего дня)

Высев со 2-й среды накопления на щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

Просмотр посевов на щелочном агаре и элективной среде, засеянных на I и II этапах исследования, в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа.

Отсев колоний, подозрительных на колонии холерных вибрионов, на одну из полиуглеводных сред и щелочной агар для накопления культуры.

При достаточном количестве подозрительных на холерные вибрионы колонии изучают с использованием следующих тестов:

- определение индофенолоксидазы;
- микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
- слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO и O139 серогруппы.

Выдача устного предварительного положительного ответа об обнаружении в исследуемом материале культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;
- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками.

IV этап исследования
через 48 - 50 ч от начала исследования (в течение 3-го
рабочего дня)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре, постановка тестов, предусмотренных на III этапе исследования.

Просмотр посевов на щелочном агаре и элективной среде, сделанных на I - III этапах исследования, в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа.

Отбор со щелочного агара и элективной среды подозрительных на холерные вибрионы колоний на одну из полиуглеводных сред и щелочной агар для накопления культуры.

Подозрительные на холерные вибрионы колонии изучают с использованием следующих тестов:

- определение индофенолоксидазы;
- микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
- слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO и O139 серогруппы.

Выдача предварительного положительного ответа об обнаружении в исследуемом материале культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;
- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками.

V этап исследования
через 72 - 74 ч (в течение 4-го рабочего дня)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре и изучение их по тестам, указанным для IV этапа исследования.

Подготовка выделенной культуры к транспортированию. Передача выделенной культуры для дальнейшей идентификации в установленном порядке возможна на любом этапе.

2-й вариант. Клинический материал поступил после 10 ч утра, в течение рабочего дня лаборатории. Время взятия материала - 10.00 - до конца рабочего дня лаборатории.

Материал доставлен в транспортной среде (5 - 10 мл 1%-й пептонной воды).

I этап исследования
(в течение 1-го рабочего дня)

Посев 5 - 10 мл транспортной среды с материалом в 50 мл 1%-й пептонной воды с теллуридом калия - 1-я среда накопления и высев на щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

II этап исследования
через 24 - 26 ч от начала исследования (в начале 2-го
рабочего дня)

Высев с 1-й среды накопления во 2-ю среду накопления без теллурида калия, на щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

Просмотр в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа посевов на щелочном агаре и элективной среде, сделанных на I этапе исследования.

Отсев подозрительных на холерные вибрионы колоний на полиуглеводную среду и щелочной или другой питательный агар для накопления культуры.

Подозрительные на холерные вибрионы колонии изучают с использованием следующих тестов:

- определение индофенолоксидазы;
- микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
- слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO и O139 серогруппы.

Выдача предварительного положительного ответа об обнаружении в исследуемом материале культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы, на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;
- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками.

III этап исследования через 30 - 32 ч от начала исследования (в конце 2-го рабочего дня)

Высев через 6 ч инкубации со 2-й среды накопления на щелочной агар.

IV этап исследования через 48 - 50 ч от начала исследования (в течение 3-го рабочего дня)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре, постановка тестов, предусмотренных на II этапе исследования.

Просмотр в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа посевов на щелочном агаре и элективной среде, сделанных на II и III этапах исследования.

Отсев подозрительных на холерные вибрионы колоний на полиуглеводную среду и щелочной или другой питательный агар для накопления культуры.

Подозрительные на холерные вибрионы колонии изучают с использованием следующих тестов:

- определение индофенолоксидазы;
- микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
- слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO и O139 серогруппы.

Выдача устного предварительного положительного ответа об обнаружении в исследуемом материале культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы, на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;
- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками.

V этап исследования через 72 - 74 ч (в течение 4-го рабочего дня)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре.

Изучение по тестам, предусмотренным на IV этапе.

Подготовка выделенной культуры к транспортированию. Передача выделенной культуры для дальнейшей идентификации в установленном порядке возможна на любом этапе.

3-й вариант. Время взятия материала - по окончании рабочего дня лаборатории. Клинический материал доставлен в лабораторию до 10 ч утра следующего рабочего дня.

I этап исследования (1-й рабочий день)

Материал доставлен в транспортной среде (5 - 10 мл 1%-й пептонной воды без теллурита калия).

Посев материала в 50 мл 1%-й пептонной воды (1-я среда накопления), на щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

II этап исследования через 6 ч от начала исследования (в течение 1-го рабочего дня)

Пересев с 1-й среды накопления во 2-ю среду накопления (1%-я пептонная вода с теллуридом калия), высев на щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

III этап исследования
через 24 - 26 ч от начала исследования (в начале 2-го
рабочего дня)

Высев со 2-й среды накопления на щелочной агар.

Просмотр в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа посевов на щелочном агаре и элективной среде, засеянных на I и II этапах исследования.

Отсев подозрительных на холерные вибрионы колоний на полиуглеводную среду и на щелочной или другой питательный агар для накопления культуры.

Подозрительные на холерные вибрионы колонии изучают с использованием следующих тестов:

- микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
- определение индофенолоксидазы;
- слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO и O139 серогруппы.

При положительном результате в двух методах - выдача устного предварительного положительного ответа по предусмотренной схеме.

IV этап исследования
через 48 - 50 ч от начала исследования (в течение 3-го
рабочего дня)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре, постановка тестов, предусмотренных на III этапе исследования.

Просмотр в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа посевов на щелочном агаре и элективной среде.

Отсев на полиуглеводную среду и щелочной или другой питательный агар для накопления культуры, подозрительной на холерные вибрионы.

Определение индофенолоксидазы.

Микроскопия мазка, окрашенного по Граму.

Слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO и O139 серогруппы.

Выдача предварительного положительного ответа об обнаружении в исследуемом материале культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;
- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками.

V этап исследования
через 72 - 74 ч от начала исследования (в течение 4-го
рабочего дня)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре. Изучение культур по тестам предыдущего этапа.

Подготовка выделенной культуры к транспортированию.

Передача выделенной культуры для дальнейшей идентификации в установленном порядке возможна на любом этапе.

4-й вариант. Время взятия материала - выходные дни лаборатории. Клинический материал поступил до 10 ч утра следующего рабочего дня.

I этап исследования
(1-й рабочий день)

Материал доставлен в транспортной среде (50 мл 1%-й пептонной воды с теллуридом калия).

Посев 5 - 10 мл среды с материалом в 50 мл 1%-й пептонной воды - 1-я среда накопления.

II этап исследования
через 6 ч от начала исследования (в течение 1-го
рабочего дня)

Пересев с 1-й среды накопления во 2-ю среду накопления (1%-я пептонная вода с теллуридом калия), высев на щелочной агар и элективную среду типа TCBS.

III этап исследования
через 24 - 26 ч от начала исследования (в начале 2-го
рабочего дня)

Высев со 2-й среды накопления на щелочной агар.

Просмотр в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа посевов на щелочном агаре и элективной среде типа TCBS.

Отсев колоний, подозрительных на колонии холерного вибриона, на полиуглеводную среду и щелочной или другой питательный агар для накопления культуры.

При достаточном количестве подозрительных на холерные вибрионы колоний ставят тесты:

- определение индофенолоксидазы;

- микроскопия мазка, окрашенного по Грамму;

- слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO и O139 серогруппы.

Выдача устного предварительного положительного ответа по предусмотренной схеме.

IV этап исследования
через 48 - 50 ч от начала исследования (в течение 3-го
рабочего дня)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре, постановка тестов, предусмотренных на III этапе исследования.

Просмотр посевов в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа на щелочном агаре и на элективной среде, засеянных на II и III этапах исследования.

Отсев колоний, подозрительных на колонии холерного вибриона, на полиуглеводную среду и на щелочной или другой питательный агар для накопления культуры.

Определение индофенолоксидазы.

Микроскопия мазка, окрашенного по Граму.

Слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO и O139 серогруппы.

Выдача предварительного положительного ответа по предусмотренной схеме.

V этап исследования
через 72 - 74 ч от начала исследования (в течение 4-го
рабочего дня)

Отбор культур с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре.

Изучение культуры по тестам, предусмотренным на IV этапе.

Передача выделенной культуры для дальнейшей идентификации в установленном порядке возможна на любом этапе.

5.1.4. Оформление результатов исследования

Регистрация результатов анализа в лаборатории ЛПУ производится по учетным формам в соответствии с действующими МУК по лабораторной диагностике холеры. Выдача ответов для историй болезней - по унифицированным формам.

5.1.5. Порядок взаимодействия лечебно-профилактических учреждений с учреждениями Роспотребнадзора

Информация о выделенной в лаборатории ЛПУ культуре холерного вибриона передается в соответствии со схемой выдачи результатов исследований (прилож. 9).

Культуры холерных вибрионов направляют в лаборатории ООИ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте, при ее отсутствии в лаборатории Регионального центра по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности или Центра

индикации и диагностики опасных инфекционных болезней (территориальное противочумное учреждение). Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

5.2. Порядок организации и проведения лабораторной
диагностики холеры для филиалов ФБУЗ "Центр гигиены
и эпидемиологии" в муниципальном образовании (городе,
административном районе) в субъекте
Российской Федерации

5.2.1. Требования к лабораториям филиалов ФБУЗ
"Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании
(городе, административном районе) в субъекте Российской
Федерации, осуществляющим бактериологические
исследования на холеру

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов
ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте, на базе филиалов которого функционируют бактериологические лаборатории, должен иметь лицензию на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III - IV групп патогенности (опасности).

Бактериологические лаборатории филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими санитарными правилами о порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных болезней человека I - IV групп патогенности (опасности).

Лаборатории филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование выделенных культур, подозрительных на холерные вибрионы, должны осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по санитарно-эпидемиологическим требованиям к обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных и распорядительных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на холеру

Исследования на холеру могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, окончившие курсы по специальности "Бактериология", имеющие допуск к работе с ПБА III - IV групп на основании приказа руководителя учреждения.

Инженерно-технический персонал, дезинфекторы и санитарки проходят специальную подготовку по месту работы в соответствии с должностными обязанностями.

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней, должны повышать квалификацию не реже одного раза в 5 лет и иметь сертификат специалиста.

Необходимый уровень подготовки специалистов с высшим медицинским (биологическим) образованием и средним медицинским образованием и повышение их квалификации по лабораторной диагностике холеры представлены в прилож. 1.

Требования к знаниям и умениям специалистов, выполняющих бактериологические исследования на холеру, приведены в прилож. 2.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств

микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники должны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней III - IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими нормативными документами.

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на холеру в лабораториях филиалов ФБУЗ ЦГиЭ в субъекте Российской Федерации включает:

- контроль качества питательных сред, диагностических препаратов и тест-систем, дистиллированной воды, дезинфицирующих средств, химических реактивов;
- своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
- контроль качества стерилизации фильтровальных установок, лабораторной посуды;
- контроль качества стерилизации паровых и суховоздушных стерилизаторов;
- контроль работы бактерицидных ламп;
- контроль температурного режима работы холодильников и термостатов;
- проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;
- проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют в соответствии с требованиями действующих методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на холеру

Для проведения диагностических исследований на холеру в лабораториях должны быть в наличии:

- питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке и прошедшие контроль качества (прилож. 3, 8);
- диагностические препараты и тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 4, 8);
- химические реактивы (прилож. 5);
- приборы, оборудование, расходные материалы (прилож. 6).

5.2.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации при осуществлении эпидемиологического надзора проводят плановые профилактические исследования на холеру в сроки, определенные для территорий, различных по типам эпидемических проявлений холеры, в действующих санитарных правилах:

- материала от лиц, подлежащих лабораторному обследованию;
- проб из объектов окружающей среды.

В лабораториях филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании (городе, административном районе), в субъекте проводят диагностические исследования материала в следующем объеме:

- 1) посев на среды накопления и дифференциально-диагностические, выделение культуры, подозрительной на возбудителя холеры;
- 2) идентификация культуры, подозрительной на возбудителя холеры, по следующим тестам:
 - микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
 - выявление индофенолоксидазы;
 - слайд-агглютинация с холерными диагностическими сыворотками;
- 3) экспресс- и ускоренная диагностика: методы МФА и РИВ.

5.2.3. Порядок лабораторной диагностики

холеры в лабораториях филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании (городе, административном районе) в субъекте Российской Федерации

5.2.3.1. Порядок исследования клинического материала

1. Отбор проб клинического материала

При проведении бактериологического анализа на холеру исследуется клинический материал: испражнения, рвотные массы, желчь.

Отбор, упаковка проб клинического материала для исследования, транспортировка, форма направления - в соответствии с действующими МУК по лабораторной диагностике холеры.

Материал от больных с дисфункцией кишечника забирает медицинский персонал ЛПУ в соответствии с разделом 5.1.3.

2. Исследование клинического материала

Методы исследования клинического материала на холеру в лабораториях филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальных образованиях (городах и административных районах субъекта, объединенных по территориальному признаку): бактериологический и ускоренные (слайд-агглютинация, МФА и РИВ).

Профилактические исследования клинического материала на холеру проводят в течение рабочего дня, диагностические исследования материала от больного с подозрением на холеру, а также в случае выделения культуры, подозрительной на холерный вибрион, - в условиях круглосуточного режима работы лаборатории с включением экспрессных и ускоренных методов диагностики. При исследовании материала от больных холерой (подозрительных) среды накопления с ингибиторами не используются.

Порядок исследования материала от лиц, подлежащих обследованию при эпидемиологическом надзоре за холерой, при круглосуточной работе лаборатории осуществляется в соответствии с изложенным в п. 5.1.3 (1. Исследование клинического материала на холеру при круглосуточном режиме работы лаборатории).

Порядок исследования на холеру материала от лиц, подлежащих обследованию при эпидемиологическом надзоре, при односменной работе лаборатории осуществляется в зависимости от времени забора и доставки материала в лабораторию - варианты 1 - 4, изложенные в п. 5.1.3 (2. Исследование клинического материала при осуществлении эпидемиологического надзора за холерой при односменной работе лаборатории).

Все изолированные от людей культуры, подозрительные на холерные вибрионы, независимо от результатов слайд-агглютинации холерными сыворотками передаются для дальнейшей идентификации в установленном порядке.

Регистрация результатов анализа и выдача ответов производится по учетным формам, предусмотренным в действующих методических указаниях по лабораторной диагностике холеры.

5.2.3.2. Порядок исследования на холеру проб из объектов окружающей среды

1. Отбор и транспортирование проб из объектов окружающей среды

Отбор и доставка для исследования проб воды из поверхностных водоемов, хозяйственно-бытовых и сточных вод, содержимого выгребных туалетов, ила, гидробионтов, мух, смывов с объектов окружающей среды, пищевых продуктов и другие и форма направления - в соответствии с действующими методическими указаниями по лабораторной диагностике холеры.

2. Исследование проб воды из поверхностных водоемов

I этап исследования

Посевы проб воды из поверхностных водоемов с целью первичного накопления холерных вибрионов в зависимости от времени доставки (варианты).

1-й вариант - к пробе воды добавляют раствор основного пептона до 1%-й концентрации; определяют pH; подщелачивают 10%-м раствором едкого натра до pH $8,4 \pm 0,1$ (1-я среда накопления). Время инкубации в 1-й среде накопления - 8 - 10 ч.

2-й вариант - в воду добавляют раствор основного пептона до 1%-й концентрации и теллурид калия из рабочего разведения 1:1000 до конечной концентрации 1:100000 или 1:200000 в соответствии с результатами его контроля; устанавливают pH $8,4 \pm 0,1$ (1-я среда накопления). Время инкубации в 1-й среде накопления - 18 - 24 ч.

3-й вариант - производят фильтрование воды через мембранные фильтры N 2 или 3, смыв с фильтров сеют в 1-ю среду накопления (1%-я пептонная вода pH $8,4 \pm 0,1$) и на щелочной агар.

II этап исследования

1-й вариант - через 8 - 10 ч от начала исследования:

- пересев с 1-й среды накопления во 2-ю (1%-ю пептонную воду с теллуридом калия и без него; при этом время инкубации в среде без теллурида калия - 6 ч, а с теллуридом калия - 18 - 20 ч) и на щелочной агар.

2-й вариант - через 18 - 24 ч от начала исследования:

- пересев с 1-й среды накопления во 2-ю (1%-ю пептонную воду без теллурида калия; при этом время инкубации в среде без теллурида калия - 6 - 8 ч) и на щелочной агар.

3-й вариант - через 12 - 18 ч от начала исследования:

- пересев с 1-й среды накопления во 2-ю среду накопления и на щелочной агар.

При интенсивном бактериальном загрязнении проб используют 3-ю среду накопления.

III этап исследования

Высев со 2-й среды накопления на щелочной агар.

IV этап исследования

Отбор колоний, подозрительных на колонии холерного вибриона, со щелочного агара в косо проходящем свете стереоскопического микроскопа.

Отсев колоний, подозрительных на колонии холерного вибриона, на одну из полиуглеводных сред и щелочной агар для накопления чистой культуры.

В случае проведения срочного анализа и при достаточном количестве подозрительных колоний:

- определение индофенолоксидазы;
- микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
- слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO, O139 серогруппы;
- возможно использование методов МФА и РИВ.

В этом случае выдача устного предварительного положительного ответа по предусмотренной схеме об обнаружении в исследуемых пробах культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы, на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;
- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками;
- положительные результаты ускоренной диагностики методами МФА и РИВ.

V этап исследования

Отбор культуры с характерным ростом на полиуглеводной среде и щелочном агаре.

Определение индофенолоксидазы.

Микроскопия мазка, окрашенного по Граму.

Слайд-агглютинация с сыворотками холерными O1 серогруппы (при положительном результате - с Инаба, Огава), RO, O139 серогруппы.

Возможно использование методов МФА и РИВ.

Выдача устного предварительного положительного ответа по предусмотренной схеме об обнаружении в исследуемых пробах культур, подозрительных на холерные вибрионы O1, RO или O139 серогруппы, на основании результатов следующих тестов:

- характерные морфологические и культуральные признаки;
- положительный тест на индофенолоксидазу;
- положительная реакция слайд-агглютинации с соответствующими холерными диагностическими сыворотками;
- положительные результаты ускоренной диагностики методами МФА и РИВ.

Подготовка выделенной культуры к транспортированию.

Срочная передача выделенной культуры для дальнейшей идентификации в установленном порядке.

Неагглютинирующиеся холерными сыворотками O1 серогруппы, RO и O139 серогруппы культуры идентифицируют на месте по биохимическим признакам с целью уточнения родовой и видовой принадлежности или по согласованию передают в лабораторию ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии".

3. Исследование хозяйственно-бытовых сточных вод

Подготовка проб сточной воды. Фильтрация сточной воды (1 л) через фильтр для освобождения от механических примесей (при необходимости).

При заборе сточных вод марлевыми тампонами их помещают в емкости с накопительной средой (1%-й раствор пептона); устанавливают pH $8,4 \pm 0,1$ (1-я среда накопления). Время инкубации 1-й среды накопления - 8 - 10 ч, в случае добавления теллурита калия - 18 - 24 ч.

Далее этапы исследования хозяйственно-бытовых сточных вод осуществляются в соответствии с изложенными в п. 5.2.3.2 пп. 2 (Порядок исследования проб воды из поверхностных водоемов).

5.2.4. Оформление результатов исследования

Регистрация результатов анализа в лабораториях филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации производится по учетным формам в соответствии с действующими методическими указаниями по лабораторной диагностике холеры.

5.2.5. Порядок взаимодействия филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании (городе, административном районе) в субъекте Российской Федерации с учреждениями Роспотребнадзора

Информация о культуре холерного вибриона, выделенной в лаборатории филиала ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации из объектов окружающей среды передается в соответствии со схемой выдачи результатов исследований на холеру (прилож. 10).

Культура холерного вибриона направляется в лабораторию ООИ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации, а при ее отсутствии в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней (региональное противочумное учреждение). Доставку осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

5.3. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации

5.3.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации, в структуре которых отсутствуют отделы и лаборатории особо опасных инфекций

Лаборатории ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъектах Российской Федерации, в структуре которых отсутствуют отделы и лаборатории особо опасных инфекций (имеющие санитарно-эпидемиологическое заключение на право работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности), при осуществлении эпидемиологического надзора за холерой проводят плановые профилактические исследования на холеру материала от лиц, подлежащих обследованию, и проб из объектов окружающей среды до этапа выделения культуры в следующем объеме:

1. Посев на среды накопления и элективную среду типа TCBS, выделение культуры, подозрительной на холерный вибрион;
2. Идентификация культуры, подозрительной на холерный вибрион, по следующим тестам:
 - микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
 - выявление индофенолоксидазы;
 - слайд-агглютинация с холерными диагностическими сыворотками;
3. Экспресс- и ускоренная диагностика: методы МФА и РИВ.

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъектах Российской Федерации, в структуре которых отсутствуют отделы или лаборатории особо опасных инфекций, соответствует порядку для лабораторий филиалов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в муниципальных образованиях в субъектах Российской Федерации (раздел 5.2).

5.3.2. Порядок организации и проведения лабораторной

диагностики холеры для лабораторий особо опасных инфекций
ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте
Российской Федерации

5.3.2.1. Требования к лабораториям особо опасных инфекций
ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской
Федерации, осуществляющим бактериологические
исследования на холеру

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации, на базе которого функционируют лаборатории ООИ, должны иметь лицензию на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II - IV групп патогенности (опасности).

Лаборатории ООИ должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами II - IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими санитарными правилами о порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I - IV групп патогенности (опасности).

Лаборатории ООИ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование выделенных культур холерных вибрионов должны осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по санитарно-эпидемиологическим требованиям к обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных и распорядительных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на холеру

Исследования на холеру могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, окончившие курсы специализации по особо опасным инфекциям, имеющие допуск к работе с ПБА II - IV групп на основании приказа руководителя учреждения.

Инженерно-технический персонал, дезинфекторы и санитарки проходят специальную подготовку по месту работы в соответствии с должностными обязанностями.

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней, должны повышать квалификацию не реже одного раза в 5 лет и иметь сертификат специалиста.

Необходимый уровень подготовки специалистов с высшим медицинским (биологическим) образованием и средним медицинским образованием, повышение их квалификации по лабораторной диагностике холеры представлен в прилож. 1.

Требования к знаниям и умениям специалистов лаборатории ООИ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии", выполняющих бактериологические исследования на холеру, приведены в прилож. 2.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники должны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным и зараженным возбудителями инфекционных болезней II - IV групп патогенности (опасности), в соответствии с действующими нормативными документами.

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на холеру в лабораториях ООИ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" включает:

- контроль качества питательных сред, диагностических препаратов и тест-систем, эталонных штаммов, дисков с антибактериальными препаратами, дистиллированной воды, дезинфицирующих средств, химических реактивов;
- контроль эффективности мембранных фильтров;
- своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
- контроль качества стерильности фильтровальных установок, лабораторной посуды;
- контроль качества стерилизации паровых и суховоздушных стерилизаторов;
- контроль работы бактерицидных ламп;
- контроль температурного режима работы холодильников и термостатов;
- проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;
- проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на холеру

Для проведения диагностических исследований на холеру в лабораториях должны быть в наличии:

- питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 3, 8);
- диагностические препараты, тест-системы, антибактериальные препараты, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 4, 7, 8);
- химические реактивы (прилож. 5);
- приборы, оборудование, расходные материалы (прилож. 6).

5.3.2.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории ООИ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъектах Российской Федерации проводят:

- исследование материала от больных и умерших с подозрением на холеру;
- профилактические исследования материала от лиц, подлежащих обследованию на холеру в соответствии с требованиями эпиднадзора (по согласованию);
- исследования проб из объектов окружающей среды;
- идентификацию культур холерных вибрионов по полной схеме с определением эпидемической значимости в ПЦР по наличию генов *ctxA* и *tcrA* и антибиотикограммы диско-диффузионным методом;
- контроль качества питательных сред.

5.3.2.3. Порядок диагностических исследований на холеру в лабораториях особо опасных инфекций ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации

Порядок исследования клинического материала осуществляется в соответствии с изложенным в п. 5.2.3.1.

Порядок бактериологического анализа на холеру проб из объектов окружающей среды соответствует п. 5.2.3.2.

В порядок бактериологического исследования на холеру (клинического материала и проб из объектов окружающей среды) дополнительно включены тесты идентификации культур холерных вибрионов, выделенных на различных этапах, а также культур, поступивших из ЛПУ и филиалов ФБУЗ:

- изучение культуральных, морфологических свойств и подвижности микробных клеток;
- определение типа расщепления глюкозы (тест Хью-Лейфсона);
- определение ферментации углеводов и многоатомных спиртов (сахарозы, маннозы, арабинозы и маннита);
- определение декарбоксилазной и дигидролазной активности по отношению к аминокислотам (аргинин, лизин, орнитин);

- постановка развернутой реакции агглютинации с холерными агглютинирующими сыворотками O1, Инаба, Огава, RO и реакции слайд-агглютинации с холерной сывороткой O139 серогруппы;
- оценка эпидемической значимости культуры комплексным методом - по гемолитической активности в пробе Грейга, чувствительности к холерным эльтор фагам ctx^+ и ctx^- (кроме холерных вибрионов O139), в ПЦР на наличие генов $ctxA$ и $tcrA$, в реакции объемной агломерации с полимерным антилипазным иммуноглобулиновым диагностикумом (РАО);
- определение принадлежности к биовару холерных вибрионов O1 серогруппы (определение чувствительности к диагностическим бактериофагам классическому и эльтор, постановка реакции гемагглютинации с куриными эритроцитами, определение чувствительности к 50 ед/мл полимиксина В, постановка реакции Фогес-Проскауэра);
- определение чувствительности к антибиотикам диско-диффузионным методом;
- ИХ-тест на определение O1 серогруппы (при положительном результате - ИХ-тест на определение серовара Инаба, Огава) или O139 серогруппы.

5.3.2.4. Оформление результатов исследования

Регистрация результатов анализа в лаборатории ООИ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" производится по учетным формам в соответствии с действующими методическими указаниями по лабораторной диагностике холеры.

5.3.2.5. Порядок взаимодействия лабораторий особо опасных инфекций ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации с учреждениями Роспотребнадзора

Информация о выделенных или идентифицированных культурах холерного вибриона передается в соответствии со схемой выдачи результатов исследований на холеру (прилож. 11) и направляется в Референс-центр по мониторингу за холерой.

Культуры холерного вибриона, выделенные от людей, из объектов окружающей среды и идентифицированные в лаборатории ООИ ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации, направляют в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней (региональное противочумное учреждение). Срок доставки эпидемически значимых культур - не более 5 суток, остальные культуры доставляются не позднее одного месяца. Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

6. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий регионального уровня

6.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II - IV групп патогенности в федеральных округах

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II - IV групп патогенности осуществляют:

- диагностические исследования материала от больных и умерших с подозрением на холеру;
- профилактические исследования материала от лиц, подлежащих обследованию на холеру в соответствии с требованиями эпидемиологического надзора (по согласованию);
- исследования проб из объектов окружающей среды в соответствии с требованиями эпидемиологического надзора;
- идентификацию культур холерных вибрионов по полной схеме;
- контроль качества питательных сред.

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II - IV групп патогенности в федеральных округах соответствует п. 5.3.2 "Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий особо опасных инфекций ФБУЗ "Центр гигиены и эпидемиологии" в субъекте Российской Федерации".

Культуры холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп, выделенные от людей, из объектов окружающей среды и идентифицированные в лабораториях Региональных центров по мониторингу

за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II - IV групп патогенности, передают в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности или Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней (региональное противочумное учреждение). Срок доставки эпидемически значимых культур - не более 5 суток, остальные культуры доставляются не позднее одного месяца. Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

6.2. Порядок организации и проведения лабораторной
диагностики холеры для лабораторий Региональных центров
по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней
I - II групп патогенности и Центров индикации
и диагностики возбудителей опасных
инфекционных болезней

6.2.1. Требования к лабораториям Региональных центров
по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней
I - II групп патогенности и Центров индикации и диагностики
возбудителей опасных инфекционных болезней

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Учреждения, на базе которых функционируют Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней I - II групп патогенности и Центры индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, должны иметь лицензию на деятельность, связанную с использованием возбудителей I - II групп патогенности (опасности).

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами I - II групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими санитарными правилами о порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I - IV групп патогенности (опасности).

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование выделенных культур холерных вибрионов должны осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по санитарно-эпидемиологическим требованиям к обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных и распорядительных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на холеру

Исследования на холеру могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, окончившие курсы первичной специализации по ООИ по специальности "Бактериология", имеющие допуск к работе с ПБА I - II групп на основании приказа руководителя учреждения.

Инженерно-технический персонал и дезинфекторы проходят специальную подготовку по месту работы в соответствии с должностными обязанностями.

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных заболеваний, должны повышать квалификацию не реже одного раза в 5 лет и иметь сертификат специалиста.

Необходимый уровень подготовки специалистов с высшим медицинским (биологическим) образованием и средним медицинским образованием, повышение их квалификации по лабораторной диагностике холеры представлен в прилож. 1.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники должны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими нормативными документами.

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на холеру в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней I - II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней включает:

- контроль качества питательных сред, диагностических препаратов и тест-систем, эталонных штаммов, дисков с антибактериальными препаратами, дистиллированной воды, дезинфицирующих средств, химических реактивов;
- контроль эффективности мембранных фильтров;
- своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
- контроль качества стерильности фильтровальных установок, лабораторной посуды;
- контроль качества стерилизации паровых и суховоздушных стерилизаторов;
- контроль работы бактерицидных ламп;
- контроль температурного режима работы холодильников и термостатов;
- проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;
- проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроля смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на холеру

Для проведения диагностических исследований на холеру в лабораториях должны быть в наличии:

- питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 3, 8);
- диагностические препараты, тест-системы, антибактериальные препараты, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 4, 7, 8);
- химические реактивы (прилож. 5);
- приборы, оборудование, расходные материалы (прилож. 6).

6.2.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней проводят:

- исследования материала от больных и умерших с подозрением на холеру;
- исследования проб из объектов окружающей среды;
- идентификацию культур холерных вибрионов, выделенных в прикрепленных субъектах, по полной схеме с определением эпидемиологической значимости;
- определение чувствительности холерных вибрионов к антибактериальным препаратам;
- серологическое обследование больных холерой, вибрионосителей и других контингентов населения - по эпидпоказаниям;
- проверку качества питательных сред и ингибиторов сопутствующей микрофлоры.

6.2.3. Порядок диагностических исследований на холеру в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I -

II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней

Порядок исследования клинического материала и проб из объектов окружающей среды соответствует п. 5.2.3.

Идентификация культур холерных вибрионов осуществляется по полной схеме, изложенной в действующих методических указаниях по лабораторной диагностике холеры.

В порядок бактериологического исследования на холеру дополнительно включены исследования сывороток крови больных (переболевших) холерой, вибрионосителей, а также других контингентов населения (по эпидпоказаниям) на наличие агглютининов и вибриоцидных антител.

При определении агглютининов в сыворотке крови ставят:

- реакцию агглютинации с живыми культурами холерных вибрионов, выделенных от больных (вибрионосителей) в очаге в макро- или микрообъеме.

При определении вибриоцидных антител в сыворотке крови ставят:

- реакцию вибриоцидных антител (РВА) на основе чашечного метода (Finkelstein);
- РВА на основе ферментации углеводов.

6.2.4. Оформление результатов исследования

Регистрация результатов анализа в лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней производится по учетным формам в соответствии с действующими методическими указаниями по лабораторной диагностике холеры.

6.2.5. Порядок взаимодействия лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности и Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней с учреждениями Роспотребнадзора

Информация о выделенных и/или идентифицированных культурах холерного вибриона передается в соответствии с действующей нормативной документацией и направляется в Референс-центр по мониторингу за холерой и в Национальный Центр верификации диагностической деятельности Роспотребнадзора, осуществляющий функцию Государственной коллекции возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I - II групп патогенности.

Штаммы холерных вибрионов, выделенные от людей, из объектов окружающей среды, идентифицированные в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности и в Центрах индикации и диагностики опасных инфекционных болезней, направляют в Референс-центр по мониторингу за холерой.

Срок доставки эпидемически значимых культур - не более 5 суток, остальные культуры доставляются не позднее одного месяца. Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

7. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий федерального уровня

7.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для Референс-центра по мониторингу за холерой

7.1.1. Требования к лабораториям Референс-центра по мониторингу за холерой

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Учреждение, на базе которого функционирует Референс-центр по мониторингу за холерой, должно иметь лицензию на деятельность, связанную с использованием возбудителей I - II групп патогенности (опасности).

Лаборатории Референс-центра по мониторингу за холерой должны иметь санитарно-эпидемиологические заключения о возможности проведения работ с микроорганизмами I - II групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими санитарными правилами о

порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I - IV групп патогенности (опасности).

Лаборатории Референс-центра по мониторингу за холерой должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование выделенных подозрительных культур холерных вибрионов должны осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими санитарными правилами по санитарно-эпидемиологическим требованиям к обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных и распорядительных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на холеру

Исследования на холеру могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, окончившие курсы первичной специализации по ООИ по специальности "Бактериология", имеющие допуск к работе с ПБА I - II групп на основании приказа руководителя учреждения.

Инженерно-технический персонал, дезинфекторы и санитарки проходят специальную подготовку по месту работы в соответствии с должностными обязанностями.

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных заболеваний, должны повышать квалификацию не реже одного раза в 5 лет и иметь сертификат специалиста.

Необходимый уровень подготовки специалистов с высшим медицинским (биологическим) образованием и средним медицинским образованием, повышение их квалификации по лабораторной диагностике холеры представлен в прилож. 1.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники должны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими нормативными документами.

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на холеру в лабораториях Референс-центра по мониторингу за холерой включает:

- контроль качества питательных сред, диагностических препаратов и тест-систем, эталонных штаммов, дисков с антибактериальными препаратами, дистиллированной воды, дезинфицирующих средств, химических реактивов;
- контроль эффективности мембранных фильтров;
- своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
- контроль качества стерильности фильтровальных установок, лабораторной посуды;
- контроль качества стерилизации паровых и суховоздушных стерилизаторов;
- контроль температурного режима работы холодильников и термостатов;
- контроль работы бактерицидных ламп;
- проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;
- проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроля смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на холеру

Для проведения диагностических исследований на холеру в лабораториях должны быть в наличии:

- питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке, и экспериментальные серии (прилож. 3, 8);
- диагностические препараты, тест-системы, антибактериальные препараты, зарегистрированные в установленном порядке, и экспериментальные серии (прилож. 4, 7, 8);
- химические реактивы (прилож. 5);
- приборы, оборудование, расходные материалы (прилож. 6).

7.1.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории Референс-центра по мониторингу за холерой:

- проводят полную идентификацию и изучение биологических, молекулярно-биологических, биохимических свойств возбудителей холеры, в т.ч. культур с атипичными свойствами и вновь выявленных холерных вибрионов, явившихся причиной эпидемической вспышки;
- определяют чувствительность холерных вибрионов к антибактериальным препаратам, изучают механизмы резистентности;
- проводят серологическое обследование больных холерой, вибрионосителей и других контингентов населения - по эпидпоказаниям;
- проводят исследование клинического материала и проб окружающей среды - по эпидпоказаниям.

7.1.3. Организация и обеспечение диагностической деятельности при мониторинге за холерой

Материалом для исследования служат культуры холерных вибрионов, в т.ч. культуры с атипичными свойствами, выделенные в лабораториях территориального и регионального уровней; вновь выявленные холерные вибрионы, явившиеся причиной вспышки; клинический материал, сыворотки крови больных холерой, вибрионосителей и других контингентов - по эпидпоказаниям.

При исследовании культур возбудителей холеры, в том числе культур с атипичными свойствами и вновь выявленных холерных вибрионов, явившихся причиной вспышки, используют биологические и современные высокотехнологичные методы бактериологического, иммуносерологического и молекулярно-генетического анализа, а также серологические методы при исследовании сывороток крови больных холерой, вибрионосителей и других контингентов населения, обследуемых по эпидемическим показаниям.

Порядок исследования клинического материала, проб из объектов окружающей среды на холеру соответствует п. 5.2.3.

Идентификация поступивших культур осуществляется по полной схеме:

- изучение морфологии микробных клеток;
- определение подвижности выделенной культуры в препарате висячей или раздавленной капли с последующим просмотром препаратов под микроскопом с фазово-контрастным устройством;
- определение наличия индофенолоксидазы;
- исследование методом флюоресцирующих антител;
- определение типа расщепления глюкозы в среде Хью-Лейфсона;
- определение способности ферментировать углеводы и многоатомные спирты;
- определение декарбоксилазной и дигидролазной активности по отношению к отдельным аминокислотам (лизин, аргинин, орнитин);
- постановка развернутой реакции агглютинации с холерными агглютинирующими сыворотками О1, Инаба, Огава, RO и реакции слайд-агглютинации с холерной сывороткой О139 серогруппы;
- определение биовара холерных вибрионов О1 серогруппы (определение чувствительности к диагностическим бактериофагам классическому и эльтор, постановка гемагглютинации с куриными эритроцитами, определение чувствительности к 50 ед./мл полимиксина В, постановка реакции Фогес-Проскауэра);

- определение эпидемической значимости культуры комплексным методом: по гемолитической активности в пробе Грейга, чувствительности к холерным эльтор ctx^+ и ctx^- фагам (кроме холерных вибрионов O139 серогруппы), в ПЦР на наличие генов $ctxA$ и $tcpA$, по определению холерогенности на модели кроликов-сосунков, по результатам реакции объемной аггломерации с использованием полимерного иммуноглобулинового антилипазного диагностикума (РАО);

- определение чувствительности к антибиотикам (диско-диффузионным методом, методом серийных разведений в агаре и бульоне);

- постановка дополнительных тестов, определяющих принадлежность к роду *Vibrio* и виду *Vibrio cholerae* или другим видам патогенных вибрионов (определение протеолитических свойств; выявление диастатической активности; определение образования индола; определение образования сероводорода; выявление способности к биолюминесценции; определение галофильности вибрионов; определение способности вибрионов к росту при различных температурах; определение образования нитратредуктазы; определение образования β -галактазидазы).

Расширенная характеристика культур с помощью молекулярно-биологических методов: по генам, ассоциированным с вирулентностью, проведение секвенирования, рестрикции, ген-амплификации, VNTR-типирование.

При идентификации культур холерных вибрионов с атипичными свойствами использование дополнительных серологических, иммунологических, биохимических и других методов для подтверждения принадлежности культур к роду *Vibrio* и виду *Vibrio cholerae*:

- ПЦР с использованием дополнительных специфических праймеров;
- реакции агглютинации с кроличьими холерными агглютинирующими сыворотками;
- реакции слайд-агглютинации с использованием моноклональных антител;
- реакции преципитации в геле;
- адсорбции агглютининов по Кастеллани;
- реакции агглютинации с убитыми кипячением культурами.

Применение серологических методов исследования в соответствии с действующими нормативными документами. В сыворотках больных холерой, вибрионосителей и других контингентов населения, обследуемых по эпидпоказаниям, выявляют агглютинины, вибриоцидные антитела.

При определении агглютининов в сыворотке крови ставят:

- реакцию агглютинации с живыми культурами холерных вибрионов, выделенных от больных (вибрионосителей) в очаге в макро- или микрообъеме.

При определении вибриоцидных антител в сыворотке крови ставят:

- реакцию вибриоцидных антител (РВА) на основе чашечного метода (Finkelstein);
- РВА на основе ферментации углеводов.

Возможно применение препаратов, предназначенных для серологической диагностики.

7.1.4. Порядок взаимодействия лабораторий Референс-центра по мониторингу за холерой с учреждениями Роспотребнадзора

Информация о выделенных и/или идентифицированных культурах холерного вибриона передается в соответствии с действующими нормативными документами и направляется в Центр верификации диагностической деятельности Роспотребнадзора, осуществляющий функцию Государственной коллекции возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I - II групп патогенности.

Культуры холерного вибриона, идентифицированные в лабораториях Референс-центра по мониторингу за холерой, передают в Национальный Центр верификации диагностической деятельности Роспотребнадзора, осуществляющий функцию Государственной коллекции возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I - II групп патогенности.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности.

7.2. Порядок и организация лабораторной диагностики холеры Национального Центра верификации диагностической деятельности

7.2.1. Требования к лабораториям Национального Центра верификации диагностической деятельности

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов, требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на холеру, требования к обеспечению безопасности работы персонала, порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований, правила ведения документации и требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на холеру, аналогичны п. 7.1.1.

7.2.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории Национального Центра верификации диагностической деятельности проводят:

- верификацию результатов диагностики холеры и идентификации культур, полученных из Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности, Центров индикации и диагностики опасных инфекционных болезней Роспотребнадзора, Референс-центра по мониторингу за холерой;
- выполняют диагностические исследования материала от больных холерой и умерших от этого заболевания - по эпидпоказаниям;
- осуществляют хранение коллекционных штаммов, охраноспособное и авторское депонирование.

7.2.3. Организация и обеспечение диагностической деятельности

Порядок исследования клинического материала, проб из объектов окружающей среды на холеру соответствует п. 5.2.3.

Идентификацию культур осуществляют по полной схеме, дополнительно проводят:

- секвенирование фрагментов генов 16S-23S рДНК и других видоспецифичных локусов;
- определение генотипов штаммов холерных вибрионов.

На основании результатов расширенной характеристики штаммов холерных вибрионов составляют паспорта на штаммы, хранящиеся в Национальном Центре верификации диагностической деятельности, осуществляющем функции Государственной коллекции.

7.2.4. Порядок взаимодействия лабораторий Национального Центра верификации диагностической деятельности с учреждениями Роспотребнадзора

Национальный Центр верификации диагностической деятельности Роспотребнадзора направляет результаты проведенных исследований в Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности, Центры индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, Референс-центр по мониторингу за холерой.

ПОДГОТОВКА КАДРОВ
ПО ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ХОЛЕРЫ В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИХ
ЛАБОРАТОРИЯХ РАЗЛИЧНЫХ УРОВНЕЙ

N п/п	Перечень бактериологических лабораторий с учетом уровней	Уровни подготовки							
		профессиональная переподготовка в противочумных учреждениях (не менее 500 ч)		повышение квалификации по ООИ (72 - 500 ч)		другие виды подготовки (семинары по лабораторной диагностике холеры)		рабочие места в лаборатории или отделе особо опасных инфекций	
		врачи	лаборанты	врачи	лаборанты	врачи	лаборанты	врачи	лаборанты
Территориальный уровень									
1	ЛПУ	-	-	+/-	+/-	+	+	+	+
2	Филиалы ФБУЗ ЦГиЭ	-	-	+/-	+/-	+	+	+	+
3	ФБУЗ ЦГиЭ без лаборатории ООЧ	-	-	+/-	+/-	+	+	+	+
4	ФБУЗ ЦГиЭ с лабораториями ООЧ	+	+	+	+	+/-	+/-	-	-
Региональный уровень									
5	Региональные центры по мониторингу II - IV групп патогенности	+	+	+	+	+/-	+/-	-	-
6	Региональные центры по мониторингу I - II групп патогенности	+	+	+	+	+/-	+/-	-	-
7	Центры индикации и диагностики	+	+	+	+	+/-	+/-	-	-
Федеральный уровень									
8	Референс-центр по мониторингу за холерой	+	+	+	+	+/-	+/-	-	-
9	Национальный Центр верификации	+	+	+	+	+/-	+/-	-	-

"+" Обязательный уровень подготовки.

"-" Подготовка для такого уровня не требуется.

"+/-" Подготовка для такого уровня рекомендуется.

ТРЕБОВАНИЯ К ПРОФЕССИОНАЛЬНЫМ НАВЫКАМ СПЕЦИАЛИСТОВ, ОСУЩЕСТВЛЯЮЩИХ ЛАБОРАТОРНУЮ ДИАГНОСТИКУ ХОЛЕРЫ

1. Требования к знаниям и умениям специалистов лечебно-профилактических учреждений, выполняющих бактериологические исследования на холеру

1.1. Врачи-бактериологи и биологи должны знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за холерой, в том числе в части, касающейся обследования больных на холеру;
- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на холеру;
- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на зараженность возбудителями III - IV групп патогенности, а также требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на зараженность возбудителем холеры;
- этапы подготовительной работы (подготовка питательных сред, диагностических препаратов, реактивов);
- требования к доставке клинического материала, регистрации, его хранению, уничтожению;
- порядок исследования материала в условиях односменной и круглосуточной работы лаборатории;
- порядок исследования материала в зависимости от времени отбора и доставки его в лабораторию;
- этапы лабораторного исследования на холеру;
- методы ускоренной диагностики холеры;
- культуральные, морфологические, иммуносерологические и биохимические свойства холерных вибрионов;
- сроки выдачи предварительного положительного результата исследования;
- правила и сроки передачи выделенных (подозрительных) культур.

1.2. Врачи-бактериологи и биологи должны уметь выполнять диагностическое исследование клинического материала на холеру:

- отбирать колонии со щелочного агара и среды TCBS с характерным для вибрионов ростом;
- выполнять микроскопию мазков, окрашенных по Граму, на всех этапах исследования;
- определять индофенолоксидазу;
- ставить с подозрительными на холерный вибрион колониями реакцию слайд-агглютинации с холерными сыворотками O1, Огава, Инаба, RO и O139 и учитывать результаты;
- выполнять микроскопию и оценку результатов мазков, обработанных флюоресцирующими иммуноглобулинами (МФА);
- выполнять реакцию иммобилизации вибрионов (РИВ) под влиянием специфических холерных сывороток;
- вести необходимую документацию.

1.3. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны знать:

- правила работы с материалом, подозрительным на зараженность возбудителями III - IV групп патогенности;
- этапы подготовительной работы (подготовку посуды, питательных сред, диагностических препаратов, реактивов);
- этапы лабораторного исследования на холеру;
- культуральные, морфологические свойства холерных вибрионов, отношение вибрионов к углеводам в полиуглеводных средах.

1.4. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны уметь:

- готовить к работе необходимые питательные среды (прилож. 3);
- готовить ингредиенты для окраски мазков по Граму;
- готовить разведения сывороток для постановки реакции слайд-агглютинации и иммунофлюоресценции;
- выполнять первичные посевы исследуемого материала и пересевы со сред обогащения;
- готовить мазки, фиксировать их, окрашивать по Граму, а также флюоресцирующими иммуноглобулинами;
- ставить пробу на индофенолоксидазу;
- проводить с подозрительными на холерный вибрион колониями реакцию слайд-агглютинации с холерными сыворотками O1, Огава, Инаба, RO и O139;
- ставить реакцию иммобилизации с холерными сыворотками;
- готовить отработанный материал для автоклавирования.

2. Требования к знаниям и умениям специалистов ФБУЗ "ЦГиЭ" и их филиалов, выполняющих бактериологические исследования на холеру

2.1. Врачи-бактериологи и биологи должны знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за холерой, в т.ч. в части, касающейся сроков, объемов и контингентов, подлежащих обследованию на холеру, сроков, объемов и вида исследуемых проб из объектов окружающей среды;
- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на холеру;
- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на зараженность возбудителями III - IV групп патогенности, а также требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на зараженность возбудителем холеры;
- этапы подготовительной работы (подготовка питательных сред, диагностических препаратов, реактивов);
- требования к доставке клинического материала и проб из объектов внешней среды, регистрации, хранению, уничтожению;
- порядок исследования материала в условиях односменной и круглосуточной работы лаборатории;
- порядок исследования материала в зависимости от времени отбора и доставки его в лабораторию;
- этапы лабораторного исследования на холеру;
- методы ускоренной диагностики холеры;
- культуральные, морфологические, иммуносерологические и биохимические свойства холерных вибрионов;
- сроки выдачи предварительного положительного результата исследования;
- правила и сроки передачи выделенных (подозрительных) культур.

2.2. Врачи-бактериологи и биологи должны уметь выполнять диагностическое исследование клинического материала на холеру:

- отбирать колонии со щелочного агара и среды TCBS с характерным для вибрионов ростом;
- выполнять микроскопию мазков, окрашенных по Граму, на всех этапах исследования;
- определять индофенолоксидазу;
- ставить с подозрительными на холерный вибрион колониями реакцию слайд-агглютинации с холерными сыворотками O1, Огава, Инаба, RO и O139;
- выполнять микроскопию и оценку результатов мазков, обработанных флюоресцирующими иммуноглобулинами (МФА);
- выполнять реакцию иммобилизации вибрионов (РИВ) под влиянием специфических холерных сывороток;
- вести необходимую документацию.

2.3. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны знать:

- правила работы с материалом, подозрительным на зараженность возбудителями III - IV групп патогенности;
- этапы подготовительной работы (подготовку посуды, питательных сред, диагностических препаратов, реактивов);
- этапы лабораторного исследования на холеру;
- культуральные, морфологические свойства холерных вибрионов, отношение вибрионов к углеводам в полиуглеводных средах.

2.4. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны уметь:

- осуществлять отбор проб воды из поверхностных водоемов, сточных вод и других объектов окружающей среды;
- готовить к работе необходимые питательные среды (прилож. 3);
- готовить ингредиенты для окраски мазков по Граму;
- готовить разведения сывороток для постановки реакции слайд-агглютинации и иммунофлюоресценции (при наличии люминесцентного микроскопа);
- выполнять первичные посевы исследуемого материала и пересевы со сред обогащения;
- готовить мазки, фиксировать их, окрашивать по Граму, а также флюоресцирующими иммуноглобулинами;
- ставить пробу на индофенолоксидазу;
- проводить с подозрительными на холерный вибрион колониями реакцию слайд-агглютинации с холерными сыворотками O1, Огава, Инаба, RO и O139;
- ставить реакцию иммобилизации с холерными сыворотками;
- готовить отработанный материал для автоклавирования.

3. Требования к знаниям и умениям специалистов лабораторий ООИ ФБУЗ "ЦГиЭ", выполняющих бактериологические исследования на холеру

3.1. Врачи-бактериологи и биологи должны знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за холерой, в том числе в части, касающейся обследования больных на холеру;
- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на холеру;
- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на зараженность возбудителями II - IV групп патогенности, а также требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на зараженность возбудителем холеры;
- этапы подготовительной работы (подготовка питательных сред, диагностических препаратов, реактивов);
- требования к доставке клинического материала, регистрации, его хранению, уничтожению;
- порядок исследования материала в условиях односменной и круглосуточной работы лаборатории;
- порядок исследования материала в зависимости от времени отбора и доставки его в лабораторию;
- этапы лабораторного исследования на холеру;
- методы ускоренной диагностики холеры;
- культуральные, морфологические, иммуносерологические и биохимические свойства холерных вибрионов;
- сроки выдачи предварительного положительного результата исследования;
- правила и сроки передачи выделенных (подозрительных) культур;
- методы контроля качества питательных сред и ингибиторов посторонней микрофлоры;
- методы определения чувствительности к диагностическим фагам классическому и эльтор, холерным эльтор фагам ctx^+ и ctx^- ;
- методы оценки эпидемической значимости холерных вибрионов;
- методы определения антибиотикочувствительности холерных вибрионов.

3.2. Врачи-бактериологи и биологи должны уметь выполнять диагностическое исследование материала на холеру:

- проводить исследование материала от больных и умерших с подозрением на холеру, от лиц, подлежащих бактериологическому обследованию на холеру, проб воды из стационарных и других точек отбора и других объектов окружающей среды, предусмотренных действующими санитарными правилами;
- идентифицировать выделенные культуры холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп по сокращенной и полной схеме с определением эпидзначимости холерных вибрионов по наличию генов $ctxA$ и $tcpA$, гемолитической активности и чувствительности к фагам ctx^+ и ctx^- ;
- определять антибиотикочувствительность выделенных культур;
- устанавливать таксономическую принадлежность холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп и других представителей рода *Vibrio* и семейства *Vibrionaceae*;
- вести необходимую документацию.

3.3. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны знать:

- правила работы с материалом, подозрительным на зараженность возбудителями III - IV групп патогенности;
- этапы подготовительной работы (подготовку посуды, питательных сред, диагностических препаратов, реактивов);
- этапы лабораторного исследования на холеру;
- культуральные, морфологические и антигенные свойства холерных вибрионов, отношение вибрионов к углеводам в полиуглеводных средах;
- методы полной и сокращенной идентификации холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп;
- методы идентификации культур холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп и других представителей рода *Vibrio* и семейства *Vibrionaceae*;
- методы определения качества питательных сред и ингибиторов роста посторонней микрофлоры.

3.4. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны уметь:

- готовить к работе необходимые питательные среды (прилож. 3);
- готовить ингредиенты для окраски мазков по Граму;
- готовить разведения сывороток для постановки реакции слайд-агглютинации и иммунофлюоресценции (при наличии люминесцентного микроскопа);
- выполнять первичные посевы исследуемого материала и пересевы со сред обогащения;
- готовить мазки, фиксировать их, окрашивать по Граму, а также флюоресцирующими иммуноглобулинами;

- ставить пробу на индофенолоксидазу;
- проводить с подозрительными на холерный вибрион колониями реакцию слайд-агглютинации и объемную реакцию агглютинации с холерными сыворотками O1, Oгава, Инаба, RO и O139;
- ставить реакцию иммобилизации с холерными сыворотками;
- готовить отработанный материал для автоклавирования.

4. Требования к знаниям и умениям специалистов Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I - II групп патогенности, Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, Референс-центра по мониторингу за холерой и Национального Центра верификации диагностической деятельности, выполняющих бактериологические исследования на холеру

4.1. Врачи-бактериологи и биологи должны знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за холерой;
- вопросы организации лабораторных исследований на холеру;
- требования биологической безопасности при работе с зараженным и подозрительным на заражение микроорганизмами II группы патогенности материалом;
- таксономию и классификацию представителей семейства *Vibrionaceae*;
- морфологические, культуральные, биохимические свойства холерных вибрионов;
- серологические методы изучения свойств холерных вибрионов;
- определение чувствительности к диагностическим фагам классическому и эльтор, холерным фагам эльтор ctx^+ и ctx^- ;
- методы определения эпидемической значимости холерных вибрионов;
- определение чувствительности к антибиотикам, химиопрепаратам и дезинфектантам;
- этапы лабораторного исследования на холеру, сроки выдачи ответов, правила и сроки передачи выделенных культур;
- требования к доставке материала, его хранению, регистрации, уничтожению, подготовке к передаче и транспортированию;
- этапы подготовительной работы (подготовку питательных сред для выделения и идентификации холерных вибрионов, диагностических препаратов, реактивов);
- методы серологической диагностики холеры у людей;
- критерии оценки качества питательных сред, используемых для диагностики холеры, ингибиторов посторонней микрофлоры;
- нормативные документы, используемые при проведении лабораторных исследований на холеру.

4.2. Врачи-бактериологи и биологи должны уметь:

- провести полное исследование по схеме лабораторной диагностики холеры материала от больных и умерших с подозрением на холеру, проб из объектов окружающей среды;
- идентифицировать выделенные культуры холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп по сокращенной и полной схеме;
- определить эпидемическую значимость культур;
- определить чувствительность к антибиотикам выделенных культур;
- провести серологическую диагностику материала от больных холерой, вибрионосителей и других контингентов - по эпидпоказаниям;
- установить таксономическую принадлежность холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп и других представителей рода *Vibrio* и семейства *Vibrionaceae*;
- осуществлять контроль качества питательных сред и ингибиторов посторонней микрофлоры;
- вести необходимую документацию.

4.3. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны знать:

- морфологические, культуральные и основные биохимические свойства холерных вибрионов;
- этапы лабораторного исследования на холеру;
- методы полной и сокращенной идентификации холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп;
- методы идентификации культур холерных вибрионов не O1/не O139 серогрупп и других представителей рода *Vibrio* и семейства *Vibrionaceae*;
- методы серологической диагностики холеры;
- правила работы с материалом, зараженным или подозрительным на заражение возбудителем холеры;
- этапы подготовительной работы (подготовку посуды, красок, питательных сред для выделения и идентификации холерных вибрионов, диагностических препаратов, реактивов);
- методы определения качества питательных сред и ингибиторов посторонней микрофлоры.

4.4. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны уметь:

- приготовить или подготовить к работе питательные среды для выделения и идентификации холерных вибрионов (прилож. 3);
- приготовить основные ингредиенты для окраски мазков по Граму;
- приготовить реактивы для постановки пробы на оксидазу, выявления образования ацетилметилкарбинола, индола, сероводорода, нитратредуктазы, β -галактозидазы;
- подготовить разведения сывороток для постановки слайд- и развернутой реакции агглютинации и иммунофлуоресценции;
- произвести первичные посевы и пересевы поступившего материала;
- сделать мазки, зафиксировать их и окрасить;
- поставить пробу на индофенолоксидазу;
- поставить слайд- и развернутую реакцию агглютинации с холерными сыворотками;
- поставить реакцию иммобилизации с холерными сыворотками;
- провести определение качества питательных сред и теллурита калия;
- подготовить отработанный материал для автоклавирования;
- участвовать:
- в идентификации выделенной культуры по полной и сокращенной схеме;
- в определении эпидемической значимости выделенной культуры по регламентированным для этих лабораторий тестам;
- в определении антибиотикочувствительности выделенных культур;
- в исследовании сывороток крови больных холерой и вибрионосителей в системе серологических реакций.

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ,
ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ

N п/п	Питательные среды	Территориальный уровень				Региональный уровень			Федеральный уровень	
		ЛПУ	филиалы ФБУЗ ЦГиЭ	ФБУЗ ЦГиЭ (без лабора- торий ООИ)	ФБУЗ ЦГиЭ (с лабора- ториями ООИ)	региональ- ные центры по монито- рингу за возбудите- лями II - IV групп патогенно- сти	региональ- ные центры по монито- рингу за возбудите- лями I - II групп патогенно- сти	центры индика- ции и диагно- стики	рефе- ренс- центр по мо- нито- рингу за хо- лерой	нацио- нальный центр верифи- кации
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Основной раствор пептона	-	+	+	+	+	+	+	+	+
2	1%-я пептонная вода	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Щелочной агар	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	TCBS	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	СЭДХ	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Полиуглеводные среды	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	Среда Хью- Лейфсона	-	+	+	+	+	+	+	+	+
8	Среда Гисса с сахарозой	-	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Среда Гисса с маннозой	-	+	+	+	+	+	+	+	+
10	Среда Гисса с арабинозой	-	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Среда Гисса с лактозой	-	+	+	+	+	+	+	+	+
12	Среда Гисса с глюкозой	-	+	+	+	+	+	+	+	+

13	Среда Гисса с инозитом	-	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Среда Гисса с маннитом	-	+	+	+	+	+	+	+	+
15	Среда Гисса с крахмалом	-	-	-	+	+	+	+	+	+
16	Бульон Мартена pH 7,6	-	-	-	+	+	+	+	+	+
17	Среда для определения декарбоксилазы лизина	-	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Среда для определения декарбоксилазы орнитина	-	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Среда для определения дигидролазы аргинина	-	+	+	+	+	+	+	+	+
20	Бульон Кларка	-	-	-	+	+	+	+	+	+
21	Среда с желатиной	-	-	-	+	+	+	+	+	+
22	Питательный агар pH 7,2	-	-	-	+	+	+	+	+	+
23	Бульон Хоттингера pH 7,2	-	-	-	+	+	+	+	+	+
24	Бульон Хоттингера с 0,1% азотнокислого калия (KNO ₃) pH 7,2	-	-	-	+	+	+	+	+	+
25	Питательный агар с 10% лактозы	-	-	-	+	+	+	+	+	+

26	Агар Мартена 0,3 - 0,5 - 0,7% рН 7,6	-	-	-	+	+	+	+	+	+
27	Питательная среда для определения чувствительно- сти к антибактериаль- ным препаратам	-	-	-	+	+	+	+	+	+

Приложение 4

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ, ТЕСТ-СИСТЕМЫ,
ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ

N п/п	Диагностические препараты, тест-системы, биологические препараты	Территориальный уровень				Региональный уровень			Федеральный уровень	
		ЛПУ	фи- лиалы ФБУЗ ЦГиЭ	ФБУЗ ЦГиЭ (без лабо- рато- рий ООИ)	ФБУЗ ЦГиЭ (с лабо- рато- риями ООИ)	региональ- ные центры по монито- рингу за возбудите- лями II - IV групп патогенно- сти	региональ- ные центры по монито- рингу за возбудите- лями I - II групп патогенно- сти	центры инди- кации и ди- агно- стики	рефе- ренс- центр по монито- рингу за холерой	нацио- нальный центр верифи- кации
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие холерные адсорбированные, лошадиные	+ <*>	+ <*>	+ <*>	+	+	+	+	+	+

2	Сыворотка диагностическая холерная О1 адсорбированная сухая для РА	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Сыворотка диагностическая холерная Огава адсорбированная сухая для РА	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Сыворотка диагностическая холерная Инаба адсорбированная сухая для РА	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Сыворотка диагностическая холерная RO адсорбированная сухая для РА	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Сыворотка диагностическая холерная О139 адсорбированная сухая для РА на стекле	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	Бактериофаги диагностические холерные классический и эльтор	-	-	-	+	+	+	+	+	+
8	Бактериофаги диагностические холерные ctx+ и ctx-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
9	Микротест-система для ускоренного определения групп вибрионов по Хейбергу (МТС-Х)	-	+	+	+	+	+	+	+	+

Сахара и многоатомные спирты										
5	Арабиноза	-	+	+	+	+	+	+	+	+
6	Инозит	-	+	+	+	+	+	+	+	+
7	Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
8	Маннит	-	+	+	+	+	+	+	+	+
9	Манноза	-	+	+	+	+	+	+	+	+
10	Лактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Аминокислоты										
12	Лизин	-	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Орнитин	-	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Аргинин	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Реактивы										
15	альфа-нафтиламин	-	-	-	+	+	+	+	+	+
16	альфа-нафтол	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Диметил-парафенилендиамин дигидрохлорид (или тетраметил-парафенилендиамин, или аминодиметил-анилин гидрохлорид (оксалат))	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Железо серно-кислое закисное	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Йод кристаллический	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	Калий азотно-кислый	-	-	-	+	+	+	+	+	+
21	Калий едкий	-	-	-	+	+	+	+	+	+
22	Калий йодистый	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	Калий фосфорно-кислый двузамещенный (K ₂ HPO ₄)	-	-	-	+	+	+	+	+	+

24	Калий фосфорно-кислый однозамещенный (KH ₂ PO ₄)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	Калия нитрат	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	Калия теллурид	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Кислота борная	-	-	-	+	+	+	+	+	+
28	Кислота карболовая	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	Кислота лимонная	-	-	-	+	+	+	+	+	+
30	Кислота уксусная	-	-	-	+	+	+	+	+	+
31	Кислота соляная	-	-	-	+	+	+	+	+	+
32	Кислота сульфаниловая	-	-	-	+	+	+	+	+	+
33	Кислота щавелевая	-	-	-	+	+	+	+	+	+
34	Натрий двууглекислый	-	-	-	+	+	+	+	+	+
35	Натрий едкий	+	+	+	+	+	+	+	+	+
36	Натрий лимонно-кислый (цитрат)	-	-	-	+	+	+	+	+	+
37	Натрий углекислый (карбонат)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
38	Натрий фосфатно-кислый	-	-	-	+	+	+	+	+	+
39	Натрий хлористый	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40	Натрия сульфат	+	+	+	+	+	+	+	+	+
41	Натрия сульфит	+	+	+	+	+	+	+	+	+
42	Натрия тиосульфат	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43	Свинец уксусно-кислый	-	-	-	+	+	+	+	+	+
44	О-нитрофенил-бета-Д-галактопиранозид (ONPG)	-	-	-	+	+	+	+	+	+
45	Парадиметиламино-бензальдегид	-	-	-	+	+	+	+	+	+
46	Риванол	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Прочие										

47	Вода дистиллированная	+	+	+	+	+	+	+	+	+
48	Глицерин	+	+	+	+	+	+	+	+	+
49	Желатина	-	-	-	+	+	+	+	+	+
50	Крахмал растворимый	-	-	-	+	+	+	+	+	+
51	Масло вазелиновое	-	-	-	+	+	+	+	+	+
52	Масло иммерсионное	+	+	+	+	+	+	+	+	+
53	Масло иммерсионное нефлуоресцирующее	+	+	+	+	+	+	+	+	+
54	Песок кварцевый	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Прочие медикаменты и дезсредства										
55	Спирт этиловый	+	+	+	+	+	+	+	+	+
56	Хлороформ	-	-	-	-	-	-	-	+	+
57	Хлорамин или другие регламентированные дезинфектанты	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Приложение 6

ПРИБОРЫ, ОБОРУДОВАНИЕ, РАСХОДНЫЕ МАТЕРИАЛЫ,
ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ

N п/п	Приборы и оборудование	Территориальный уровень	Региональный уровень	Федеральный уровень
----------	---------------------------	-------------------------	----------------------	------------------------

14	Пипетки автоматические	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	Стерилизаторы электрические разных размеров	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	Сухожаровой шкаф стерилизационный	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Термостат	+	+	+	+	+	+	+	+	+
18	Устройство фазово- контрастное	+	+	+	+	+	+	+	+	+
19	Холодильник бытовой	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20	Центрифуга лабораторная	+	+	+	+	+	+	+	+	+
21	Бикс металлический	+	+	+	+	+	+	+	+	+
22	Ножницы	+	+	+	+	+	+	+	+	+
23	Скальпель	+	+	+	+	+	+	+	+	+
24	Пинцет анатомический	+	+	+	+	+	+	+	+	+
25	Петледержатели	+	+	+	+	+	+	+	+	+
26	Петли бактерио- логические	+	+	+	+	+	+	+	+	+
27	Петли ректальные для забора материала	+	+	+	+	+	+	+	+	+
28	Пробки целлюлозные разного размера	+	+	+	+	+	+	+	+	+
29	Пробки резиновые разного размера	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30	Стандарт мутности для приготовления микробной взвеси N 5 и N 10	-	-	-	+	+	+	+	+	+

31	Фильтры мембранные N 2 и N 3	-	+	+	+	+	+	+	+	+
32	Фильтры Зейтца 30 мм с устройством для фильтрации	-	+	+	+	+	+	+	+	+
33	Часы песочные	+	+	+	+	+	+	+	+	+
34	Чашки Петри одноразовые	+	+	+	+	+	+	+	+	+
35	Штативы на 40 и 20 гнезд	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Оборудование для ПЦР диагностики и генетических исследований										
1	Автоматический флюориметр типа "Джин"	-	-	-	+	+	+	+	+	+
2	Видеосистема результатов электрофореза	-	-	-	+	+	+	+	+	+
3	Источник постоянного тока	-	-	-	+	+	+	+	+	+
4	Компьютер	-	-	-	+	+	+	+	+	+
5	Комплект для проведения электрофореза	-	-	-	+	+	+	+	+	+
6	Программируемый термоциклер (амплификатор)	-	-	-	+	+	+	+	+	+
7	Пробирки пропиленовые разного объема	-	-	-	+	+	+	+	+	+
8	Твердотельный термостат	-	-	-	+	+	+	+	+	+

9	Ультрафиолетовый трансиллюминатор 310 - 320 нм фильтр 20 x 20 см	-	-	-	+	+	+	+	+	+
10	Фотоаппарат цифровой с комплектom светофильтров	-	-	-	+	+	+	+	+	+
11	Центрифуга лабораторная настольная	-	-	-	+	+	+	+	+	+
12	Микроцентрифуга лабораторная настольная 1200 g	-	-	-	+	+	+	+	+	+
13	Аmplификатор для проведения амплификации в режиме реального времени	-	-	-	+	+	+	+	+	+
14	ПЦР-бокс	-	-	-	+	+	+	+	+	+
15	Комплект автоматических пипеток	-	-	-	+	+	+	+	+	+
16	Секвенатор	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Оборудование для отбора проб										
1	Комплект медицинский (укладка универсальная для забора мате- риала от людей и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные инфекционные болезни)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Стекло лабораторное										

1	Банки стеклянные с притертой пробкой разного размера	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Бутыли емкостью 1 л	-	+	+	+	+	+	+	+	+
3	Пипетки градуированные на 1, 2, 5, 10 мл	+	+	+	+	+	+	+	+	+
4	Пипетки пастеровские	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5	Пробирки агглютинационные	-	-	-	+	+	+	+	+	+
6	Пробирки бактериологические	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7	Пробирки центрифужные	-	-	-	+	+	+	+	+	+
8	Поплавки	-	-	-	+	+	+	+	+	+
9	Стаканы фарфоровые или граненые	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10	Стекло предметное	+	+	+	+	+	+	+	+	+
11	Стекло с лункой	+	+	+	+	+	+	+	+	+
12	Стекло покровное	+	+	+	+	+	+	+	+	+
13	Ступки фарфоровые	+	+	+	+	+	+	+	+	+
14	Спиртовки	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15	Флаконы разного объема	+	+	+	+	+	+	+	+	+
16	Цилиндры мерные	+	+	+	+	+	+	+	+	+
17	Шпатели	-	-	-	+	+	+	+	+	+

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ПРЕПАРАТЫ,
ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ

N п/п	Антибактериальные препараты и растворители для них	Территориальный уровень				Региональный уровень			Федеральный уровень	
		ЛПУ	фи- лиалы ФБУЗ ЦГиЭ	ФБУЗ ЦГиЭ (без лабо- рато- рий ООИ)	ФБУЗ ЦГиЭ (с ла- бора- тория- ми ООИ)	региональ- ные центры по монито- рингу за возбуди- телями II - IV групп па- тогенно- сти	региональ- ные центры по монито- рингу за возбудите- лями I - II групп па- тогенно- сти	центры инди- кации и ди- агно- стики	рефе- ренс- центр по мо- нито- рингу за хо- лерой	нацио- наль- ный центр вери- фика- ции
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Диметилсульфоксид (растворитель для АБП)	-	-	-	-	-	-	-	+	+
2	Доксициклин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
3	Тетрациклин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
4	Левомецетин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
5	Налидиксовая кислота	-	-	-	-	-	-	-	+	+
6	Ципрофлоксацин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
7	Фуразолидон	-	-	-	-	-	-	-	+	+
8	Ампициллин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
9	Цефотаксим	-	-	-	-	-	-	-	+	+
10	Рифампицин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
11	Стрептомицин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
12	Гентамицин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
13	Канамицин	-	-	-	-	-	-	-	+	+
14	Сульфаметоксазол/ триметоприм или сульфамонометак- син/триметоприм	-	-	-	-	-	-	-	+	+
15	Полимиксин "М" или "В"	-	-	-	+	+	+	+	+	+

16	Диски с антибактериальными препаратами: доксицилин тетрацилин левомицетин налидиксовая кислота ципрофлоксацин фуразолидон ампициллин цефотаксим рифампицин стрептомицин гентамицин канамицин сульфаметоксазол/ триметоприм или сульфамонометаксин/триметоприм	-	-	-	+	+	+	+	+	+
----	--	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Приложение 8

ПЕРЕЧЕНЬ
ДИАГНОСТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ, ТЕСТ-СИСТЕМ И ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД
ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ <*>

<*> Из практического руководства "Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней". М., 2009. - дополненное.

№ п/п	Наименование препарата	Регистрационный номер удостоверения	Номер удостоверения нормативной документации	Разработчик
1	2	3	4	5

Зарегистрированные препараты, тест-системы и питательные среды				
1	Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие холерные адсорбированные лошадиные, лиофилизат для диагностических целей	ФСР 2007/00 877	ТУ 8961-015-01 898 109-2007	ФГУЗ РосНИПЧИ "Микроб" 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12 E-mail: microbe@san.ru Веб-сайт: www.microbe.ru
2	Сыворотки диагностические холерные Огава и Инаба адсорбированные сухие для реакции агглютинации (РА)	ФСР 2007/00 467	ТУ 8938-010-01 898 109-2007	-"-
3	Сыворотка диагностическая холерная О1 адсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)	ФСР 2007/00 468	ТУ 8938-009-01 898 109-2007	-"-
4	Сыворотка диагностическая холерная RO адсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)	ФСР 2007/00 469	ТУ 8938-011-01 898 109-2007	-"-
5	Тест-система для выявления ДНК Vibrio + cholerae (ctx A) методом полимеразной цепной реакции (ГенХол)	ФСР 2007/00 100	ТУ 8895-006-01 898 109-2007	-"-
6	Бактериофаги	2007/01 532	ТУ 8637-014-01 898 109-2007	-"-

	диагностические холерные классический и эльтор, лиофилизат для диагностических целей			
7	Фаг дифференциально- диагностический (ДДФ) вида V. cholerae, лиофилизат для диагностических целей	2007/00 466	ТУ 8937-013-01 898 109-2007	-"-
8	Бактериофаги диагностические + холерные эльтор СТХ и - СТХ , раствор для диагностических целей + - (фаги ctx и ctx)	ФСР 2007/00 880	ТУ 8937-002-01 898 109-2007	-"-
9	Микротест-система для ускоренного определения групп вибрионов по Хейбергу (МТС-Х)	99/86/3	ФСП 42-0504-7632-06	Филиал ФГУП "Микроген" в г. Махачкала НПО "Питательные среды"
10	Микротест-система для биохимической идентификации вибрионов (МТС-V)	99/86/2	ФСП 42-0504-7631-06	-"-
11	Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов (СИБ). Набор диагностический N 1 для идентификации вибрионов	ЛС-000 308	ФСП 42-0504 382-704	Филиал ФГУП НПО "Микроген" в г. Нижний Новгород Нижегородское предприятие по производству бактериальных препаратов "Имбио"
12	Пептон основной сухой	ЛС-001 072	ФСП 42-05 042 128-04	Филиал ФГУП "Микроген" в г. Махачкала НПО

				"Питательные среды"
13	Пептон основной сухой	0014/01-2002 г.	ФСП 42-0010-2040-01	ОАО "Биомед" им. И.И. Мечникова Московская обл., п. Петрово-Дальнее
14	Питательная среда для накопления холерного вибриона сухая "Пептон основной сухой"	ФСР 2009/05472	ТУ 9385-038-78095326-2008	ФГУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболensk Тел.: (4967) 36-00-09 Тел./факс: (4967) 36-00-20 E-mail: info@obolensk.org Веб-сайт: www.obolensk.org
15	Питательная среда для выделения и культивирования холерного вибриона (щелочной агар) сухая	ЛС-001 094	ФСП 42-0504-2132-04	Филиал ФГУП "Микроген" в г. Махачкала НПО "Питательные среды"
16	Питательная среда для выделения и культивирования холерного вибриона сухая (щелочной агар)	002 122/01-2003 г.	ФСП 42-0010-2989-02	ОАО "Биомед" им. И.И. Мечникова Московская обл., п. Петрово-Дальнее
17	Питательная среда для выделения и культивирования холерного вибриона сухая "Щелочной агар"	ФСР 2009/05473	ТУ 9385-039-78095326-2008	ФГУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболensk Тел.: (4967) 36-00-09 Тел./факс: (4967) 36-00-20 E-mail: info@obolensk.org Веб-сайт: www.obolensk.org
18	Набор реагентов для	ФСР 2011/10006	ТУ 9398-111-78095326-201	- "-

	бактериологических исследований "Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий сухая" (Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной)			
19	Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Среда Гисса-ГРМ с лактозой)	ФСР 2008/03494	ТУ 9398-049-78095326-2008	-"-
20	Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Среда Гисса-ГРМ с сахарозой)	ФСР 2008/03494	ТУ 9398-049-78095326-2008	-"-
21	Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Среда Гисса-ГРМ с глюкозой)	ФСР 2008/03494	ТУ 9398-049-78095326-2008	-"-
22	Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Среда Гисса-ГРМ с мальтозой)	ФСР 2008/03494	ТУ 9398-049-78095326-2008	-"-
23	Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Среда Гисса-ГРМ с маннитом)	ФСР 2008/03494	ТУ 9398-049-78095326-2008	-"-
24	Набор реагентов для контроля микробной	ФС 01012006/4122-06	ТУ 9398-013-78095326-2006	-"-

	загрязненности (трехсахарный агар с солями железа – для выявления сероводорода и определения ферментации лактозы, глюкозы, сахарозы) "Питательная среда N 13 ГРМ"			
25	Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий сухая (среда Расселя-ГРМ)	ФСР 2008/02818	ТУ 9398-048-78095326-2007	–"
26	Бактериофаги диагностические холерные ТЭПВ-1, ТЭПВ-2, ТЭПВ-3, ТЭПВ-4, ТЭПВ-5, ТЭПВ-6, ТЭПВ-7, раствор для диагностических целей	ФСР 2008/03009	ТУ 8637-019-01 898 109-2007	ФГУЗ РосНИПЧИ "Микроб" 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12 E-mail: microbe@san.ru Веб-сайт: www.microbe.ru
27	Сыворотка диагностическая холерная не O1 группы O139 адсорбированная кроличья для реакции агглютинации (РА) на стекле, лиофилизат для диагностических целей	ФСР 2008/03209	ТУ 9389-018-01 898 109-2008	–"
Незарегистрированные и разрабатываемые препараты и тест-системы (используются лабораториями территориального и регионального уровней только после регистрации)				
28	Питательная среда для выделения возбудителя холеры сухая (типа TCBS)		ТУ 9398-062-78 095 326-2007	ФГУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск Тел.: (4967) 36-00-09

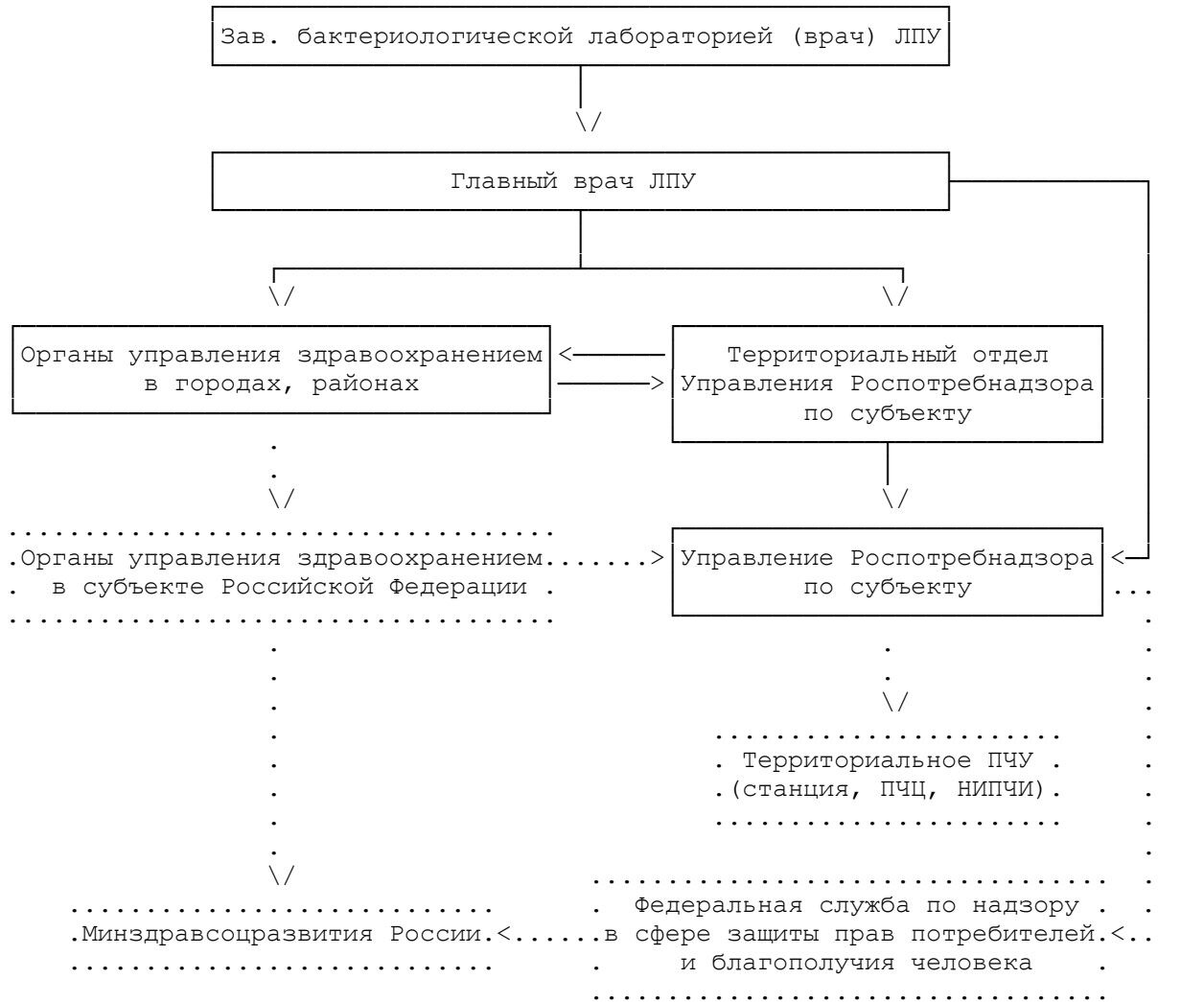
				Тел./факс: (4967) 36-00-20 E-mail: info@obolensk.org Веб-сайт: www.obolensk.org
29	Набор реагентов для иммунохроматографической идентификации микробных клеток возбудителя холеры (ИХ тест-полоска V. cholerae O1)			-"-
30	Иммунохроматографическая тест-система для экспресс-выявления и идентификации возбудителя холеры (ИХ тест-система V. cholerae O139)			-"-
31	Иммунохроматографическая тест-система для экспресс-выявления и идентификации возбудителя холеры (ИХ тест-система V. cholerae Инаба)			-"-
32	Иммунохроматографическая тест-система для экспресс-выявления и идентификации возбудителя холеры (ИХ тест-система V. cholerae Огава)			-"-
33	Набор реагентов для выявления ДНК Vibrio cholerae и идентификации патогенных штаммов		ТУ 9398-058-01897593-2010	ФГУЗ РосНИПЧИ "Микроб" 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12

	Vibrio cholerae в биологическом материале и объектах окружающей среды методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией "АмплиСенс Vibrio cholerae - FL"			Е-mail: microbe@san.ru Веб-сайт: www.microbe.ru ФГУН ЦНИИ эпидемиологии, ООО "Интерлабсервис" 119021, г. Москва, Олсуфьевский переулок, д. 8, стр. 1 Тел.: (495) 664-28-84 Факс: (495) 6642889 Е-mail: info@interlabservice.ru Веб-сайт: www.interlabservice.ru
34	Набор реагентов для выявления и ускоренной идентификации Vibrio cholerae методом полимеразной цепной реакции с электрофоретическим учетом результатов "Ген Vibrio cholera - идентификация - РЭФ"			ФГУЗ РосНИПЧИ "Микроб" 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12 Е-mail: microbe@san.ru Веб-сайт: www.microbe.ru
35	Иммуноферментная тест-система для определения токсигенных штаммов холерного вибриона			- "-
36	Диагностикум антилипазный иммуноглобулиновый полимерный сухой для выявления гемолитических штаммов холерных вибрионов			ФГУЗ "РостНИПЧИ" 344002, г. Ростов-на-Дону, ул. Горького, 117 т. (863) 240-27-03 т/ф (863) 234-13-76 plage@ic.ru
37	Иммуноглобулины диагностические холерные моноклональные			- "-

	сухие для выявления холерных вибрионов О1 и О139 серогрупп			
38	Питательная среда для выделения холерного вибриона электро-дифференциальная сухая (СЭДХ)			- "-
39	Жидкая питательная среда для культивирования холерного вибриона - ХДС-бульон на основе панкреатического перевара пекарских дрожжей (ПППД)			- "-
40	Питательная среда для культивирования холерного вибриона-ХДС-агар (ПППД)			- "-
41	Жидкая питательная среда холерная накопительная (ХДС-Н)			- "-
42	Сыворотки диагностические холерные Огава и Инаба адсорбированные сухие для реакции агглютинации (РА)			ФГУЗ ИркутскНИПЧИ 664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78 Тел./факс: (3952) 22-01-35 E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru Веб-сайт: www.irkutsk.ru/chumin/
43	Сыворотка диагностическая холерная О1 адсорбированная и			- "-

	неадсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)			
44	Питательная среда для выделения и культивирования холерного вибриона (щелочной агар) сухая			— " —
45	Тест-система для выявления ДНК <i>Vibrio</i> + <i>cholerae</i> (ctxA и + tcpA) методом ПЦР			ФГУ "48 ЦНИИ МО РФ", г. Киров

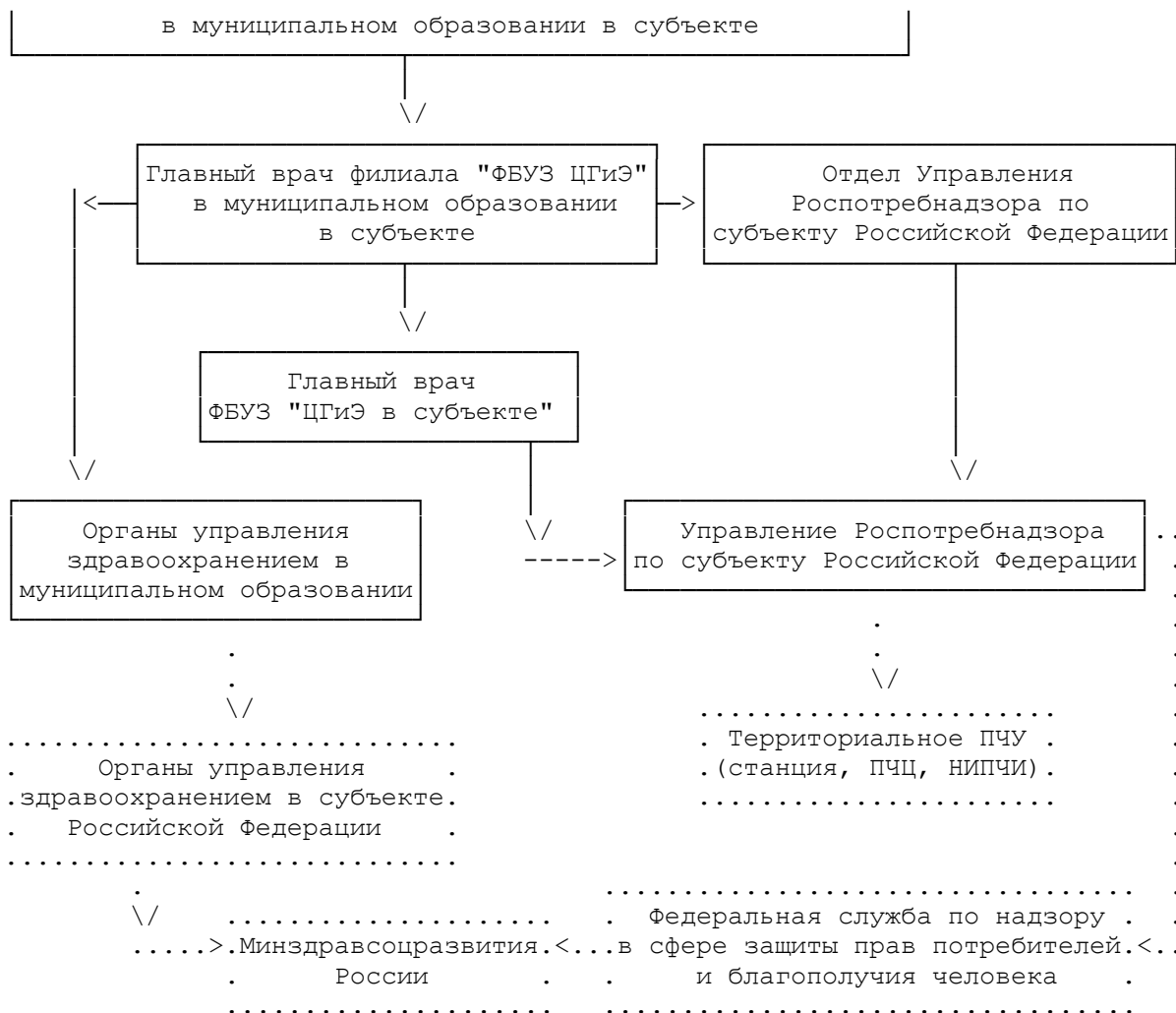
СХЕМА
ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ КУЛЬТУР,
ПОДОЗРИТЕЛЬНЫХ НА ХОЛЕРНЫЕ ВИБРИОНЫ O1, O139 СЕРОГРУПП
В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ
ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКИХ УЧРЕЖДЕНИЙ



.....> Передача информации о предварительном положительном результате при проведении исследований по эпидпоказаниям

СХЕМА
ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ КУЛЬТУР,
ПОДОЗРИТЕЛЬНЫХ НА ХОЛЕРНЫЕ ВИБРИОНЫ O1, O139 СЕРОГРУПП
В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ ФИЛИАЛА ФБУЗ "ЦЕНТР
ГИГИЕНЫ И ЭПИДЕМИОЛОГИИ" В МУНИЦИПАЛЬНОМ ОБРАЗОВАНИИ
В СУБЪЕКТЕ (ГОРОДЕ, АДМИНИСТРАТИВНОМ РАЙОНЕ)

Зав. бактериологической лабораторией филиала "ФБУЗ ЦГиЭ"



Приложение 11

**СХЕМА
ПЕРЕДАЧИ ИНФОРМАЦИИ ПРИ ВЫДЕЛЕНИИ КУЛЬТУР ХОЛЕРНОГО
ВИБРИОНА O1, O139 СЕРОГРУПП В БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКОЙ
ЛАБОРАТОРИИ ООИ ФБУЗ "ЦЕНТР ГИГИЕНЫ
И ЭПИДЕМИОЛОГИИ" В СУБЪЕКТЕ**

