

Методические указания МУК 4.2.3746-22 "Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня" (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 12 мая 2022 г.)

Методические указания МУК 4.2.3746-22
"Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня"
(утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 12 мая 2022 г.)

Взамен МУК 4.2.2870-11

ГАРАНТ:

См. [Методические указания МУК 4.2.3745-22 "Методы лабораторной диагностики холеры"](#) (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 12 мая 2022 г.)

I. Область применения

1.1. Настоящие методические указания (далее - МУК) определяют порядок организации и проведения лабораторной диагностики холеры для лабораторий микробиологического профиля территориального, регионального и федерального уровней*(1) в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями*(2) и методическими указаниями*(3).

1.2. МУК предназначены для органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, а также могут быть использованы научно-исследовательскими и медицинскими организациями.

1.3. МУК носят рекомендательный характер.

II. Организация и проведение лабораторной диагностики холеры

Территориальный уровень

2.1. К бактериологическим лабораториям территориального уровня относятся: лаборатории медицинских организаций (далее - МО), лаборатории центров гигиены и эпидемиологии в субъекте Российской Федерации (далее - ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора) и его филиалов, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности)*(4), а также лаборатории ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и обособленных структурных подразделений, независимо от ведомственной подчиненности, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности)*(5).

Территориальный уровень: бактериологические лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности)

2.2. К бактериологическим лабораториям территориального уровня, имеющим разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп

патогенности (опасности), относятся лаборатории, имеющие*(6):

- лицензию на медицинскую деятельность, с указанием выполняемых работ (услуг), связанных с ПБА III-IV патогенности (опасности) групп (МО, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и его филиалы);

- лицензию на деятельность, связанную с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности) (ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и его филиалы);

- санитарно-эпидемиологическое заключение о соответствии условий выполнения работ с биологическими агентами III-IV групп (МО, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и его филиалы).

2.3. Учет, хранение, передача и транспортировка культур холерных вибрионов (подозрительных), а также утилизация отходов осуществляются в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями*(7).

Специалисты и вспомогательный персонал, участвующий в выполнении исследований на холеру

2.4. К проведению исследований на холеру допускаются специалисты не моложе 18 лет, не имеющие медицинских противопоказаний к работе с опасными и вредными производственными факторами, имеющие высшее или среднее медицинское, или биологическое, или ветеринарное, или микробиологическое, или биотехнологическое, или пищевое профессиональное образование и дополнительную подготовку по специальностям, отвечающим требованиям и характеру заявленных работ*(8).

Рекомендации по подготовке специалистов с высшим и средним специальным образованием, по повышению их квалификации по лабораторной диагностике холеры представлены в [приложении 1](#) к настоящим МУК, по профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторную диагностику холеры, приведены в [приложении 2](#) к настоящим МУК.

Обеспечение биологической безопасности работы персонала

2.5. В бактериологической лаборатории, имеющей разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности), должен быть разработан документ, определяющий режим безопасной работы в конкретных условиях, с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизма и продуктов его жизнедеятельности. При этом требования биологической безопасности не должны быть ниже уровня, регламентируемого санитарно-эпидемиологическими требованиями. Документ согласовывается комиссией по контролю биологической безопасности и утверждается руководителем организации. При разработке и (или) внедрении новых методов и методических приемов, требующих усиления мер биологической безопасности, в документ вносят соответствующие дополнения. Сотрудники, осуществляющие деятельность с ПБА, проходят инструктажи по биологической безопасности (оформляются в специальном журнале), выполняют требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней III-IV групп патогенности (опасности)*(9).

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

2.6. Контроль качества диагностических исследований на холеру в лабораториях

территориального уровня 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;
- проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;
- проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Порядок контроля качества питательных сред осуществляется в соответствии с действующим нормативным документом*(10).

Результаты контроля оформляются в специальных журналах.

Контроль качества питательных сред, приготовленных (из сухих) в бактериологических лабораториях филиалов ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и МО, имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности), проводят в лабораториях ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности). Контроль качества питательных сред, приготовленных (из сухих) в бактериологических лабораториях ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности), а также контроль ингибиторов роста посторонней микрофлоры проводят бактериологические лаборатории региональных (Центр индикации возбудителей инфекционных болезней I-II групп патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности; далее - Центры индикации) и федеральных (Референс-центр по мониторингу за холерой; далее - Референс-центр) организаций Роспотребнадзора. Питательные среды (непосредственно после приготовления) и ингибиторы роста посторонней микрофлоры контролируют в сроки, в соответствии с [методическими указаниями*\(11\)](#).

Ведение лабораторной документации

2.7. Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляется в соответствии с [санитарно-эпидемиологическими требованиями*\(12\)](#) и [методическими указаниями*\(13\)](#).

Материальные ресурсы, необходимые для выполнения диагностических исследований на холеру

2.8. Для проведения диагностических исследований на холеру в лабораториях должны быть в наличии с действующим сроком годности:

- питательные среды (сухие), зарегистрированные в установленном порядке ([приложение 3](#) к настоящему МУК),
- диагностические препараты и тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке ([приложение 4](#) к настоящему МУК);
- химические реактивы ([приложение 5](#) к настоящему МУК).

- прошедшие поверку средства измерения и аттестованное в установленном порядке и оборудование ([приложение 6](#) к настоящим МУК);
- антибактериальные препараты ([приложение 7](#) к настоящим МУК).

Номенклатура и объем исследований

2.9. Номенклатура. Бактериологические лаборатории территориального уровня, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности), проводят следующие исследования на холеру:

- плановые диагностические исследования материала от больных ОКИ в соответствии с тактикой эпидемиологического надзора за холерой. Исследования клинического материала на холеру проводят в течение рабочего дня. Используются среды накопления с ингибиторами роста посторонней микрофлоры. В случае выделения культуры, подозрительной на возбудитель холеры, лаборатории переходят на круглосуточный режим работы, используя экспрессные и ускоренные методы диагностики, не применяя ингибиторы роста посторонней микрофлоры;

- профилактические исследования на холеру, в том числе на вибрионосительство, материала от декретированных групп населения и лиц, подлежащих обследованию;

- плановые профилактические исследования проб из объектов окружающей среды осуществляют лаборатории ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и его филиалов, дифференцированно, с учетом типов территорий по эпидемическим проявлениям холеры. На территориях I типа исследования осуществляют с мая по сентябрь один раз в семь дней; на территориях II типа - с июня по сентябрь один раз в семь дней; на территориях III типа, подтипов А и Б - в июле и августе, один раз в семь дней; на территориях III типа, подтипа В исследования проводятся с учетом оценки результатов социально-гигиенического мониторинга - при несоответствии качества воды источников централизованного и нецентрализованного хозяйственно-питьевого водоснабжения и рекреационного водопользования (водоемы I и II категорий). Исследования на наличие холерных вибрионов O1 и O139 серогрупп проб из объектов окружающей среды проводят в течение рабочего дня. Используются среды накопления с ингибиторами роста посторонней микрофлоры.

2.10. Объем исследований. Бактериологические лаборатории территориального уровня, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности), ведут исследования до получения отрицательного результата анализа (отсутствие подозрительных культур) или до выделения культур с характерным для вибрионов ростом на агаровых и полиуглеводных питательных средах и положительной реакцией на оксидазу. Исследования проводят в объеме, предусмотренном нормативным документом*(14).

При проведении лабораторной диагностики холеры регламентируется использование зарегистрированных на территории Российской Федерации питательных сред, диагностических препаратов и тест-систем (в соответствии с [приложениями 4 и 5](#) к настоящим МУК).

Порядок лабораторной диагностики

2.11. Отбор, упаковка (общий принцип тройной упаковки) и транспортировка проб клинического материала и проб из объектов окружающей среды, а также порядок бактериологического исследования на холеру регламентируются соответствующим нормативным документом*(15).

2.12. Исследования материала от людей и проб из объектов окружающей среды ведут до получения отрицательного результата анализа (отсутствие подозрительных культур) или до

выделения культур с характерным для вибрионов ростом на агаровых и полиуглеводных питательных средах и положительной реакцией на оксидазу. Культуры проверяют на чистоту в мазке, окрашенном по Граму, в реакции слайд-агглютинации на стекле с сыворотками диагностическими холерными O1, Огава, Инаба, RO и O139. Возможно применение (при наличии оборудования и препаратов) МФА, ИХА и MALDI-ToF масс-спектрометрии как экспресс-методов*(16).

При положительном результате слайд-агглютинации (и МФА) в культуре, выделенной от человека или из объекта окружающей среды, информация передается в установленном порядке (приложение 8 к настоящим МУК).

При отрицательном результате слайд-агглютинации:

- не агглютинирующиеся сыворотками диагностическими холерными O1 и O139 культуры, выделенные от людей, идентифицируют до вида на месте. В случае определения принадлежности к виду *V. cholerae* направляют для дальнейшей идентификации в соответствии в установленном порядке (приложение 9 к настоящим МУК);

- не агглютинирующиеся сыворотками диагностическими холерными O1 и O139 культуры, выделенные из объектов окружающей среды, идентифицируют до вида на месте. Ответ выдают по окончании исследования по результатам идентификации культуры до вида, после чего культуры уничтожаются.

Оформление результатов исследования

2.13. Регистрация результатов анализа в лабораториях МО проводится по утвержденным учетным формам.

В рамках функционирования испытательного лабораторного центра (ИЛЦ) в лабораториях ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и его филиалов результаты исследований оформляются в виде протоколов.

Порядок взаимодействия

2.14. Информация о выделенной культуре холерного вибриона в бактериологической лаборатории, имеющей разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности), передается в соответствии со схемой передачи информации о выделении культуры холерного вибриона O1, O139 (приложение 9 к настоящим МУК).

2.15. Выделенную культуру холерного вибриона направляют для идентификации с определением эпидемической опасности в лабораторию ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, имеющую разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности), а при ее отсутствии в лабораторию Центра индикации в соответствии со схемой передачи выделенной культуры холерного вибриона O1, O139 (приложение 10 к настоящим МУК).

Срок доставки: не более 2 ч после выделения культуры, а в случае невозможности соблюдения указанного срока в связи с территориальной удаленностью организаций - сразу после выделения, используя наиболее оптимальные пути и средства доставки.

Передача и транспортирование культур холерных вибрионов осуществляется в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями*(17).

Территориальный уровень: бактериологические лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп

патогенности (опасности)

2.16. К бактериологическим лабораториям территориального уровня, имеющим разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности), относятся лаборатории, имеющие*(6):

- лицензию на медицинскую деятельность, с указанием выполняемых работ (услуг), связанных с ПБА II-IV групп патогенности (опасности);
- лицензию на деятельность, связанную с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности);
- санитарно-эпидемиологическое заключение о соответствии условий выполнения работ с биологическими агентами II-IV групп патогенности (опасности).

2.17. Учет, хранение, передача и транспортировка культур холерных вибрионов (подозрительных), а также утилизация отходов осуществляются в соответствии с [пунктом 2.3](#).

Специалисты и вспомогательный персонал, участвующий в выполнении исследований на холеру

2.18. К проведению исследований на холеру допускаются специалисты не моложе 18 лет, не имеющие медицинских противопоказаний к работе с опасными и вредными производственными факторами, имеющие высшее или среднее медицинское, или биологическое, или ветеринарное, или микробиологическое, или биотехнологическое, или пищевое профессиональное образование и дополнительную подготовку по специальностям, отвечающим требованиям и характеру заявленных работ*(18).

Рекомендации по подготовке специалистов с высшим и средним специальным образованием, повышение их квалификации по лабораторной диагностике холеры представлены в [приложении 1](#) к настоящим МУК.

Рекомендации по профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторную диагностику холеры, приведены в [приложении 2](#) к настоящим МУК.

Обеспечение биологической безопасности работы персонала

2.19. В бактериологической лаборатории, имеющей разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности), должен быть разработан документ, определяющий режим безопасной работы в конкретных условиях, с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизма и продуктов его жизнедеятельности. При этом требования биологической безопасности не должны быть ниже уровня, регламентируемого [санитарно-эпидемиологическими требованиями*\(9\)](#). Документ согласовывается комиссией по контролю биологической безопасности и утверждается руководителем организации. При разработке и (или) внедрении новых методов и методических приемов, требующих усиления мер биологической безопасности, в документ вносят соответствующие дополнения. Сотрудники, осуществляющие деятельность с ПБА проходят инструктажи по биологической безопасности*(19) (оформляются в специальном журнале), выполняют требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней II-IV групп патогенности (опасности)*(9).

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

2.20. Контроль качества диагностических исследований на холеру в лабораториях территориального уровня, имеющих разрешение на работу с микроорганизмами II-IV групп патогенности (опасности), включает:

- контроль качества питательных сред, диагностических препаратов и тест-систем, тест-штаммов 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 оформляются в специальных журналах.

В бактериологических лабораториях ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности), проводят контроль качества питательных сред для лабораторной диагностики холеры, приготовленных (из сухих) в лабораториях филиалов ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и МО, имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности), в соответствии с [методическими указаниями*\(20\)](#).

В бактериологических лабораториях региональных (Центры индикации) и федеральных (Референс-центр) организаций Роспотребнадзора, имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности), проводят контроль ингибиторов роста посторонней микрофлоры и контроль качества питательных сред, приготовленных из сухих в бактериологических лабораториях ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности). Питательные среды (непосредственно после приготовления) и ингибиторы роста посторонней микрофлоры контролируют в сроки, в соответствии с [методическими указаниями*\(20\)](#).

Результаты контроля оформляются в специальных журналах.

Ведение лабораторной документации

2.21. Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляется в соответствии с [санитарно-эпидемиологическими требованиями*\(12\)](#) и [методическими указаниями*\(13\)](#).

Материальные ресурсы, необходимые для выполнения диагностических исследований на холеру

2.22. Для проведения диагностических исследований на холеру в лабораториях должны быть в наличии с действующим сроком годности:

- питательные среды (сухие), зарегистрированные в установленном порядке ([приложение 3 к настоящему МУК](#)),

- диагностические препараты и тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке ([приложение 4](#) к настоящим МУК);
- химические реактивы ([приложение 5](#) к настоящим МУК).
- прошедшие поверку средства измерения и аттестованное в установленном порядке и оборудование ([приложение 6](#) к настоящим МУК);
- антибактериальные препараты ([приложение 7](#) к настоящим МУК).

Номенклатура и объем диагностических исследований

2.23. Номенклатура. Лаборатории территориального уровня, имеющие разрешение на работу с микроорганизмами II-IV групп патогенности (опасности), проводят следующие исследования на холеру:

- диагностические исследования материала от больных и умерших с подозрением на холеру, а также секционный материал от умерших, причиной смерти которых явились кишечные инфекции неустановленной этиологии;
- диагностические исследования материала от больных ОКИ и определенного контингента здоровых лиц, подлежащих обследованию на холеру в соответствии с тактикой эпидемиологического надзора за холерой*(21);
- диагностические исследования проб из объектов окружающей среды дифференцированно, с учетом типов территорий по эпидемическим проявлениям холеры;
- идентификацию культур холерных вибрионов с определением эпидемической значимости в ПЦР;
- контроль качества питательных сред лабораторий филиалов ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора;
- ПЦР - анализ при массовых исследованиях на холеру по эпидемическим показаниям.

2.24. Объем. Исследования проводят в объеме, предусмотренном методическими указаниями*(14):

- исследования, предусмотренные [пунктом 2.10](#);
- идентификация культур, выделенных от людей и из объектов окружающей среды, а также культур, поступивших из МО и филиалов ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, производится по схеме, дополнительно включающей:
 - определение принадлежности к *V. cholerae*:
 - определение типа расщепления глюкозы (тест Хью-Лейфсона);
 - определение ферментации углеводов и многоатомных спиртов;
 - определение декарбоксилазной и дигидролазной активности по отношению к аминокислотам (аргинин, лизин, орнитин);
 - при наличии MALDI-ToF (англ. Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight - матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация) масс-спектрометра и базы масс-спектров холерных вибрионов возможна идентификация вида *V. cholerae* без определения биохимических свойств и окраски по Граму;
- МФА, ПЦР;
- определение биовара холерных вибрионов O1:
 - чувствительность к фагам диагностическим классическому и эльтор, реакция Фогес-Проскауэра, ПЦР;
 - определение серогруппы и сероварианта:
 - ИХА-тест на определение O1 серогруппы (при наличии);
 - постановка развернутой РА с холерными диагностическими сыворотками O1, Инаба, Огава, RO и реакции слайд-агглютинации с холерной диагностической сывороткой O139 серогруппы;

оценка эпидемической опасности культур:

- определение гемолитической активности (дополнительный тест);

- постановка ПЦР (на наличие генов *ctxA* и *tcrA*);

определение чувствительности к антибиотикам диско-диффузионным методом;

контроль качества питательных сред для лабораторной диагностики холеры:

- контроль качества плотных и жидких питательных сред с использованием нетоксигенного тест-штамма холерного вибриона *neO1/neO139* серогруппы N P-9741.

Порядок лабораторной диагностики

2.25. Порядок исследования клинического материала и проб из объектов окружающей среды осуществляется в соответствии с [пунктом 2.12](#).

В порядок бактериологического исследования на холеру (клинического материала и проб из объектов окружающей среды) для лабораторий ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, имеющих разрешение на работу с микроорганизмами II-IV групп патогенности (опасности), дополнительно включены тесты идентификации культур холерных вибрионов, выделенных на различных этапах, а также культур, поступивших из МО и из филиалов ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора.

Этапы бактериологического исследования на холеру проводятся в соответствии со схемой исследования в соответствии с методическими указаниями*(22).

Оформление результатов исследования

2.26. Оформление результатов исследования соответствует [пункту 2.13](#).

Порядок взаимодействия

2.27. Информация о выделенных или идентифицированных культурах холерного вибриона передается в соответствии со схемой ([приложение 8](#) к настоящим МУК). Культуры холерных вибрионов для подтверждения отправляют в бактериологическую лабораторию Центра индикации. По согласованию - в Референс-центр в соответствии со схемой передачи выделенной культуры холерного вибриона O1, O139 ([приложение 9](#) к настоящим МУК). Передача и транспортирование осуществляется в соответствии с [санитарно-эпидемиологическими требованиями*\(17\)](#).

Срок доставки эпидемически значимых культур - не более чем пять суток, нетоксигенные культуры доставляются не позднее одного месяца.

Региональный уровень

2.28. К бактериологическим лабораториям регионального уровня, осуществляющим диагностические исследования на холеру, относятся лаборатории Центров индикации, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности)*(23).

Региональный уровень: бактериологические лаборатории Центров индикации, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности)

2.29. К бактериологическим лабораториям регионального уровня, имеющим разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности), относятся лаборатории, имеющие*(24):

- лицензию для осуществления медицинской деятельности с указанием выполняемых работ (услуг), связанных с ПБА I-II групп патогенности (опасности);
- лицензию на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности);
- санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности).

Номенклатура и объем диагностических исследований

2.30. Номенклатура. Лаборатории регионального уровня (Центры индикации) осуществляют:

- идентификацию культур холерных вибрионов, выделенных и (или) подтвержденных в лабораториях территориального уровня;
- серологическое обследование больных холерой, вибрионосителей и других контингентов населения - по эпидемиологическим показаниям;
- проверку качества питательных сред для лабораторной диагностики холеры и ингибиторов посторонней микрофлоры;
- диагностические исследования на холеру, предусмотренные для бактериологических лабораторий территориального уровня (п. 2.23).

2.31. Объем. Исследования проводят в объеме, предусмотренном методическими указаниями*(25):

- исследования, предусмотренные пунктами 2.10, 2.24;
- идентификация культур холерных вибрионов, выделенных/подтвержденных в лабораториях территориального уровня в объеме, предусмотренном пунктом 2.24;
- определение чувствительности холерных вибрионов к антибактериальным препаратам методом серийных разведений или диско-диффузионным методом;
- генотипирование и секвенирование выделенных культур при наличии соответствующего оснащения;
- серологическая диагностика холеры;
- проверка качества ингибиторов сопутствующей микрофлоры;
- ПЦР - анализ при массовых исследованиях на холеру по эпидемическим показаниям.

Порядок диагностических исследований

2.32. Порядок исследования клинического материала в бактериологических лабораториях Центров индикации осуществляется в соответствии с пунктами 2.12, 2.25.

Порядок исследования дополнительно предусматривает исследования сывороток крови больных (переболевших) холерой, вибрионосителей, а также других контингентов населения (по эпидемиологическим показаниям) на наличие агглютининов и вибриоцидных антител.

При определении агглютининов в сыворотке крови проводят:

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

При определении вибриоцидных антител в сыворотке крови проводят:

- реакцию вибриоцидных антител (далее - РВА) на основе чашечного метода (Finkelstein);

- РВА на основе ферментации углеводов.

Проверка качества теллурита калия осуществляется в соответствии с [методическими указаниями*\(20\)](#).

Оформление результатов исследования

2.33. Регистрация результатов анализов в бактериологических лабораториях Центров индикации производится по учетным формам в соответствии с [санитарно-эпидемиологическими требованиями*\(12\)](#) и [методическими указаниями*\(13\)](#).

Порядок взаимодействия

2.34. Информация о выделенных и/или идентифицированных культурах холерного вибриона в лабораториях Центров индикации передается в соответствии с нормативной документацией и направляется в Референс-центр ([приложение 8](#) к настоящим МУК).

Штаммы холерных вибрионов, выделенные от людей, из объектов окружающей среды, идентифицированные в лабораториях Центров индикации передают в Референс-центр по мониторингу за холерой ([приложение 9](#) к настоящим МУК).

Срок доставки эпидемически значимых культур - не более чем пять суток, нетоксигенные культуры доставляются не позднее одного месяца. Передача и транспортирование осуществляются в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями*(26).

Федеральный уровень

2.35. К бактериологическим лабораториям федерального уровня относятся лаборатории Референс-центра и Центров верификации диагностической деятельности, осуществляющих функции государственных коллекций Роспотребнадзора (далее - Центров верификации), имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности)*(23).

Федеральный уровень: лаборатории Референс-центра, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности)

2.36. К бактериологическим лабораториям территориального уровня, имеющим разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности), относятся лаборатории, имеющие*(24):

- лицензию для осуществления медицинской деятельности с указанием выполняемых работ (услуг), связанных с ПБА I-II групп патогенности (опасности);

- лицензию на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности);

- санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности).

Номенклатура и объем исследований

2.37. Номенклатура. Лаборатории Референс-центра:

- проводят идентификацию выделенных на территории Российской Федерации штаммов холерных вибрионов O1, O139, PO, и изучение биологических, молекулярно-биологических, биохимических свойств возбудителей холеры, в том числе культур с атипичными свойствами и вновь выявленных холерных вибрионов, явившихся причиной эпидемической вспышки;
- определяют чувствительность холерных вибрионов к антибактериальным препаратам, изучают механизмы резистентности;
- определяют наличие холерного токсина;
- проводят серологическое обследование больных холерой, вибрионосителей и других контингентов населения - по эпидемическим показаниям;
- проводят исследование клинического материала и проб окружающей среды - по эпидемическим показаниям или по согласованию;
- осуществляют хранение штаммов холерных и других патогенных для человека вибрионов в учрежденческой коллекции;
- проводят внешний контроль качества лабораторных исследований на холеру в лабораториях территориального, регионального и федерального уровней.

2.38. Объем. Исследования проводят в объеме, предусмотренном действующими [методическими указаниями*\(27\)](#):

- идентификация культур холерных вибрионов, изолированных от людей и из объектов окружающей среды, выделенных в бактериологических лабораториях территориального и регионального уровней;
- исследование клинического материала; проб из объектов окружающей среды, а также сывороток крови больных холерой (переболевших), вибрионосителей и других контингентов - по эпидемическим показаниям.

При исследовании культур возбудителей холеры используют бактериологические, серологические, биологические и современные методы молекулярно-биологические методы.

Порядок диагностических исследований

2.39. Порядок исследования клинического материала, проб из объектов окружающей среды в лабораториях Референс-центра соответствует [пункту 2.32](#).

При идентификации культур дополнительно проводят расширенную идентификацию, углубленное изучение биологических, молекулярно-биологических (с использованием методов генотипирования и секвенирования), серологических, иммунохимических свойств возбудителя холеры, в том числе штаммов с атипичными свойствами и вновь выявленных штаммов, явившихся причиной эпидемической вспышки. Определяют антибиотикочувствительность, проводят изучение механизмов антибиотикорезистентности.

Референс-центр по мониторингу за холерой разрабатывает контрольные панели (для ПЦР-диагностики, мазки для МФА и др.) и проводит внешний контроль качества лабораторной диагностики холеры на территории субъектов Российской Федерации.

Порядок взаимодействия

2.40. Информация о выделенных и (или) идентифицированных культурах холерного вибриона передается в соответствии со схемой ([приложение 8](#) к настоящему МУК).

Токсигенные культуры холерного вибриона, идентифицированные в лабораториях Референс-центра, передают в Центр верификации ([приложение 9](#) к настоящему МУК).

Передача и транспортирование осуществляются в соответствии с

санитарно-эпидемиологическими требованиями*(26).

Федеральный уровень: лаборатории Центра верификации, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности)

2.41. Номенклатура и объем. Лаборатории Центра верификации проводят:

- верификацию результатов диагностики холеры и идентификации культур, полученных из Референс-центра;
- выполняют диагностические исследования материала от больных холерой и умерших от этого заболевания - по эпидемиологическим показаниям;
- осуществляют хранение коллекционных штаммов, охранный и авторское депонирование.

Порядок исследований

2.42. Порядок исследования клинического материала, проб из объектов окружающей среды на холеру проводят в соответствии с [пунктом 2.39](#).

Осуществляют идентификацию культур, секвенирование, генотипирование штаммов холерных вибрионов, серологическую диагностику и др.

На основании результатов углубленного изучения штаммов холерных вибрионов вносят дополнительные данные в паспорта на штаммы, хранящиеся в Центре верификации.

Порядок взаимодействия

2.43. Центр верификации направляет результаты проведенных исследований в Центры индикации и в Референс-центр.

*(1) [Приказ](#) Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 01.12.2017 N 1116 "О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации" (далее - приказ Роспотребнадзора от 01.12.2017 N 1116).

*(2) [Глава XXV](#) СанПиН 3.3686-21 "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней", утвержденные [постановлением](#) Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2021 N 4 (зарегистрировано Минюстом России 15.02.2021, регистрационный N 62500) (далее - СанПиН 3.3686-21).

*(3) [МУК 4.2.3745-22](#) "Методы лабораторной диагностики холеры", утвержденные руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 12.05.2022 (далее - МУК 4.2.3745-22).

*(4) [Пункты 136, 318-332](#) главы IV; [пункт 1929](#) главы XXV СанПиН 3.3686-21.

*(5) [Пункт 342](#) главы IV; [пункт 1929](#) главы XXV СанПиН 3.3686-21.

*(6) [Пункты 134-136](#) главы IV СанПиН 3.3686-21.

*(7) [Пункты 212, 215, 217, 265, 358, 409, 484-535](#) главы IV СанПиН 3.3686-21.

*(8) [Пункты 149, 300, 150-157](#) главы IV СанПиН 3.3686-21.

*(9) [Глава IV](#) СанПиН 3.3686-21.

*(10) [Пункт 7.6 МУК 4.2.3745-22](#).

*(11) [МУ 3.3.2.2124-06](#) "Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза", утвержденные руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 17.08.2006 (далее - МУ 3.3.2.2124-06).

*(12) [Приложение 7](#) СанПиН 3.3686-21.

*(13) [Приложения 6-11](#) [МУК 4.2.3745-22](#).

*(14) [Пункты 3.2, 4.6](#) [МУК 4.2.3745-22](#).

*(15) [Пункты 4.2-4.8](#) [МУК 4.2.3745-22](#).

*(16) [Пункты 4.5, 4.6](#) [МУК 4.2.3745-22](#).

*(17) [Пункты 507-535](#) главы IV СанПиН 3.3686-21.

*(18) [Пункты 149, 342, 151-154](#) главы IV СанПиН 3.3686-21.

*(19) [Пункты 155-157](#) главы IV СанПиН 3.3686-21.

*(20) [МУ 3.3.2.2124-06](#).

*(21) [Глава XXV](#) СанПиН 3.3686-21.

*(22) [Пункт 4.6](#) [МУК 4.2.3745-22](#).

*(23) [Приказ](#) Роспотребнадзора от 01.12.2017 N 1116.

*(24) [Пункты 134-136, 342](#) главы IV СанПиН 3.3686-21.

*(25) [Пункт 3.3](#) [МУК 4.2.3745-22](#).

*(26) [Пункты 1925, 1945](#) глава XXV СанПиН 3.3686-21.

*(27) [Пункт 3.4](#) [МУК 4.2.3745-22](#).

Подготовка специалистов по лабораторной диагностике холеры в микробиологических лабораториях различного уровня

N п/п	Перечень лабораторий микробиологического профиля с учетом уровней	Профессиональная переподготовка по особо опасным инфекциям специалистов со специальным образованием:		Повышение квалификации по лабораторной диагностике холеры специалистов со специальным образованием:		Другие виды подготовки (семинары по лабораторной диагностике холеры) специалистов со специальным образованием:		Стажировка на рабочем месте в лаборатории особо опасных инфекций ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора специалистов со специальным образованием:	
		высшим	средним	высшим	средним	высшим	средним	высшим	средним
Территориальный уровень									
1	лаборатории МО, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и их филиалов*	-	-	±	±	+	+	±	±
2	лаборатории ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора**	+	+	+	+	+	+	-	-
Региональный уровень									

3	Центры индикации***	+	+	+	+	±	±	-	-
Федеральный уровень									
4	Референс-центр***	+	+	+	+	±	±	-	-
5	Центры верификации***	+	+	+	+	±	±	-	-
<p>Примечания: + обязательный уровень подготовки, - не требуется подготовка для такого уровня, ± подготовка для такого уровня рекомендуется; * имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности); ** имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности); *** имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности).</p>									

Профессиональные навыки специалистов, осуществляющих лабораторную диагностику холеры

1. Знания и умения специалистов МО, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и их филиалов, выполняющих бактериологические исследования на холеру в лабораториях, имеющих разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности)

1. Сотрудникам с высшим специальным образованием необходимо знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за холерой, в том числе 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, связанных с выделением возбудителя холеры;
- 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, серологические и биохимические свойства холерных вибрионов;
- сроки выдачи предварительного положительного результата исследования;
- правила и сроки передачи выделенных (подозрительных) культур.

2. Сотрудникам с высшим специальным образованием необходимо 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) с использованием сывороток холерных специфических;
- вести необходимую документацию.

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.

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

- осуществлять отбор проб воды из поверхностных водоёмов, сточных вод и других объектов окружающей среды (только для лабораторий ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и их филиалов);

- готовить к работе необходимые питательные среды;

- 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, зафиксировать 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, Oгава, Iнаба, RO и O139;

- ставить реакцию иммобилизации с сыворотками холерными;

- готовить отработанный материал для автоклавирования.

2. Знания и умения специалистов, выполняющих бактериологические исследования на холеру в лабораториях, имеющих разрешение на работу с микроорганизмами II-IV групп патогенности (опасности)

1. Сотрудникам с высшим специальным образованием необходимо знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за холерой, в том числе в части, касающейся обследования больных на холеру;

- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований, связанных с выделением возбудителя холеры;

- 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,

к холерным эльтор фагам ctx^+ и ctx^- ;

- методы оценки эпидемической значимости холерных вибрионов (ПЦР);
- методы определения антибиотикочувствительности холерных вибрионов.

2. Сотрудникам с высшим специальным образованием необходимо 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 требованиями санитарно-эпидемиологических правил:

- 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. Лаборантам, медицинским лабораторным техникам и медицинским технологам необходимо 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.

4. Лаборантам, медицинским лабораторным техникам и медицинским технологам необходимо уметь:

- 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, зафиксировать 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, Огава, Инаба, RO и O139;

- ставить реакцию иммобилизации с сыворотками холерными;

- готовить отработанный материал для автоклавирования.

3. Знания и умения специалистов Центров индикации, Референс-центра и Центров верификации, выполняющих бактериологические исследования, связанные с выделением возбудителя холеры в лабораториях, имеющих разрешение на осуществление деятельности,

связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности)

1. Сотрудникам с высшим специальным образованием необходимо 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;
- 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;
- критерии оценки качества питательных сред, используемых для диагностики холеры, ингибиторов посторонней микрофлоры;
- нормативные документы, используемые при проведении лабораторных исследований на холеру.

2. Сотрудникам с высшим специальным образованием необходимо 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.

3. Лаборантам, медицинским лабораторным техникам и медицинским технологам необходимо 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. Лаборантам, медицинским лабораторным техникам и медицинским технологам необходимо уметь:

- 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; определении эпидемической значимости выделенной культуры по регламентированным для этих лабораторий тестам; определении антибиотикочувствительности выделенных культур; 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	
		МО, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадз ора и его филиалы*	ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологи и Роспотребнад зора**	Центры индикации***	Референс-цен тр***	Центры верификации***
1	2	3	4			
1	Среды для выделения и культивирования холерного вибриона из клинического материала и из объектов окружающей среды при проведении бактериологических исследований (Щелочной агар и TCBS-агар)	+			+	
2	Накопительные среды для выделения холерного вибриона из клинического материала и из объектов окружающей среды (Пептон основной)	+			+	
3	Питательные среды для первичной идентификации энтеробактерий	+			+	
4	Среды Гисса с лактозой, сахарозой, глюкозой, маннозой, арабинозой, маннитом	-			+	
5	Среда Хью-Лейфсона для теста ОФ	-			+	
6	Бульон Мартена pH 7,6	-			+	

7	Среда для определения декарбоксилазы лизина	-	+
8	Среда для определения декарбоксилазы орнитина	-	+
9	Среда для определения дигидролазы аргинина	-	+
10	Бульон Кларка	-	+
11	Желатиновый агар	-	+
12	Питательный агар pH 7,2	-	+
13	Бульон Хоттингера pH 7,2	-	+
14	Бульон Хоттингера с 0,1% азотнокислого калия (KNO_3) pH 7,2	-	+
15	Питательный агар с 10% лактозы	-	+
16	Агар Мартена 0,3-0,5-0,7% pH 7,6	-	+
17	Питательные среды для определения чувствительности микробов к антибиотикам	-	+

Примечания:

* - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности);

** - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности);

*** - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности).

* **Примечание.** Допускается использование питательных сред с аналогичными или лучшими характеристиками.

Приложение 4
к МУК 4.2.3746-22

Диагностические препараты и тест-системы, используемые при проведении лабораторной диагностики холеры*

N п/п	Диагностические препараты, тест-системы, биологические препараты	Территориальный уровень		Региональный уровень	Федеральный уровень	
		МО, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадз ора и их филиалы*	ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологи и Роспотребнад зора**	Центры индикации ***	Референс-цен тр***	Центры верификации***
1	2	4#			5	
1	Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие холерные адсорбированные лошадиные, лиофилизат для диагностических целей	+*			+	
2	Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие холерные O139 адсорбированные кроличьи, лиофилизат для диагностических целей	+*			+	
3	Сыворотки диагностические холерные Огава и Инаба адсорбированные сухие для реакции агглютинации (РА)	+			+	
4	Сыворотка диагностическая холерная O1 адсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)	+			+	
5	Сыворотка диагностическая холерная RO адсорбированная сухая для реакции агглютинации (РА)	+			+	
6	Сыворотка диагностическая холерная не O1 группы O139 адсорбированная кроличья	-			+	

	для реакции агглютинации (РА) на стекле, лиофилизат для диагностических целей		
7	Набор реагентов для серологической идентификации <i>V. cholerae</i> O1 и O139 (in vitro) методом РА	+	+
8	Бактериофаги диагностические холерные	-	+
9	Набор реагентов для быстрой идентификации возбудителя холеры O1 серогруппы	-	+
10	Набор реагентов для быстрой идентификации токсигенных штаммов возбудителя холеры "Тест-полоска <i>V. cholerae</i> tox+"	-	+
11	Набор реагентов для определения антигена вибриона холеры методом иммунохроматографии	-	+
12	Набор реагентов тест-система иммуноферментная для выявления холерного вибриона	-	+
13	Тест-система иммуноферментная для определения продукции холерного токсина	-	+
14	Микротест-система для ускоренного определения групп вибрионов по Хейбергу	-	+
15	Микротест-система для биохимической идентификации вибрионов	-	+
16	Системы индикаторные бумажные для идентификации микроорганизмов (СИБ)	-	+
17	Набор для идентификации <i>Enterobacteriaceae</i> и других неприхотливых грамотрицательных палочек	-	+
18	Комплемент сухой	-	+
19	Эритроциты барана (свежие или	-	+

	консервированные)		
20	Набор реагентов для выявления ДНК и идентификации <i>Vibrio cholerae</i> методом полимеразной цепной реакции	-	+
21	Набор реагентов для выявления и ускоренной идентификации ДНК <i>Vibrio cholerae</i> методом мультилокусной полимеразной цепной реакции с электрофоретическим учетом результатов	-	+
22	Набор реагентов ингибитора посторонней микрофлоры	+	+
23	Набор реагентов для идентификации токсигенных штаммов <i>Vibrio cholerae</i> O1 классического и эльтор биоваров, дифференциации эльтор вибрионов на типичные и измененные методом мультилокусной полимеразной цепной реакции с электрофоретическим учетом результатов	-	+
24	Тест-система для определения бактериальной цитохромоксидазы	+	+
25	Реагенты и диски для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам <i>in vitro</i>	-	+
<p>Примечания: +* - при наличии люминесцентного микроскопа; * - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности); ** - лаборатории, имеющие разрешение на работу с микроорганизмами II-IV групп патогенности (опасности); *** - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности).</p>			

* **Примечание.** Допускается использование диагностических препаратов и тест-систем с аналогичными или лучшими характеристиками.

Приложение 5
к МУК 4.2.3746-22

Химические реактивы, используемые при проведении лабораторной диагностики холеры*

N п/п	Реактивы и краски	Территориальный уровень		Региональный уровень	Федеральный уровень	
		МО, ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологи и Роспотребнад зора и его филиалы*	ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора **	Центры индикации***	Референс-цент р***	Центры верификации***
1	2	3	4	5	6	7
1	Бромтимоловый синий	-	+	+	+	+
2	Генцианвиолет	+	+	+	+	+
3	Феноловый красный	+	+	+	+	+
4	Фуксин основной	+	+	+	+	+
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	α -нафтиламин	-	+	+	+	+
16	α -нафтол	+	+	+	+	+
17	Диметил-парафенилендиамин дигидрохлорид (или тетраметил-парафенилендиамин, или аминодиметил-анилин гидрохлорид (оксалат))	+	+	+	+	+
18	Железо сернокислое закисное	+	+	+	+	+
19	Йод кристаллический	+	+	+	+	+
20	Калий азотнокислый	-	+	+	+	+
21	Калий едкий	-	+	+	+	+
22	Калий йодистый	+	+	+	+	+
23	Калий фосфорнокислый двузамещенный (K_2HPO_4)	-	+	+	+	+
24	Калий фосфорнокислый однозамещенный (KH_2HPO_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 лимоннокислый (цитрат)	-	+	+	+	+
37	Натрий углекислый (карбонат)		+	+	+	+
38	Натрий фосфатнокислый	-	+	+	+	+
39	Натрий хлористый	+	+	+	+	+
40	Натрия сульфат	+	+	+	+	+
41	Натрия сульфит	+	+	+	+	+
42	Натрия тиосульфат	+	+	+	+	+
43	Свинец уксуснокислый	-	+	+	+	+
44	О-нитрофенил- β -Д-галактопиранозид(ONPG)	-	+	+	+	+
45	Парадиметиламинобензальдегид	-	+	+	+	+
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 дезинфекционные средства						
55	Спирт этиловый	+	+	+	+	+
56	Хлороформ	-	-	-	+	+
57	Хлорамин или др. регламентированные дезинфектанты	+	+	+	+	+
Примечания:						
* - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности);						
** - лаборатории, имеющие разрешение на работу с микроорганизмами II-IV групп патогенности (опасности);						
*** - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности).						

* **Примечание.** Допускается использование химических реактивов с аналогичными или лучшими характеристиками.

Приложение 6
к МУК 4.2.3746-22

Приборы и оборудование, используемые при проведении лабораторной диагностики холеры*

N п/п	Приборы и оборудование	Территориальный уровень		Региональный уровень	Федеральный уровень	
		МО, ФБУЗ	ФБУЗ Центр	Центры	Референс-ц	Центры

		Центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадз ора и его филиалы	гигиены и эпидемиологи и Роспотребнад зора и его филиалы**	индикации***	ентр***	верификации***
1	2	3	4	5	6	7
1	Автоклав	+	+	+	+	+
2	Аппарат для инаktivирования сывороток	-	-	+	+	+
3	Боксы биологической безопасности II класса	+	+	+	+	+
4	Весы	+	+	+	+	+
5	Гидропульт	+	+	+	+	+
6	Дистиллятор электрический	+	+	+	+	+
7	Лабораторный pH-метр	+	+	+	+	+
8	Лупа ручная 1x10, 1x2,5	+	+	+	+	+
9	Микроскоп бинокулярный	+	+	+	+	+
10	Микроскоп люминесцентный	±	+	+	+	+
11	Микроскоп с устройством косоого освещения	+	+	+	+	+
12	Облучатель бактерицидный	+	+	+	+	+
13	Осветители к микроскопам	+	+	+	+	+
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 бактериологические	+	+	+	+	+
27	Пробки целлюлозные разного размера	+	+	+	+	+
28	Пробки резиновые разного размера	+	+	+	+	+
29	Стандарт мутности для приготовления микробной взвеси N 5 и N 10	-	-	+	+	+
30	Фильтры мембранные N 2 и N 3	+	+	+	+	+
31	Фильтры Зейтца 30 мм с устройством для фильтрации	+	+	+	+	+
32	Часы песочные	+	+	+	+	+
33	Чашки Петри одноразовые	+	+	+	+	+
34	Штативы на 40 и 20 гнезд	+	+	+	+	+
35	Компьютер	+	+	+	+	+
36	МФУ (принтер, сканер, ксерокс)	+	+	+	+	+
Оборудование для ПЦР-диагностики, генетических исследований, MALDI-ToF масс-спектрометрии						
1	Флуоресцентный ПЦР-детектор (формат FEP)	-	±	±	±	±
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 20x20 см	-	+	+	+	+
10	Фотоаппарат цифровой с комплектом светофильтров	-	+	+	+	+
11	Центрифуга лабораторная настольная	-	+	+	+	+

12	Микроцентрифуга лабораторная настольная 1200g	-	+	+	+	+
13	MALDI-ToF масс-спектрометр	-	-	±	+	+
14	Амплификатор для проведения амплификации в режиме реального времени	-	+	+	+	+
15	ПЦР-бокс	-	+	+	+	+
16	Комплект автоматических пипеток	-	+	+	+	+
17	Отсасыватель медицинский	-	±	±	±	±
18	Секвенатор	-	-	-	+	+
Оборудование для отбора проб						
1	Комплект медицинский (укладка универсальная для забора материала 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, емк. 1 л	ФБУЗ Центров гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора и их филиалов	+	+	+	+
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 граненные	+	+	+	+	+
10	Стекло предметное	+	+	+	+	+
11	Стекло с лункой	+	+	+	+	+
12	Стекло покровное	+	+	+	+	+
13	Ступки фарфоровые	+	+	+	+	+
14	Спиртовки	+	+	+	+	+
15	Флаконы разного объема	+	+	+	+	+
16	Цилиндры мерные	+	+	+	+	+
17	Шпатели	-	-	+	+	+

Примечания:

± - рекомендуется;

* - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности);

** - лаборатории, имеющие разрешение на работу на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II-IV групп патогенности (опасности);

*** - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности).

* **Примечание.** Допускается использование приборов и оборудования с аналогичными или лучшими характеристиками.

Приложение 7
к МУК 4.2.3746-22

Антибактериальные препараты, используемые при проведении лабораторной диагностики холеры*

N п/п	Антибактериальные препараты и растворители для них	Территориальный уровень		Региональный уровень	Федеральный уровень	
		МО, ФБУЗ	ФБУЗ Центр	Центры	Референс-це	Центры

		Центр гигиены и эпидемиологи и Роспотребнад зора и его филиалы*	гигиены и эпидемиоло гии Роспотребна дзора**	индикации***	нтр***	верификации***
1	3	3	4	5		
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 сульфамонометаксин/триметоприм	-	-	+		
15	Диски с антибактериальными препаратами: доксициклин, тетрациклин, левомицетин, налидиксовая кислота, ципрофлоксацин, фуразолидон, ампициллин, цефотаксим, рифампицин, стрептомицин, гентамицин, канамицин, сульфаметоксазол/триметоприм или сульфамонометаксин/триметоприм	-	+	+		
Примечания:						
* - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности						

(опасности);
** - лаборатории, имеющие разрешение на работу с микроорганизмами II-IV групп патогенности (опасности);
*** - лаборатории, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей I-II групп патогенности (опасности).

* **Примечание.** Допускается использование антибактериальных препаратов с аналогичными или лучшими характеристиками.

Приложение 8
к МУК 4.2.3746-22

Схема передачи информации о выделении культур холерного вибриона O1, O139 серогруппы в лабораториях различного уровня

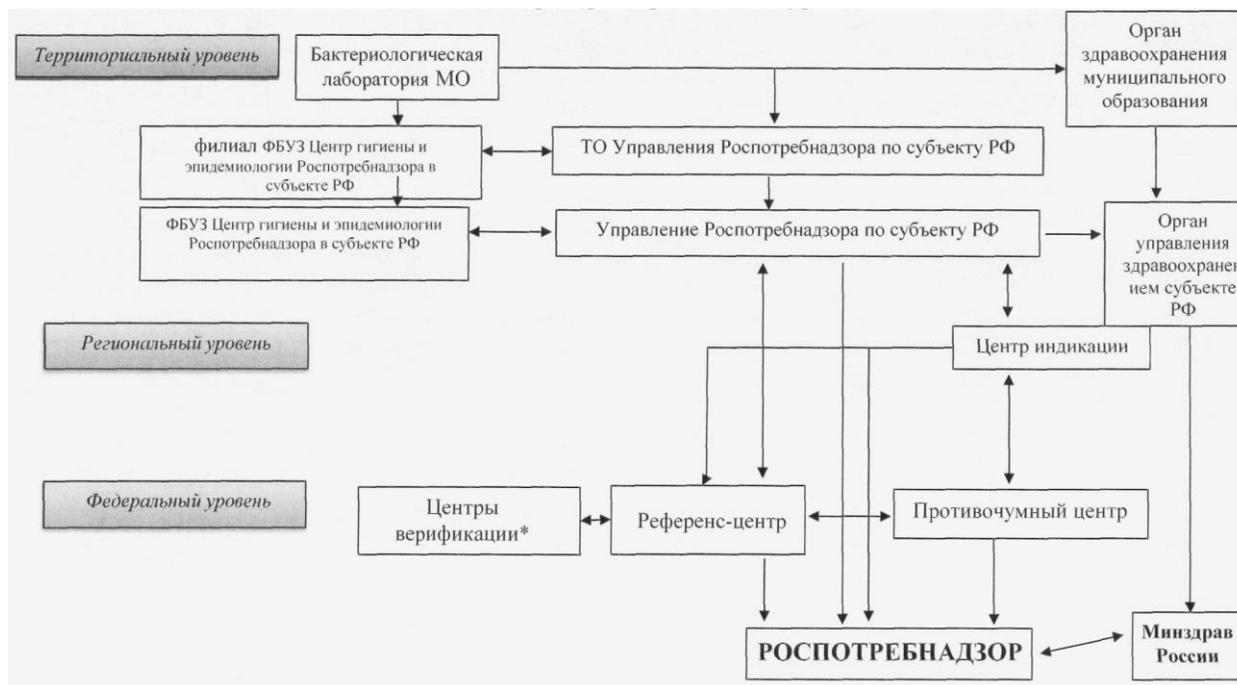


Схема передачи выделенных культур *V. cholerae* O1, O139 для идентификации в учреждениях различного уровня



Библиографические ссылки

1. [Федеральный закон](#) от 30.03.1999 N 52-ФЗ "О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения".
2. [СанПиН 3.3686-21](#) "Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней".
3. [Приказ](#) Роспотребнадзора от 01.12.2017 N 1116 "О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации".
4. [МУК 4.2.3745-22](#) "Методы лабораторной диагностики холеры".
5. [МУ 3.3.2.2124-06](#) "Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза".

Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации

А.Ю. Попова