

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Н А К А З

30.05.97

N 167

м.Київ

Про удосконалення протихолерних заходів в Україні

(Із змінами, внесеними згідно з Наказом МОЗ N 188 від 17.05.2001 )

Аналіз епідемічної ситуації з холери, що склалась в Україні в останні роки, виявив деякі особливості як з боку перебігу захворювання, факторів передачі інфекції, зміни властивостей збудника, так і розповсюдження холери на території країни, організації і проведення протихолерних заходів.

За період 1994 - 1996 рр. в 15 областях і м.Севастополі захворіло на холеру 1370 чоловік, зареєстровано 999 вібріононосіїв. Найбільш несприятливою була ситуація 1994 року у Миколаївській області, де зареєстровано 90 % хворих і вібріононосіїв.

Особливістю спалахів 1994 - 1995 рр. було і включення в епідпроцес значної кількості сільського населення, а також розповсюдження захворювань при проведенні ритуальних заходів. Сроки локалізації і ліквідації спалахів холери, на відміну від вісімдесятих років, затягувались до 2 - 3 місяців.

Широкому розповсюдженню холери сприяв вкрай незадовільний санітарно-комунальний стан окремих територій, зокрема, недостатнє забезпечення населення доброякісною питною водою, аварійний стан каналізаційних мереж, суттєві недоліки в санітарній очистці населених пунктів, відсутність локальних очисних споруд в інфекційних стаціонарах.

Щороку у 7-12 областях з об'єктів довкілля виділяються холерні вібріони. Так, у 1994 року виділено 230 культур у 20 областях, 1995 року 316 культур в 11 областях, 1996 року 27 у 7 областях України.

Укорінення холерного вібріона в деяких регіонах України в об'єктах довкілля становить реальну загрозу виникнення нових випадків холери.

Настороженість медичних працівників щодо холери була недостатня, траплялись випадки їх зараження. Мали місце недоліки при епідеміологічних обстеженнях, несвоєчасна ізоляція хворих з підозрою на холеру та контактних з ними осіб.

Є значні недоліки в готовності госпітальної бази, відсутні спеціальне обладнання для визначення електролітів, дитячі інфекційні відділення анестезіології та інтенсивної терапії, необхідні умови для додержання протиепідемічного режиму.

В умовах економічної кризи, незадовільного стану комунального господарства, постійного забруднення відкритих водоймищ незараженими господарсько-побутовими стоками прогноз щодо виникнення холери, а також завезення її в Україну залишаються реальними.

З метою недопущення спалахів холери на території України, своєчасного проведення протихолерних заходів НАКАЗУЮ:

1. Затвердити:

1.1. Інструкцію по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці.

1.2. Перелік територій України за типами епідемічного прояву холери.

1.3. Обсяг профілактичних бактеріологічних досліджень на холеру.

1.4. Порядок інформування про виділення культур холерних вібріонів.

1.5. Обсяг оперативної інформації про випадок захворювання на холеру (вібріоносійства).

2. Міністру охорони здоров'я Автономної Республіки Крим, начальникам управлінь охорони здоров'я обласних, Київської та Севастопольської міських державних адміністрацій, головним державним санітарним лікарям Автономної Республіки Крим, областей, міст Києва та Севастополя, на водному, залізничному та повітряному транспорті:

2.1. Забезпечити організацію та проведення заходів з профілактики та боротьби з холерою в обсязі та порядку, визначених Інструкцією.

2.2. Щороку до 1 травня проводити коректування планів санітарної охорони території (міст та районів) з внесенням необхідних доповнень.

2.3. Щороку у I кварталі розглядати питання про готовність медичних закладів до проведення протихолерних заходів на засіданні колегій, медичних рад.

2.4. Щотижня аналізувати став захворюваності на гострі кишкові інфекції та хід обстеження людей і об'єктів довкілля на холеру.

2.5. Щотижневі інформації з 01.05 до 01.11 про обсяг обстежень людей та об'єктів довкілля і виділення холерних вібріонів надсилати до Українського центру держсанепіднагляду у встановлені строки.

2.6. Посилити державний санітарно-епідеміологічний нагляд за санітарним станом населених міст, об'єктами водопостачання, харчування, оздоровчими установами тощо. У разі необхідності виносити ці питання на засідання надзвичайних протиепідемічних комісій. При виявленні грубих недоліків зупиняти роботу об'єктів згідно з Законом України "Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення".

2.7. Щороку у I кварталі проводити перепідготовку лікарів-інфекціоністів, лікарів - дитячих інфекціоністів, терапевтів, педіатрів, реаніматологів, лікарів швидкої медичної допомоги з питань епідеміології, діагностики, профілактики та лікування холери з прийняттям диференційованих заходів.

2.8. Оснастити дитячі інфекційні відділення анестезіології та інтенсивної терапії, палати інтенсивної терапії інфекційних стаціонарів сучасною діагностичною, лікувальною апаратурою та медикаментами. Включити до складу холерних шпиталів дитячі інфекційні відділення анестезіології та інтенсивної терапії.

2.9. Забезпечити постійну готовність до роботи в умовах епідускладень з холери всіх медичних закладів, контроль за виконанням протиепідемічного режиму роботи в них. Створити запас необхідних лікувальних, діагностичних, дезінфекційних засобів та поживних середовищ для проведення екстрених протихолерних заходів.

2.10. Інформацію про виконання цього наказу щороку надсилати до Українського центру держсанепіднагляду до 20 січня.

3. Головному санепідуправлінню (Бережнов С.П.), Головному управлінню лікувально-профілактичної допомоги (Кашук Л.О.), Головному управлінню медичної допомоги дітям і матерям (Гойда Н.Г.) розробити додаткові заходи щодо можливості надання допомоги місцевим органам та закладам охорони здоров'я на випадок значного ускладнення епідситуації з холери (відрядження необхідних фахівців, направлення діагностичних препаратів, поживних середовищ, лікувальних та дезінфекційних засобів тощо).

4. Виконуючому обов'язки генерального директора УО "Укрфармація" (Круценко І.П.) забезпечити виконання заявок територіальних ВО "Фармація" щодо постачання їм хімікатів для

приготування розчину "Квартасоль", розчинів для перорального застосування, антибіотиків та дезінфекційних засобів.

5. Директору Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб (Щербінська А.М.) продовжити вивчення холерних вібріонів на молекулярно-генетичному рівні, провести роботу по створенню національної колекції штамів.

6. Директору Українського Інституту громадського здоров'я (Пономареко В.М.) забезпечити постійну цілеспрямовану санітарно-освітню роботу серед населення, особливо на територіях, небезпечних з холери.

7. Вважати такими, що втратили чинність, наказ МОЗ України від 15.02.95 N 32 "Про надзвичайну ситуацію з холери в Україні", "Инструкция по организации и проведению противохолерных мероприятий", Москва, 1991 р. та "Инструкция по лабораторной диагностике холеры", Москва, 1984 р.

8. Контроль за виконанням наказу покласти на Головного державного санітарного лікаря України, першого заступника Міністра Некрасову Л.С.

Міністр

А.М. Сердюк

## ІНСТРУКЦІЯ

по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери

Найбільші за 70 років спалахи холери спостерігались в світі в 1991 році, коли захворіло 594 тис. чоловік, що в 11 разів більше, ніж у 1990 році. Після 1991 року кількість захворілих поступово знижувалась і становила в 1992, 1993, 1994 роках, відповідно, 461, 376 і 280 тис. чоловік. Слід відмітити, що на фоні різкого зменшення кількості хворих з 1992 до 1994 року (в 4 рази) на Американському континенті, майже вдвічі зросла їх кількість в Африці і в 150 разів - в Європі. Великий спалах холери (1200 хворих) зареєстровано в 1994 році в Росії (республіка Дагестан).

В 1994-1995 рр. епідемічна ситуація з холери в Україні значно погіршилась. Були зареєстровані великі спалахи холери у різних регіонах держави (Автономна Республіка Крим, Миколаївська, Херсонська, Одеська, Запорізька, Дніпропетровська області). З цих вогнищ були виноси інфекції на територію 6 областей країни (Житомирську, Кіровоградську, Львівську, Луганську, Чернівецьку, Черкаську) та в м.Севастополь.

Епідеміологічний аналіз цих спалахів виявив особливості, які до цього часу не зустрічались на території України (виявлення риби, як фактора передачі збудника, внутрішньолікарняні спалахи, групові захворювання, пов'язані зі святами, ритуальними обрядами тощо, укорінення збудника в окремих регіонах країни), у зв'язку з чим виникла необхідність щодо внесення коректив у систему епідеміологічного нагляду за холерою та проведення протиепідемічних заходів.

### 1. Профілактичні заходи

#### 1.1. Організаційні заходи

1.1.1. Профілактичні заходи по недопущенню випадків захворювання на холеру, можливого розповсюдження їх проводяться на території країни згідно з Законом України "Про забезпечення санітарного та епідемічного благополуччя населення", "Правилами з санітарної охорони території України", а також діючими наказами МОЗ України з питань профілактики холери.

Згідно цих документів в Автономній Республіці Крим, областях, містах і районах розробляються комплексні плани санітарної охорони території та оперативні плани окремих медичних установ, у яких передбачаються питання профілактики холери та організації протиепідемічних заходів на випадок виникнення вогнищ цього захворювання. Комплексні плани повинні бути узгоджені зі службами та установами, які залучаються до їх реалізації, та затверджені відповідними органами виконавчої влади. Ці плани діють 5 років, щорічно коригуються, вони повинні визначати терміни виконання заходів, відповідальних виконавців.

1.1.2. При розробці комплексних планів необхідно враховувати показники, що характеризують епідситуацію з холери на території протягом останніх п'яти років:

до якого типу епідемічного прояву холери належить адміністративна територія;

дані аналізу інфікованості людей збудником холери та виділення холерних вібріонів О1 з об'єктів навкілля;

клімато-географічні особливості території;

транспортні зв'язки, міграція населення, санітарно - гігієнічний стан території (водопостачання, каналізація, санітарна очистка);

характер та умови рекреаційного та господарчого водокористування;

звичаї корінного населення;

санітарно-гігієнічний режим на підприємствах харчової промисловості, торгівлі, пунктів масового скупчення людей;

епідемічний стан з холери на суміжних територіях та в країнах, з якими існують транспортні зв'язки.

1.1.3. В комплексних та оперативних планах особливу увагу необхідно наділяти таким питанням:

готовності та взаємодії лікувально-профілактичних, санітарно-профілактичних, протичумних закладів, відомчих служб до локалізації та ліквідації вогнищ холери;

забезпеченню постійного епідеміологічного нагляду за холерою, з урахуванням наявності джерела інфекції, реалізації масових шляхів та факторів передачі холери, інших гострих кишкових інфекцій, типів територій;

спеціальній підготовці медичних та немедичних кадрів, з питань проведення протиепідемічних заходів по своєчасній локалізації та ліквідації вогнища інфекції, з розрахунком необхідних для цього сил та засобів як для поодиноких, так і масових випадків захворювання на холеру, що відбиті в оперативних планах, які щорічно опрацьовуються кожним медичним закладом;

санітарно-освітній роботі.

При плануванні необхідно визначити:

1.1.3.1. Терміни виконання заходів, відповідальних виконавців.

1.1.3.2. Потужність стаціонарів з урахуванням типу території щодо епідемічних проявів холери, укомплектування кадрами, матеріально-технічним оснащенням, забезпечення резерву засобів патогенетичної, етиотропної терапії і деззасобів.

1.1.3.3. Паспортизацію холерного, провізорного стаціонарів, ізолятора та обсерватора.

1.1.3.4. Формування лабораторної бази для проведення досліджень на холеру з визначенням її потужності, забезпеченості кадрами, необхідним обладнанням і засобами діагностики, перерозподіл досліджень на інші інфекції при перепрофілюванні бактеріологічних лабораторій, складання схем перепрофілювання.

1.1.3.5. Забезпечення бактеріологічних лабораторій поживними середовищами та іншими засобами для діагностики.

1.1.3.6. Створення обласного (республіканського) резерва кадрів лікарів, лаборантів, помічників епідеміологів та визначення резерва із числа медичних і немедичних працівників для прийняття участі в проведенні протихолерних заходів на територіях I і II типів.

1.1.3.7. Порядок і забезпечення охорони спецстаціонарів, бактеріологічних лабораторій та інших заходів, що здійснюються Міністерством внутрішніх справ (МВС).

1.1.3.8. Джерела поповнення і розподіл автотранспорту для роботи у вогнищі холери.

Крім того передбачити:

1.1.3.9. Забезпечення протиепідемічної готовності всіх лікувально-профілактичних закладів: лікарень, поліклінік, станцій і пунктів швидкої медичної допомоги, прозектур, міських і районних лікарень і судово-медичних експертиз; психоневрологічних стаціонарів і диспансерів.

1.1.3.10. Забезпечення протиепідемічної готовності установ санепідслужби України, в тому числі на залізничному, повітряному і водному транспорті, МВС, санаторно-курортних закладів, закладів АТ "Інтурист", а також об'єктів підвищеного епідемічного ризику.

1.1.3.11. Організацію і забезпечення взаємодії територіальних органів управління, установами охорони здоров'я санепідслужби і відомчих закладів на випадок виникнення епідемічних ускладнень з холери.

## 1.2. Підготовка кадрів

1.2.1. Щорічно проводиться теоретична та практична підготовка медичних працівників загальномедичної мережі та відомчої служби з питань холери на курсах, семінарах, науково-практичних конференціях та робочих місцях:

заступників головних лікарів лікувально-профілактичних закладів, лікувально-санітарних служб, завідуючих лікувальними дільницями, фельдшерсько-акушерськими пунктами;

лікарів-інфекціоністів, терапевтів, що залучаються до роботи у спеціально призначених холерних, провізорних стаціонарах, ізоляторах;

медичних робітників санітарно-епідеміологічних та дезінфекційних станцій (епідеміологів, бактеріологів, дезінфекціоністів);

середніх медичних працівників та лаборантів;

медичних робітників станцій (пунктів) швидкої допомоги, прозектур, судово-медичних бюро;

немедичних працівників цивільної авіації, залізничного транспорту, річкового і морського флоту (бортпровідники, провідники, командири екіпажів, помічники капітанів тощо), МВС, АТ "Інтурист", готелів, санаторно-курортних закладів.

1.2.2. На територіях I і II типів територій проводиться крім того підготовка:

медичних працівників відомчих медичних закладів, психоневрологічних стаціонарів та закритих медичних спеціалізованих установ;

медичних працівників інших ЛПЗ, в т.ч. резерва;

немедичних працівників, які залучаються до роботи в стаціонарах спеціального призначення, в бактеріологічних лабораторіях;

працівників Комітетів Червоного Хреста (санітарний актив).

1.2.3. Проводяться практичні та теоретичні тренування з відпрацюванням функціональних обов'язків та практичних навичок на випадок виявлення хворого з підозрою на холеру.

## 1.3. Епідеміологічний нагляд

Мета епіднагляду - попередження виникнення епідускладнень на холеру серед населення. Епіднагляд при холері передбачає систему заходів, направлених на своєчасне виявлення хворих на холеру та вібріононосіїв, виявлення холерного вібріону в об'єктах довкілля, інформаційне забезпечення, виявлення факторів, що визначають розвиток епідпроцесу, розробку рекомендацій по плануванню та проведенню профілактичних та протиепідемічних заходів з оцінкою їх ефективності. Епіднагляд за холерою проводиться на території всієї країни диференційовано з урахуванням типів епідемічного прояву холери фахівцями санітарно-епідеміологічних та лікувально-профілактичних установ.

1.3.1. На території всієї країни проводиться:

інформаційне забезпечення медичних установ та закладів щодо епідемічної ситуації з холери на території країни та у світі;

аналіз даних про інфікованість людей холерним вібрионом та виділення збудника з об'єктів довкілля, оперативний епіданаліз захворюваності на гострі кишкові інфекції з особливою увагою на захворювання невизначеної етіології, взаємозв'язок із санітарним фоном, умовами рекреаційного водокористування з метою обґрунтування заходів, передбачених епідпаглядом;

епідеміологічна оцінка санітарно-гігієнічних умов населеного пункту;

бактеріологічні дослідження на холеру окремих груп населення, передбачених нормативними документами;

визначення обсягу бактеріологічних досліджень води відкритих водоймищ, стічних вод з урахуванням епідеміологічних і санітарно-гігієнічних показників.

1.3.2. Головне санепідуправління МОЗ України повідомляє керівників органів та установ охорони здоров'я на місцях про захворюваність на холеру в країні.

Одеська протичумна станція щомісячно надсилає інформацію про захворюваність на холеру та інші карантинні інфекції у світі санепідстанції Автономної Республіки Крим, обласним, Київській та Севастопольській міським санепідстанціям, санепідстанціям відомчих медичних служб, іншим зацікавленим установам.

Український центр держсанепіднагляду повідомляє керівників обласних та відомчих санепідстанцій, протичумні станції про виділення культур холерних вібрионів від людей та об'єктів навколишнього середовища в країні.

1.3.3. Епіданаліз захворюваності на гострі кишкові інфекції проводиться згідно діючих нормативних документів, з визначенням територій, що стали стійко небезпечними по рівню захворюваності на гострі кишкові інфекції, встановлення умов високої захворюваності, основних джерел інфекції, факторів та шляхів передачі.

1.3.4. Ретроспективний епіданаліз при холері проводиться з урахуванням токсигенності виділених культур і передбачає: визначення рівня інфікованості, інтенсивності та періода виділення холерних вібрионів з об'єктів довкілля, умов для їх зберігання; визначення умов виникнення спалаху, джерел інфекції, провідних шляхів і факторів передачі, умов, що сприяли розповсюдженню холери (клімато-географічні, еколого-гігієнічні, соціальні та інші).

1.3.5. Хворі на гострі кишкові інфекції підлягають бактеріологічному обстеженню на холеру до початку антибактеріальної терапії; строки бакдосліджень, контингент досліджуваних, а також кратність досліджень визначаються наказами МОЗ України.

1.3.6. Бактеріологічні дослідження на холеру матеріалу від померлих від гострих кишкових інфекцій, проводяться з урахуванням епідемічної ситуації та характеру паталого-анатомічних змін.

1.3.7. Визначення стаціонарних та тимчасових точок забору проб води для дослідження на холеру, з урахуванням епідеміологічних та санітарно-гігієнічних показників здійснюють міські та районні санітарно-епідеміологічні станції. Перелік точок забору затверджується обласними, республіканськими санепідстанціями.

На стаціонарні точки заповнюються паспорти (додаток 11).

1.3.8. Обов'язковому бактеріологічному дослідженню підлягає вода відкритих (поверхневих) водоймищ в зонах санітарної охорони водозабору для централізованого водопостачання, у місцях викиду стічних вод, незалежно від їх очистки, в місцях масового рекреаційного водокористування, стічні води інфекційних стаціонарів.

1.3.9. В місцях відбору проб з відкритих водоймищ слід організувати проведення фізико-хімічних та бактеріологічних досліджень, згідно діючим нормативним документам.

1.3.10. Дані епідагляду є основою для внесення коректив в розподіл території України по типам епідпрояву захворювань холерою, диференціювання обсягу протихолерних заходів.

1.4. Заходи, які проводяться при виділенні холерних вібріонів 01 з об'єктів довкілля.

1.4.1. При виділенні вірулентних, токсигенних штамів холерних вібріонів з об'єктів довкілля, а також до визначення вірулентності, токсигенності виділених культур:

вводяться обмежувальні заходи щодо водокористування відкритими водоймищами в місцях, визначених місцевими органами санепідагляду;

збільшується кількість точок забору проб води відкритих водоймищ;

дослідження проводяться щоденно;

проводяться епідеміологічні обстеження з метою виявлення джерела контамінації відкритих водоймищ;

здійснюється бактеріологічне обстеження на холеру хворих гострими кишковими інфекціями (одноразово);

заходи відміняються після отримання трьох послідовних від'ємних результатів.

1.4.2. При виділенні слабо- та авірулентних, атоксигенних холерних вібріонів, заходи, зазначені в п.1.4.1., відміняються.

## 2. Локалізація і ліквідація вогнища холери

### 2.1. Організаційні заходи

2.1.1. Місто, район, селище і т.ін. оголошуються вогнищем холери по рішенням місцевої влади на основі подання територіальної НПК (Надзвичайної протиепідемічної комісії) в разі виявлення першого випадку захворювання або вібриононосійства, незалежно від вірулентності виділених культур вібріонів.

Територіальна Надзвичайна протиепідемічна комісія при виявленні першого випадку захворювання на холеру розробляє та затверджує оперативний план локалізації та ліквідації вогнища холери та вносить, вразі необхідності, доповнення до цього плану та контролює його виконання.

2.1.2. Контроль за проведенням необхідних протихолерних заходів здійснюється Надзвичайними протиепідемічними комісіями району, міста, області, Автономної республіки або країни.

2.1.3. Організацією протихолерних заходів безпосередньо займається медичний штаб вогнища.

2.1.4. Начальник вогнища, а це, як правило, один із керівників місцевої державної адміністрації, начальник медичного штабу і його заступник, а це, як правило, керівники місцевих органів охорони здоров'я та державної санітарно-епідеміологічної служби, та керівники окремих служб (протиепідемічної, профілактичної, лікувальної, лабораторної та адміністративно-господарської) призначаються рішенням НПК.

2.1.5. Керівники груп та інших підрозділів, що входять до складу означених служб, а також поіменний склад цих груп затверджується наказом начальника медичного штабу.

2.1.6. Всі фахівці, що відряджаються до Штабу для роботи по ліквідації вогнища холери, передають всі свої поточні справи іншим працівникам, займаються лише протихолерними

заходами і повністю підпорядковуються керівникам відповідних служб і груп медичного штабу. Начальник штабу та його заступник також повністю звільняється від своїх поточних справ.

2.1.7. Керівниками служб та груп можуть призначатися місцеві або прибулі у вогнище фахівці по профілю.

2.1.8. Кількість особового складу різних служб може бути змінена наказом по Штабу в залежності від інтенсивності епідемічного процесу у вогнищі холери.

2.1.9. Закріплені за штабом фахівці, як правило, працюють до ліквідації вогнища холери і мають право на додаткову оплату за роботу у вогнищі холери.

2.1.10. За штабом закріплюється не більше 20-25 % медичних працівників санітарно-епідеміологічного профілю, інфекціоністів та лаборантів від загальної їх кількості в місті або районі, де виник спалах холери. Інші фахівці займаються тільки своїми поточними справами. Якщо закріплених за штабом працівників не вистачає для роботи у вогнищі холери, туди, щоб не відволікати місцевих фахівців від основної роботи, відряджають представників області або країни.

2.1.11. Керівники закладів, що підпорядковані МОЗ України, направляють своїх співробітників у вогнища холери, згідно розпорядження.

2.1.12. Протиепідемічна служба у вогнищі складається з:

групи обліку і інформації про протихолерні заходи;

груп епідеміологічного обстеження виявлених вогнищ холери;

дезінфекційних бригад;

груп відбору проб матеріалу від людей для лабораторного дослідження;

груп відбору проб з об'єктів довкілля для лабораторного дослідження;

груп контролю за забезпеченням режиму безпеки роботи в холерному та провізорному госпіталях, ізоляторі, бактеріологічних лабораторіях та інших медичних установах незалежно від їх відомчої належності;

груп епідеміологічного аналізу і консультантів.

2.1.13. Профілактична служба створюється в складі:

групи нагляду за комунальними об'єктами;

групи нагляду за підприємствами харчової промисловості, громадського харчування, торгівлі харчовими продуктами;

груп нагляду за дитячими і підлітковими закладами;

груп нагляду за промисловими та іншими об'єктами.

2.1.14. Лікувальна служба створюється в складі:

госпітальної бази - холерний стаціонар, провізорний стаціонар, ізолятор для госпіталізації осіб, які спілкувалися з хворими на холеру та вібріононосіями;

груп обліку та інформації про лікувально-профілактичні, протихолерні заходи;

груп евакуації хворих на холеру, вібріононосіїв та контактних з ними;

груп подвірних обходів (при необхідності);

паталого-анатомічної групи;

груп консультантів-інфекціоністів.

2.1.15. Лабораторна служба створюється в складі:

лабораторій по обстеженню людей;

лабораторій по обстеженню об'єктів довкілля.

В кожній лабораторії створюються:

групи прийому та реєстрації матеріала;

групи розливу середовищ та підготовки їх до пересівів;

групи перегляду посівів та відбору колоній;

групи ідентифікації виділених культур;

групи миття, підготовки та стерилізації посуду;

групи серологічних досліджень;

групи виготовлення поживних середовищ.

2.1.16. Формування адміністративно-господарської служби.

2.1.17. Медичний штаб вогнища холери щоденно заслуховує доповіді керівників служб про епідситуацію та проведення необхідних заходів, готує відповідну інформацію.

2.2. Протиепідемічні заходи

2.2.1. Заходи, які необхідно проводити в разі виділення від хворих на холеру і вібріононосіїв вірулентних (токсигенних) штамів холерних вібріонів 01 групи:

епідеміологічне розслідування кожного випадку холери і вібріононосійства;

госпіталізація хворих на холеру, у т.ч. з підозрою на холеру, а також вібріононосіїв в холерний шпиталь, з обов'язковим одноразовим бактеріологічним обстеженням;

виявлення, ізоляція (або медичний нагляд), бактеріологічне обстеження на холеру і превентивне лікування (по епідпоказникам) контактних;

активне виявлення, госпіталізація в провізорний стаціонар і бактеріологічне обстеження на холеру хворих на гострі кишкові захворювання;

обов'язковий розтин з бактеріологічним дослідженням на холеру померлих від гострих кишкових захворювань, а також померлих від холери;

оперативний епідеміологічний аналіз захворюваності гострими кишковими інфекціями та на холеру, пов'язаною з особливістю водокористування, а також харчування;

профілактична та заключна дезінфекція;

збільшення обсягу бактеріологічних досліджень на холеру об'єктів довкілля в разі необхідності;

введення заходів щодо обмеження користування водою відкритих водоймищ в рекреаційних та побутових цілях;

посилення санітарного нагляду за підприємствами громадського харчування, харчової промисловості і торгівлі харчовими продуктами, водопровідними та каналізаційними спорудами.

2.2.2. Заходи, які необхідно проводити при виділенні від хворих на холеру і вібріононосіїв слабо- і авірулентних (атоксигенних) штамів вібріонів 01 групи:

госпіталізація хворих на холеру і вібріононосіїв в холерний госпіталь;

епідеміологічне розслідування кожного випадку холери і вібріононосійства;

виявлення та бактеріологічне обстеження і медичний нагляд за контактними особами в родині, за місцем проживання, роботи або навчання;

бактеріологічне обстеження на холеру і превентивне лікування осіб, які мали контакт з хворими або вібріононосіями і що працюють на підприємствах громадського харчування, харчової промисловості і торгівлі харчовими продуктами;

одноразове бактеріологічне обстеження на холеру всіх хворих на гострі кишкові інфекції та їх обов'язкова госпіталізація;

профілактична та завершальна дезінфекція.

До визначення ступеню патогенності ізольованих штамів вібріонів всі заходи проводяться в обсязі, який передбачено при виділенні вірулентних штамів.

2.3. Організаційні заходи по госпіталізації хворих на холеру, вібріононосіїв, ізоляції осіб, що спілкувалися з ними, а також хворих на ГКІ.

2.3.1. Госпіталізацію в холерний госпіталь хворих або підозрілих на холеру і вібріононосіїв забезпечують дезінфекційні станції (відділення) або станції швидкої медичної допомоги автотранспортом цих закладів бригадами евакуаторів у складі лікаря, або середнього медичного працівника і санітара.

2.3.2. Всі транспортні засоби для госпіталізації хворих на холеру повинні бути обладнані регідратаційними системами, посудом для збирання виділень хворих, дезінфікуючими засобами, гідропультом, підкладною клейонкою.

2.3.3. Осіб, які були в контакті з хворим на холеру або вібріононосієм, направляють в ізолятори у супроводженні середнього медичного працівника на спеціальному транспорті, виділеному дезінфекційною станцією чи відділом дезінфекції санітарно-епідеміологічної станції або станцією швидкою медичної допомоги.

2.3.4. Персонал, що обслуговує евакотранспорт, після закінчення зміни проходить санітарну обробку. Особовий склад бригад евакуаторів повинен бути одягнений в піжами, хірургічні халати, шапочки та косинки (протичумний костюм четвертого типу).

2.3.5. Після госпіталізації хворих (вібріононосіїв) та ізоляції контактних транспорт підлягає заключній дезінфекції силами лікувальних закладів або евакобригади, що знаходиться на території лікарні на спеціально виділеному майданчику.

2.3.6. Не дозволяється видача направлень для госпіталізації на руки хворим на гострі кишкові інфекції і особам, що спілкувалися з хворим на холеру або носієм, та їх доставлення в лікарню випадковим транспортом.

2.3.7. В населеному пункті, де виявляються хворі на холеру або вібріононосії, в вогнищах гострих кишкових захворювань проводяться такі заходи:

- епідеміологічне обстеження, результати обстеження відображаються в карті;
- медичний нагляд за особами, що спілкувались з хворим до закінчення, бактеріологічного дослідження хворих;
- обов'язкова госпіталізація хворих на гострі кишкові інфекції.

2.4. Організація стаціонарів у вогнищі холери.

2.4.1. Стаціонар для хворих на холеру:

- розгортають на базі інфекційної лікарні чи відділення;
- реанімаційне відділення розгортають окремо для дорослих і дітей;

- в першу чергу ці відділення оснащуються сучасною апаратурою для визначення електролітів крові.

2.4.2. Провізорні стаціонари можуть розгортатися в непрофільних відділеннях, але з дотриманням всіх протиепідемічних заходів, як в інфекційних відділеннях.

2.4.3. В психоневрологічних лікарнях та диспансерах розгортаються приміщення для провізорної госпіталізації хворих з явищами дисфункції.

2.4.4. Ізолятори розгортаються на базі лікувальних закладів, але можливе їх функціонування в школах, базах відпочинку, готелях.

2.4.5. Обсерватори в разі необхідності розгортаються на базі оздоровчих закладів, готелів, гуртожитків і т.і.

## 2.5. Епідеміологічне обстеження

2.5.1. Епідеміологічному обстеженню підлягає кожний хворий на холеру і вібріононосій по місцю проживання, роботи, навчання і інших місць їх перебування. Його проводять групи епідеміологічного обстеження в складі лікаря-епідеміолога і його помічника. При необхідності (з урахуванням епідемічної ситуації) до проведення епідеміологічного обстеження залучають лікарів по санітарному нагляду за комунальними, харчовими та іншими об'єктами.

2.5.2. Обстеження проводять з метою визначення джерела інфекції, конкретних місць і умов зараження хворого і вібріоносія, виявлення контактних з ними осіб, а також можливі шляхи і фактори розповсюдження збудника холери, визначення кордонів вогнища і обсягу протиепідемічних заходів.

2.5.3. Епідеміологічне обстеження включає: оцінку епідемічної ситуації по матеріалах планового епідеміологічного нагляду за холерою і іншими кишковими інфекціями; епідеміологічну оцінку санітарно-гігієнічних умов господарсько-питного, побутового водокористування і каналізування; соціально-економічні умови, міграційні процеси; виявлення обрядів населення; визначення найбільш небезпечних ділянок і об'єктів ризику в ореалі вогнища, а також груп населення, що мають високий ризик інфікування і тому забезпечуються силами діляничних медичних працівників медичним наглядом (особи, які живуть біля водоймищ, контамінованих холерними вібріонами, страждають анацидними і гіпоцидними гастритами, перенесли резекцію шлунка, зловживають алкоголем, осіб без визначених занять, певного місця проживання, а також осіб, які проживають в місцях вимушеного перебування).

2.5.4. При проведенні епідеміологічного обстеження лікар епідеміолог:

збирає епідеміологічний анамнез;

проводить відбір проб (продукти, вода, змиви з предметів вжитку, вміст неканалізованих вбиралень і т.ін.), необхідних для бактеріологічного дослідження;

складає список осіб, які контактували з хворим або вібріононосителем і знаходилися в однакових з ними умовах по ризику інфікування; визначає тих, хто потребує ізоляції, а хто - медичного спостереження;

виявляє осіб, які контактували з хворим на холеру або вібріононосителем і вибули із вогнища до початку епідобстеження, з метою направлення екстрених повідомлень в місця, куди виїхали ці особи;

визначає обсяг і послідовність інших протиепідемічних заходів з урахуванням результатів епідеміологічного обстеження та визначення вірулентності холерних вібріонів, виділених у вогнищі;

доповнює дані епідобстеження відомостями, одержаними від госпіталізованого хворого (вібріоносія), із історії хвороби і амбулаторних карт;

дає рекомендації головним лікарям поліклінік, поліклінічних відділень, лікарняних амбулаторій, амбулаторій медико-санітарних пунктів підприємств, ФАПів, дільничних лікарень про порядок медичного нагляду за відповідними контингентами;

для більш оперативного збору епіданамнезу слід мати одного епідеміолога при госпітальній базі.

2.5.5. По результатах епідеміологічного обстеження лікар епідеміолог заповнює карту, доповнену такими даними:

про клінічну форму і важкість захворювання;

про результати бактеріологічних досліджень на холеру випорожнень, блювотних мас, жовчі (з зазначенням дат і годин відбору матеріалу);

про місце перебування хворого (вібріоносія) протягом останніх 5 днів (коли, куди від'їздив);

про осіб, які приїжджали (звідки, коли) до хворого (вібріоносія) протягом останніх 5 днів;

про виділення культур холерних вібріонів з об'єктів довкілля (звідки і коли виділені культури, їх біовар, серовар, фаговар, вірулентність);

про вживання антибіотиків і інших хіміотерапевтичних препаратів до госпіталізації хворого або вібріоносія (коли, які, тривалість);

про випадки аварій водопроводу, перебої в подачі води, виявлення нестандартних проб води, на конкретній ділянці і коли;

про користування хворим (вібріоносієм) водою поверхневих водоймищ протягом останніх 5 днів (назва водоймища, місце, коли, характер вживання);

про кількість ізолюваних і тих, що знаходяться під медичним наглядом з числа осіб, які контактували і знаходились в однакових умовах по типу інфікування (за датами початку і кінця спостереження);

про результати бактеріологічного обстеження осіб, що контактували;

про від'їзд хворого;

про час (година) госпіталізації.

## 2.6. Виявлення хворих на холеру

2.6.1. Хворі з дисфункцією кишечника і блювотою виявляються медичними працівниками активно на всіх етапах надання медичної допомоги, в організованих колективах, в кожному закладі і в установі, а також на найбільш епідемічно небезпечних дільницях і об'єктах ризику, які виявляються в процесі епідеміологічного обстеження в вогнищі холери шляхом подвірних обходів, що здійснюються силами територіальних медичних об'єднань з залученням санітарного активу, слухачів вищих і середніх учбових закладів.

2.6.2. При організації подвірних обходів лікарські дільниці ділять на мікродільниці, виходячи з кількості населення до 500 (для сільської місцевості і районів індивідуальної забудови) і до 1000 чоловік (для дільниць з багатоповерховою забудовою). За кожною дільницею закріплюється бригада в складі одної медичної сестри і 4-5 санітарних активістів або студентів, які, поряд з виявленням хворих, контролюють санітарний стан побутових приміщень і туалетів, проводять санітарно-освітню роботу; при подвірних обходах наявність жителів звіряють з паспортними списками, які відповідні медичні заклади одержують у паспортних відділах.

2.6.3. Хворі з дизфункцією кишечника і блювотою виявляються активно серед тих, хто потрапив в прийомники-розподільники і установи спецрежиму, пункти соціальної реабілітації, психоневрологічні стаціонари і диспансери, в місця тимчасового утримання, еміграційного контролю і в центрах тимчасового розміщення іноземних громадян та осіб, які шукають притулку на території України.

2.6.4. В організованих колективах, установах і на підприємствах медичний нагляд здійснюється шляхом опитування присутніх (учнів, студентів і інших) медичними працівниками, а при їх відсутності - медичними працівниками територіальних медичних об'єднань і санітарним активом.

2.6.5. Про кожного виявленого хворого з дизфункцією кишечника і блювотою згідно з порядком сповіщається станція невідкладної медичної допомоги або дезстанція для госпіталізації і надсилається екстрене повідомлення в територіальну санепідстанцію.

2.6.6. Дані про результати активного виявлення хворих відповідними медичними працівниками надсилаються в територіальну поліклініку, яка передає зведені дані по дільницях в територіальне медичне об'єднання, останнє - в медичний штаб вогнища. Кратність проведення подвірних обходів встановлюється штабом.

## 2.7. Виявлення вібріононосіїв

2.7.1. Обов'язковому бактеріологічному обстеженню на вібріононосійство підлягають особи, які контактували з хворим на холеру або вібріононосієм, незалежно від того, ізольовані вони чи залишені вдома для медичного нагляду, а також особи, які знаходяться з ними в однакових умовах щодо ризику інфікування.

2.7.2. Групи населення, в тому числі професійні, які підлягають бактеріологічному обстеженню на холеру, і послідовність їх обстеження, визначають в кожному конкретному випадку територіальними органами держсанепідслужби на основі результатів епідеміологічного обстеження і аналізу даних епідеміологічного нагляду за холерою на територіях, де виникли її вогнища, і затверджуються медичним штабом.

2.7.3. Організація і проведення бактеріологічного обстеження зазначених контингентів покладаються на протиепідемічну, профілактичну і лабораторну служби медичного штабу.

## 2.8. Заходи щодо осіб, які контактували з хворими на холеру і вібріононосіями

2.8.1. Показання для ізоляції контактних визначаються епідеміологом з урахуванням ступеню контакту з хворим (вібріононосієм), рівня санітарного благоустрою житла і місць загального користування, особливостей професійної діяльності і пов'язаного з цим ступеню їх епідемічної небезпеки.

2.8.2. На осіб, які контактували з хворим і вібріононосієм, складають списки з зазначенням їх адреси, місця роботи, навчання, часу, ступеню і характеру контакту.

2.8.3. Ізоляції підлягають особи, які мали контакт з хворим (вібріононосієм) в побутових умовах: члени сім'ї хворого (вібріононосія), які проживають в незадовільних санітарно-гігієнічних умовах, а також ті, хто проживає в одній комунальній квартирі (гуртожитку), користується загальним туалетом, в тому числі і тим, що на подвір'ї, кухнею і мають інші форми безпосереднього постійного контакту, а також особи, які підпадали однаковому з хворим (вібріононосієм) ризику інфікування (ритуальні заходи, весілля і т.ін.).

2.8.4. Обов'язковій ізоляції підлягають контактуючі з хворим або вібріононосієм із числа декретованих контингентів. В умовах ізолятора всі контактні одноразово обстежуються на холеру, їм проводиться екстрена профілактика.

2.8.5. Дозволяється залишати вдома одного із працездатних членів сім'ї, які підлягають ізоляції, для ведення домашнього господарства.

2.8.6. За контактуючими, які не відправлені в ізолятор, встановлюють медичний нагляд за місцем проживання, роботи, навчання і т.п. протягом 5 діб з одноразовим бактеріологічним обстеженням на холеру.

## 2.9. Дезінфекційні заходи

2.9.1. Заключну дезінфекцію за місцем виявлення хворого (вібріоносія) забезпечує дезінфекційна бригада дезінфекційної станції або дезінфекційного відділу територіальної санепідстанції.

2.9.2. Заключну дезінфекцію виконують за місцем проживання не пізніше трьох годин з моменту госпіталізації (смерті) хворого (вібріоносія), а за місцем роботи або навчання - не пізніше першої доби після виявлення.

2.9.3. При виявленні хворого (вібріоносія) за місцем його роботи (навчання) обов'язково проводять знезараження в приміщенні, де знаходився хворий (вібріоносіє) - безпосередньо на його робочому місці, а також в місцях загального користування - буфетах (їдальнях), душевих і санвузлах.

2.9.4. В поліклініках, амбулаторіях, дитячих консультаціях і інших лікувально-профілактичних установах при виявленні хворого на холеру або з підозрою на неї силами персоналу цих установ проводять дезінфекцію випорожнень і блювотних мас, приміщень кабінету лікаря та інших приміщень, де знаходився хворий, місць загального користування, спецодягу персоналу, який брав участь в прийомі і огляді хворого, інструментарію, використаного при прийомі хворого.

2.9.5. Персонал, який здійснює дезінфекцію, повинен бути вдягнений в протичумний костюм II типу (піжама або комбінізон, шкарпетки, капці, велика косинка (капюшон), протичумний халат, ватно-марльова маска, гумові рукавички, чоботи, рушник, а також гумові або поліетиленові фартухи).

2.9.6. По закінченню обробки вогнища дезінфекційна бригада повинна продезінфікувати взуття, рукавички, фартухи, по закінченні зміна прийти санобробку.

2.9.7. Перед розгортанням холерного і провізорного шпиталів та ізолятора проводять профілактичну дезінфекцію в приміщеннях і на їх територіях.

2.9.8. В шпиталях поточну дезінфекцію проводить молодший медичний персонал під безпосереднім керівництвом старшої медсестри відділення. Маточні розчини дезінфікуючих засобів готують централізовано дезінфектори стаціонару в спеціальному приміщенні.

2.9.9. В шпиталях (холерному і провізорному) проводять:

санітарну обробку хворого з I-II ступенем дегідратації в приймально-сортировочному відділенні (при цьому душом не користуються) з подальшим знезараженням змивних вод і приміщення;

санітарну обробку хворих з III і IV ступенем дегідратації проводять в палаті;

речі хворого складають в клейончатий мішок і відправляють для знезараження в дезінфекційну камеру;

приміщення приймального відділення дезінфікують після прийому хворого (вібріоносія);

транспорт, який доставив хворого, підлягає знезараженню силами медперсоналу приймального відділення на спеціально обладнаному майданчику, про що робиться запис в журналі прийому хворих;

хворих (вібріононосіїв) при відсутності локальних очисних споруд забезпечують індивідуальними горшками або підкладними суднами, відрами з кришками;

випорожнення хворих (вібріононосіїв) після знезаражування виливають в каналізацію або виносять в спеціально підготовлену водонепроникну вигрібну яму, а судна і горшки додатково знезаражують зануренням в дезінфікуючий розчин в спеціально виділеному приміщенні у великих ємкостях.

2.9.10. При дезінфекції інших об'єктів дотримується режим знезаражування згідно з додатком 15.

2.9.11. При закритті шпиталів та ізоляторів проводять заключну дезінфекцію з обов'язковим бактеріологічним контролем.

2.9.12. Розтин, перевезення і захоронення трупів проводять згідно з інструкціями від 29.06.78 р. "Про протиепідемічний режим роботи з мікроорганізмами I-II груп патогенності" та від 21.06.85 р. "Про проведення первинних заходів при виявленні хворого (трупа), підозрілого на захворювання чумою, холерою, контагіозними вірусними гарячками".

2.9.13. Профілактичну дезінфекцію за показаннями (знезаражування санітарно-дворових установок), протимущині заходи в населених пунктах, де є спалахи холери, проводять відповідні підрозділи дезінфекційної і ветеринарної служб.

2.9.14. У сільській місцевості, включаючи польові стани, організація дезінфекційних заходів здійснюється так само, як і в умовах міста. В випадку залишення осіб, які контактували з хворими на холеру, вдома, після проведення заключної дезінфекції на період ізоляції здійснюють поточну дезінфекцію силами мешканців.

2.9.15. Методичне керівництво за організацією і проведенням дезінфекційних заходів, а також контроль якості дезінфекції здійснюють спеціалісти дезінфекційних станцій і територіальних санепідстанцій.

2.9.16. Засоби і методи, що використовуються при дезінфекції, режим знезаражування різних об'єктів, розрахункові норми дезінфектантів наведені в додатках 14, 15, 16.

## 2.10. Бактеріологічне дослідження об'єктів довкілля

2.10.1. Обов'язковому бактеріологічному дослідженню підлягає вода поверхневих водоймищ в місцях скидання господарсько-побутових вод, в зонах санітарної охорони водозабору для централізованого господарсько-питного водопостачання, в місцях масового організованого рекреаційного водокористування та інших точках, визначених епідеміологами, а також стічні води інфекційних стаціонарів.

2.10.2. Господарсько-побутові стічні води досліджуються з огляду на епідемічну ситуацію і результати санітарного нагляду за комунальними, в тому числі відомчими об'єктами.

2.10.3. Об'єкти дослідження, кількість точок забору і кратність бактеріологічних досліджень проб з об'єктів довкілля визначаються рішенням медичного штабу вогнища холери.

## 2.11. Обмежувальні і карантинно-обсерваційні заходи при виникненні вогнищ холери

### 2.11.1. До обмежувальних заходів відносяться:

заборона водокористуванням поверхневими водоймищами в місцях, визначених органами державного санітарно-епідеміологічного нагляду, незалежно від вірулентності, токсигенності виділених культур холерних вібріонів;

заборона від'їзду із організованих колективів (санаторно-курортні заклади, туристичні бази, кемпінги, табори праці і відпочинку т.п.) при виявленні в них хворих на холеру (вібріононосіїв) і при загрозі розповсюдження інфекції;

заборона розміщення в населених пунктах, особливо в курортній зоні, неорганізовано відпочиваючих при відсутності належних санітарно-гігієнічних умов;

заборона масових зборів населення при різних ритуальних обрядах (весілля, проводи, похорони та ін.), при цьому кількість учасників повинна бути мінімальною (близькі родичі). Приготування багатоасортиментної їжі, яка при забрудненні може стати фактором передачі інфекції, обмежується. Для контролю бажана присутність медичного працівника;

заборона туристичних поїздок (екскурсійних, релігійних (прочанство) і т.п.), спеціальних заходів (ярмарки, конгреси, фестивалі, спортивні змагання і т.п.).

2.11.2. Перелічені заходи вводяться урядом України, обласними, Київською та Севастопольською державними адміністраціями за поданням відповідних надзвичайних протиепідемічних комісій та з погодженням Головного державного санітарного лікаря України.

2.11.3. Кордони території, на якій вводяться ті чи інші обмежувальні заходи, визначають медичні штаби вогнища, виходячи з конкретної епідемічної ситуації, можливих факторів передачі інфекції, санітарно-гігієнічних умов, інтенсивності міграції населення і транспортних зв'язків з іншими територіями та затверджуються відповідними надзвичайними комісіями.

2.11.4. У виняткових випадках при інтенсивному і широкому розповсюдженні інфекції, великої міграції (економічна, воєнна, туризм) населення, загрози виносу холери за кордони вогнища - Кабінет Міністрів України вводить карантин на окремі населені пункти за поданням відповідних державних адміністрацій та Головного державного санітарного лікаря України.

2.11.5. Карантинно-обсерваційні заходи передбачують комплекс адміністративно-господарських, обмежувальних, лікувально-профілактичних, протиепідемічних, санітарно-гігієнічних заходів, направлених на попередження виносу холери за кордони вогнища.

2.11.6. Обсервацією передбачають п'ятидобову ізоляцію від'їзджаючих, з одноразовим бактеріологічним обстеженням на холеру в першу добу перебування в обсерваторії.

2.11.7. Визначення черговості направлення на обсервацію, організацію матеріального забезпечення обсерваторій і харчування обсервованих здійснює територіальна (районна, міська) адміністрація.

2.11.8. Обсерватори можуть бути розгорнуті в пристосованих приміщеннях (адміністративні будинки, готелі, гуртожитки, дитячі і спортивні табори, бази відпочинку і т.ін.).

2.11.9. В обсерваторії повинні бути передбачені такі приміщення: приймальня, палати для розміщення обсервованих, кімнати для медичного і обслуговуючого персоналу, для відбору матеріалу, збереження особистих речей обсервованих, буфетна і інші підсобні приміщення.

2.11.10. Перед тим, як помістити в обсерватор, обсервованих оглядають з метою виявлення осіб з дизфункцією кишечника. В обсерватор допускаються тільки здорові люди.

2.11.11. Заповнення обсерватора, проводиться одночасно. Обсервовані розміщуються невеликими групами з прийняттям мір до обмеження спілкування між ними.

2.11.12. Виявлені серед обсервованих хворі на холеру або вібріононосії переводяться в холерний госпіталь, а особи, контактні з ними, - в ізолятор.

2.11.13. При виявленні в обсерваторії хворого з дизфункцією кишечника він переводиться в провізорний госпіталь. Контактні з ним ізолюються на місці до отримання результату бактеріологічного дослідження матеріалу від захворілого. В випадку отримання негативного результату строк обсервації не змінюється.

2.11.14. Особи, які пройшли обсервацію, отримують відповідні довідки про перебування в обсерваторії на право від'їзду з вогнища холери, а особам, які працюють, - видається лікарняний лист.

2.11.15. Після звільнення обсерватора проводиться заключна дезінфекція його, після чого можливе подальше використання.

2.11.16. Для роботи в обсерваторії дозволяється залучення медичних працівників і іншого допоміжного персоналу із числа обсервованих.

2.11.17. Медичний і обслуговуючий персонал обсерватора знаходиться на казарменному положенні. З метою виключення контакту обсервованих з населенням вогнища обсерватор цілодобово охороняється.

2.11.18. Функціонально-посадові обов'язки медичного та іншого обслуговуючого персоналу, службовців МВС, які забезпечують роботу обсерваторів:

а) територіальне медичне управління забезпечує:

суворий протиепідемічний режим роботи обсерватора;

медичний нагляд за обсервованими протягом п'яти днів;

відбір матеріалу і доставку його в бактеріологічну лабораторію територіальної санепідстанції;

подання першої медичної допомоги соматичним хворим і при необхідності подальшого направлення їх у відповідні лікувально-профілактичні заклади;

активне виявлення осіб з дизфункцією кишечника, ізоляція і госпіталізація їх в провізорний госпіталь для подальшого лікування;

госпіталізацію виявлених хворих на холеру та вібріононосіїв в холерний госпіталь і ізоляцію осіб, що були в контакті з ними, для додаткового п'ятиденного медичного нагляду і повторного лабораторного обстеження;

проведення поточної і заключної дезінфекції;

видачу медичної довідки особам, що пройшли обсервацію та лікарняного листа особам, які працюють;

б) територіальні санепідстанції забезпечують:

контроль за додержанням протиепідемічного режиму роботи в обсерваторії;

проведення бактеріологічних досліджень на холеру;

своєчасну видачу результатів лабораторних досліджень;

проведення заключної дезінфекції при виявленні хворих на холеру та вібріононосіїв після їх госпіталізації;

контроль якості поточної і заключної дезінфекції;

в) міліцейські пости забезпечують:

охорону території обсерватора з метою недопущення контакту з місцевим населенням;

заборону самовільного виходу обсервованих;

суворий контроль за в'їздом і виїздом обсервованих, вивозом майна від'їзджачих.

2.11.19. При введенні обмежувальних і карантинно-обсерваційних заходів в населених пунктах і на окремих об'єктах силами органів внутрішніх справ і контрольно-пропускних пунктів встановлюють відповідні вказівники або пости для транспортних засобів на всіх магістралях.

## 2.12. Екстрена профілактика

2.12.1. Екстренній профілактиці підлягають контактні з хворими на холеру (вібріононосіями) в сім'ї, квартирі, за місцем роботи, навчання, відпочинку, лікування, а також особи, які знаходяться в однакових умовах по ризику інфікування (по епідпоказанням).

2.12.2. Для екстреної профілактики з врахуванням антибіотикограми циркулюючих в вогнищі штамів призначають один з наступних препаратів:

Препарат	Разова доза в г	Кількість прийомів на добу	Середня доза в г	Строки в днях
Тетрациклін*	0,5-0,3	2-3	1,0	4
Доксициклін*	0,1*	1-2	0,1*	4
Левоміцетин	0,5	4	2,0	4
Еритроміцин	0,5	4	2,0	4
Ципрофлоксацин*	0,5	2	1,0	4
Фуразолідон	0,1	4	0,4	4

\* - в першу добу - 0,2 \* - для дітей: тетрациклін, доксициклін ст.8 років, ципрофлоксацин ст.12 років.

Дітям призначають:

15-17 років	3/4 дози дорослих
8-14 років	1/2 дози дорослих
7 років	1/3 дози дорослих
5-6 років	1/4 дози дорослих
4 роки	1/6 дози дорослих
2-3 роки	1/8 дози дорослих
1 рік і молодші	1/12 дози дорослих

2.12.3. При виділенні в вогнищах холери штамів холерних вібріонів, стійких до зазначених препаратів, лікувально-профілактична і протиепідемічна служби медичного штабу в кожному конкретному випадку розглядають питання про зміну медикаменту.

## 2.13. Санітарно-гігієнічні заходи в вогнищі холери

2.13.1. Санітарно-гігієнічні заходи в вогнищі холери направлені на усунення виявлених і можливих факторів передачі збудників інфекції і умов, що сприяють подальшому розповсюдженню інфекції.

2.13.2. Санітарно-бактеріологічне дослідження (колі-індекс) в зоні санітарної охорони водозаборів для централізованого господарсько-питного водопостачання проводиться щоденно, а в розвідній мережі - при аварійних ситуаціях і по санітарно-епідеміологічним показанням. Фізико-хімічні показники води із зазначених об'єктів визначаються не рідше як двічі на місяць.

2.13.3. Санітарно-бактеріологічне дослідження в зонах рекреації проводиться згідно діючим наказам та нормативним документам, а фізико-хімічні дослідження - не рідше одного разу на місяць.

2.13.4. Профілактична служба медичного штабу забезпечує санітарний нагляд за:

санітарно-бактеріологічними показниками водопровідної води перед надходженням в розводящу мережу і питної води в нецентралізованих джерелах водопостачання;

утриманням залишкового хлору в окремих і тупикових точках водопроводів, кількість якого повинна бути не менше 0,3-0,5 мг/л по вільному хлору або 0,8-1,2 мг/л по зв'язаному хлору;

застосуванням перманганату калію на очисних водопровідних спорудах з метою очищення води від значного забруднення органічними речовинами;

очищенням питної води від збудників бактеріальних і вірусних інфекцій з застосуванням індивідуальних і колективних фільтрів "Кристал" (ФБ-2 та його модифікацій виробництва Української екологічної корпорації, м. Київ);

застосуванням спеціальних патронів та інших приладів для дезінфекції води в криницях, басейнах та каптажах;

якістю очищення і знезараження господарсько-побутових стічних вод і санітарного очищення території;

санітарно-гігієнічним станом дитячих дошкільних закладів, шкіл, літніх оздоровчих закладів для дітей і підлітків, будинків відпочинку, санаторіїв, пансіонатів, кемпінгів, будинків для престарілих і інвалідів, ринків і підприємств комунального господарства і іншими об'єктами;

дотриманням технологічних санітарних норм і правил, включаючи профілактичну дезінфекцію, на підприємствах харчової промисловості, громадського харчування і торгівлі харчовими продуктами з використанням санітарно-бактеріологічних методів дослідження;

ринковою і вуличною торгівлею продуктами харчування з забороненням роздрібною торгівлі продуктами, які використовують в їжу без термічної обробки, різними напоями (пиво, квас і ін.) без герметичної упаковки;

санітарно-гігієнічним станом залізничних вокзалів, пасажирських тягачів, стоянок туристичних тягачів, аеровокзалів, річних морських і автодорожних вокзалів, а також об'єктів громадського харчування на транспорті;

зливом фанових вод із річних і морських суден в місцях, визначених територіальними санепідстанціями;

санітарним станом і профілактичною дезінфекцією туалетів громадського користування, особливо в місцях масового скупчення людей.

2.13.5. Проводиться санітарно-освітня робота серед населення по профілактиці холери та інших гострих кишкових інфекцій з використанням всіх форм і методів санітарної освіти.

2.14. Знезараження стічних вод в вогнищі холери

2.14.1. У вогнищах холери всі господарсько-побутові стічні води, а також стічні води окремих підприємств і закладів, в тому числі стоки холерних стаціонарів, підлягають знезараженню. Перелік об'єктів, стічні води яких підлягають знезараженню перед відведенням в зовнішню каналізацію, визначають територіальні санепідстанції з врахуванням складності епідемічної ситуації.

2.14.2. Для знезараження стічних вод застосовують хімічні (хлорування, підкислення, хлорування з підкисленням) методи дезінфекції.

2.14.3. Із дезінфікуючих речовин використовують препарати, включені в додаток N 15.

2.14.4. Стічні води знезаражують в контактних резервуарах (відстійниках), а при їх відсутності - прямо в каналізаційних колекторах. Режим знезараження визначають в залежності від походження стічних вод, ступеня їх очистки і можливої тривалості контакту з дезінфікуючими речовинами.

2.14.5. Знезараження міських стічних вод і стічних вод холерного і провізорного госпіталів, ізолятора, які пройшли повну біологічну очистку, проводять шляхом хлорування з таким розрахунком, щоб концентрація залишкового хлору складала 1,5 мг/л після 30 хв. контакту, а колі-індекс в воді, яка скидається, не перевищував 1000.

У випадку контакту біологічно очищених стічних вод з дезінфікуючими речовинами до 15 хв. слід проводити хлорування з одночасним підкисленням знезаражуваної рідини до рН 5,5- 6,0 з таким розрахунком, щоб концентрація залишкового хлору складала 1,0 мг/л, а колі-індекс в такій воді не перевищував 3000 (закриті каналізаційні системи).

2.14.6. Знезараження міських стічних вод і стічних вод холерних стаціонарів, які пройшли тільки механічну очистку, проводять шляхом хлорування з таким розрахунком, щоб концентрація залишкового хлору складала 4,5 мг/л, а колі-індекс стічної води не перевищував 3000.

В окремих випадках, за погодженням з органами державного санітарного нагляду, для знезараження механічно очищених стічних вод шляхом хлорування допускається зменшення концентрації залишкового хлору до 2,5 мг/л після контакту 30 хв. або 3,5 мг/л при контакті 15 хв.. При одночасному підкисленні стічних вод концентрацію залишкового хлору слід зменшити до 1,5-2,0 мг/л при контакті 30-15 хв.. Колі-індекс в такій воді не повинен перевищувати 10000.

2.14.7. Знезараження банно-пральних установ проводять за допомогою хлорування з таким розрахунком, щоб концентрація залишкового хлору становила 5,0 мг/л після 15 хв. контакту, в колі-індекс води, яка скидається, не перевищував 10000.

2.15. Епідеміологічний аналіз і оцінка ефективності протиепідемічних заходів

2.15.1. Епідеміологічний аналіз у вогнищі холери проводиться від моменту виникнення його до повної ліквідації.

2.15.2. Епідеміологічний аналіз проводять з метою встановлення джерела інфекції, можливих шляхів завезення холери в населений пункт, причин і умов, що призводять до виникнення місцевих випадків, виявлення діючих шляхів і факторів передачі збудника інфекції, а також для обґрунтування тактики і обсягу протиепідемічних заходів, направлених на локалізацію і ліквідацію вогнища, і оцінки їх ефективності.

2.15.3. Епідеміологічний аналіз здійснює група спеціалістів епіданалізу і консультантів у взаємодії з групою обліку інформації, що створюється при медичному штабі.

2.15.4. Для епідеміологічного аналізу необхідні дані про:

географічне розташування, природно-кліматичні і метеорологічні умови адміністративної території;

демографічну характеристику населеного пункту;

міграцію населення;

туризм (екскурсійний, курортний, рекреаційний, діловий, релігійний (прочанство), участь у спеціальних заходах (ярмарки, конгреси, спортивні змагання та ін.), економічну міграцію робітників, службовців та інших контингентів до місця праці (постійної і тимчасової), військову і політичну (біженці, емігранти і ін.);

міграцію по тривалості: щоденну (маятникову), періодичну (включаючи сезонну);

транспортні зв'язки з територіями і державами, в першу чергу неблагополучними по холері;

соціально-економічні умови;

умови харчування, господарсько-питтєвого водопостачання, культурно-побутового водокористування (їх оцінка), каналізації і санітарні очистки у населеному пункті вогнища холери;

інфікованість (кількість, хворих (з дня захворювання) і вібриононосіїв з дня забору матеріалу) за днями спалаху (в абсолютних і відносних показниках на 10000, 100000 населення) для спостереження за рівнем і динамікою епіпроцесу;

територіальний розподіл випадків захворювань на холеру і вібриононосійство, виявлення "територій ризику";

вікову структуру хворих і вібриононосіїв за віковими групами за кожен день спалаху в абсолютних і відносних показниках на 10000 і 100000 кожної вікової групи, "групи ризику";

соціальну (професійну) структуру у взаємозв'язку з віковою ("групи ризику");

розподіл хворих і вібриононосіїв за статтю;

шляхи і фактори передачі збудника інфекції, питому вагу їх ("фактори ризику");

очаговість холери (сімейна, виробнича, в організованих колективах і т.д.);

складність перебігу хвороби;

результати дослідження проб з об'єктів довкілля на холеру в вогнищах хворих (вібриононосіїв);

результати бактеріологічного обстеження на холеру людей за період спалаху:

1) хворих на гострі кишкові інфекції, з них госпіталізованих в провізорний госпіталь, залишених вдома;

2) хворих з дисфункцією кишечника і блювотою, що поступають в приймальні розподілювачі і установи спецрежиму, в психоневрологічні стаціонари і диспансери, первинні пункти і стаціонарні центри прийому біженців і мігрантів;

3) результати бактеріологічного обстеження на вібриононосійство серед декретованих груп населення, які від'їжджають з вогнища, і інших "груп ризику", визначених в кожному конкретному вогнищі з врахуванням епідситуації;

результати дослідження проб на холеру з об'єктів довкілля (в відповідності з розділом 2.10.) в населеному пункті;

характеристику культур холерних вібрионів (біовар, серовар, вірулентність, токсигенність, чутливість до антибіотиків), виділених від людей і із об'єктів довкілля (в динаміці);

порівняльну характеристику холерних вібрионів, виділених від людей та з об'єктів довкілля;

джерела контамінації холерними вібрионами об'єктів довкілля;

аналіз захворюваності на гострі кишкові інфекції в порівнянні з станом її за аналогічний період попереднього року;

строки завершальної дезінфекції в вогнищах хворих і вібріононосіїв.

2.15.5. Для епідеміологічного аналізу використовуються:

карти епідеміологічного обстеження вогнища хворого на холеру (вібріононосійство);

історії хвороби;

дані про кількість досліджених проб (вода, їжа, змиви та інші об'єкти) в вогнищі хворого (вібріононосія) в населеному пункті про кількість виділених культур холерних вібріонів (по датах забору матеріалу);

кількість обстежених на холеру різних контингентів населення і кількість виділених культур холерних вібріонів;

дані бактеріологічних обстежень на холеру харчових продуктів і інших проб, досліджуваних за епідоказниками;

результати санітарно-бактеріологічних і фізико-хімічних досліджень води водоймищ (поверхневих і підземних) централізованого і нецентралізованого водопостачання, води господарсько-питтєвих водопроводів, поверхневих водоймищ, які використовуються в рекреаційних цілях, і стічних вод;

матеріали санітарно-епідеміологічного нагляду за комунальними об'єктами, підприємствами харчової промисловості, громадського харчування, торгівлі продовольчими товарами, місцями масового відпочинку, дитячими дошкільними і підлітковими установами, вокзалами (аеро-, залізничними, річними, морськими, автовокзалами та автодорожними) і іншими епідеміологічно важливими об'єктами;

дані про завершальну дезінфекцію в вогнищах холери;

результати перевірок режиму безпечності роботи в госпіталі, ізоляторі, обсерваторі, бактеріологічній лабораторії.

2.15.6. Оцінка ефективності протиепідемічних заходів включає:

своєчасність госпіталізації хворих на холеру (з дня захворювання, звертання і активного виявлення);

своєчасність госпіталізації вібріононосіїв (з дня забору матеріалу і з дня підтвердження культури);

своєчасність проведення заключної дезінфекції в вогнищі, результати його контролю;

результати активного виявлення хворих на холеру на етапах подання медичної допомоги і при здійсненні подвірних обходів (виявлення хворих з проносом і блювотою з дня захворювання і скільки з них було хворих на холеру);

кількість виявлених хворих на холеру серед провізорно госпіталізованих;

попередження інфікування холерою персоналу в холерному, провізорному шпиталях, ізоляторі, обсерваторі, бактеріологічних лабораторіях, на евакотранспорті і в інших медичних установах;

результати обстеження на вібріононосійство різних груп населення;

результати бактеріологічних досліджень на холеру, санітарно- бактеріологічних і інших лабораторних досліджень проб з об'єктів довкілля;

повноту і обсяг заходів, направлених на механізм передачі збудника інфекції;

ефективність екстреної профілактики;

здійснення обмежувальних і карантинно-обсерваційних заходів;

санітарно-освітню роботу;

виявлення причин виникнення випадків холери та повнота виявлення джерел інфекції;

кількість днів, які були необхідні для локалізації та ліквідації вогнища;

матеріальні, фінансові витрати для ліквідації вогнища.

2.15.7. Результати епідеміологічного аналізу оформляються в вигляді пояснювальної записки з графіками, таблицями, картами, доповідаються щоденно в медичний штаб і являються основою відповідних коректив направленості обсягу і організації протиепідемічних заходів.

2.15.8. Вогнище вважається ліквідованим через 10 днів після госпіталізації останнього хворого (вібріоносія) незалежно від вірулентності, токсигенності виділених штамів холерних вібріонів і проведення завершальної дезінфекції в вогнищі. Холерні і провізорні госпіталі, ізолятори продовжують роботу до виписки останнього хворого (вібріоносія).

2.15.9. Після ліквідації вогнища холери медичним штабом подається в належному порядку в МОЗ України заключний звіт, в якому висвітлюються питання, зазначені в пунктах 2.15.4. і 2.15.6.

### 3. Заходи в населених пунктах після ліквідації вогнища холери

#### 3.1. Заходи по відношенню до осіб, які перенесли холеру або вібріоносієство

3.1.1. Осіб, які перенесли холеру або вібріоносієство, після виписування із стаціонарів допускають до роботи (навчання), незалежно від професії, і беруть на облік в територіальних санепідстанціях і кабінетах інфекційних захворювань поліклінік за місцем проживання; на кожного з них заводиться карта (форма N 2) і встановлюється диспансерний нагляд строком на 3 місяці.

3.1.2. Диспансерний нагляд здійснюється кабінетом інфекційних захворювань; при відсутності кабінету нагляд здійснює дільничний лікар (терапевт, педіатр).

3.1.3. В перший місяць проводиться бактеріологічне обстеження випорожнень один раз за 10 днів. У подальшому випорожнення досліджують один раз на місяць. Перший забір випорожнень здійснюється після прийому проносного (сірчанокислий магній - 30 г для дорослих, дітям - у відповідності з віком).

3.1.4. У випадку виявлення вібріоносієства у реконвалесцентів вони госпіталізуються в холерний госпіталь, після чого диспансерний нагляд за ними відновлюється.

3.1.5. Особи, які перенесли холеру або вібріоносієство, знімаються з диспансерного обліку при відсутності виділення холерного вібріону протягом строку диспансерного нагляду. Зняття з диспансерного обліку здійснюється комісією у складі головного лікаря поліклініки, інфекціоніста і епідеміолога.

#### 3.2. Профілактичні заходи в населених пунктах після ліквідації вогнища холери

3.2.1. Медичний штаб на основі епідеміологічного аналізу в вогнищі холери розробляє на період після ліквідації вогнища комплекс заходів, направлених на усунення причин можливого виникнення епідемічних ускладнень, і оформляє їх наказом керівника територіального органу охорони здоров'я. В комплексний план протихолерних заходів вносять відповідні корективи.

##### 3.2.2. Територіальні санепідстанції:

здійснюють епідеміологічний нагляд за холерою у відповідності з наказом санепідслужби і комплексним планом по виконанню протихолерних заходів на період після ліквідації вогнища;

забезпечують постійний нагляд за епідеміологічно важливими об'єктами (об'єктами ризику);

проводять щомісячно епідеміологічну оцінку умов господарсько-питного водопостачання населення, рекреаційного водокористування, каналізування населеного пункту;

здійснюють посилений контроль за ефективністю очистки і знезараження господарсько-побутових стічних вод, санітарно-гігієнічним станом дитячих дошкільних, шкільних, оздоровчих закладів, психоневрологічних стаціонарів, первинних пунктів і стаціонарних центрів прийому біженців і мігрантів, умовами розміщення тимчасових (сезонних) робітників, санітарно-гігієнічними умовами на шляхах переїзду і в місцях тимчасового проживання робітників відгонного тваринництва.

### 3.2.3. Продовжується проведення санітарно-освітньої роботи по профілактиці холери.

#### Клініка і патогенез холери

**ПАТОГЕНЕЗ.** Збудники холери потрапляють в організм людини разом з забрудненою водою, продуктами харчування (кількою, хамсою, овочами та ін.). Інфікуюча доза збудників коливається від 10 до 100 та більше мільярдів мікробних клітин. При зниженні кислотності шлунку кількість вібріонів, що викликають захворювання, зменшується до 10 м.к., що доведено в експериментах на добровольцях. Захворювання легше починається у людей, хворих на хронічний гастрит зі зниженою секреторною активністю клітин слизової оболонки шлунку, цьому ж сприяє вживання влітку великої кількості рідини, яка знижує рН шлунку. Більш швидкому просуванню води і харчових продуктів в шлунково-кишковому тракті сприяють посилені перистальтика шлунку, вживання спиртних напоїв та лужних мінеральних вод. Вже в 12-палій кишці вібріони прикріплюються до слизової оболонки (адгезія), колонізують її і бурхливо розмножуються. Холерні вібріони продукують декілька токсичних субстанцій, але в патогенезі хвороби основну роль відіграє екзотоксин (холероген). Останній призводить до розвитку діареї, порушення кислотно-лужного стану (КЛС) і функцій життєво важливих органів. Механізм розвитку проносу зумовлений підвищенням під впливом ентеротоксину активності клітинних аденілатціклази і гуанілатціклази з накопиченням в ентероцитах цАМФ та цГМФ і підвищенням проникливості клітинних та субклітинних мембран. Це призводить до втрати клітинами води, калію, хлору, натрію, білку, гідрокарбонату натрію. Під впливом біологічно активних речовин - гістаміну, серотоніну, простагландинів та інших посилюється перистальтика кишечника, з'являються пронос і блювота, в зв'язку з чим організм хворого втрачає воду і солі. Швидкість розвитку зневоднення, втрати солей і порушення КЛС залежать від масивності дози вібріонів, з чим пов'язані інтенсивність проносу і багаторазового блювання. Внаслідок зазначених причин розвивається гостра ізотонічна дегідратація, яка є ведучою ланкою в патогенезі холери. У хворих зменшується об'єм циркулюючої крові (ОЦК), порушуються гемодинаміка, мікроциркуляція, метаболізм, розвивається гемоконцентрація і метаболічний ацидоз. Падіння ОЦК і артеріального тиску призводять до розвитку преренальної ниркової недостатності. Втрата солей, особливо калія, супроводжується різкою м'язевою слабкістю, порушенням функції міокарду, ниркових каналців, парезом кишечника, болючими клонікотонічними судомами м'язів рук, ніг, тулуба. Ступінь зневоднення визначає тяжкість перебігу хвороби, її наслідки і тактику лікування хворих.

**КЛІНІКА.** Інкубаційний період триває від декількох годин до 5 діб, в середньому дорівнює 1-2 дням. Захворювання починається гостро з проносу, який частіше розвивається вночі або вранці. Хворий відчуває імперативні позиви на низ, дефекація не супроводжується тенезами і болями в черевній порожнині. Випорожнення часті - від 3-5 до 20-30 раз на добу, рясні - до 500- 800 мл при одному акті дефекації, фекалії швидко втрачають колір і стають водянистими. Поступово випорожнення хворого набувають вигляду рисового відвару з запахом тертої картоплі чи риби. В останні роки були випадки, коли холера починалася з блювання, особливо після вживання великої кількості харчових продуктів, забруднених вібріонами, наприклад кільки та іншої риби. Та у більшості хворих на холеру блювання починається після проносу, часто фонтаном водянистої рідини, не приносить полегшення хворому. Пронос не супроводжується болями в животі,

температура нормальна або субфебрильна. Деякі хворі, скаржаться на важкість в епігастрії, бурчання в животі.

Перша ступінь зневоднення настає при втраті рідини в межах 1-3 % маси тіла хворого, II - 4-6 %, III - 7-9 %, IV - 10 % і більше.

При легкому перебігу хвороби (I ст. зневоднення) пронос і блювання повторюються від 2-3 до 5-7 разів і більше на добу, продовжуються 2-3 дні. Самопочуття хворих задовільне, хоча і турбує легка загальна слабкість, спрага, відчуття сухості в роті, язик вкритий білим нальотом, сухий. Шкіра і слизові оболонки звичайного кольору, пульс, артеріальний тиск, діурез, фізико-хімічні константи крові в межах норми. Під час епідемічних спалахів такі випадки реєструються з частотою від 30 до 75 % і частіше. При прогресуванні хвороби частота випорожнень досягає 15-20 разів на добу, нерідко з'являється помірний біль в епігастрії, а також багаторазове блювання. Збільшується загальна та м'язова слабкість, сухість шкіри та слизових оболонок, язик густо вкритий білим нальотом, сухий, з'являється постійний ціаноз слизових оболонок губ, сиплий голос, знижується тургор шкіри. У окремих хворих з'являються короточасні клоніко-тонічні корчі литкових, жувальних м'язів, а також м'язів стоп та кистей. Практично у всіх хворих спостерігається тахікардія, гіпотонія, олігурія, що характеризують зниження ОЦК. Мають місце тимчасові транзиторні гіпокаліємія, гіпохлоремія, підвищення індексу гематокриту до 0,50-0,54 л/л, зміни КЛС - рН рівняється 7,32-7,33, ВЕ - 2-7. В різних осередках холери зневоднення II ступеня реєструється у 15-25 % хворих. Дегідратація I-II ст. є компенсованою.

При кількості випорожнень до 25-35 разів на добу, частому блюванні швидко розвивається декомпенсоване зневоднення III ст., для якого характерні різка загальна слабкість, неугамовна спрага, часті болючі клоніко-тонічні корчі м'язів рук, ніг, жувальних, живота та інших груп. З'являється постійний ціаноз шкіри та слизових оболонок, шкіра холодна на дотик, різко знижений її тургор до ступеня "рук пралі". Голос хворого сиплий до афонії, температура падає до 35,5-36,0 град.С. Розвивається гіпотонія до колапса, тахікардія, тахіпноє, олігурія, навіть анурія, загострюються риси обличчя, западають щоки і очі. Стійкі ознаки гемоконцентрації та водноелектролітних порушень, а саме: збільшується в'язкість крові до 20 од. (при нормі 4-5 од.), індекс гематокриту - до 0,55-0,65 л/л, зменшується ОЦК до 25 мл/кг, рН крові нижче 7,2, ВЕ 15-18, має місце дізелектролітемія.

При дегідратаційному шоку IV ступеня спостерігається стрімкий розвиток симптомів холери з різко вираженими діареєю та блюванням. Стан хворих надзвичайно тяжкий, максимально виражені ознаки ексикозу: риси обличчя загострені, шкіра та слизові оболонки синюшні, холодні, вкриті холодним липким потом, навколо очей різка синюшність до "симптому окулярів", "рук пралі", обличчя виражає страждання. Часто повторюються генералізовані болючі клоніко-тонічні корчі всіх груп м'язів. Відмічаються гіпотермія, афонія, прострація. Різко порушена функція серцево-судинної системи, тахікардія, пульс часто не промацується, артеріальний тиск не визначається, зростає задишка. Різке зменшення ОЦК та порушення в зв'язку з цим мікроциркуляції лежить в основі розвитку синдрому органної ниркової і поліорганної недостатності (гостра ниркова, серцево-судинна, легенева недостатність). При дегідратаційному шоку IV ст. різко виражені лабораторні ознаки гемоконцентрації: кількість еритроцитів сягає  $6-7 \cdot 10^{10}$  мкл, лейкоцитів  $15-60 \cdot 10^9$  мкл, гемоглобіну - 160 г/л і більше, індекс гематокриту - 0,65-0,75 л/л, гіперпротеїнемія - 80 г/л, розвивається гіпокаліємія, гіпохлоремія, метаболічний та дихальний ацидоз - рН крові менше 7,2, ВЕ - 18-20. В формулі крові - зрушення вліво за рухунок збільшення юних, паличкоядерних елементів, ШОЕ збільшена.

В сучасних умовах в різних епідемічних вогнищах холери спостерігаються і інші клінічні варіанти перебігу холери. Так, у ряді епідемічних вогнищ хвороби питома вага вібріононосіїв досягала 60-80 % і більше, виникли труднощі при проведенні диференційної діагностики вібріононосійства з субклінічними варіантами перебігу холери, яких в деяких вогнищах було в

десятеро більше, ніж клінічно маніфестованих. Значно рідше зустрічаються інші форми хвороби, з клінічним атипичним перебігом.

Блискавична форма холери характеризується бурхливим розвитком з швидким зневодненням, IV ст., судомним та менінгеальним синдромами. "Суха" холера характеризується стрімким початком, різким токсикозом, ураженням ЦНС, менінгеальним сиптокомплексом, корчами, гострою серцево-судинною недостатністю та асфіксією. Пронос і блювання відсутні в зв'язку з різкою гіпокаліємією та кишковою динамічною непрохідністю. Тифоїдна форма хвороби розвивається в зв'язку з приєднанням сепсису на фоні дегідратації з високою гектичною температурою, ознобом, підвищеною пітливістю, затьмаренням свідомості, галюцинаціями.

Холера-мікст розвивається в зв'язку з приєднанням шигельозної, сальмонельозної, ешерихіозної або вірусної інфекції, що клінічно проявляється синдромом інтоксикації, високою температурою, переймистим боєм у животі, початком хвороби з блювання, наявністю патологічних домішок у випорожненнях у вигляді крові та слизу.

Холера у осіб похилого віку та старих має дуже важкий перебіг з стрімким розвитком водно-електролітних порушень, бурхливим розвитком дегідратаційного шоку, гострої ниркової та серцево-судинної недостатності і порівняно високою летальністю. Холера у вагітних розвивається на фоні фізіологічного імунodefіциту і має важкий перебіг, ускладнюється передчасними родами, що посилює прояви хвороби і можливість негативних наслідків. Дуже тяжкий перебіг холери спостерігається у хворих на хронічний алкоголізм, що пояснюється загостренням хронічних гепатиту, панкреатиту, гастриту, алкогольної міокардіопатії, а також більш швидким розвитком на фоні дегідратації і алкогольної інтоксикації синдрому поліорганної патології, набряку головного мозку і легень. Перебіг холери може ускладнюватися пневмонією, холецистоангіохолітом, менінгоенцефалітом, сепсисом.

Діагноз холери ставиться на підставі епідеміологічних та клінічних даних. Для специфічного лабораторного дослідження у хворого до прийняття антибактеріальних препаратів забирають випорожнення, блювотні маси, а для серологічних досліджень - кров (див. відповідний розділ).

Диференційний діагноз холери проводиться з хворобами, в клініці яких домінують ознаки дегідратації, пов'язаної з водянистим проносом та блювотою.

Харчові токсикоінфекції і інтоксикації різної етіології, порівняно з холерою, характеризуються відповідною епідеміологічною ситуацією, більш коротким інкубаційним періодом, гострим початком з ознобу та високої температури, блювання, переймистої, досить інтенсивної болі в животі, відсутністю різко вираженого зневоднення.

Шигельози, на відміну від холери, характеризуються синдромом інтоксикації, високою температурою, інтенсивним переймистим боєм, більше в ділянці сигмовидної кишки, домішками в випорожненнях слизу і крові, тенезмами, несправжніми позивами на низ, спазмом різних відділів товстої кишки. Хвороба починається гостро з високої температури та блювання.

Ешерихіозами частіше хворіють діти, хвороба починається з ознобу, лихоманки, блювання та болю в череві. Клінічний перебіг хвороби залежить від груп ешерихій, що обумовили захворювання. Так, ентеропатогенні кишкові палички спричиняють сальмонельозоподібний перебіг хвороби, ентероінвазійні - шигельозоподібний і ентеротоксигенні - холероподібний. Клінічний діагноз підтверджують результати бактеріологічних і серологічних досліджень.

При вірусних діареях - рота-, ентеро-, аденовірусних та інших - хвороба починається з проносу і блювоти, супроводжується боєм в животі, катаром верхніх дихальних шляхів, міалгіями, герпангіною, лімфаденопатіями, високою температурою та інтоксикацією при помірних порушеннях водно-електролітного обміну. В гемограмі частіше лейкопенія з відносним лімфоцитозом.

Ботулізм розвивається після вживання консервів домашнього приготування, з перших днів хвороби після короткочасного диспепсичного синдрому різко виражена м'язова слабкість, порушення зору, мови, ковтання та дихання.

Ознаки отруєння грибами проявляються вже через декілька годин після їх вживання. Захворювання супроводжується різким болем в животі, слинотечею, пітливістю, гемоколітом, розладами психіки, маренням, галюцинаціями, ранніми ознаками враження печінки та гемолізу.

При отруєнні миш'яком, сулемою, солями важких металів, ядохімікатами інкубаційний період не перевищує 1-3 години, хвороба починається з багаторазової блювоти, супроводжується різким болем в череві, виникненням сильного болю по ходу нервових стовбурів. Блювотні маси нерідко містять слиз і кров, розвивається гемоколіт. В діагностиці даної групи отруєнь велике значення має ретельно зібраний анамнез захворювання.

Діареї алергічної природи частіше виникають після вживання молока, яєць, риби, крабів, цитрусових, томатів, меду, суниць, полуниць, смородини, ліків і розвиваються вже через декілька хвилин або годин, перебігають з іншими проявами алергії - висипами, набряками, свербінням, домішками слизу в випорожненнях, еозинофілією в гемограмі та копроцитограмі. В діагностиці алергозів має значення ретельно зібраний алергологічний анамнез.

**ЛІКУВАННЯ.** Хворі на холеру підлягають обов'язковій госпіталізації в центральний підрозділ шпитальної бази, який організується в епідемічному вогнищі - холерний шпиталь. Всі особи, що страждають діареєю невстановленої етіології, диспепсичним синдромом та іншими проявами кишкової патології, госпіталізуються в провізорний шпиталь, а контактні особи - в ізолятор.

Хворому необхідно терміново поповнити втрати води, мікроелементів і нормалізувати КЛС. Регідратація починається негайно після виявлення хворого на всіх етапах надання йому допомоги: вдома, в поліклініці, під час евакуації, в приймальному відділенні і в стаціонарі.

Умовно виділяють два етапи нормалізації водно-електролітних порушень у хворих на холеру: первинна регідратація, мета якої поповнити втрати води протягом 1-3 годин, другий етап - корекція втрат рідини та електролітів, які далі продовжуються, а також показників КЛС, який продовжується до нормалізації випорожнень і діурезу.

Регідратація у хворих при зневодненні I-II ступеня може бути забезпечена пероральним прийомом полііонних сольових ізотонічних або злегка гіпотонічних розчинів такого складу.

ГЛЮКОСОЛАН містить 3,5 г натрія хлориду, 2,5 г натрія гідрокарбоната, 1,5 г калія хлориду, 20,0 г глюкози на 1000,0 мл кип'яченої охолодженої води до 39-40 град.С.

ЦТРАГЛЮКОСОЛАН - 3,5 г натрія хлориду, 2,9 г натрія лимоннокислого, 1,5 г калія хлориду і 17,0 г глюкози.

РЕГІДРОН - 3,5 г натрія хлориду, 2,5 г калія хлориду, 2,5 г натрія лимоннокислого і 10,0 г глюкози обезводненої.

РОЗЧИН МЕРСОНА - 5,0 г натрія хлориду, 4,0 г натрія гідрокарбоната, 1,0 г калія хлориду і 50,0 г глюкози.

ГАСТРОЛІТ - 1,0 г натрія хлориду, 1,5 г натрія гідрокарбоната, 1,5 г калія хлориду і 40,0 г глюкози.

Таблетки "СОЛАН" вміщують 0,35 г натрія хлориду, 0,25 г натрія гідрокарбоната або 0,29 г натрія цитрата, 0,15 г калія хлориду. До вказаних таблеток "СОЛАН" додаються таблетки "ГЛЮКОЗИ" по 0,5 г в кожній. Випускається набір, що складається з 40 таблеток "СОЛАН" та "ГЛЮКОЗИ", які по одній таблетці кожного розчиняють в 1000,0 мл води.

Розчин, запропонований ВООЗ: 3,5 г натрія хлорида, 2,9 г натрія цитрата, 1,5 г калія хлорида і 20,0 г глюкози.

До складу розчинів другого покоління та стану входять компоненти, що нормалізують водно-електролітний баланс і енергетику - 3,5 г натрія хлорида, 1,5 г калія хлорида, 2,9 г тринатрія цитрата і 50,0 рисової пудри.

Зазначені вище орально-регідраційні суміші розчиняють в 1000,0 мл кип'яченої води і дають пити хворому протягом однієї години в такому об'ємі:

$$V \text{ мл/год} = \frac{M \times A}{6} \times 10, \text{ де}$$

V - об'єм рідини в мл, який приймає хворий протягом години,

M - маса тіла хворого в кг,

A - відсоток втрати маси тіла хворим.

Розчин дають пити кожні 10-15 хвилин по 150-300 мл і більше. За годину хворому дають близько 1,5-2,0 л рідини, а протягом доби- 3-4,0 л і більше. Розчини приймають незалежно від харчування, разом з водорозчинними вітамінами, етіотропними препаратами, молоком матері, імуноглобулінами та іншими ліками.

Орально-дегідратійну терапію треба проводити не тільки при I-II ступенях зневоднення, але і при III ступені дегідратації, що в поєднанні з внутрішньовенним введенням кристалоїдів дає можливість суттєво зменшити тривалість процедур та обсяг останніх.

Абсолютними показаннями до внутрішньовенного введення регідраційних розчинів є зневоднення III-IV ступенів (дегідратійний шок III-IV ст.), анурія, нестримна блювота, виражений синдром інтоксикації при мікстинфекції, відсутність ефективності оральної регідрації протягом 12-24 годин. В сучасних умовах найефективними є ізоосмолярні розчини, які збалансовані по калію, натрію, хлору, буферним компонентам - "КВАРТАСОЛЬ". "АЦЕСОЛЬ", "ХЛОСОЛЬ", "ТРИСОЛЬ", "ДИСОЛЬ", склад яких наведений в таблиці N 1.

Таблиця 1

Склад стандартних сольових розчинів для внутрішньовенної регідрації - в г на 1000,0 мл апірогенної води

Розчин	Вміст в г на 1000,0 мл апірогенної води			
	ХЛОРИД	АЦЕТАТ	ГІДРОКАРБОНАТ	КАЛІЯ ХЛОРИД
КВАРТАСОЛЬ	4,75	2,6	1,0	1,5
АЦЕСОЛЬ	5,0	2,0	-	1,0
ХЛОСОЛЬ	4,75	3,6	-	1,5
ТРИСОЛЬ	5,0	-	4,0	1,0
ДИСОЛЬ	6,0	-	4,0	-

Наведені вище розчини, переважно "Квартасоль" як найбільш ефективний, підігріті до 37-38 град. С, при дегідрататійному шоку вводяться цівкою з об'ємною швидкістю 75-120 мл/хв, до 4-6 л і

більше протягом 1-2 годин, орієнтовний об'єм кристалоїдів, необхідний для первинної регідратації, розраховують по формулі Коена:

$$V_{\text{мл}} = M/\Gamma - 0,45/ \times 4 \text{ або } 5, \text{ де}$$

M - маса хворого в кг,  $\Gamma$  - гематокрит у хворого,

4 - при  $\Gamma$ , рівному 0,60 л/л, 5 - при індексі  $\Gamma$  вище 0,60 л/л, 0,45 - індекс гематокрита в нормі.

Менш практичне значення в умовах спалаху холери має формула Філіпса:

$$V_{\text{мл}} = 10 \times 4/\Pi - 1,024/ \times M, \text{ де}$$

$\Pi$  - відносна щільність плазми,

M - вага хворого в кг.

До методичних рекомендацій додається таблиця 2, в якій в залежності від маси тіла хворого і його віку наведений об'єм рідини для пероральної регідратації протягом 3-4 годин.

Перехід на повільне крапельне введення сольових розчинів можливий після відновлення пульсу, артеріального тиску, нормалізації температури тіла, покращання діурезу, ліквідації гіповолемії, дізелектролітемії гемоконцентрації, ацидозу. Коригуюча регідратація проводиться під контролем втрат рідини з випорожненнями, блюванням, показників індексу гематокриту вмісту калія, натрія, хлора, КЛС, функції нирок та інших органів (додаток 19).

Втрати рідини та інші показники лабораторного дослідження хворих визначають кожні 4-6 годин і вносять в карту інтенсивного спостереження та лікування. При гіперкаліємії вводять "Дисоль", ізотонічні розчини глюкози і натрія хлориду. Регідратація припиняється після зменшення об'єму випорожнень і переваження кількості сечі на протязі 10-12 годин, відсутності блювоти та нормалізації функції серцево-судинної системи. Призначення катехоламінів, строфантина, глюкокортикостероїдів і мінералокортикоїдів протипоказано. В стадії ранньої реконвалесценції хворим призначають оротат калія, аспаркам, панангін, а також харчові продукти, багаті на вміст калія - печену картоплю, томати, курагу, банани, смородину, виноград.

Для своєчасного введення розчинів в повному об'ємі тяжко хворим показана катетеризація підключичних і ліктьових вен.

Етіотропне лікування показане хворим будь-якою клінічною формою холери, бо воно суттєво підвищує ефективність і патогенетичної терапії. В останні роки в Україні виділені резистентні до тетрацикліну вібріони ельтор серовар Огава. В зв'язку з цим хворим і вібріононосійм призначають еритроміцин по 0,25-0,3 - 4 рази на добу протягом 5 днів, бісептол - 480 по 2 табл. вранці і ввечері, левоміцетин по 0,5 - 4 рази на добу протягом 5 днів, фуразолідон по 0,1-0,15 - 4 рази на день, норфлуксацін по 400 мг - 2 рази на день. Якщо штами збудників холери чутливі до тетрациклінів, то призначають доксициклін по 0,1 2 рази в перший день лікування і по 0,1 наступні 4 дні, метациклін по 0,3 2 рази на день або ж тетрациклін по 0,3-0,5 4 рази на день протягом 5 днів. При порушенні ковтання і нестримному блюванні хіміотерапевтичні препарати вводять парентерально. Реконвалесцентів холери виписують із стаціонару після клінічного видужання та 3 негативних бактеріологічних досліджень випорожнень, проведених через 24-48 годин після закінчення антибактеріального лікування. Робітникам підприємств харчування та іншим особам, які до них прирівнюються, проводиться одноразове контрольне бакдослідження порцій В і С жовчі. При позитивних результатах бакдосліджень призначається повний курс етіотропного лікування.

Реконвалесcentи холери підлягають диспансерному спостереженню протягом 3 місяців. Протягом першого місяця щодаки їм проводять бактеріологічне обстеження випорожнень і один раз жовчі. Перше бакдослідження проводять після прийняття хворим 30,0 г сульфата магнія. У наступні 2 місяці досліджують кал на вібріофлору 1 раз на місяць.

Всі реконвалесценти холери, що виписалися з негативними результатами бактеріологічного дослідження калу і жовчі, зразу можуть бути допущені до роботи.

Диспансеризацію забезпечують КІЗи, а при їх відсутності - дільничні терапевти та педіатри.

При виявленні вібрионосійства реконвалесцента госпіталізують.

При відсутності вібрионів в калі протягом всього періоду спостереження комісія в складі головного лікаря поліклініки, епідеміолога і інфекціоніста знімає реконвалесцента з диспансерного обліку.

Таблиця 2

План лікування Б (Лікування зневоднення розчином орально регідраціної суміші (ОРС)  
Використуйте дану таблицю для того, щоб визначити, яка кількість розчину ОРС необхідна для лікування протягом 4-6 год.

Вага тіла хворого, кг	50
Вік хворого	Дорослі
Давати дану кількість розчину (мл) протягом 4-6 год.	2000-4000

#### ФУНКЦІЇ ДІЛЬНИЧНОГО ЛІКАРЯ ТА ЛІКАРЯ БУДЬ-ЯКОЇ СПЕЦІАЛЬНОСТІ У ВОГНИЩІ ХОЛЕРИ

В холерному вогнищі будь-яке захворювання шлунково-кишкового тракту, що супроводжується діареєю та блювотою, розцінюється як підозра на холеру. В такому випадку лікар зобов'язаний:

- негайно викликати бригаду швидкої допомоги для госпіталізації хворого, у випадку необхідності почати регідраційну терапію;
- сповістити головного лікаря лікувальної установи про наявність хворого з підозрою на холеру;
- написати хворому направлення в холерний шпиталь, навівши епідемічні дані;
- вписати епідемічні і клінічні дані в амбулаторну карту;
- скласти і відіслати в СЕС екстренне повідомлення;
- визвати дезбригаду або бригаду швидкої допомоги для госпіталізації хворого.

#### Клініка холери у дітей

Інкубаційний період від декількох годин до 6 діб, частіше 2-3 дні. Клініка характеризується великою різноманітністю. Можливі всі перехідні форми - від найлегкіших ентеритів до вкрай тяжкого перебігу хвороби.

**КЛАСИФІКАЦІЯ.** Виділяють типову та атипову холеру. Типова холера в залежності від ступеню обезводнення може бути легкою, середньотяжкою та тяжкою. При визначенні ступеня дегідратації у дітей до 5 років ми вважаємо доцільним користуватися класифікацією М.С.Маслова, при якій виділяють 3 ступеня обезводнення організму: I - втрата рідини в об'ємі до 5 % маси тіла, II - втрата рідини від 6 до 10 %; III - втрата в об'ємі 10 % маси тіла та більше. У дітей старше 5 років при визначенні ступеня дегідратації, коли коливання в масі більш виражені, ніж у дітей перших років життя, слід користуватися класифікацією В.І.Покровського. В цій класифікації виділяють 4 ступеня обезводнення організму: I - втрата рідини в об'ємі 1-3 % маси тіла; II - втрата 4-8 %; III - втрата 7-9 %; IV - втрата рідини в об'ємі 10 % маси тіла та більше.

Легка форма характеризується клінікою ентерита та невеликим обезводненням (дефіцит маси не перевищує 3-5 %). Частота стула 3-5 рази на добу. При типовій холері, навіть якщо стул 4-5 разів, швидко розвивається обезводнення, так як стул дуже рясний, водянистий. Випорожнення мають лужну реакцію у зв'язку з тим, що вони містять мало білка, але в них виявляється значна кількість солей натрія, калія, бікарбонатних іонів. Містять епітеліальні клітини, але кількість їх не більша, ніж в калі здорової людини. Дефекація частіше без болі, тенезмів немає, тільки в окремих випадках відмічаються нерізкі болі в животі. У всіх хворих язик сухий, живіт втягнутий і, як правило, відмічається урчання по ходу тонкого кишечника. Температура тіла звичайно залишається нормальною. Симптоми обезводнення та ознаки порушення гемодинаміки клінічно не виражені. Продовженність ентеритної фази 2-3 дні. Захворювання в більшості випадків закінчується одужанням.

Середньотяжка форма відрізняється розвитком обезводнення II - втрата маси тіла до 6-9 %.

Переходом до цієї фази є приєднання блювоти - повторної, обильної, без попередньої тошноти. Спочатку рвотні маси містять залишки їжі, а потім стають водянистими, іноді з домішками жовчі. Випорожнення з кишечника стають водянистими, втрачають каловий запах та колір, приймають вигляд рисового відвару (безколірна мутнувата рідини з прозорими хлоп'ями та шматочками), частота стула від 5 до 15 разів, запах рибний, солодкуватий. Іноді, внаслідок домішок крові, випорожнення мають рожеве забарвлення чи вигляд м'ясних помійів. З'являються нестерпна спрага та ікота. Язик сухий, з білим нальотом. Діти стають в'ялими, адинамічними, тонус м'язів знижується. Шкіра втрачає еластичність - шкірна складка погано розправляється. Велике джерельце западає. Кров стає більш в'язкою і швидкість кровотока знижується. Може настати централізація кровообігу, при якій кров з крупних артерій не в повній мірі доходить до периферійних капілярів, а прямує через відкриті артеріальні анастомози прямо в венозну систему, мінаючи капілярну сітку. В результаті чого виникає тахікардія, гіпотонія, тахіпноє. Виникає гіпоксія і гіпоксемія. Шкіра та слизові оболонки стають ціанотичними, кінцівки холодними. Температура частіше знижується до субнормальних цифр, але у дітей раннього віку - субферильна у 50 % хворих. Можуть бути судоми.

Тяжка форма чи алгідна стадія характеризується розвитком ексикоза III ступеня (дефіцит маси тіла 10 і більше %). Діарея більше 15 разів на добу, блювота може бути нестримною, спрага може бути відсутня. Загальний стан погіршується. Дитина знаходиться в прострації. Наростає синюшність шкірних покривів, риси обличчя загострюються, шкіра вкривається холодним липким потом (від латин. *algus* - холодний). Виникають судоми в ікроножних м'язах, в пальцях рук та ніг, а у дітей раннього віку - загальні судоми. При судомах діафрагми з'являється болюча ікота. Пульс ледве відчувається, тони серця глухі. АТ низький, різко знижена еластичність шкіри. Із-за різкого обезводнення можливий шум тертя перикарда (псевдоперикардит) і шум тертя плеври (псевдоплеврит). Олігурія може перейти в анурію. Із-за різкого дефіциту солей калія може розвинутися і динамічна кишкова непроходимість (стійкий парез кишечника). Описані прояви розвиваються дуже швидко: стан алгіда іноді настає через 2-4 години від початку захворювання, іноді через 12-24 години і рідше в більш пізніші строки. Алгідна фаза при вірному лікуванні переходить в реактивну фазу - поступове покращання стану та відновлення діурезу. При відсутності адекватної терапії чи наявності неблагоприємного преморбідного стану, особливо у дітей раннього віку, настає асфіктична фаза. З'являються уремичний та азотемічний синдроми та летальний наслідок. В крові відмічається збільшення кількості еритроцитів до  $7-8 \times 10^{12}/л$ , лейкоцитів до  $15-20 \times 10^9/л$  та більше з палочкоядерним зсувом, збільшення індекса гематокрита до 60-70 %, тромбоцитопенія.

До атипових форм відносять гіпертоксичну, так звану суху холеру, а також стерті та субклінічні форми.

Суха холера виникає раптово. Поносу та блювоти немає, але відмічається парез кишечника. Захворювання починається з асфіктичного періоду (ціаноз, серцева недостатність, задишка,

судоми). При розтині виявляється накопичення великої кількості рідини в кишечнику, яка внаслідок парезу останнього не могла бути виведена наружу. Клініка ендо- та екзотоксичного шоку.

Стерта форма. Кишкові розлади незначні. Перебіг абортівний. Стул 2-5 разів, іноді і більше, але кількість води в калових масах не значна, ознаки обезводнення відсутні.

Субклінічна - немає клініки, відмічається тільки приріст вібриоцидних антитіл.

Ускладнення. Специфічні ускладнення у дітей спостерігаються дуже рідко: гостра ниркова та серцево-судинна недостатність. Частіше ускладнення обумовлені приєднанням вторинної бактеріальної інфекції (пневмонія). У ослаблених дітей можуть спостерігатися абсцеси, флегмони різноманітної локалізації, сепсис, який в минулому був описаний як "холерний тифоїд".

#### Особливості клініки холери у дітей раннього віку

1. Гострий початок з появи рідкого стула. Випорожнення в перші години носять каловий характер, а потім приймають характер "рисового відвару". В тяжких випадках вони можуть приймати кров'янисте забарвлення по типу м'ясних помийв.
2. У половини хворих можуть відмічатися приступоподібні болі в животі.
3. Блювота характерна тільки для тяжких форм холери. Часто вона розвивається після початку діареї. З'являється спрага, але випита рідина посилює блювоту.
4. Масивна втрата рідини протягом 1-4 годин призводить до обезводнювання, ступінь вираженості якого залежить від тяжкості захворювання. Швидко розвиваються порушення з боку нервової та серцево-судинної систем. Часто відмічаються судоми.
5. Температура тіла знижена до 35-36 град. С, з'являється олігурія. У дітей першого року життя холера починається з підвищення температури тіла.
6. У дітей першого року життя летальність при тяжких формах холери може досягати 15-20 %.
7. Часті комбінації холери з іншими кишковими інфекціями, що змінює клініку захворювання (приєднуються симптоми коліту, гемоколіту, інтоксикація).
8. У дітей частіше зустрічаються легкі та стерті форми холери, які характеризуються помірною кишковою дисфункцією та абортівним перебігом.

#### Лікування холери у дітей

При призначенні патогенетичної терапії при холері у дітей слід враховувати наступне:

- в організмі дитини вміст води відносно більший, ніж у дорослих;
- у дитини має місце перевага позаклітинної рідини над внутрішньоклітинною з низьким процентом фіксованої рідини в інтерстиціальному просторі;
- в функціональному відношенні організм дитини бідний на воду. Значно більша поверхня, яка приходить на одиницю маси тіла, обумовлює відповідно більший основний обмін, а також підвищене виведення сечі. Необратимі втрати води у дитини досягають 1/5 величини дорослої людини. Обмін рідини у дітей відбувається в 3-14 разів швидше. Для повного виділення рідини з позаклітинного простору дитині теоретично потребує 7 днів, а дорослому - 10 днів. Таким чином, шансів вижити у дитини менше;
- в перерахуванні на масу тіла діти раннього віку містять на 50 % більше натрію і на 20 % менше калію, ніж дорослі. Для дітей першого року життя характерний стан фізіологічної гіперосмолярності;

- у дітей відносно більша активність АТФ-ази та менший запас макроергів, тому в них швидше виснажуються натрійовий насос з втратою калія та має місце здатність до внутрішньоклітинного набряку;
- буферні системи, які забезпечують постійний КЛС у дітей менш ефективні, тому при виведенні продуктів обміну дитина втрачає більшу кількість води;
- враховуючи низьку концентраційну здатність нирок дитини, його організм не здатний швидко вивести натрій і хлор при їх надмірному введенні;
- функціональна здатність нирок у дітей формується в процесі розвитку з різною швидкістю. При цьому функція каналців відстає від функції клубочків, внаслідок чого діти з більшими труднощами компенсують втрати води;
- у дітей має місце схильність до розвитку гіпоглікемії, яка пов'язана з недостатнім визволенням глюкози з глікогена при підвищеній її периферійній потребі та недостатнім глюконеогенезом;
- витрата енергії значно вища, ніж у дорослих. Потреба в білках особливо підвищується при втраті кишкового секрету, запальних процесах в шлунковокишковому тракті;
- діти при холері з калом втрачають менше натрію, хлору, бікарбонатів та більше калію, ніж дорослі.

Вміст електролітів в мМ/г в випорожненнях при холері

	Діти	Дорослі
Натрій	109	124-145
Хлориди	91.8	87-105
Бікарбонати	30.6	44-50
Калій	29.5	9-27

Лікування проводиться на основі патогенетичних механізмів холери та будується на відновленні водно-електролітного балансу організму.

Необхідно враховувати, що хворі на холеру підлягають обов'язковій госпіталізації до спеціалізованого інфекційного відділення, а з тяжкими формами до реанімації. Хворі з підозрою на холеру повинні госпіталізуватися до провізорного госпіталю. Згідно рекомендації ВООЗ підозрілими на холеру є випадки у дітей старше 5 років з гострими кишковими захворюваннями, які супроводжуються тяжким обезводненням організму в результаті гострої водянистої діареї та рвоти чи у всіх пацієнтів більше 2-х років з гострою водянистою діареєю в місцях, де мають місце випадки холери.

Терапія хворого на холеру повинна розпочинатися негайно після госпіталізації. Але для правильного її проведення, по-перше, необхідна визначити ступінь обезводнення хворого, та зміни у електролітному балансі хворого. Для цього визначається вага хворого, вимірюються в крові рівень гематокриту, гемоглобіну, основних електролітів крові, глюкози, загального білка, альбумінів крові, по можливості, питома вага плазми крові, коагулограма, кислотно-лужний стан крові.

В разі неможливості скорого проведення необхідних лабораторних досліджень ступінь дегідратації визначають за клінічними даними. Важливіші критерії клінічної діагностики ступеня обезводнення представлені в таблиці 3.

Таблиця 3  
Клінічна оцінка тяжкості ексикозу у дітей

Симптоми	I ступінь 5 %	II ступінь до 10 %	III ступінь більше 10 %
Стан ЦНС	Без змін	В'ялість, рідко збудження	Різка в'ялість втрата свідомості, судоми
Гемодинаміка частота серцевих скорочень	незначна тахікардія	тахікардія	тахікардія аж до ембріокардії
Периферичний кровообіг	не змінений	легкий акроціаноз	ціаноз "мармуровість" шкіри
Тони серця	гучні	незначно послаблені	значно послаблені
АТ	нормальний або підвищений	підвищений	знижений
ЦВТ	норма	знижений	нульовий
Дихання	не змінено	незначна задишка	виражена задишка, Кусмауля
Шкіра	не змінена	дрябла	суха, береться в складки
Слизові оболонки	вологі, злегка сухуваті	сухі	сухі, можливе висипання рогівки
Тургор тканин	в нормі	знижений	значно знижений
Спрага	помірна	різко виражена	відсутня
Голос	звичайний	звичайний	сиплий до афонії
Діурез	помірно знижений	знижений	різко знижений
Гемоглобін	нормальний	помірно підвищений	підвищений
Гематокрит	помірно підвищений	підвищений	значно підвищений
Рівень калію	знижений в плазмі	знижений в плазмі	значно знижений в плазмі та еритроцитах
Рівень натрію та хлору	нормальний чи підвищений	нормальний чи підвищений	понижується в плазмі та підвищується в еритроцитах
Кислотно-основний стан крові	не змінюється	компенсований ацидоз	декомпенсований ацидоз

Другим етапом перебування хворого на холеру в стаціонарі є проведення невідкладної регідратації з обов'язковим поточним контролем стану пацієнта, визначенням поточних втрат води та електролітів.

При проведенні регідратаційної терапії у дітей необхідно знати, що водно-сольові рідини, які використовуються у дорослих (трисоль, дісоль, хлосоль, ацесоль, розчин Рінгера, Філіпса, "Дакка") в дитячому віці краще не використовувати. Це обумовлено тим, що електролітний баланс цих розчинів не відповідає електролітному складу випорожнень дитини. Як правило, всі ці розчини вміщують в собі надлишок натрію, бікарбонатів, та недостатню кількість калію. Крім того, такий широко розповсюджений у нас в країні розчин як "Трисоль" вміщує 50 г глюкози, що є надлишком. При такому вмісту глюкози підвищується осмотичність розчину, що небажано у дітей. Крім цього, проведені нами дослідження вмісту глюкози в крові дітей, хворих на холеру, показали, що її рівень знаходиться в межах нормальних величин. Найбільш оптимальними за своїм складом для проведення регідратаційної терапії при холері у дітей є такі розчини як Рінгера-лактат, 5 % розчин декстрази на 0,45 % розчині хлориду натрію, розчин PCRS (Pediatric cholera replacement Solution).

Можливе в педіатричній практиці використання розчину "Квартасоль" (натрію хлорид - 4,75 г, калію хлорид - 1,5 г, натрію бікарбонат - 1,0 г, натрію ацетат 2,6 г). Але осмолярність цього розчину є також підвищеною, тому при проведенні регідратаційної терапії у дітей його необхідно розводити 5 % розчином декстрази на 0,45 % розчині натрію хлориду чи 5 % розчином глюкози в співвідношенні 1:1.

Широке застосування при лікуванні холери у дітей знаходить розчин Рінгера-лактат. Але він не придатний для тривалого використання, тому що також містить надлишок натрію. Якщо розчин Рінгера-лактат вводиться протягом декількох днів, то його кількість повинна бути на 25 % менше ніж об'єм патологічних втрат за предостанній інтервал. Ця різниця доповнюється пероральним введенням рідини, яка містить в 1 л води 20 г глюкози та 2,0 хлориду калію.

При використанні 5 % розчину декстрази на 0,45 % розчині хлориду натрію необхідно безпосередньо перед його введенням додати 32 мМ/л бікарбонату натрію. Ця рідина без врахування втрат калію близька до складу випорожнень дитини.

Розчин PCRS (в 1 л апірогенної води 2,5 хлориду натрію, 1,1 хлориду калію, 3,7 натрію ацетату, 0,05 хлориду кальцію, 0,04 г хлориду магнію) - розчин гіпотонічний, містить достатньо калію, а також такі необхідні мікроелементи як кальцій та магній. Перевагою розчину PCRS є також те, що він містить натрію ацетат, який легко стерилізується і може зберігатися в складних розчинах.

Згідно нашим дослідженням в 60 % випадків холери у дітей має місце зниження загального білка крові до 43-50 г/л. Це може бути пов'язано з підвищеними енергетичними затратами, відсутністю поступання білку з їжею, з втратами його через нирки (рівень білка у цих дітей в сечі становив 0,33- 0,99 г/л).

Враховуючи сказане, визначення рівня білка в крові у дітей з холерою є обов'язковим аналізом, і в разі його зниження для покриття енергетичних потреб організму, підвищення онкотичного тиску крові показано внутрішньовенне введення 5-10 % розчину альбуміну. При проведенні інфузійної терапії дітям з холерою необхідно враховувати, що іони калію швидко можуть переходити із клітин в судинне русло, що, по-перше, потребує визначення рівня калію як в плазмі так і в еритроцитах не менше 4 разів на добу, а, по-друге, вводити хлорид калію в дозі не менше 5-6 мМ/кг на добу.

Враховуючи важливість іонів магнію для підтримки енергетичного балансу організму (участь в процесах гліколізу, окисного фосфорілювання), а також для регуляції активності мембранної АТФ-ази, транспорту калію в середину клітини, в перші три доби хворим з холерою

показано введення 25 % розчину сульфату магнію в дозі 0,5-0,76 мМ/кг маси тіла (1 мл розчину містить 1 мМ магнію).

У новонароджених дітей оптимальним розчином для регідраційної терапії при холері є суміш фізіологічного розчину з 5 % розчином глюкози у співвідношенні 1:1 під постійним контролем вмісту калію і натрію в крові.

Дітям з холерою при наявності ексикозу II та III ступеню внутрішньовенне введення рідини починають негайно. Для пацієнтів у віці до 1 року рідину вводять в дозі 100 мл/кг маси тіла протягом 6 годин. В першу годину вводять 30 мл/кг маси тіла, а в наступні 5 годин 70 мл/кг маси тіла. Дітям у віці більше 1 року об'єм рідини, яка вводиться внутрішньовенно, складає 100 мл/кг маси тіла. В перші 30 хвилин вводять 30 мл/кг маси тіла, в наступні 2 години 30 хвилин вводять 70 мл/кг маси тіла. Після введення перших 30 мл/кг маси тіла необхідно перевірити стан гемодинаміки (наповнення пульсу, артеріальний тиск, стан мікроциркуляції). Якщо гемодинамічні розлади утримуються, то необхідно продовжити введення рідини протягом наступних 30 хвилин з тією ж швидкістю та призначити симпатоміметичну підтримку гемодинаміки допоміном в дозі 1-3 мкг/кг/хв з наступним збільшенням її до 6 мкг/кг/хв, якщо первинна доза препарату не дає бажаного ефекту. У випадках, коли симпатоміметична підтримка неефективна, зберігаються гемодинамічні розлади, хворого необхідно перевести на штучну вентиляцію легень. На прикінці 3-6-ї години введення рідини необхідно повторно оцінити стан гемодинаміки. Слід пам'ятати, що при проведенні регідраційної терапії на першому етапі можуть зрости втрати рідини з калом, блювотою. Тому протягом 3-6-ї години регідрації об'єм патологічних втрат необхідно додати до розрахованої кількості рідини. Якщо регідрація проведена правильно, то вага тіла досягає первинної, але ні в якому разі не повинна перевищувати її більш, ніж на 13 %. Другим етапом проведення регідраційної терапії у дітей є етап відновлення поточних патологічних втрат, які враховуються кожні 4 години. При цьому, об'єм рідини, який втрачається з перспірацією та сечею розраховується як 75 мл/кг маси тіла на добу. Найбільш оптимальними розчинами для підтримуючої регідрації є розчин 5 % декстрази на 0,45 % розчині хлориду натрію та розчин РСRS.

Всі розчини підігрівають до 37-38 град С. Після припинення блювоти та при ексикозі I ступеня відновлення втрат рідини проводять оральним шляхом. Для цієї мети використовують глюкозо-сольові розчини для оральної регідрації (Таблиця 4).

Таблиця 4

Приблизна кількість розчину для оральної регідрації, яка призначається в перші 4 години

Вік*	Менше 4 місяців	4-11 місяці	12-23 місяця	2-4 роки	5-14 років	15 років і старше
Вага	Менше 5 кг	5-7,9 кг	8-10,9 кг	11-15,9 кг	16-29,9 кг	30 кг і більше
ОРС (мл)	200-400	400-600	600-800	800-1200	1200-2200	2200-4000

\* Використовуйте вік тільки у випадках, коли невідома вага хворого. Приблизний об'єм може бути розрахований шляхом перемноження ваги хворого (в кг) на коефіцієнт 75.

У випадках, коли у хворого немає ознак обезводнення, розчини для оральної регідрації дають в об'ємі 50-200 мл після кожного випорожнення.

При проведенні оральної регідрації стан хворого необхідно контролювати кожні 4 години.

Водно-сольова терапія хворим на холеру припиняється при появі випорожнень калового характеру, відсутності блювоти та перевищенні кількості сечі над випорожненнями на протязі 6-12 годин.

В періоді реконвалесценції при холері показано призначення солей калію (панангін, оротат калію).

Антибактеріальну терапію холери призначають після першого етапу регідратації, через 3-6 годин після госпіталізації. Препаратами вибору у дітей є еритроміцин, невіграмон, фуразолідон (ніфуроксазид), бісептол, які призначаються протягом 5 днів. Годування хворих на холеру починається зразу після припинення блювоти. Призначаються ті ж продукти, якими хворого годували до госпіталізації. Дітям старшого віку призначають харчові продукти багаті на вміст калію: печена картопля, курага, ізюм, банани.

Реконвалесцента холери виписують із стаціонару після клінічного видужання та 3-х негативних бактеріологічних досліджень випорожнень, проведених через 24-48 годин після закінчення антибактеріальної терапії. Реконвалесценти холери підлягають диспансерному нагляду протягом 3-х місяців. Контрольні бакобстеження проводять кожного місяця. При виявленні бактеріоносійства реконвалесцента госпіталізують.

#### Лабораторна діагностика

В системі протихолерних заходів значне місце займають лабораторні методи дослідження, основним з яких є бактеріологічний.

Дослідження проводяться з метою:

- виявлення хворих на холеру і вібріоносіїв ;
- встановлення заключного діагнозу при розтині померлих від ГКЗ і підозрілих на холеру захворювань;
- контроль за ефективністю лікування хворих на холеру і вібріоносіїв;
- контроль за забрудненням об'єктів довкілля;
- підозрілих на холеру захворювань;
- виявлення джерел і факторів передачі інфекції.

Серологічні методи досліджень, як правило, мають допоміжне значення і тільки в окремих випадках результати їх можуть бути вирішальними для ретроспективної діагностики захворювання або вібріоносійства.

#### Бактеріологічний метод дослідження

Для бактеріологічного аналізу можуть бути використані:

- матеріал від людей (випорожнення, блювотні маси, жовч, трупний матеріал та ін.);
- проби із об'єктів довкілля (вода: питна, поверхневих водоймищ, стічна; мул, гідробіонти, предмети забруднені випорожненнями, змиви з об'єктів довкілля, харчові продукти та ін.).

##### 1. Забір матеріалу на дослідження від людей

###### 1.1. Матеріал забирають:

- від хворого - медичний персонал лікувально-профілактичних закладів (ЛПЗ) негайно після виявлення і до початку лікування антибіотиками;
- при обстеженні на вібріоносійство в ЛПЗ, при масових обстеженнях медичний персонал ЛПЗ;

- при обстеженні вогнищ - помічники епідеміологів;
- трупний матеріал - патологоанатоми і судмедексперти в спеціалізованих закладах.

1.1.1. Для відбору проб використовують чистий стерильний посуд, який не має слідів дезінфікуючих розчинів. В ємкості (горшки, судна і ін.) підкладають чашки Петрі або вощений папір, щоб уникнути контакту досліджуваного матеріалу з посудом, який оброблявся дезрозчином. Використані алюмінієві петлі знезаражуються тільки кип'ятінням в 2 % розчині соди протягом 15-30 хв. з подальшим миттям і стерилізацією.

1.1.2. В залежності від конкретних завдань і умов матеріал може бути направлений в лабораторію:

- в нативному вигляді;
- в 5 мл 1 % пептонної води рН 7,8+/-0,2 (транспортне середовище);
- в 10-50 мл 1 % пептонної води рН 7,8+/-0,2 або рН 9,3+/-0,2 (1-е середовище збагачення);
- в 10-50 мл 1 % пептонної води рН 7,8+/-0,2 з консервантом - телуріту калію, препарат "Прогрес" та ін. (1-е середовище збагачення).

Варіанти відбору та доставки матеріалу.

На флаконах, пробірках з 1 % пептонною водою, чашках з лужним агаром, які передаються в ЛПЗ для відбору проб, повинні бути зазначені назва середовища і дата виготовлення. В ЛПЗ пептонну 1 воду для відбору проб рекомендується зберігати не більше 7 діб при температурі не вище 10 град. С при умові збереження прозорості середовища, для середовищ з телурітом калію - не більше 2 діб, лужного агару - не більше 5 діб.

1.1.3. Від хворих з підозрою на холеру і тяжкими формами гастроентеритів, ентеритів, гастроентероколітів в лабораторію направляють:

- нативний матеріал;
- посів матеріалу в 50 мл 1 % пептонної води рН 7,8+/-0,2.

При багаторазовому відборі матеріалу проміжки між відборами визначаються лікарем-інфекціоністом в залежності від стану хворого.

1.1.4. Від хворих ГКЗ, контактних і на вібріононосійство - посів матеріалу на середовище збагачення, транспортне середовище або середовище з консервантом.

1.1.5. Обстеження перехворілих, вібріононосіїв перед випискою із стаціонару проводиться не раніше 24 годин після закінчення лікування антибіотиками трикратно з добовим інтервалом. У осіб, що відносяться до груп ризику (декретовані та інші контингенти), досліджують жовч одноразово.

1.1.6. При диспансерному нагляді за перехворілими холерою, вібріоносіями матеріал забирають протягом першого місяця один раз в 10 днів (перший раз обов'язково з використанням послаблюючих засобів), а потім щомісяця, на період спостереження.

1.2. Засоби відбору проб.

1.2.1. Випорожнення, блювотні маси, промивні води в кількості 10-20 мл стерильними ложками переносять в стерильний скляний посуд.

1.2.2. Жовч беруть при дуоденальному зондуванні в лікувальній установі. В окремі пробірки збирають дві порції із жовчного міхура і жовчних протоків (проби В і С).

Ректальний:

1.2.3. Стерильний тампон вводять в пряму кишку на глибину 5-6 см, збирають вміст із стінок кишечника і вносять у флакон або пробірку з 1 % пептонною водою. Дерев'яний стрижень використовують одноразово.

1.2.4. Стерильну алюмінієву петлю змочують стерильним фізіологічним розчином або 1 % пептонною водою, вводять в пряму кишку на 8-10 см і переносять забраний матеріал у флакон або пробірку з 1 % пептонною водою.

1.2.5. Від померлих з підозрою на холеру беруть 3 відрізки тонкого кишечника довжиною близько 10 см кожен, які вирізають між двійними лігатурами, що накладені на два кінці ділянки кишечника. Жовчний міхур після перев'язки протока забирають цілком. Забрані взірці (ділянки верхньої, середньої і нижньої частин кишечника і жовчний міхур) поміщають окремо в стерильні банки.

## 2. Відбір проб із об'єктів довкілля.

2.1. Воду (питну, із поверхневих водоймищ та ін.) для дослідження беруть в кількості 1 л на одну пробу у двох об'ємах по 500 мл в стерильний посуд з непромокаючими пробками. При збільшенні обсягу досліджень (епідускладнення, проведення масових досліджень, збільшення кратності і точок забору проб на обмеженій території - пляж, водозабір та ін.) допускається відбір проб води в обсязі 100-500 мл. З водопровідних кранів забір проб води проводиться після попереднього обпалювання їх спиртовим факелом і спуску води протягом 10 хвилин при повному відкритті крану.

2.2. Господарсько-побутові стічні води забирають на дослідження одним з двох методів: в об'ємі 1 л в двох ємкостях по 500 мл або тампонами, виготовленими із марлевих серветок розміром 10x15 см у 10-15 шарів. Останні закріплюють в місцях забору води, через добу кладуть в стерильну банку і доставляють в лабораторію.

2.3. Гідробіонти (риб, жаб та ін.) відловлюють із водоймищ будь-яким методом і в закритих банках, відрах або інших ємкостях доставляють в лабораторію. Малі екземпляри досліджують груповим методом, в одну пробу об'єднують вміст кишечника, жабр від 10-15 екземплярів, які відловлені на одній ділянці водоймища. В цьому випадку вони можуть бути доставлені в одній ємкості.

2.4. Змиви з різних об'єктів довкілля у вогнищі і за показаннями беруть ватним або марлевым тампоном, змоченим в 1 % пептонній воді, з поверхні 0,5x0,5 м<sup>2</sup>. Тампон вміщують у флакон або пробірку з 1 % пептонною водою.

2.5. Залишки харчових продуктів у вогнищі і харчові продукти за показаннями забирають в кількості 200 г твердих і 0,5 л рідких, вміщують у скляний посуд і закривають.

## 3. Доставка матеріалу на дослідження в лабораторію.

3.1. Банки, пробірки, флакони та ін. ємкості з матеріалом надписують, кладуть у бікс або іншу металеву тару і транспортують і на службовому транспорті з супроводжуючим. Направлення не повинні знаходитись в транспортній тарі з досліджувальним матеріалом.

3.2. Термін доставки проб в лабораторію залежить від виду матеріалу, часу забору і режиму роботи лабораторії (додаток 1).

## 4. Порядок дослідження.

При бактеріологічному дослідженні на холеру використовують різні поживні середовища: рідкі середовища збагачення, лужний агар, елективні, диференціально-діагностичні середовища і набір середовищ для ідентифікації.

Поживні середовища, діагностичні препарати, які використовуються для діагностики холери, повинні бути зареєстровані і дозволені до використання Комітетом по імунобіологічним препаратам МОЗ України.

Виготовлені в лабораторії поживні середовища, консерванти, інгібітори сторонньої мікрофлори, які використовуються для діагностики холери, підлягають бактеріологічному контролю.

Посіви досліджуваного матеріалу на різних етапах вирощуються при 37 град.С в 1 % пептонній воді з рН 7,8+/-0,2 - 6-8 годин, з рН 9,3+/-0,2 - не менше 14 годин, а в 1 % пептонній воді з телурітом калію - 12-18 годин, на лужному агарі - не менше 14-16 годин, на інших елективних середовищах - 18-24 години.

рН основного пептону і 1 % пептонної води встановлюється тільки на іономірі. Використання індикаторних папірців не допускається.

Телуріт калію слід додавати в 1 % пептонну воду до внесення в неї досліджуваного матеріалу. Термін зберігання робочого розчину телуріту калію (1:1000) - 7 діб, а поживних середовищ з телурітом калію - не більше 2 діб при умові зберігання їх в холодильнику. Використання середовищ з консервантами допускається тільки один раз (1-е або 2-е середовище збагачення).

#### 4.1. Дослідження матеріалу від людей (трупів).

##### I етап

а) випорожнення, блювотні маси, промивні води, жовч - від хворих; вміст кишечника жовчного міхура і суспензію шматочків слизової кишечника - від трупів засівають у 10-50 мл 1 % пептонної води;

б) при дослідженні нативного матеріалу від хворих з підозрою на холеру, трупного матеріалу:

- використовується тільки 1 % пептонна вода з рН 7,8+/-0,2;
- проводиться прямий посів на тверде елективне середовище;
- застосовуються експрес-методи дослідження: імунофлюоресцентний та реакція непрямой гемаглютинації (РНГА);

в) матеріал, що відібрано в 10-50 мл 1 % пептонної води (1-е середовище збагачення), інкубують при температурі 37 град. С в інфекційному відділенні і/або лабораторії 6-8 годин сумарно при рН 7,8+/-0,2; 14-20 годин при рН 9,3+/-0,2 (в вихідні і святкові дні до 48 годин);

г) матеріал, відібраний в 5 мл 1 % пептонної води рН 7,8+/-0,2 (транспортне середовище), зберігається при кімнатній температурі не більше 24 годин, після надходження до лабораторії засівають в 50 мл 1 % пептонної води рН 7,8+/-0,2 або 9,3+/-0,2 у повному об'ємі (1-е середовище збагачення).

##### II етап

Висів з 1-го середовища збагачення проводиться на лужний агар або інші елективні середовища і в 5-8 мл 2-го середовища збагачення. Пересіви в рідкі і на тверді середовища проводять з поверхні рідкого середовища великою бактеріологічною петлею діаметром 5 мм.

##### III етап

Висів з 2-го середовища збагачення проводять на лужний агар або інші елективні середовища через 5-6 годин при рН 7,8+/-0,2 і через 14-20 годин при рН 9,3+/-0,2.

##### IV етап

Відбір підозрілих на холерний вібріон колоній з твердих поживних середовищ проводиться через 16-24 години інкубації посівів.

Переглядають чашки з посівами в проходячому світлі неозброєним оком, за допомогою лупи, під стереоскопічним мікроскопом в косопроходячому світлі і відбирають підозрілі колонії для виділення та ідентифікації.

Колонії холерних вібріонів в типовій S-формі на лужному агарі круглі, гладкі, плоскі, голубуваті, гомогенні з рівними краями, прозорі в проходячому світлі і сіро-голубі під стереоскопічним мікроскопом. Колонії на елективному середовищі TCBS мають яскраво жовте забарвлення на зеленому фоні середовища, напівпрозорі. На середовищі Монсур колонії без кольору, напівпрозорі з темним центром. Розміри колоній через 10-12 годин інкубації в основному не перевищують 1 мм; а до 18-24 годин інкубації досягають 2-3 мм в діаметрі.

В окремих випадках в посівах можуть також зустрічатися атипові колонії: мутні з щільним центром, пігментовані (коричневі або світло-жовті), дрібні, кокоподібні, шерехуваті.

При відборі колоній можна використовувати пробу на індофенолоксидазу з однокомпонентним реактивом (без альфа-нафтолу) або індикаторні паперці (СПІ-1 - набір для ідентифікації вібріонів). Колонії відсівають негайно після появи позитивної реакції. З колоніями, які виростили на елективних середовищах, не рекомендується ставити пробу на оксидазу.

Оксидазопозитивні колонії перевіряють в реакції аглютинації на склі (далі "слайд-аглютинація") з сироваткою холерною 01, RO в розведенні 1:100. При позитивній реакції і достатній кількості підозрілих колоній ставлять слайд-аглютинацію з варіантоспецифічними сироватками Інаба і Огава в розведенні 1:50, готують мазки для фарбування по Граму і оброблення люмінесцентною сироваткою.

Позитивна орієнтовна реакція аглютинації з холерною 01 або RO сироватками в розведенні 1:100 і варіантоспецифічними в розведенні 1:50 або позитивна реакція з люмінесцентними антитілами в поєднанні з морфологічними, культуральними ознаками і специфічною іммобілізацією дозволяють видати на відповідному етапі попередню відповідь про виявлення в досліджуваному матеріалі холерного вібріона 01.

Підозрілі на вібріони колонії, що аглютинуються і не аглютинуються холерними 01, RO сироватками, відсівають на одне із поліуглеводних середовищ (лактозо-сахарозне, Ресселя, Клігера або ін.) і на сектор пластинки лужного агару для виділення чистої культури та її ідентифікації.

#### V етап

Ідентифікація. Відбирають культури з типовим для вібріонів характером росту на поліуглеводних середовищах:

- на двуглеводних середовищах (лактозо-сахарозному, глюкозолктозному) спостерігається характерна для кислої реакції зміна кольору стовпчика при збереженні кольору скошеної частини без утворення газу;

- тривуглеводне середовище Клігера повністю жовтіє без утворення газу і сірководню.

Культури, які виростили на лужному агарі, перевіряють на наявність індофенолоксидази. Визначають морфологію мікроорганізмів і чистоту відібраних по цих ознаках культур, які виростили на лужному агарі і поліуглеводних середовищах за допомогою мазків, пофарбованих по Граму.

Культури, які дали характерні зміни на поліуглеводних середовищах і позитивні в пробі на оксидазу, перевіряють в слайд-аглютинації з холерними сироватками 01, RO, Інаба і Огава. При негативних результатах з цими сироватками, ставлять слайд-аглютинацію з холерною сироваткою 0139.

На основі позитивних результатів аглютинації з сироватками 01 серогрупи (01, Інаба, Огава) видають попередню або остаточну позитивну відповідь про виділення із досліджуваного матеріалу культури холерного вібріону 01 відповідного серовару.

Якщо виділена культура реагує з холерною сироваткою 0139 при негативних результатах з сироватками 01 серогрупи, видають відповідь про виділення холерного вібріону 0139 серогрупи.

Проводять ідентифікацію виділених на поліуглеводних середовищах або на лужному агарі, які аглютинуються і не аглютинуються сироватками 01 і 0139 серогруп оксидазопозитивних культур по скороченій або повній схемі.

#### VI етап

Враховують результати ідентифікації і видають остаточну відповідь про виділення культури холерного вібріону відповідної серогрупи: 01, RO (Інаба, Огава, Гікошима) або 0139 з зазначенням гемолітичної активності, чутливості до антибіотиків. Для культур холерних вібріонів 01 вказують належність до біовару.

При виділенні від хворого або вібріононосія культури холерного вібріону, яка не аглютинуються з сироватками, видають відповідь про виділення холерних вібріонів не 01 (так званих НАГ-вібріонів). При наявності вібріонних аглютинуючих діагностичних сироваток визначають належність до інших серогруп.

#### 4.2. Дослідження матеріалу з об'єктів довкілля.

Етапи дослідження об'єктів довкілля відрізняються від схеми дослідження матеріалу від хворих тільки на I етапі. II-VI етапи подані в розділі 4.1.

##### 4.2.1. Вода поверхневих водоймищ, водопровідна і господарсько-побутові стічні води.

В залежності від часу доставки проби можливі варіанти посівів з метою первинного збагачення вібріонів:

а) до води, що досліджується, додають розчин основного пептону до 1 % концентрації.

Визначають рН, в випадку необхідності підлужують 10 % розчином їдкою натрію до рН  $8,3 \pm 0,1$ . Аналіз проби (1 л) проводять у двох об'ємах по 500 мл. Час інкубації в таких об'ємах - 8-10 годин, II середовище збагачення - в об'ємі 10 мл. Час інкубації в 1 % пептонній воді без телуриту калію рН  $7,8 \pm 0,2$  5-6 годин, з підвищенням лужністю або з телуритом калію - 14-20 годин.

б) в досліджувану воду (в двох об'ємах по 500 мл) додають розчин основного пептону до 1 % концентрації, встановлюють рН  $9,3 \pm 0,2$  або додають телурит калію із робочого розведення 1:1000 до концентрації 1:100000 або 1:200000 у відповідності з даними перевірки, рН  $8,3 \pm 0,1$ . Час інкубації 18-24 години; II середовище збагачення - 10 мл 1 % пептонної води, рН  $7,8 \pm 0,2$  без телуриту калію, час інкубації 6-8 годин.

в) після установаження лужної реакції і додання розчину основного пептону до 1 % концентрації проби зберігають при кімнатній температурі до ранку (1-е середовище збагачення). На початку наступного дня засівають 5 мл поверхневого шару в 100 мл 1 % пептонної води (II середовище збагачення) і роблять висів на лужний агар; висіви з II середовища збагачення через 6 годин інкубації.

г) воду фільтрують через мембранні фільтри N 2 або 3, змив з яких засівають в середовище збагачення та на агарові пластинки. Із змиву з фільтру можна робити мазки для фарбування холерною люмінесцентною сироваткою, а також ставити РНГА та інші реакції.

При інтенсивному бактеріальному забрудненні проб можливе використання III середовища збагачення.

При заборі стічних вод марлевими тампонами останні кладуть в широкогорлі колби або банки з 1 % пептонною водою (500 мл).

#### 4.2.2. Гідробіонти.

Жабу безпосередньо перед дослідженням знедвижують уколом голки в спинний мозок. Тварину фіксують за лапки на препарувальній дошці черевом догори. Поверхню живота обробляють спиртом, ножицями роблять медіальний розріз від анального отвору до грудної порожнини. Пінцетом беруть жовчний міхур, відсікають від печінки, розрізають стерильними ножицями і роблять відбиток на пластинці лужного агару. Решту жовчі разом з жовчним міхуром кладуть у флакони з 50-100 мл 1 % пептонної води (1-е середовище збагачення). Стерильними ножицями розрізають шлунок, вміст якого засівають в 1 % пептонну воду, а внутрішньою поверхнею стінки роблять відбитки на агарові пластинки. Посів матеріалу кишечника роблять таким же чином, відсікаючи декілька петель ножицями в верхньому, середньому та нижньому відділах кишечника.

У великих риб в тому ж порядку засівають в 1 % пептонну воду жабри, вміст жовчного міхура, шлунку, кишечника. Дрібних риб (мальків) подрібнюють ножицями по 10-20 екз. в одній пробі і роблять посів суспензії петлею на чашку з агаром і в 1 % пептонну воду.

Дафній і рачків розтирають у ступці і засівають петлею в 1 % пептонну воду. У раків досліджують кишечник, посів вмісту проводять в середовище збагачення, а з слизистої - відбиток на агарове середовище.

#### 4.2.3. Харчові продукти.

4.2.3.1. Безалкогольні напої досліджують тим же методом, що і воду.

4.2.3.2. Молоко в кількості 5 мл засівають в 50-100 мл 1 % пептонної води або до 0,5 л молока додають основний розчин пептону до 1 % його концентрації. Інші молочні продукти (кефір, сметану, сир, морозиво та ін.) в кількості 5-10 мл засівають в 1 % пептонну воду.

4.2.3.3. Тверді харчові продукти подрібнюють і розтирають в ступці з фізіологічним розчином і засівають в кількості 10 г в 100 мл 1 % пептонної води та на агарові середовища.

4.2.3.4. Масло засівають в 1 % пептонну воду - рідке середовище збагачення в кількості 5-10 г, пом'якшивши його в термостаті, або проводять посів змиву з поверхні його кусків. Після посіву продукту встановлюють рН середовища 8,3 $\pm$ 0,1.

4.2.4. Змиви з об'єктів довкілля та мух засівають в 1 % пептонну воду і досліджують по звичайній схемі.

#### 4.3. Ідентифікація культур холерних вібріонів.

4.3.1. Культури, виділені на різних етапах, ідентифікують з метою визначення їх належності до виду *Vibrio cholerae* відповідної серогрупи (01, 0139 або інших).

4.3.2. До виду *V. cholerae* відносять грамнегативні, аспорогенні, поліморфні палички, злегка зігнуті або прямі, активно рухливі, з одним полярно розташованим джгутиком, які утворюють індофенолоксидазу, ферментують глюкозу в аеробних і анаеробних умовах до кислоти (без газу), декарбоксилізують: лізин і орнітин, але не мають дигідролази аргініну, відносяться до 1-ї (рідше до 2-ї) ферментативної групи по Хейбергу. Таксономічне положення холерних вібріонів і ознаки, які відрізняють їх від родинних мікроорганізмів, наведені в таблицях 5-7.

4.3.3. Збудниками холери є *V. cholerae* серогрупи 01 (біоварів холери ельтор; сероварів Інаба, Огава і Гікошима) і 0139 серогрупи.

4.3.4. Токсигенні (які містять ген холерного токсину - *vst+/-*) варіанти холерних вібріонів 01 і 0139 серогруп викликають захворювання холерою, які схильні до широкого епідемічного розповсюдження.

#### Схема лабораторного дослідження на холеру

Досліджувальний матеріал					
I			II		
ЛА		ЛА		ЛА	
ЕС		ЕС			
- відбір колоній;					
- висів підозрілих колоній на ЛА і ПВС;					
- відбір культур по ПВС і ОП					
ж		ж			
ПУС +		ПУС +		ПУС -	
ОП +		ОП +		ОП -	
+   ОРА   -				не досліджують	
				досліджують на кишкову групу	
- розгорнути реакція скорочена			агломунації з сиротками 01, Огава, Інаба;		
схема ідентифіції			Інаба; проба з діагностичними фагами; група Хейберга.		
біовар			повна схема ідентифікації		
- гемаглютинація;			визначення належності до роду <i>Vibrio</i> виду <i>V.cholerae</i> або до інших видів патогенних вібріонів		
- чутливість до поліміксину;					
- гемоліз (в пробі Грейга);					
- Ф-П реакція.					

Умовні позначення: I та II - середовища збагачення; ЛА - лужиний агар; ЕС - елективне середовище; ОП - оксизазна проба; ОРА - орієнтовна реакція агломунації; АГ - агломунація; Ф-П - реакція Фогес-Проскауера на визначення ацетиметилкарбінолу; ж - у випадку застосування для відбору колоній ПВС або ЛА; ПВС - поліуглеводне середовище

Таксономія вібріонів  
по Bergey's manual of systematic Bacteriology, 1984  
та додатковими даними із публікацій після 1984 р.

-----  
|Родина Vibrionaceae |  
Shewan a. Veron, 1965

Інші роди:  
- Aeromonas Kluver  
et van Niel, 1936  
- Plesiomonas  
Habs et Shubert, 1962  
- Photobacterium  
Beijerinck, 1889  
- Lucibacterium  
Hendrie, Hodgkiss et  
Shtwan, 1970

-----  
| Типовий рід |  
Vibrio Pacini, 1854

Інші види патогенних для людини вібріонів:	Типовий вид Vibrio  cholerae Pacini, 1854	V.cholerae non 01:-02 - 0139 ... (по міжнародній класифікації) - 02 - 084 , , , (по класифікації Рос.НДПЧІ "Микроб" і Ростовського в/Д НДПЧІ)***
V. alginolyticus		
V. anguillarum**		
V. cincinnatiensis*		
V. carcharia*	V. cholerae 01	
V. damsela**		
V. fluvialis	серовари:	біовари:
V. furnisii	V.cholerae	V.cholerae
V. hollisae	Inaba	cholerae
V. mimicus	V.cholerae	(класич-
V. metschnikovii	Ogava	ний)
V. orientalis	V.cholerae	V.cholerae
V. parahaemolyticus	Hikojima	eltor
V. salmonicida*		(ельтор)
V. vulnificus		

Примітка: \* - Запропоновані після видання Bergey's manual of Systematic Bacteriology, 1984; \*\* - Запропоновані Mcdonell M.T. a. Colwell R.R., 1985 віднести до нового роду Zistonella; \*\*\*- Типові штами 02-039, крім 012, 023 і 026, від-повідають Sakazaki R., 1970, 040-083 не вивчені в порівнянні з міжнародною колекцією; 084 відповідає 0139 серогрупи.

4.3.5. Нетоксигенні (які не містять ген холерного токсину *vst-*) варіанти холерних вібріонів 01 та інших серогруп можуть викликати спорадичні (поодинокі) або групові захворювання (при спільному джерелі інфікування), які не схильні до широкого епідемічного розповсюдження.

4.3.6. Попередню ідентифікацію проводять по комплексу ознак, включаючи морфологію колоній, морфологію і рухливість мікробних клітин, пробу на оксидазу і аглютинацію на склі (слайд-аглютинація) з сироватками 01 (1:100), RO (1:50) і 0139 (в розведенні, відповідно позначенню на етикетці). Для культур, які позитивно реагують з сироваткою 01, RO, встановлюють належність до серологічного варіанту (Інаба і Огава) також в слайд-аглютинації.

4.3.7. Остаточну ідентифікацію виділених на поліуглеводному середовищі або лужному агарі культур, які аглютинуються на склі, проводять по скороченій або повній схемі.

4.3.7.1. Скорочена ідентифікація передбачає вивчення культури в розгорнутій реакції аглютинації з холерними сироватками 01, Інаба, Огава і RO, визначення чутливості до діагностичних монофагів належність до біохімічної до *V.cholerae* 01 серовара Огава або Інаба. Культури, які аглютинуються сироватками обох сероварів не менше 1/2 титра, відносять до серовару Гікошіма.

Для підтвердження виділеної культури холерних вібріонів до 0139 серогрупи досить позитивного результату в слайд-аглютинації з відповідною сироваткою.

4.3.7.2. При проведенні масових досліджень у вогнищі захворювання холерою, коли перші культури холерних вібріонів вже були ідентифіковані, позитивні результати тестування в слайд-аглотинації з холерними сироватками 01 або 0139 серогруп у поєднанні з морфологією і рухомістю клітин культур, виділених від хворих діареями або при обслідуванні на вібріоносійство, слід вважати остаточними для вирішення питання про проведення протиепідемічних заходів.

Виділені культури передають для повної ідентифікації у визначену для цієї мети групу або лабораторію, фахівці якої при необхідності вносять у відповідь потрібні корективи і доповнення.

4.3.7.3. Повна ідентифікація культур, які аглютинуються холерними сироватками 01 серогрупи, передбачає вивчення їх по додаткових тестах, що визначають належність до біоварів (гемаглотинація, чутливість до поліміксину, реакція Фогес-Проскауера та ін.).

4.3.7.4. У культур холерних вібріонів, які чутливі до монофагу ельтор, вивчають їх відношення до холерних діагностичних фагів - ХДФ 3,4,5.

4.3.7.6. Визначення вірулентності культур холерних вібріонів 01 комплексним методом проводять у відповідності з настановою до препаратів ХДФ.

4.3.7.8. Культури *V. cholerae* 01, RO і 0139 серогруп вивчають по гемолітичній активності в пробі Грейга і чутливості до антибіотиків, які використовуються в клінічній практиці для лікування холери.

4.3.7.7. На культури, що мають характерні для вібріонів морфологічні і культуральні ознаки, які відносяться до I групи по Хейбергу, що аглютинуються 01, RO і однією з варіантоспецифічних сироваток не менше ніж до 1/2 титру, які лізуються і не лізуються холерними і ельтор фагами, а також на культури, що аглютинуються сироваткою 0139, видають остаточну відповідь, указавши чутливість до антибіотиків і гемолітичну активність.

групи Хейберга. Культури, які аглютинуються не менше ніж до 1/2 титра сироватками 01 і однією із варіантоспецифічних сироваток, відносяться

Таблиця 5  
Розподілення патогенних вібріонів по групах Хейберга

Вид вібріонів	Ферментація			Група Хейберга
	арабінози	манози	сахарози	
<i>V. cholerae</i> 01	-	+(-)	+	I (II)
<i>V. cholerae</i> non 01	-	+(-)	+	I (II)
<i>V. mimicus</i>	-	+	-	V
<i>V. metschnikovii</i>	-	+(-)	+	I, II
<i>V. fluvialis</i>	+	+	+	III
<i>V. vulnificus</i>	-	+	-	V
<i>V. alginolyticus</i>	+(-)	+	+	I, III
<i>V. parahaemolyticus</i>	+(-)	+	-	VII (V)
<i>V. hollisae</i>	+	-(+)	-	VIII (VII)
<i>V. furnisii</i>	+	+(-)	+	III (IV)
	з утворенням газу			
<i>V. damsela</i>	-	+	-	V
	з утворенням газу у деяких штамів			
<i>V. anguillarum</i>	+(-)	x	+	X
<i>V. cincinnatiensis</i>	+	x	+	X
<i>V. ordalii</i>	-	-	+	II
<i>V. salmonicida</i>	x	-	x	X
<i>V. carcharia</i>	x	x	x	X

Позначення: ( ) в дужках вказані варіанти, які рідко зустрічаються.

Таблиця 6  
Основні диференційовані ознаки роду *Vibrio* і споріднених мікроорганізмів

Ознаки	Роди родини. Vibrionaceae						
	Vibrio, в т.ч.	Aero-	Plesio-	Photo-	Ente-	Pseu-	
	V.cho- lerae	інші види	monas	monas bacte- rium	robac- teria- ceae	domo- nas	
Морфологія, фарбування по Граму	Грам	негатив- ні	полі- морфні	прямі	або зігнуті	палички	
Рухливість	+	+	+(-)	+	+	+/-	+
Оксидаза	+	+(-)	+	+	+	-	+(-)
Ріст на середовищах без NaCl	+	-(+)	+	+	-	-	-
Чутливість до 0129	+	+	-	+(-)	+	-	-
О/ф глюкози в середовищі Хью-Лейфсона	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-
Газ із глюкози	-	-+	+(-)	-	+	+/-	-
Лізиндекарбок- силаза	+	+(-)	-(+)	+	+	+/-	-(+)
Аргініндигід- ролаза	-	-(+)	+	+	+	-+	+/-
Ферментація: маніту	+	+	+(-)	-	-	+(-)	+/-
арабінози	-	-(+)	+(-)	-	-	+(-)	-(+)
сахарози	+	+(-)	+	-	-(+)	+/-	-
інозиту	-	-(+)	-	+	-	-+	x
Утворення: ацетилметил- карбінолу	+(-)	+(-)	+(-)	-	+	-(+)	x
індолу	+	+(-)	+(-)	-	-	-	+/-
нітратредук- тази	+	+(-)	+	+	+(-)	+	+/-
В-галактози- дази	+	+(-)	+	+	+	-(+)	x
желатинази	+	+(-)	+	-	+	-(+)	+/-
Біолюмініс- ценція	-(+)	-(+)	-	-	+	-	-
Мол. % G+C в ДНК	38	51	57-63	51	40-44	39-59	58-70

Умовні позначення: x - немає даних; + позитивний результат в 90 %; - негативний результат в 90 %; +/- - позитивний і негативний результати зустрічаються з однаковою частотою; +(-) або -(+) в дужках рідко спостережений результат.

Таблиця 7  
Диференціація патогенних для людини видів вібріонів роду *Vibrio*

Ознаки	Види роду <i>Vibrio</i>															
	V.cho- lerae	V.al- gino- lyti- cus	V.an- guil- larum	V.cin- cin- natie- nsis	V.dam- sela	V.flu- vialis	V.fur- nisi	V.hol- lisae	V.met- schni- kovii	V.mi- micus	V.or- dal- lei	V.pa- rahae moly- ticus	V.sal- moni- cida	V.ca- rcha- ria	V.vu- lni- ficus	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	
Морфологія		Грамнегативні						прямі	або	зігнуті		палички				
Рухливість	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Рісння на агарі	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	
Індиферентно- кисадаза	++	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	
Утворення: газу з глюкози	-	-	-	-	d	-	+	-	-	-	-	-	-	x	x	
Індолу	+	+	+	-	-	-	+(-)	+	+(-)	+	-	+	-	x	+	
ацетилметил- карбінолу	+(-)	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	
Ферментація: лактози	-(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-(+)	-(+)	-	-	x	x	
арабінози	-	-	+-	+	-	+	+	+	-	d	-	+-	x	x	-	
сахарози	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	x	x	-	
целобіози	-	-	+	+	-	-	-(+)	-(+)	-	-	-	-	x	x	+	
маніту	+(-)	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	x	x	-(+)	
саліцину	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	x	x	+	
Аргінінди- гідролаза	-	-	+	-	+	+	+	-	-	-(+)	-	-	-	-	-	
Лізиндека- броксилаза	+	+	-	+	+(-)	-	-	-	-	+(-)	+	-	+	x	+	
Орнітінде- карбоксилаза	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	x	x	+	
бета-галак- тозидаза	+	-	+	+-	-	+	+	-	d	d	-	-	-	x	+	
Нітроредук- таза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+-	+	-	x	+	
Амілаза	+	+	+	+	x	+	d	x	+	-	-	+	x	x	+	
Желатиназа	d	+	+	-	-	+	d	-	+	d	+	+	-	x	+	
Ріст в 1 % пептонній воді з NaCl																
" 0 %	+	-	+-	-	-	-	-(+)	-(+)	-	-(+)	+	-	-	-	x	
" 3 %	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-(+)	+	+	+	+	x	
" 6 %	d	+	+-	+	+	+	+	d	+	-x	x	+	-	+	d	
"10 %	-	+	-	-	-	-	-(+)	-	-	-	x	-	-	x	-	
Ріст при:																
4 град. С	-	-	-	-	-	-	-	x	-	-	-	-	-	+/-	x	
20 град. С	+	+	+	-	-	+	+	x	+	x	+	+	+	+	x	
35 град. С	+	+	+	+	+	+	+	x	+	+	-	+	-	x	+	
42 град. С	+	+	-	-	-	d	-	x	d	d	-	d	-	x	d	
45 град. С	-	-	-	-	-	d	-	x	d	x	-	-	-	x	-	
Біолюмініс- ценція	-(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	x	-	

Позначення: див. позначення до табл. 6.

Токсигенні штами холерних вібріонів 01 і 0139 серогруп, як правило, не лізують еритроцити барана.

Для холерних вібріонів 01 серогрупи, крім того, вказують біовар на основі чутливості до одного з діагностичних фагів (ельтор або класичного) і/або по допоміжних ознаках для фагорезистентних культур.

4.3.7.8. Для повної характеристики культур холерних вібріонів 01 в спеціалізованих лабораторіях, які забезпечені необхідними індикаторними штамми холерних вібріонів і набором типуючих холерних фагів, визначають фаговар.

#### 4.3.7.9. Вивчення культур холерних вібріонів 01 і 0139 серогруп на токсигенність

методом молекулярного зондування або в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) на наявність гену холерного токсину (*vst*-гену) і на експериментальних тваринах проводять в спеціалізованих лабораторіях.

4.3.7.10. Культури, які мають ознаки вібріонів по морфології колоній і клітин, тесту на індофенолоксидазу і ферментативній активності на поліуглеводному середовищі, які не аглютинуються на склі холерними сироватками 01, RO і 0139 серогруп, виділених від хворих гострими кишковими інфекціями, диференціюють по тестах, які визначають належність до роду *Vibrio* і виду *V. cholerae*. Культури, які належать до *V. cholerae* вивчають в пробі з діагностичними фагами. При виділенні чутливих до холерних діагностичних монофагів, які не аглютинуються холерними сироватками 01, особливе значення має вивчення їх клітинного складу, тому що в популяції таких штамів можуть знаходитись типові холерні вібріони 01 групи.

Якщо культура по сукупності ознак належить до виду холерних вібріонів, її вивчають в реакції аглютинації з набором вібріонних діагностичних сироваток 02-083, що випускає інститут "Мікроб" (Росія).

На культури, що аглютинуються однією з вібріонних сироваток, видають відповідь про виділення *V. cholerae* 02 . . 05 або іншої серогрупи. Якщо культури не типуються відомими вібріонними сироватками або вони відсутні в лабораторії, то виділену культуру позначають узагальнено - *V. cholerae non 01* (так звані НАГ- вібріони).

Штами *V. cholerae non 01*, крім того, типують набором фагів ТЕПВ і визначають їх чутливість до антибіотиків.

Таблиця 8  
Диференційні ознаки біоварів *V. cholerae* 01

Ознака	Біовари <i>V. cholerae</i> 01	
	eltor	cholerae
Лізабельність монофагами:		
класичним	-	+
ельтор	+	-
чутливість до 30 од/мл поліміксину В	- (+)	+
Аглютинація курячих еритроцитів	+ (-)	-
Утворення ацетилметилкарбіонолу	+/-	-

4.3.7.11. При виділенні із навколишнього середовища вібріонів, що не аглютинуються холерними 01, RO і 0139 сироватками, доцільність повної таксономічної характеристики визначається індивідуально для конкретних територій і об'єктів з врахуванням частоти аналогічних варіантів і епідситуації по холері.

#### 4.3.8. Ідентифікація атипичних культур холерних вібріонів.

4.3.8.1. До атипичних відносять культури холерних вібріонів, що відхиляються по окремих ознаках, які визначають належність до відповідної таксономічної категорії. Це різні антигенні

варіанти (з ослабленою або втраченою аглютинабельністю сироватками 01, Інаба, Огава), і R-варіанти, що аглютинуються відповідними сироватками при наявності зниження або відсутності аглютинабельності сироватками 01 серогрупи. В останні роки і серед епідемічних і неепідемічних штамів помітно зросла частота кількості холерних вібріонів, резистентних до холерних діагностичних фагів. В той же час зустрічаються штами, що слабо аглютинуються сироваткою 01 проти зберігшими чутливість до холерних діагностичних фагів.

Антигенна варіабельність нерідко поєднана з мінливістю по тим або іншим культурально-морфологічним, біохімічним ознакам і чутливістю до фагів.

Деякі труднощі для ідентифікації мають штами холерних вібріонів, що змінені по культурально-морфологічним ознакам, які утворюють шорсткуваті, мутні, пігментовані карликові колонії. В мазках, що зроблені з таких культур, виявляються подовжені, спіралевидні, кульовидні клітини. Нерідко зустрічаються штами, які змінені по біохімічним властивостям, у яких відмічається послаблення або втрата можливості розкласти вуглеводи і багатоатомні спирти (мапіт, манозу, сахарозу, крохмаль), амінокислоти (лізин, орнітин, трипто.фан) та ін. субстрати.

4.3.8.2. У всіх випадках ізоляції атипичних культур обов'язкове вивчення їх по ряду додаткових ознак, що визначають їх належність до роду *Vibrio* і виду холерних вібріонів (визначення декарбоксілаз лізину, орнітину, дигідролази аргініну, оксидазної активності, типу розщеплення глюкози на середовищі Хью-Лейфсона та ін.).

4.3.8.3. Культури холерних вібріонів, що мають вказані вище ознаки роду *Vibrio* і виду *cholerae* і які аглютинуються сироватками 01 до 1/4 титру, лізуються діагностичними монофагами в діагностичному титрі, належить підносити до серовару 01.

4.3.8.4. Вищезазначені та інші атипичні варіанти культур холерних вібріонів необхідно направляти для подальшого вивчення в спеціалізовані лабораторії.

4.3.8.5. Для підтвердження належності до *V. cholerae* 01 культур, які слабо аглютинуються, дисоціюють та фагорезистентні, необхідно обов'язково використовувати високочутливі серологічні методи (імунофлюоресцентний, специфічної іммобілізації вібріонів, РНГА, імунопреципітації в гелі, ПЛР з специфічними праймерами та ін.).

При вивченні культур, атипичних за тестами серологічної ідентифікації рекомендуються, крім того, використовувати реакції перехресної адсорбції аглютининів по Кастеляні, реакції аглютинації з культурами убитими кип'ятінням, імунофлюоресценції з відповідними імуноглобуліновими препаратами та пробу з комплементами.

4.3.8.6. Для культур холерних вібріонів, що аглютинуються тільки RO сироваткою, обов'язково додаткове підтвердження специфічності їх взаємодії в реакції іммобілізації вібріонів або преципітації в гелі.

4.3.8.7. Для серологічної ідентифікації культур, що аглютинуються спонтанно, застосовуються РНГА, імунопреципітацію або реакцію гліютинації з використанням осадженої культури і 0,3 % розчину хлористого натрію для розведення діагностичних сироваток і приготування суспензії вивчаємої культури.

#### 4.3.9. Прискорена ідентифікація культур.

Окрему колонію або чисту культуру висівають в 3 мл поживного бульйону і після 3 годин інкубації вивчають за тестами:

- аглютинабельності О-холерними діагностичними сироватками в 1 % пептонній воді;
- чутливості до холерних діагностичних бактеріофагів;

- належності до біохімічної групи (по Хейбергу); при використанні відповідних диференціальних середовищ Гісса в об'ємі 1 мл через 3-6 годин інкубації при (37+/-0,5 град. С) проводять облік результатів.

4.4. Порядок проведення обліку аналізів, оформлення і видача результатів.

4.4.1. Відповідь про позитивний результат може бути попередньою та остаточною.

4.4.2. Попередню позитивну відповідь видають по результатах прискореного дослідження нативного матеріалу і після підрощування його в пептонній воді за допомогою імунофлюоресцентного методу, специфічної імобілізації, РНГА, а також по слайд-аглотинації сироватками 01 і 0139 підозрілих на холерний вібріон колоній.

4.4.3. Остаточну позитивну відповідь видають по результатах повної, скороченої або прискореної ідентифікації виділеної культури через 18-72 годин (при цілодобовій роботі лабораторії).

4.4.4. Негативна відповідь може бути видана тільки по закінченню досліджень по повній схемі через 36-48 годин. В умовах однозмінної роботи лабораторії, при використанні консервантів, тривалість аналізу збільшується до 3-5 діб.

Забороняється давати відповіді при негативних результатах прискореного дослідження (імунолюмінесцентного, РНГА та ін.) до закінчення аналізу.

4.4.5. При здійсненні епідемічного нагляду направлення на аналіз, а відповідно і відповідь на нього оформлюють індивідуально на кожного хворого. При обстеженні здорових людей на вібріононосійство і дослідженні на холеру об'єктів навколишнього середовища групові форми направлення і відповідей допускаються як при епіднагляді, так і у вогнищі холери.

4.4.6. При проведенні великого об'єму досліджень на холеру хворих гострими кишковими захворюваннями у вогнищі направлення на аналізи і відповіді на них оформлюють списком.

4.4.7. Облік аналізів і культур проводять за встановленими формами (додатки 9-12). Обов'язковим є ведення робочих записів дослідження підозрілих культур. При роботі у вогнищі холери використовують спрощені форми реєстрації аналізів, враховуючи, що більш докладні свідчення є в бланках направлень, що знаходяться в лабораторії до ліквідації вогнища. Для зручності роботи направлення за кожний день підшивають окремо.

4.5. Методи прискореної діагностики.

При дослідженні матеріалу від хворих з підозрою на холеру, від осіб, які померли від гострих кишкових захворювань, нарівні з класичними методами використовуються прискорені методи діагностики.

4.5.1. Люмінесцентно-серологічний метод.

Метод дає можливість виявити збудника холери в S-формі при наявності його в досліджуваному матеріалі не менш ніж  $10^5$  м.кл. в 1 мл (дослідженню підлягає нативний матеріал - випорожнення і блювотні маси, а також матеріал після підрощування).

Порядок приготування мазків, їх люмінесцентне офарблення, мікроскопія та оцінка результатів є загальними для всіх бактерій, які описані в "Наставленні по використанню сироватки діагностичної холерної люмінесцентної".

Позитивний результат може бути отримано через 1,5-2 години від початку дослідження.

Для знищення неспецифічного свічення слід використовувати як "гасник" бичий альбумін, що мічений родаміном. Методика його застосування описана в "Наставленні по використанню сухого альбуміну, міченого родаміном".

#### 4.5.2. Метод іммобілізації вібріонів під впливом специфічної холерної 01 сироватки.

Метод дає можливість знайти збудника на протязі декількох хвилин при концентрації його в досліджуваному матеріалі не менше ніж  $10^5$  м.кл. в 1 мл. На предметне скло піпеткою або петлею наносять 2 краплини випорожнень, блювотних мас або верхнього шару I чи II пептонної води.

Першу краплю накривають покривним склом (контроль), до другої додають краплю холерної 01 сироватки в розведенні 1:100, перемішують і також накривають покривним склом. Роздавлену краплю дивляться під мікроскопом при збільшенні 400-600х, використовуючи фазово-контрасний пристрій чи конденсор темного поля.

При наявності в досліджуваному зразку холерних вібріонів в першій краплі спостерігають характерний рух, в другій спостерігається іммобілізація окремих мікробних клітин і утворення мікроаглютинатів негайно або протягом 1-2 хвилин. У разі неспецифічної взаємодії з діагностичними сироватками спостерігається утворення дрібних рухомих конгломератів при активній рухомості окремих клітин.

Реакція іммобілізації специфічна і дозволяє дати першу сигнальну відповідь через 15-20 хвилин від початку дослідження. При негативному результаті дослідження повторюють після підсочування в 1 % пептонній воді.

4.5.3. Реакція непрямой гемаглютинації (РНГА) з використанням холерного імуноглобулінового еритроцитарного діагностикуму. Порядок підготовки матеріалу, інгредієнтів постановки реакції та її облік викладені в "Настановленні по застосуванню діагностикуму холерного еритроцитарного антитільного", що додається до препарату.

#### 4.6. Методи вивчення властивостей холерних вібріонів.

Можуть вживатися як макро, так і мікротести.

4.6.1. Серологічні властивості вивчають в слайд-аглютинації або розгорнутій реакції аглютинації з холерними сироватками 01, Інаба, Огава і RO, а також з сироваткою 0139 серогрупи.

4.6.1.1. Слайд-аглютинацію ставлять на знежиреному склі, в чашці Петрі, використовуючи підозрілу на холерний вібріон колонію і/або агарову 12-18 годинну культуру і сироватки 01 серогрупи в розведенні 1:50 - 1:100. Сироватку 0139 розводять відповідно даних на етикетці. Реакцію обов'язково супроводжують контролями культури в фізіологічному розчині.

4.6.1.2. Розгорнуту реакцію аглютинації ставлять і враховують за загальноприйнятою методикою відповідно з наставленням до діагностичної сироватки.

4.6.1.3. Розгорнута реакція аглютинації в 0,3 % NaCl з осадженою культурою.

Діагностичні сироватки двократно розводять 0,3 % розчином натрію хлориду в об'ємі 0,5 мл відповідно величині діагностичного титру. Суспензію вивчаємої культури готують в тому ж розчині з концентрацією більше 1 млрд/мл в об'ємі 8-10 мл, витримують при кімнатній температурі на протязі 1-1,5 годин. В реакції використовують поверхневий шар мікробної суспензії, розведеної 0,3 % розчином натрію хлориду до концентрації 1 млрд/мл, додають її по 0,5 мл у всі розведення сироватки і контроль культури (0,5 мл 0,3 % розчину натрію хлориду + 0,5 мл мікробної суспензії). Облік і оцінка результатів аналогічні основному варіанту розгорнутої реакції. Використання 0,3 % розчину натрію хлориду дає можливість виключити спонтанну аглютинацію.

4.6.1.4. До методів експресної серологічної ідентифікації належать: мікроаглютинація та іммобілізація за допомогою холерних вібріонів, люмінісцентно-серологічний, РНГА та ін.

#### 4.6.2. Біохімічні властивості.

4.6.2.1. Визначення індофенолоксидази. Реактиви :

- двокомпонентний: - 1 % водний розчин пара- амінодиметиланіліну (гідрохлориду чи оксалату) і 1 % спиртовий розчин альфа-нафтолу;

- однокомпонентні: - 1 % водні розчини диметил-пара- фенілендіаміну, тетраметил-пара- фенілендіаміну (гідрохлориду) чи етилокси-парафенілендіаміну сірчанокислого (з набору для обробки паперу "фотоколір").

Реактиви повинні бути безколірними, їх необхідно зберігати у флаконі з темно-коричневого скла із скляною пробкою без доступу світла, в холодильнику. В разі зберігання реактиву у флаконі світлого кольору їх належить обгорнути алюмінієвою фольгою або темним папером.

Постановка проби:

а) на поверхню 18-годинної агарової культури, підозрілої колонії або напівзливного росту на чашку наносять 1 краплю 1 % спиртового розчину параамінодиметиланіліну (гідрохлориду чи оксалату) і 1 краплю 1 % водного розчину альфа-нафтолу.

Позитивна реакція на індофенолоксидазу - яскраво синє забарвлення культури через 1-2 хвилини

При використанні однокомпонентних реактивів цим же методом в позитивних випадках - червоне забарвлення культури.

б) для постановки проби на оксидазу можна використовувати спеціальні реактивні папірці з набору СІП або смужки фільтрувального паперу, змоченого 2-3 краплями 1 % водного розчину диметил-пара-фенілендіаміну. Культуру наносять на смужку паперу, змочену реактивом платиновою петлею (але не хромонікелевою), скляною або дерев'яною паличкою і розмазують у вигляді невеликої плями. Через 10-30 секунд з'являється пурпурово-червоне або синє (в залежності від реактиву) забарвлення, що свідчить про позитивну реакцію. Із грамнегативних бактерій позитивну пробу на індофенолоксидазу дають *Vibrio*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Plesiomonas*, а негативну - всі *Enterobacteriaceae*.

Враховуючи можливу нестійкість реактивів і різну здатність вібріонів утворювати оксидазу на різних поживних середовищах, пробу обов'язково супроводжують позитивними та негативними контролями відповідно з культурами *Vibrio* або *Pseudomonas* і *Enterobacteriaceae*, які вирощені на поживному агарі, що використовується в лабораторії.

4.6.2.2. При відсутності реактивів на оксидазу можна використовувати пробу "тяжа". На чашку Петрі наносять краплю 0,5 % водного розчину дезоксихолату натрію або 2,5 % розчину миючого засобу "Прогрес" і суспензують 18-годинну агарову культуру досліджуваного штаму. При позитивній реакції суспензія негайно втрачає мутність, стає слизистою і в'язкою - тягнеться за петлею, що характерно для вібріонів.

Проба дозволяє диференціювати вібріони не тільки від *enterobacteriaceae*, але і від інших родинних грамнегативних мікроорганізмів, які не утворюють, "тяжа". Виключення складають лише деякі штами *Aeromonas*, які на протязі приблизно 60 секунд утворюють нитку, яка слабо тягнеться.

4.6.2.3. Визначення типу розкладання глюкози (тест Хью-Лейфсона). В дві пробірки з середовищем Хью-Лейфсона засівають уколом в стовпчик культуру, що вивчають. Поверхню середовища в одній з пробірок заливають 0,5-1 мл стерильного вазелінового масла. Посіви інкубують при температурі (37,0±0,5 град. С) 1-4 дні. Окислення визначають по жовтому забарвленню середовища тільки в аеробних, ферментацію - в аеробних та анаеробних умовах росту. Вібріони розкладають глюкозу по ферментативному типу.

4.6.2.4. Визначення декарбоксілазної активності проводять на спеціальних середовищах. В пробірки з середовищами - лізином, орнітином, аргініном засівають по повній петлі 18-годинної культури і заливають 0,5-1 мл стерильного вазелінового масла, включаючи контролі середовищ.

Інкубують посіви при (37,0±0,5 град. С). Облік результатів проводять щоденно, при негативному результаті спостерігають - 1-4 доби. В результаті ферментації глюкози спочатку відбувається зрушення рН в кислу сторону, а в подальшому при декарбосилуванні амінокислот нагромаджуються аміни і відбувається залуження середовища.

4.6.2.5. Ферментацію вуглеводів і багатоатомних спиртів (глюкози, лактози, манози, сахарози, арабінози, маніту, саліцину, дульциту, інозиту, крохмалю та інш.) визначають в рідких або напіврідких середовищах Гісса з індикатором бромтимоловим синім, Андреде, ВР. Культуру, що вивчають, вирощують на протязі 12-20 годин на твердому, або 3-4 години на рідкому поживному середовищі. Посіви на середовищах з вуглеводами і спиртами інкубують при 37 град. С і ведуть облік через 6-18 годин.

4.6.2.6. Визначення діастатичної активності. Культуру засівають в середовище з крохмалю і індикатором Андреде, інкубують 12-18 годин при 37 град. С. При розщепленні крохмалю середовище червоніє.

4.6.2.7. Визначення протеолітичних властивостей. В стовпчик желатини уколом засівають 18-годинну культуру і інкубують на протязі 2-3 діб при температурі (22±0,5 град. С) або (37±0,5 град. С) на протязі 18 годин. Перед обліком результатів пробірки ставлять в холодильник на 20 хвилин. При позитивному результаті желатина залишається рідкою, а при негативному (і в контрольній пробірці) - затвердіває.

4.6.2.8. Визначення утворення індолу. Холерні вібріони володіють ферментом триптофаназою і при вирощуванні в середовищах, які містять триптофан (пептонна вода, м'ясо-пептонний бульйон, бульйон Хоттингера та інші), розщиплюють його з утворенням індолу, що виявляється за допомогою індикаторних папірців (розділ 6.3.4.) або реактиву Ерліха.

4.6.2.9. Визначення утворення сірководню. Холерні вібріони не утворюють ферменту тіосульфатредуктази, так як не здатні розщиплювати неорганічні сіркоутримуючі сполучення, які є в середовищі Кліглера - це є диференційною ознакою. Однак вони, також як деякі інші ентеробактерії, виробляють фермент цистиндесульфогідролазу, за рахунок якого здатні утворювати сірководень із сіркоутримуючих амінокислот, що є в достатній кількості в бульйоні Хоттингера, Мартена та деяких інших середовищах.

4.6.2.10. Визначення здатності фосфоресцирувати. Штами, які вивчають, засівають в 1 % пептонну воду або на пластинки лужного агару, інкубують при температурі (37±0,5 град. С) на протязі 12 годин. Культури, які вирости, переглядають в темній кімнаті. Світіння спостерігають після 5-10 хвилинної адаптації в темноті.

4.6.2.11. Для визначення оксидази, уреазі, індолутворення, декарбосилаз лізину, орнітину, дигідролази аргініну, ферментації вуглеводів і багатоатомних спиртів при ідентифікації вібріонів також можна використовувати Систему індикаторну паперову (СІП) або інші мікротестсистеми.

4.6.3. Визначення чутливості до діагностичних фагів. В лабораторній діагностиці холери використовують бактеріофаги С і ельтор. При оцінці результатів проб з фагами необхідно орієнтуватися на діагностичний робочий титр (ДРТ), який звичайно позначають на етикетках. Визначення чутливості до фагів проводять цільними препаратами, а також з їх 10-кратними розведеннями до ДРТ в м'ясо-пептонному бульйоні.

4.6.3.1. Для постановки реакції в чашки розливають лучний агар. Після застигання агару і підсушування його на протязі 30 хвилин при 37 град. С дно чашок розподіляють на квадрати по кількості зразків фагів та їх 10-кратних розведень. В пробірку з 5 мл 0,5-0,7 % лужного агару, розплавленого і охолодженого до 45 град. С, додають 0,1-0,2 мл 3-4 годинної бульйонної культури, ретельно перемішують і виливають на поверхню агару. Чашки залишають при кімнатній температурі з напіввідкритими кришками на 30 хвилин. В центр квадратів наносять штампом-реплікатором, стандартною петлею або тонко відтягнутою пастерівською піпеткою по краплі фагів

в відповідних розведеннях. Після підсихання крапель чашка перевертають догори дном і ставлять в термостат при температурі (37+/-0,5 град. С). Результати враховують через 2-4 і 18-20 годин. Наявність лізису у вигляді однієї "стерильної" плями або групи дрібних негативних колоній оцінюється як позитивний результат.

#### 4.6.4. Допоміжні тести диференціації біоварів *V.cholerae* 01 серогрупи.

4.6.4.1. Визначення чутливості до поліміксину. В розплавлений і охолоджений до 45-50 град. С поживний агар (рН 7,1+/-0,1) додають поліміксин М або В з розрахунку 30 одиниць на 1 мл середовища. Після ретельного змішування середовище розливають в чашки Петрі. На застигли агарові пластинки наносять звичайною бактеріологічною петлею 18-ти або 3-годинну бульйонну культуру. Результати враховують після інкубації посівів при (37+/-0,5 град. С) на протязі 18 годин. Холерні вібріони біовару *cholerae* не ростуть на поліміксиновому агарі, біовару *eltor*- по-різному.

4.6.4.2. Постановка реакції гемаглютинації. На предметне скло в чашку Петрі наносять краплю фізіологічного розчину і суспензують в ній петлею 18-годинну агарову культуру. Потім додають краплю 2,5 % суспензії курячих еритроцитів, тричі відмитих фізіологічним розчином. Скло коливають до змішування суспензії еритроцитів та вібріонів. При позитивній реакції на протязі 1 хвилини настає склеювання еритроцитів. Реакцію супроводжують двома контролями: а) в краплю фізіологічного розчину додають краплю 2,5 % суспензії еритроцитів; б) в краплі фізіологічного розчину суспензують культуру, яку досліджують. Контролі повинні бути негативними.

4.6.4.3. Постановка реакції Фогес-Проскауера (на ацетилметилкарбінол). Досліджувану культуру сіють в глюкозо-фосфатний бульйон Кларка і інкубують при (37+/-0,5 град. С) на протязі 1-3 діб. Потім до 1 мл культури додають 0,6 мл 6 % спиртового розчину альфа-нафтолу і 0,4 мл 40 % розчину їдкого калію. Пробірки зтрушують і ставлять в термостат на 1 годину. При позитивній реакції середовище забарвлюється в рожевий або яскраво-червоний колір.

#### 4.6.5. Оцінка вірулентності холерних вібріонів.

4.6.5.1. Визначення вірулентності холерних вібріонів ельтор по фаговому тесту і гемолітичній активності проводиться відповідно з наставленням, яке прикладається до препаратів діагностичних ХДФ-фагів.

Для постановки проби з фагом використовують 1,5-2,0 % лужний агар рН 7,4+/-0,2, виготовлений на будь-якій основі. Агар розливають в чашки Петрі і підсушують при кімнатній температурі. В пробірку з 4 мл 0,7 % лужного агару, розплавленого на водяній бані і охолодженого до 45 град. С, додають 0,2-0,3 мл 3- 4 годинної бульйонної культури досліджуваного штаму, ретельно імітують і виливають на поверхню агарових пластин Після застигання напіврідкого агару чашки знову підсушують з напіввідкритою кришкою при кімнатній температурі, готують 10-кратне розведення фагів ХДФ-3, ХДФ-4, ХДФ-5 до ДРТ, вказаного для кожного з них. Петлею або штампом-реплікатором наносять фаги з усіх розведень на поверхню напіврідкого агару. Після підсихання крапель фагів на поверхні агару, чашки закривають, перевертають догори дном і інкубують при температурі (37+/-0,5 град. С) 16-18 годин, в термінових випадках результати враховуються через 3-4 години. Оцінку результатів проводять по чотирибальній системі: 4 - повний лізис; 3 - численні негативні плями, 2 - пляма лізису із значним вторинним ростом або ізольовані негативні колонії. Позитивним вважають лізис культури на 4 та 3 "+" фагом в ДРТ.

#### 4.6.5.2. Визначення гемолітичної активності (по Грейгу).

До 1 мл добової культури, вирощеної в 4-5 мл м'ясо-пептонного бульйону або серцево-мозкового інфузу, додають 1 мл 1 % суспензії тричі відмитих еритроцитів барана в фізіологічному розчині. Суміш мікробів та еритроцитів змішують і ставлять на 2 години в термостат при температурі (37+/-0,5 град. С), а потім в холодильник до наступного дня. Попередній результат враховують через 2 години, остаточний - наступного дня. При позитивній реакції настає повний

або частковий лізис еритроцитів (лакова кров). В контролі (бульйон 1 мл + 1 мл суспензії еритроцитів) гемоліз відсутній. Вірулентність культури визначають по сукупності ознак, вказаних в наставленні до препаратів фагів ХДФ.

#### 4.6.5.3. Визначення вірулентності холерних вібріонів на моделі кроликів сисунців.

Дослідження можуть проводити лабораторії, які мають дозвіл на експериментальну роботу із збудниками I-II груп патогенності.

Внутрішньокишково заражені кролики сисунці є найбільш чутливою моделлю експериментальної холери.

Для зараження тварин використовують 4-годинну агарову культуру, вирощену при температурі (37+/-0,5 град. С), або 18-годинну - при температурі 20+2 град. С. Необхідно використовувати дві заражаючі дози  $1 \cdot 10^5$  та  $1 \cdot 10^7$  м.кл., які вводять внутрішньокишково в об'ємі 0,2 мл двом кроликам. Кроликів, яким 10-12 днів, вагою 130-160 г, фіксують до станка черевом догори, вистригають шерсть на операційному полі і змазують шкіру йодом. Дають ефірний або тіопенталовий наркоз (0,2 мл 1 % розчину на 100 г ваги в/м), накривають стерильною серветкою з розрізом посередині. Після засипання тварин роблять розріз довжиною 1 см по середній лінії живота до рівня пупка.

Через невеликий розріз черевної стінки витягують петлю тонкого кишечника на довгій оточині, фіксують за допомогою м'якого пінцету і вводять суспензію вібріонів.

Петлю занурюють в черевну порожнину, черевну стінку і шкіру пошарово зашивають. Шов змазують йодом. Кроленят, яких оперували, годують за допомогою шприців молоком і спостерігають 48 годин. Всіх загиблих і забитих через 48 годин тварин розтинають.

Найбільш виражені зміни спостерігаються в товстому кишечнику, що розтягнений безколірною або світло-жовтою прозорою чи трохи опалесцируючою рідиною. Сліпа кишка і прилеглі відділи товстого кишечника можуть бути настільки розтягнуті, що через них видно підлежачі петлі кишечника, що створює видимість повної прозорості вмісту кишечника. Тонкий кишечник розширений і також має напівпрозорий вміст. Можлива ін'єкція судин оточини. Описані зміни характерні для "синдрому холерогенності", що спостерігаються при зараженні епідемічно небезпечними штамми, які мають ген холерного токсину.

Вірулентні штами викликають смерть більшості заражених тварин дозами  $10^5$ - $10^7$  м.кл. на протязі перших двох діб з типовим "синдромом холерогенності".

Слабовірулентні вібріони викликають смерть поодиноких тварин, заражених дозами  $10^5$ - $10^7$  м.кл. Вміст кишечника мутний, іноді жовтого, коричневого або зеленкуватого кольору.

Авірулентні штами не викликають захворювання, смерть кроленят і макроскопічних змін в кишечнику.

Вірулентні штами виділяються переважно від хворих і носіїв холери, а також з об'єктів навколишнього середовища у вогнищах холери.

Слабо- і авірулентні штами ізолюють головним чином з об'єктів навколишнього середовища і інколи від людей при поодиноких випадках захворювань або вібріононосійства.

Обов'язковий перевіріці вірулентності на моделі кроликів-сосунків, підлягають такі штами *V. cholerae* 01 серогрупи:

а) Виділені від людей:

- гемолізо-позитивні штами холерних вібріонів;
- гемолізо-негативні штами холерних вібріонів, атипіві по серологічних ознаках і по відношенню до бактеріофагів.

б) Виділені з об'єктів навколишнього середовища:

- гемолізнегативні, вірулентні по фаговому тесту штами холерних вібріонів, виділені при відсутності епідускладень по холері;

- гемолізнегативні, типові по серологічним властивостям, чутливі до діагностичного фагу ельтор, але слабовірулентні по комплексному методу.

Обов'язковій перевірці вірулентності на моделі кроликів-сосунків підлягають також всі штами холерних вібріонів 0130 серогрупи, виділені від людей та із об'єктів навколишнього середовища.

4.6.5.4. Оцінка холерних вібріонів на наявність гену холерного токсину з метою визначення епідвагомості виділених штамів проводиться методом молекулярного зондування за допомогою ДНК-зонду.

Для одержання відбитків 3-6 годинну культуру холерних вібріонів, що виросла при температурі (37+/-0,5 град. С), наносять бактеріологічною петлею або штампом-реплікатором на поверхню лужного агару і ставлять в термостат при температурі (37+/-0,5 град. С) на 18-24 години для отримання колоній 2-3 мм в діаметрі.

Нітроцелюльозний фільтр (Hybond C або Schlericher a. SchuelGermany) накладають на поверхню агару з колоніями, через 1 хв. (після промокання фільтру) знімають і кладуть відбитками колоній догори на фільтрувальний папір, змочений 0,5 N NaOH, через 5 хв. перекладають на новий папір, змочений тим же розчином, і витримують ще 5 хв. При цьому відбувається лізис клітин (на вигляд - колонії приймають вид крапель слизу) та денатурація ДНК.

Фільтр переносять на фільтрувальний папір, змочений нейтралізуючим буфером 1. Процедуру повторюють 3-4 рази з інтервалом до 5 хв., кожного разу використовують свіжий папір, змочений тим же буфером. Фільтр підсушують на повітрі, на сухому аркуші фільтрувального паперу, на протязі 5-10 хв. і промивають 2-3 рази по 10 хв. при кімнатній температурі в 20-30 мл нейтралізуючого буферу 2. Фільтр спершу кладуть колоніями догори на поверхню розчину і через 1-2 хв. занурюють в нього.

Фільтр висушують на повітрі і прогривають при температурі 80+/-0,5 град. С на протязі 1,5-2 години для фіксації денатурованої ДНК. Оброблений таким чином фільтр кладуть між двома аркушами фільтрувального паперу в поліетиленовий пакет, герметично запаюють і пересилають в щільній упаковці (бажано картонній) в заклади, які проводять ці дослідження.

Приготування буферних розчинів

Нейтралізуючий буфер 1 (0,2 М трис-НСl, рН 7,5+/-0,1 + 1М NaCl):

1М трис-НСl	-	20 мл
5М NaCl	-	20 мл
H <sub>2</sub> O	-	до 100 мл

Для приготування початкового 1М трис-НСl буферу рН 7,5+/-0,1 вагу сухої трис-основи (121,1 г) розчиняють в 600 мл дистильованої води, доводять рН до 7,5+/-0,1 соляною кислотою, потім доводять загальний об'єм розчину до 1 л.

5М NaCl - 292,5 г NaCl + H<sub>2</sub>O до 1 л.

Нейтралізуючий буфер 2 (2<sup>x</sup> SSC + 50 mM ЕДТА + 25 mM калій фосфатного буферу рН 7,0)

20 <sup>x</sup> SSC	-	50 мл
0,5М ЕДТА	-	50 мл
1М К-фосф. буфер рН 7,0	-	12,5 мл

H <sub>2</sub> O	- до 500 мл
20 <sup>^</sup> xSSC	
NaCl	- 175,5 г
Цитрату натрію	- 88,3 г
H <sub>2</sub> O	- до 1 л

Для приготування 1М калій-фосфатного буферу рН 7,0 змішують 61 мл 1М K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (34,8 г/200 мл води) з 39 мл KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (27,2 г/200 мл води) і перевіряють рН за допомогою рН-метра, доводять до 7,0 добавкою одного або другого розчину.

#### 0,5М EDTA

До 93 г EDTA-Na<sub>2</sub> додають 300-350 мл підігрітої дистильованої води і поступово доливають концентрований розчин NaOH до повного розчинення і далі до рН 7,5+/-0,1. Загальний об'єм доводять водою до 500 мл.

4.6.5.5. Ген холерного токсину може бути виявлений в полімеразній ланцюговій реакції (ПЛР) із специфічними праймерами. Для визначення можуть бути використані культури холерних вібріонів або їх відбитки на нітроцелюльозних фільтрах.

#### 4.6.6. Фаготипування холерних вібріонів.

Визначення фаготипу циркулюючих штамів холерних вібріонів в умовах епідемічного спалаху допомагає виявляти джерело інфекції і шляхи її розповсюдження всередині відносно ізольованого вогнища та встановлювати епідемічний зв'язок між окремими вогнищами. Дослідження та облік результатів проводять у відповідності до інструкції по використанню препаратів.

#### 4.6.7. Визначення чутливості холерних вібріонів до антибіотиків та хіміопрепаратів.

Чутливість холерних вібріонів до антибіотиків та хіміопрепаратів визначають кількісним методом серійних розведень в поживному середовищі або методом дифузії в агар з використанням дисків і системи напівкількісного обліку результатів.

##### 4.6.7.1. Метод дифузії з використанням агар дисків.

Ступінь чутливості мікроорганізмів до антибіотиків визначається методом дифузії в агар і залежить від дотримання умов та стандартності препаратів, які використовуються. При постановці методу використовують "сухий поживний агар для визначення чутливості до антибіотиків" (АПВ) та диски виробничого виготовлення. Середовище з сухого поживного агару (АПВ), виготовленого згідно з прописом, вказаним на етикетці, розливають тонким шаром в чашки Петрі і підсушують. З тієї ж основи (АПВ) готують напіврідкий (0,7 %) агар і розливають по 3 мл в пробірки. Суспензію штаму, що досліджують в концентрації 10<sup>^</sup>8 м.кл./мл або 3-4 - годинну бульйонну культуру в кількості 0,3 мл вносять в 3 мл розтопленого і охолодженого до 45 град. С напіврідкого агару, перемішують і виливають на поверхню основного шару поживного агару в чашці Петрі. При відкритті чашки з нанесеним напіврідким агаром, який вміщує досліджувану культуру підсушують при кімнатній температурі 10-15 хв. Потім на поверхню засіяного середовища кладуть диски з антибіотиками (не більше 6) і догори дном ставлять в термостат при температурі (37+/-0,5 град. С) на 10-20 годин. Зони затримки росту культури навкруги дисків міряють по найбільш чіткому контуру за допомогою лінійки з точністю до 1 мм. При наявності великих колоній по периферії зони границі її визначають по внутрішньому краю цієї групи колоній. Наявність колоній по всій зоні затримки росту при виключенні забруднення сторонньою мікрофлорою свідчить про гетерогенність популяції досліджуваного штаму.

Оцінка результатів проводиться по таблиці 7 з віднесенням штамів до чутливих або стійких по відношенню до антибактеріального препарату. В таблиці також вказані значення мінімальних пригнічуючих концентрацій (МПК), корегуючих з діаметром зон затримки росту навколо диску з антибіотиком. У випадку необхідності МПК антибіотика обчислюють по рівнянню регресії, підставивши до нього значення величини зони затримки росту.

#### 4.6.7.2. Метод серійних розведень в агарі.

Для визначення використовують сухий поживний агар (АПВ), сухий лужний агар на основі ферментативного пептону з дріжджовим екстрактом, сухий лужний дріжджовий агар. Наважку антибактеріального препарату або вміст флакону розчиняють в дистильованій воді і в разі необхідності додатково розводять з таким розрахунком, щоб основний розчин містив 2000 од. або мкг в 1 мл. Для розчинення деяких препаратів застосовують спеціальні розчини: для рифампіцину, доксицикліну і нітрофуранів - диметилформамід, левоміцетин та еритроміцин попередньо розчиняють в мінімальній кількості етилового спирту, додаючи до необхідного об'єму дистильовану воду. У випадку використання таблеток їх розтирають та розчиняють повністю, або в цілях економії препарату, зважують, ділять величину ваги на активність і отримують поправочний коефіцієнт для визначення розміру ваги препарату, необхідної для розчину заданої активності. Наприклад, таблетка еритроміцину з активністю 100000 од. важить 160 мг (160000 мкг). При діленні ваги одержуємо величини поправочного коефіцієнту 1,6, який означає, що для одержання концентрації 2000 од./мл в об'ємі 10 мл потрібно взяти важку 32 мг (2000 мкг/мл x 10 мл x 1,6 = 32000 мкг = 32 мг). Основний розчин антибіотику титрують двократно в фізіологічному розчині окремими піпетками для отримання ряду концентрацій, які в 10 раз перевищують ті, які необхідно отримати в 1 мл агарового середовища. Потім, 1,5 мл кожного розведення антибіотику виливають в стерильну чашку Петрі, додають 13,5 мл розплавленого агару, ретельно перемішують, дають агару застигнути і підсушують. Для посіву використовують 3-4 - годинну агарову культуру або суспензію агарових культур в концентрації  $10^8$  м.кл./мл. Посів проводять петлею на сектори або штампом-реплікатором. На одну чашку можна нанести до 20-25 культур, чашки інкубують при температурі (37±0,5 град. С) - 16-20 годин. МПК визначають по найменшій концентрації, яка пригнічує ріст культури на поверхні агарового середовища. По розміру МПК оцінюють ступінь чутливості досліджуваних штамів до конкретного препарату.

Таблиця 9

Приграничні (критичні) значення діаметрів зон затримки росту, їх кореляція з МПК і рівняння регресії для визначення чутливості до антибіотиків вібріонів

Антибіотик	Вміст антибіотика в диску, мкг	Приграничні значення					
		діаметрів зон затримки росту в (мм) для штамів			МПК (в мкг/мл) для штамів		
		стійких	помірно стійких	чутливих	стійких	чутливих	
Тетрациклін	30	16	17-21	22	12	4	
Левоміцетин	30	17	18-20	21	16	8	
Ампіцилін	30	14	15-18	19	32	8	
Стрептоміцин	30	16	17-20	21	16	6	
Неоміцин	30	16	17-20	21	32	8	
Канаміцин	30	16	17-20	21	24	6	
Гентаміцин	10	17	18-19	20	6	4	
Поліміксин М	300 ОД	9	10-12	13	50 ОД	-	
Еритроміцин	15	20	21-25	26	8	2	
Рифампіцин	5	19	20-24	25	8	2	

#### 4.7. Порядок контролю якості діагностичних поживних середовищ.

4.7.1. Готові поживні середовища, консерванти, інгібітори сторонньої мікрофлори, якими користуються в діагностиці холери, підлягають обов'язковій перевірці з метою контролю якості приготування на місцях (сухі середовища промислового виготовлення) або визначення їх чутливості, інгібуючих або консервуючих властивостей (середовища лабораторного приготування).

4.7.2. Бактеріологічний контроль якості твердих та рідких поживних середовищ можуть проводити лабораторії протичумних та інших закладів, які мають дозвіл на роботу із збудником холери, використовуючи для контролю тест-штами *Vibrio cholerae cholerae* P-1 (145) і *Vibrio cholerae eltor* M-878, а також лабораторії особливо небезпечних інфекцій обласних санепідстанцій, відомчих установ з використанням тест-штаму авірулентного холерного вібріону не 01 серогрупи P-9741 (Ростов, Росія).

4.7.3. Бактеріологічному контролю підлягає кожна серія сухого середовища промислового випуску, яка має контрольний N ВБК і відповідний термін придатності, а також середовища лабораторного приготування.

4.7.4. При позитивному результаті контролю проби відповідна серія середовища вважається придатною до реалізації, при цьому серія промислового пуску тільки при тих же умовах виготовлення. Наступний контроль цієї серії середовища здійснюється щорічно, а також при зміні умов варки середовищ, незалежно від часу попередньої перевірки.

4.7.5. Термін зберігання готового лужного агару та розчину основного пептону - 12 місяців від часу перевірки. По закінченню цього терміну середовище підлягає додатковому контролю не рідше 1 разу на квартал. При позитивному результаті контролю промислової серії середовища по закінченню встановленого терміну зберігання термін придатності його продовжують на 6 місяців.

4.7.6. Якщо при першому контролі середовище було непридатне, необхідно провести повторно бактеріологічний контроль цієї ж серії сухого середовища і взірець нової варки з нього:

- при отриманні негативного результату повторного контролю середовища, приготовленого на місці, і позитивного бактеріологічного контролю взірця цієї серії сухого середовища, звареного в лабораторії установи, яка веде контроль вважати дану серію сухого поживного середовища придатною і вжити заходи щодо усунення помилки в технології місцевого приготування;

- при отриманні негативного результату на взірець сухого середовища даної серії направляють рекламацію до адреси установи, яка готувала поживне середовище.

4.7.7. На перевірку надсилають частину загального об'єму середовища, яке призначене для проведення досліджень, в кількості 200 мл агару і 100 мл основного розчину пептону промислового виготовлення і в подвійному об'ємі для серій лабораторного приготування. На етикетці вказати назву середовища, номер серії, термін придатності сухого середовища і дату контрольної варки.

4.7.8. Оптимальний строк перевірки поживного середовища 10-14 днів після його приготування.

4.7.9. Лужний агар і основний розчин пептону, які приготовлені з сухих поживних середовищ промислового випуску, перевіряють з використанням однієї дози ( $10^6$  м.кл.) одного тест-штаму (*Vibrio cholerae cholerae* P-1 145 або *Vibrio cholerae* не 01 9741).

Для контролю середовища використовують 3-годинну культуру тестштаму, яка вирощена на агаровому середовищі, розлитому в чашки за 30-40 хвилин до посіву 18-20 - годинної агарової культури II-IV пасажу.

З робочої культури готують суспензію в 0,9 % розчину хлористого натрію рН (7,1±0,1) концентрації 1 млрд. м.кл. в 1 мл по стандарту мутності 5 одиниць ІСК ім. Л.А. Тарасевича (Росія). Приготовлену суспензію поступово розводять переносом по 0,5 мл в 4,5 мл 0,9 % хлористого натрію до концентрації 100 м.кл. в 1 мл (8-а пробірка, розведення  $10^7$ ).

Для контролю лужного агару 10 м.кл. тест-культури (0,1 мл з розведення  $10^7$ ) засівають на кожну з 3 чашок (свіжовиготовлених і ретельно підсушених) середовища, яке перевіряється і контролюється, і 1000 м.кл. (0,1 мл з розведення  $10^6$ ) - тільки на контрольну. Для останньої використовують перевірений якісний лужний агар. Посівний матеріал розтирають шпателем і інкубують при температурі (37±0,5 град. С) на протязі 12 годин.

Результати перевірки оцінюють по показниках росту коловій тесткультури на досліджуваному контрольному середовищах з оцінкою фактичної величини посівної дози: - досліджуване тверде поживне середовище придатне для виділення збудника холери, якщо після 12 годин інкубації при температурі (37±0,5 град. С) на всіх чашках ростуть типові по морфології колонії діаметром не менше 1 мм.

4.7.10. Основний розчин виробничого випуску, який необхідно перевірити, і використаний в якості контрольного середовища, розводять до 1 % концентрації, встановлюють рН (8,3±0,1) і розливають в колби або флакони по 100 мл кількості 3 - для дослідного і 6 - контрольного. У всі робочі об'єми дослідного і 3 об'єми контрольного середовища наносять по 10 м.кл. тесткультури (0,1 мл пробірка N 8, розведення  $10^7$ ) і по 100 м.кл. (0,1 мл пробірка N 7, розведення  $10^6$ ) в другі 3 об'єми контрольного середовища.

Таблиця 10

Показники межових значень мінімальних пригнічуючих концентрацій для визначення груп мікроорганізмів по ступеню чутливості до антибактеріальних препаратів в мкг/мл або ОД/мл

Антибіотик та хіміопрепарату	Межеві значення МПК відповідно:	
	чутливим культурам	стійким культурам
АНТИБІОТИКИ		
Азлоцилін	<8	>64
Ампіцилін	<8	>32
Амікацин	<16	>32
Бензилпеніцилін	<1	>8
Гентаміцин	<4	>8
Доксіциклін	<4	>16
Канаміцин	<16	>32
Карбеніцилін	<16	>32
Левоміцетин	<16	>32
Рифампіцин	<2	>16
Стрептоміцин	<6	>16
Сизоміцин	<3	>8
Тетрациклін	<4	>16
Еритроміцин	<2	>8
Цефогаксим	<8	>32
Цефалотін	<8	>32
ХІМІОТЕРАПЕВТИЧНІ ПРЕПАРАТИ		
Сульфаніламід	<256	>512
Сульфатон	<2/38	>4/76
Триметоприм	<8	>16
Налідиксова кислота	<15	>32
Ципрофлоксацин	<4	>8
Метранідазол	<4	>64
Нітрофуран	<4	>128

Для контролю посівної дози по 0,1 суспензії тест-культури розведення  $10^7$  і  $10^6$  (10 і 100 м.кл.) переносять на чашки контрольного лужного агару (по 3 на кожну дозу), рівномірно розподіляють і інкубують при температурі (37 $\pm$ 0,5 град. С) 12-14 годин.

Посіви в 1 % пептонній воді інкубують на протязі 6 годин при температурі (37 $\pm$ 0,5 град. С) з наступним висівом з поверхневого шару кожного петлею N 5 (5 мм) на агарові пластинки

контрольного середовища і після вирощування при температурі (37+/-0,5 град. С) на протязі 12-14 годин враховують результати:

- перевірочний основний розчин пептону вважають придатним для виділення збудників холери, якщо з усіх посівів 10 м.кл. тест-культури в 1 % пептонну воду з 6-годинною інкубацією на агарових пластинках виростають типові по морфології колонії діаметром не менше 1 мм;

- у всіх посівах з контрольного середовища збагачення повинні рости типові колонії діаметром не менше 1 мм в кількості одиничних для посівної дози 10 м.кл. і не менше 10 для дози 100 м.кл.;

- в посівах, що контролюють величину використаної в дослідженні посівної дози тест-культури, повинні рости типові і поодинокі колонії (не більше 5) для посівної дози 10 м.кл. не менше 30, але не більше 50 (середнє число на 1 чашку) для дози 100 м.кл.;

- основний розчин пептону слід признати непридатним для виділення збудників холери, якщо при відповідності з вимогами величини посівної дози і якості контрольних поживних середовищ колонії тест-культур виростають менше ніж на 3 чашках або діаметром менше 1 мм;

- при невідповідності контрольних показників дослід повторюють.

4.7.11. Бактеріологічний контроль поживних середовищ з інгібіторами сторонньої мікрофлори, сольових консервантів по "Інструкції по бактеріологічному контролю діагностичних поживних середовищ для холерного вібріону" (Росія, 1983 р.).

4.7.12. При здійсненні всіх видів бактеріологічного контролю поживних середовищ обов'язково дотримуватися вимог до тест-штамів, порядку їх зберігання і підготовки робочої культури, які визначені вищезазваною інструкцією.

4.7.13. Полівуглеводні середовища, які використовують для відбору колоній для ідентифікації, перевіряють на місцях з використанням штамів холерних вібріонів не 01 або кишкової палички.

4.8. Забезпечення біологічної безпеки в лабораторіях, які виконують дослідження на холеру.

4.8.1. Діагностичні дослідження на холеру в регламентуючому об'ємі можуть проводити лабораторії, які мають дозвіл:

- бактеріологічні лабораторії територіальних санепідстанцій, лікувально-профілактичних та відомчих закладів - на роботу з мікроорганізмами III групи патогенності;

- лабораторії протичумних закладів та лабораторії відділів особливо небезпечних інфекцій санепідстанцій (республіканської, обласних, міських), - на проведення діагностичних досліджень на холеру та на роботу із збудниками холери;

- в умовах епідемічних ускладнень тимчасовий дозвіл на проведення діагностичних досліджень на холеру бактеріологічними лабораторіями територіальних санепідстанцій, які функціонують в складі лабораторної служби вогнища, видають територіальні режимні комісії.

4.8.2. Порядок отримання дозволу для всіх лабораторій визначений наказом МОЗ України "Про режим роботи з патогенними мікроорганізмами" N 183 від 14.12.1992 р..

5. Серологічні методи дослідження.

Для серологічної діагностики холери використовують імунологічні реакції, які виявляють в сироватці хворих, перехворілих, вібріононосіїв, а також у вакцинованих специфічні антитіла: аглютиніни, вібріоцидіни, антитоксини. Постановка реакцій проводиться в мікро- або макрооб'ємах (згідно з наставленням).

У хворих холерою на 5-7-й день після початку захворювання з'являються аглютиніни та вібриоцидні антитіла в високих титрах. Титри антитоксинів нарастають більш повільно.

Досліджувати потрібно парні сироватки з інтервалом в 7-10 днів. Першу пробу потрібно забирати на 3-5 день хвороби.

Кров для серологічних досліджень забирають з вени, а при відсутності такої можливості або при роботі в польових умовах - з пальця. З вени беруть 1-5 мл крові і після згортання згусток відділяють від стінок пробірки стерильною скляною паличкою або платиновою петлею. Пробірки зберігають в холодильнику і транспортують в лабораторію охолодженими (в термосі, сумці-холодильнику та ін.). В лабораторії сироватку інактивують при температурі ( $56 \pm 0,5$  град. С) 30 хв.

Якщо кров забирають в день постановки реакції, пробірки з кров'ю, що згорнулась, необхідно центрифугувати 10-15 хв. при 3000 об/хв. При відсутності можливості досліджувати сироватку терміново її зберігають в ампулах при температурі 4 град. С. Кров з пальця беруть в об'ємі 0,4 мл і вносять в стерильний пеніциліновий флакон або пробірку з 1,6 мл фізіологічного розчину (1:5).

При роботі в польових умовах декілька крапель капілярної крові з пальця наносять на стерильний папір, підсушують при кімнатній температурі поміщають в пробірку і направляють в лабораторію. При дослідженні кружальця паперу з краплями крові вирізають і кожен з них заливають 0,9 мл стерильного 0,9 % розчину хлористого натрію (розведення 1:10) і після 3-4 годин екстрагування в умовах холодильника інактивують 30 хв. при температурі ( $56 \pm 0,5$  град. С) і досліджують.

#### 5.1. Визначення аглютинінів в сироватці крові.

##### 5.1.1. Виявлення протихолерних антитіл методом розгорнутої реакції аглютинації.

Сироватку, яку досліджують, розводять 1 % пептонною водою рН  $7,3 \pm 0,1$  в об'ємі 1 мл від 1:10 до 1:640. Як антиген використовують 3-годинну бульйонну культуру, яку виявили в даному вогнищі, або досліджують в 2-х рядах з культурами сероварів Огава і Інаба. В пробірку з розтитрованою сироваткою вносять по 1 краплі культури-антигена і ставлять на 1 годину в термостат, потім до ранку в холодильник при температурі ( $4 \pm 0,5$  град. С), після чого реєструють результати. Реакція супроводжується контролями антигену та сироватки.

При визначенні титру реакції враховують розведення з аглютинацією на 3-4 хрести. Результат дослідження сироватки хворого при позитивній реакції аглютинації в розведенні 1:40 і вище вважається орієнтовано позитивною. Діагностичне значення має не менше чим 4- кратне нарощування титру антитіл.

5.1.2. Реакція непрямой гемаглютинації (РНГА) з антигенним холерним еритроцитарним діагностиком. РНГА призначена для виявлення повних антитіл в сироватці крові. Це достатньо специфічна та чутлива двокомпонентна реакція. РНГА має значну перевагу над реакцією аглютинації. Необхідні інгредієнти, методика постановки в макро- та мікрооб'ємах подані в наставленні до діагностикому холерного антигенного еритроцитарного.

5.1.3. Реакція нейтралізації антигену (РНАг) для виявлення антитіл в сироватці крові з використанням холерного імуноглобулінового еритроцитарного діагностикума. РНАг - високоспецифічна трикомпонентна реакція. Принцип реакції полягає в специфічній нейтралізації антигену, який додається повними та неповними антитілами, які знаходяться в сироватці. Необхідні інгредієнти, методика постановки в макро- і мікрооб'ємах подані в наставленні до діагностикому холерного імуноглобулінового еритроцитарного. При використанні системи реакцій РНГА і РНАг необхідність постановки контролю специфічності з кожною досліджуваною сироваткою випадає, так як ці 2 реакції взаємно контролюють отримані результати. Діагностичне

значення має не менше ніж 4-кратне наростання титрів антитіл при дослідженні парних сироваток в РНГА і РНАг.

### 5.2. Визначення токсиннейтралізуючих антитіл в сироватці крові.

РНГА з еритроцитарним холерним ентеротоксичним діагностикумом (ЕХЕД), призначеним для визначення в сироватці крові хворих холерою, вібріононосіїв та щеплених холероген-анатоксином антитіл, які нейтралізують холерний токсин. Токсиннейтралізуючі антитіла з'являються на 5-6-й день хвороби, досягають максимуму на 14-21-й день, а потім їх титри знижуються. Діагностичним титром РНГА з ЕХЕД слід вважати 1:160. Доцільно досліджувати парні сироватки.

За допомогою цієї реакції можна також виявляти токсиннейтралізуючі антитіла в сироватці крові хворих та вібріононосіїв, у яких інфікування обумовлене холерним вібріоном 0139 серогрупи. Методика постанови РНГА і ЕХЕД додається до комплексу діагностикума.

### 5.3. Визначення вібріоцидних антитіл в сироватці крові (РВА).

Вібріоцини в крові хворих визначаються з 1-3-го дня захворювання в титрах  $10^1$  -  $10^3$  і досягають максимального значення  $10^4$  -  $10^8$  до 10-12 дня. Основа методу полягає в тому, що в присутності вібріоцидних антитіл не розмножуються холерні вібріони.

При проведенні серологічних досліджень у вогнищі, зумовленим збудником холери відповідного серовару, в реакції використовують один штам відповідного серовару, при відсутності цих даних - два штами обох сероварів.

У перехворілих титр вібріоцидних антитіл може бути від  $10^4$  до  $10^6$  в перші 3-4 тижні, а вакцинованих -  $10^4$  -  $10^7$  та вище.

5.3.1. Матеріали та обладнання методу: - досліджуємі сироватки, інактивовані прогрівом 30 хв. при температурі ( $56 \pm 0,5$  град. С); - сухий комплемент або свіжоотримана сироватка морської свинки в розведенні 1:20; - 0,9 % розчин хлориду натрію рН ( $7,2 \pm 0,1$ ); - штами холерних вібріонів сероварів Огава та Інаба, типові, в S-формі, не чутливі до комплементу; - чашки Петрі з лужним агаром; посудина з льодом; - термостат на 37 град. С.

5.3.1.2. Методика постановки реакції. Комплемент, розведений фізіологічним розчином 1:20, розливають в 2 ряди пробірок по 0,9 мл. В першу пробірку вносять 0,1 мл досліджуваної сироватки і після ретельного перемішування послідовно переносять по 0,1 мл до розведення  $10^4$  -  $10^{10}$ , отримують десятикратні розведення в об'ємі 0,9 мл. Титрацію сироватки проводять на льоду, який кладуть в будь яку ємкість.

З однодобової агарової культури холерного вібріону готують суспензію в фізіологічному розчині, яка вміщує в 1 мл 10000-20000 м.кл. Стерильною градуйованою піпеткою отриману суспензію по 0,1 мл вносять в дослідні пробірки з розтитрованою сироваткою.

Необхідні контролю: а) контроль комплементу (0,9 мл комплементу і 0,1 мл культури); б) контроль сироватки (0,8 мл фізіологічного розчину, 0,1 мл сироватки і 0,1 мл культури); в) контроль культури (0,9 мл фізіологічного розчину і 0,1 мл культури).

Штатив з пробірками на 1 годину ставлять у водяну баню або термостат при температурі ( $37 \pm 0,5$  град. С), завчасно роблять висів з пробірки контролю культури для визначення фактичної концентрації живих вібріонів в дослідній суспензії (контроль розведення), через 1 годину штатив знову ставлять на лід і з кожної пробірки окремою стерильною піпеткою 0,1 мл культури висівають на чашку з лужним агаром рН ( $7,7 \pm 0,1$ ). Посів рівномірно розподіляють по поверхні чашки гойданням її або шпателем. Чашки ставлять на 18-24 години в термостат при температурі ( $37 \pm 0,5$  град. С), після чого підраховують кількість вирощених колоній.

В посівах з контрольних пробірок повинна вирости кількість колоній, близька до контролю розведення.

5.3.1.3. Вібріоцидним титром вважають максимальне розведення сироватки, яке викликає загибель не менше чим 50 % клітин холерного вібріону, що виявляється при посіві на агарові пластинки в чашки Петрі в порівнянні з кількістю вирощених колоній з пробірки контролю комплементу.

Приклад обчислення: при посіві з дослідних пробірок з розведенням сироватки

$10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  т.п. на чашках відповідно виросло 0; 5; 10; 15; 30; 38 і т.д. колоній. При висіві з пробірки контролю комплементу також після годинної інкубації при температурі ( $37 \pm 0,5$  град. С) виросло 36 колоній, 50 % від цього числа буде 18. З 5-ї пробірки виросло 15 колоній, тобто менше 50 % від кількості колоній в контролі (18), в наступній - 30, тобто більше 50 % цього показнику. Розведення сироватки в 5-й пробірці буде  $10^{-5}$ , таким чином вібріоцидний титр в даному прикладі буде  $10^{-5}$ .

5.3.2. Визначення вібріоцидних антитіл (ВА) в сироватці крові на основі ферментації вуглеводів. Про відсутність або наявність ВА судять по ферментації сахарози, що визначають за допомогою індикатору.

Матеріали та обладнання.

- сироватка крові, взята з вени або пальця, інактивована при ( $56 \pm 0,5$  град. С);
- штами холерного вібріону сероварів Огава і Інаба,
- комплемент, розведений 1:20 1 % пептонною водою, який містить 1 % сахарози і 1 % індикатора Андреде;
- термостат на ( $37 \pm 0,5$  град. С).

Методика постановки реакції. Комплемент, розведений 1:20 1 % пептонною водою з сахарозою та індикатором Андреде, розливають в пробірки по 0,45 мл. В першу пробірку додають 0,05 мл досліджуваної сироватки і після ретельного перемішування переносять 0,5 мл суміші в другу пробірку, з другої в третю і т.п. (до розведення  $10^{-8}$  -  $10^{-9}$ ). Готують суспензію з 18-20 - годинної агарової культури холерного вібріону і розводять 1 % пептонною водою до концентрації  $10^3$  м.кл. в 1 мл. У всі пробірки вносять по 0,45 мл суспензії і вміщують в термостат.

Постановку реакції супроводжують контролями.

- 0,45 мл 1 % пептонної води, яка містить 1 % сахарози і 1 % індикатора Андреде + 0,05 мл досліджуваної сироватки + 0,45 мл суспензії культури - контроль сироватки;
- 0,45 мл комплементу з сахарозою і індикатором + 0,45 мл культури - контроль комплементу;
- 0,45 мл 1 % пептонної води з сахарозою і індикатором + 0,45 мл культури - контроль культури;
- 0,45 мл 1 % пептонної води з сахарозою і індикатором + 0,05 мл досліджуваної сироватки - контроль стерильності сироватки.

Через 7-8 годин проводять облік реакції. При цьому в контролі (крім контролю стерильності сироватки) колір вмісту пробірок повинен перейти в червоний або рожевий. Зміна кольору індикатору в пробірках робочого ряду, пов'язаного з ферментацією сахарози розмноженими вібріонами, свідчить про відсутність вібріоцидних антитіл в досліджуваній сироватці. За вібріоцидний титр приймають те найбільше розведення сироватки, при якому колір вмісту пробірки залишається незмінним або інтенсивність його значно відрізняється від кольору

контрольних проб. Результат виражають у вигляді десятичного логарифму розведення сироватки, взятого з протилежним знаком.

Примітка. Тест вібріоцидних антитіл при холері, обумовлених вібріонами 0139 серогрупи, в зв'язку резистентністю їх до комплементу не рекомендується використовувати.

## 6. Поживні середовища для виділення та ідентифікації холерних вібріонів.

### 6.1. Транспортні середовища:

- 1 % пептонна вода, рН 8,5+/-0,1, без інгібіторів росту посторонньої флори і з телуритом калію (див. середовища збагачення);

- 2 % розчин повареної солі: 20 г хлориду натрію і 0,1 г їдкоого натрію розчиняють в 1 л дистильованої води; рідину фільтрують через паперовий фільтр, розливають по 10 мл в пробірки і стерилізують в автоклаві 20 хвилин при 0,7 атм.

### 6.2. Середовища збагачення.

#### 6.2.1. Основний розчин пептону готують по наступному рецепту:

Пептон - 100 г Хлорид натрію - 50 г Нітрат калію - 1 г Карбонат натрію - 25 г Дистильована вода - 1 л рН 8,4+/-0,2

У холодну дистильовану воду вносять пептон, хлорид і карбонат натрію. Суміш кип'ятять при постійному помішуванні до повного розчину пептону, потім дають нітрат калію. Перевіряють реакцію середовища, якщо потрібно, рН доводять до 8,4+/-0,2. Розчин фільтрують через міткалевий або паперовий фільтр, розливають в посуду і стерилізують в автоклаві при 1 атм 20 хвилин.

Основний розчин пептону зберігається 2 роки.

6.2.2. 1 % пептонна вода. Для отримання 1 % пептонної води концентрованої розчин розводять в 10 разів дистильованою водою. Після встановлення рН 8,4+/-0,2 розливають в пробірки або флакони і стерилізують під тиском 0,7 атм 20 хвилин. 1 % пептонну воду можна готувати безпосередньо із окремих компонентів, для цього потрібно взяти вагу в 10 раз меншу ніж в рецепті основного пептону. Технологія приготування така ж, як і основного пептону.

#### 6.2.3. Елективні середовища збагачення.

Пептонна вода з телуритом калію. В 1 % пептонну воду (рН 8,5+/-0,1) після автоклавування додають телурит калію в кінцевому розчині 1:100000 або 1:200000. Передчасно готують робочий 0,1 % розчин телуриту калію.

Термін зберігання робочого розчину 7 днів, а поживних середовищ з телуритом - не більше 48 годин при умові їх зберігання в холодильнику.

### 6.3. Тверді середовища для виділення холерного вібріону.

#### 6.3.1. Лужні середовища.

Лужний м'ясо-пептонний агар:

М'ясна вода	- 1 л
Пептон	- 10 г
Хлорид натрію	- 5 г
Агар-агар	- 20 г
рН 7,8,0+/-0,2	

В м'ясну воду вносять пептон і хлорид натрію. Суміш перемішують і підлужують 20 % розчином їдкоого натрію до рН 8,3+/-0,1. Потім додають агар-агар і ставлять в автоклав для варіння

середовища спочатку текучою парою на протязі 30-40 хвилин при 1 атм. 20 хвилин. Якщо м'ясо-пептонний агар варять на плиті, середовище кип'ятять до повного розплавлення агар-агару при постійному помішуванні.

Для одержання прозорого агарового середовища його після варіння з метою відстою на 2-3 години залишають в автоклаві або поміщають в термостатну кімнату при температурі 43 град. С, можна продовжити до 18-20 - годин. В цей час грубі частини випадають в осад і агар освітлюється. Для запобігання швидкого остудження середовища посуд з агаром щільно обгортають ковдрою. Агар, який відстоявся, обережно, не змішуючи, сифоном або через край повільно зливають з осаду на щільний ватно-марлевий фільтр. У фільтраті уточнюють реакцію середовища, якщо потрібно, підкислюють її, але підлужувати агар на цьому етапі не рекомендується, тому що випадає осад при стерилізації готового середовища. Профільтрований агар розливають в посуд і стерилізують при 0,7 атм 20 хв. Лужний агар сухий:

- на основі ферментативного пептону з дріжджевим екстрактом;
- агар - лужний сухий - на поживній основі із казеїнового або дріжджового гідролізату;
- на поживній основі із гідролізату кормових дріжджів, повністю розчинений (засіб приготування вказаний на етикетці).

#### 6.4. Середовища для ідентифікації вібріонів.

##### 6.4.1. Середовища з вуглеводами.

###### Лактозо-сахарозне середовище.

Пептон	-	5 г
Хлорид натрію	-	5 г
Лактоза	-	10 г
Сахароза	-	1 г
Агар-агар	-	10 г
Індикатор Андреде	-	40 мл
Вода дистильована	-	1 л
рН 7,3+/-0,1		

Середовище варять, фільтрують, розливають по 5-7 мл в стерильні пробірки і стерилізують під тиском 0,5 атм 20 хв. Готове середовище після стерилізації скошують так, щоб одержати стовпчик і косяк (по типу середовища Ресселя). Середовище світле.

При відсутності пептону середовище готують на 1-1,3 % агарі Хотингера (з амінним азотом 50-60 мг %) чи іншому поживному агарі, додаючи до нього в відповідних концентраціях індикатор Андреде в кількості 2 % .

###### Середовище Клігера:

1,5-1,7 % м'ясо-пептонний агар або агар Мартена (рН 7,7+/-0,1)	-	1 л
лактоза	-	10 г
сахароза	-	10 г
глюкоза	-	1 г
2 % розчин сірчано-кислого закисного заліза	-	10 мл
0,8 % розчин тиосульфату		

натрію	-	- 10 мл
0,4 % розчин сульфату натрію	-	- 10 мл
1 % розчин фенолового червоного	-	- 24 мл
рН 7,3+/-0,1		

На початку в розплавленому поживному агарі рН 7,7+/-0,1 розчиняють вуглеводи, потім до нього додають свіжоприготовлені розчини заліза і солі натрію згідно пропису середовища (індикатор на сірководень). Крім того, для реєстрації кислотоутворення додають індикатор феноловий червоний. Середовище варять, фільтрують, розливають по 5-7 мл в стерильні пробірки, стерилізують 20 хв. під тиском 0,5 атм і скошують по типу середовища Ресселя. рН готового середовища (7,3+/-0,1).

#### Середовище Ресселя.

Готується так як лактозо-сахарозне середовище, але замість сахарози беруть глюкозу в тій же кількості.

#### Середовище Гісса:

Пептон	-	10 г
Хлорид натрію	-	5 г
Вуглевод	-	5-10 г
Дистильована вода	-	1 л
Індикатор Андреде	-	10 мл
або 1,6 % розчин		
бромтимолового синього	-	1 мл
рН 7,3+/-0,1		

До 1 % пептонної води (рН 7,3+/-0,1) без селітри додають 0,5-1 % необхідного вуглеводу або спирту (L-арабіноза, D-маноза, D-сахароза, D-маніт, L-інозит, D-глюкоза та інш.) і 1 % індикатору Андреде або 0,1 мл 1,6 % розчину бромтимолового синього на 100 мл середовища. Середовище розливають в стерильні пробірки з поплавками і стерилізують при 0,5 атм 20 хв.; середовище з L-арабінозою слід стерилізувати протягом 20 хв. при 0,1-0,2 атм. Для приготування середовищ Гісса можна застосувати тільки перераховані ізомери вуглеводів. Готові середовища Гісса з індикатором Андреде світлі, при кислотоутворенні - червоніють, середовища з бромтимоловим синім - зеленого кольору з трав'янистим відтінком, при кислій реакції - жовтого кольору, при лужній - синього.

#### Середовище Хью-Лейфсона:

Пептон	-	2 г
Хлорид натрію	-	5 г
Двозаміщений фосфат калію	-	0,3 г
Глюкоза	-	10 г
Бромтимоловий синій	-	0,03 г
Агар-агар	-	3 г
Дистильована вода	-	1 л
рН 7,1+/-0,1		

До води додають пептон, хлористий натрій і агар-агар. Суміш підігривають до розплавлення агару, потім вносять фосфат калію і глюкозу, продовжують кип'ятити 2-3 хв. Суміш підлужують 20 % розчином їдкою натрію до рН 7,4+/-0,1, доводять об'єм середовища до першопочаткового і додають 3 мл 1 % водного розчину бромтимолового синього. Потім середовище фільтрують через

ватно-марлевий фільтр, розливають по 4-5 мл в стерильні пробірки і стерилізують під тиском 0,5 атм 20 хв. Колір середовища до стерилізації синій, а після автоклавування трав'янисто-зелений (рН 7,1+/-0,1), але не жовтий. При кислій реакції середовище жовтіє.

#### Бульйон Кларка:

Пептон	- 5 г
Глюкоза	- 5 г
Двохзаміщений фосфат калію	- 5 г
Дистильована вода	- 1 л

Суміш інгредієнтів нагрівають до повного їх розчинення, потім фільтрують через паперовий фільтр і розливають по 5 мл в стерильні пробірки. Бульйон стерилізують під тиском 0,5 атм 20 хв.

#### Середовище з крохмалем і індикатором.

В 1 % пептонну воду для кольорового ряду додають 1 % розчинного крохмалю і 1 % індикатора Андреде. Середовище розливають в стерильні пробірки і стерилізують 20 хв. при 0,5 атм. Середовище світле, при наявності кислоти червоніє.

#### 6.4.2. Середовище для вивчення розщеплення білка.

Желатин. До м'ясо пептонного бульйону або бульйону Хотингера додають дрібно нарізаний желатин із розрахунку 10-15 г на 100 мл (улітку концентрацію желатину збільшують до 20 %). Желатину дають набухнути на протязі 30 хв. і потім розчинитися при повільному нагріванні на водяній бані при температурі (45+/-0,5 град. С). Установлюють рН 7,1+/-0,1, додаючи до розплавленого желатину 10 % розчин вуглекислого натрію. При більш лужній реакції желатин застигає погано, а іноді і зовсім не застигає. В 1 л розчиненого желатину вносять для просвітлення 2 збитих з невеликою кількістю дистильованої води яєчних білків. Суміш перемішують і прогрівають текучим паром на протязі 20 хв. до повного згортання білка і просвітління середовища. Потім середовище фільтрують в гарячому стані через паперовий або ватномарлевий фільтр з великою поверхнею. Середовище, розлите по 5-8 мл в пробірки, стерилізують роздрібно 3 дні по годині текучим паром або одноразово під тиском 0,5 атм 20 хв. Після стерилізації середовище охолоджується погруженням пробірок в холодну воду в суворо вертикальному положенні, щоб верхня частина стовпчика при застиганні залишалась зовсім рівною.

#### 6.4.3. Середовища для визначення декарбоксилаз і дигідролаз амінокислот.

Середовище пептонно-дріжджове:

Пептон	- 5 г
Дріжджовий екстракт	- 25 мл (сухий 3 г)
Глюкоза	- 1 г
Хлорид натрію	- 5 г
Карбонат натрію	- 0,1 г
Бромтимоловий синій (0,1 % розчин в 20 % спирті)	- 45 мл (0,045 г сухого)
Амінокислота	- 10-20 г
Дистильована вода	- 1 л
рН	6,4+/-0,1

Середовище із сухих компонентів може бути приготовлене в сухому вигляді.

Всі інгредієнти по прописі вищевказаного середовища розчиняють при нагріванні, встановлюють рН 6,4+/-0,1, потім додають відповідний індикатор і ділять середовище на 4 рівні

частина. В одну частину амінокислоти не додаються, ця порція служить контролем. В останні порції вносять відповідно: в першу - 1 % лізину, в другу - 1 % орнітину, в третю - 1 % аргініну. Амінокислоти повинні бути в L-формі, якщо D-амінокислоти, то додають 2 %, так як мікроорганізми активні тільки по відношенню до L-форм. Після додання амінокислот перед стерилізацією, в випадку необхідності, реакцію середовищ виправляють 0,1 % розчином соляної кислоти. Середовище розливають по 1-2 мл в хімічно чисті стерильні пробірки і стерилізують під тиском 0,1-0,2 атм 20 хв. Невелика кількість флокулята в середовищах не має значення. Пептонно-дріжджове середовище має трав'янисто-зелений колір, при кислій реакції середовище жовтіє, при лужній - синіє.

6.4.4. Приготування індикаторних папірців для виявлення утворення індолу і сірководню:

а) полоски фільтрувального паперу змочують насиченим водним розчином щавлевої кислоти і висушують в термостаті;

б) полоски фільтрувального паперу змочують розчином оцетокислого свинцю. Підсушують на повітрі.

Полоски індикаторних папірців занурюють під корок пробірки з засіяною культурою. В випадку утворення індолу полоски "а" червоніють, а при утворенні сірководню полоски "б" чорніють.

7. Засіб відбору колоній вібріонів за допомогою стереоскопічного мікроскопу в косопрохідному світлі.

Принцип методу полягає в тому, що при перегляді колоній різних мікробів під малим збільшенням мікроскопу або лупи при освітленні їх пучком світла, який косо падає на поверхню агару, колонії набувають здатності світитися і здаються забарвленими.

До стереоскопічного мікроскопу МБС-2 або МБС-1 прилаштовують пристрій для одержання вузького пучка світла і дзеркало від мікроскопу на рухомому шарнірі для освітлення чашки знизу під кутом 45 град.

При величині кута падіння променя світла на поверхність агару в 40-50 град. колонії вібріонів по своєму забарвленню помітно відрізняються від інших мікроорганізмів, чашки з посівами проглядають після 12-18 годин інкубації. Обладнання для проглядання колоній в косопрохідному світлі.

1. Столик стереоскопічного мікроскопу МБС-1 або МБС-2 заміняють спеціальним приладом для освітлення чашки знизу під кутом 45 град. Джерелом світла є освітлювач від мікроскопу, на який одягають кожух з отвором діаметром 5 мм проти спіралі лампочки для одержання вузького пучка світла. Вузький пучок світла направляють в центр увігнутого дзеркала, яке переміщується на рухливому шарнірі поворотом гвинта в залежності від необхідності кута падіння світла. Кут вичисляють по відношенню відстані від дзеркала до чашки, яке міняється довільно, і відстань від чашки до поверхні стола, яка залишається незмінною.

Для зручності дослідження освітлювач і дзеркало можна вмонтувати в ящик із скляною кришкою, на яку поміщають чашку з посівом. Це дає можливість швидко знаходити необхідний кут падіння світла, пересуваючи дзеркало поворотом гвинта по вмонтованій шкалі.

## Колір колоній, які вирости на лужному агарі при косому освітленні

Мікроорганізм	Колір колоній
Холерні вібріони	Переважає сіро-голубий з відтінком зеленувато-сірим, синювато-зеленим, рідше зелений з верхнім краєм червоно-бурого або коричневого відтінку
Сальмонели	Рожевий відтінок
Шигели	Рожевий з фіолетовим відтінком
Кишкова паличка	Яскраво-червоний
Протей	Червоний з фіолетовим відтінком

2. Пристосування, змонтоване із основних вузлів стереоскопічного мікроскопу МБС-1 і приладу для рахування колоній. Із розтруба верхньої кришки прибору для відрахування колоній вилучити обидва скла разом з опорним кільцем і зняти верхню кришку. Із скоби передньої панелі вигвинтити вертикальну вісь, після чого вилучити диск із світлофільтрами. Звільнити два гвинти, які прикріплюють патрон лампочки освітлення до кронштейну на задній панелі. В кришку знизу вставити вертикальну штангу від вузла лупи з таким розрахунком, щоб в робочому положенні приладу муфта з притиснутим гвинтом була на дні під кронштейном імпульсного лічильника. В муфту зажати держак з вугловими губками (з комплекту лабораторного штативу), попередньо вкорочений до 110 мм. Держаком закріпити патрон з лампочкою в вертикальному положенні. Кришку фіксувати гвинтами на своєму звичному місці.

Штатив мікроскопу МБС-1 разом з біокулярною насадкою відокремити від столика і встановити безпосередньо на корпус приладу для підрахунку колоній так, щоб 3 сферичні ніжки основи штативу охопили розтруб кришки приладу, а вікно основи було повернуте до дослідника. Підготовлені до проглядання чашки з посівами встановлюють над відкритим вікном. Потрібну освітленість і кут падіння світла знаходять зміною положення лампи, яке досягається поверненням штанги, після чого останню фіксують цанговим зажимом.

### Організація лабораторних досліджень на холеру

#### 1. Загальні питання

1.1. В системі протихолерних заходів лабораторні дослідження мають важливе значення тому що:

1.1.1. В значній мірі, тільки на підставі позитивного аналізу, ставиться клінічний діагноз.

1.1.2. Чим швидше буде поставлений діагноз, тим раніше почнеться проведення протиепідемічних заходів по виявленню джерела збудника інфекції та його ізоляції.

1.1.3. Виявлення збудника в навколишньому середовищі, дає змогу виявити механізм передачі збудника інфекції і, що особливо важливо, шляхи його розповсюдження.

1.2. Задачі лабораторної служби по діагностиці холери визначаються заходами по боротьбі з холерою відповідно епідемічній ситуації. Враховуючи суттєві особливості в роботі лабораторій, які здійснюють дослідження на холеру в різній епідемічній обстановці доцільно розрізняти період відносного епідемічного благополуччя і період вогнища холери.

1.3. Всі лабораторії, які здійснюють бактеріологічні дослідження на холеру розподіляються за рівнем досліджень:

1 рівень - районні, міські лабораторії санітарно-епідеміологічної служби та діагностичні лабораторії лікувально-профілактичних закладів, медико-санітарних частин, інфекційних стаціонарів;

2 рівень - лабораторії відділів особливо небезпечних інфекцій республіканських, обласних та міських санепідстанцій;

3 рівень - бактеріологічні лабораторії протичумних установ та особливо небезпечних інфекцій Українського центру санепіднагляду. Методичні прийоми, які використовуються в роботі визначаються рівнем лабораторії.

## 2. Робота бактеріологічних лабораторій у різні періоди епідемічної ситуації

### 2.1. Період відносного епідемічного благополуччя.

2.1.1. Епідемічна ситуація, що склалася з холери у світі, недостатня ефективність санітарно-карантинних заходів та формування вогнищ холери на території України свідчать про можливість заносу холери на будь-які території.

Тому головними задачами на цей період є своєчасне виявлення збудника холери серед :

- хворих на діареї;
- померлих від невідомих причин;
- українських громадян, які повернулись з-за кордону з наявністю дисфункції шлунково-кишкового тракту;
- іноземних громадян, які звернулись за медичною допомогою з приводу дисфункції шлунково-кишкового тракту;
- в об'єктах довкілля, з метою виявлення шляхів циркуляції та розповсюдження.

Лабораторні дослідження, які проводяться у цей період, регламентуються діючими директивними документами, обсяги досліджень передбачені для відповідного типу території України по епідемічним проявам холери.

2.1.2. Лабораторні дослідження на холеру проводять бактеріологічні та спеціалізовані лабораторії санепідстанцій, лікувально-профілактичних, відомчих та протичумних установ.

2.1.3. Забезпечення біологічної безпеки в лабораторіях, які проводять дослідження на холеру.

2.1.3.1. Бактеріологічні лабораторії 1 рівня можуть проводити діагностичні дослідження матеріалу на холеру від людей та з об'єктів довкілля у відповідності з регламентованими нормативними документами, якщо в них дотримується протиепідемічний режим роботи з мікроорганізмами III групи ризику та мають дозвіл на цю роботу.

2.1.3.2. Бактеріологічні лабораторії 2 рівня проводять діагностичні дослідження на холеру та ідентифікацію підозрілих культур по розширеній схемі, якщо в них дотримується протиепідемічний режим роботи з мікроорганізмами II групи та є дозвіл на цю роботу.

2.1.3.3. Бактеріологічні лабораторії 3 рівня проводять діагностичні дослідження на холеру та працюють з чистими культурами холерних вібріонів. Такі лабораторії повинні мати дозвіл на роботу з мікроорганізмами II групи патогенності та експериментальну роботу із збудниками холери.

2.1.3.4. Порядок видачі дозволу визначає Центральна режимна комісія Міністерства охорони здоров'я України.

2.1.3.5. Лабораторії усіх рівнів працюють з патогенними мікроорганізмами відповідно "Правил будівництва, техніки безпеки, виробничої санітарії та особистої гігієни при роботі в лабораторіях (відділеннях, відділах) санітарноепідеміологічних установ системи МОЗ СРСР (1981 р.), інструкції "Про протиепідемічний режим роботи з матеріалом, зараженим або підозрілим на зараження збудниками інфекційних захворювань I-II груп" (1970 р.), "Положення про порядок обліку, зберігання, відпуску та пересілки культур бактерій, вірусів, рикетсій, грибів, найпростіших, мікоплазм, бактерійної отрути біологічного походження" (1980 р.).

2.1.3.6. Чинні правила по біологічній безпеці повинні виконувати всі бактеріологічні лабораторії незалежно від відомчого підпорядкування на всій території України.

2.1.3.7. Державний санітарно-епідеміологічний нагляд за дотриманням правил біологічної безпеки здійснюється Центральною режимною комісією Міністерства охорони здоров'я України та територіальними санепідстанціями - на території, яку вони обслуговують.

#### 2.1.4. Організація роботи в лабораторії.

2.1.4.1. Дослідження матеріалу на холеру від хворих гострими кишковими захворюваннями проводяться одночасно з дослідженнями на інші кишкові інфекції в одній лабораторії. При цьому кожний бактеріолог може виконувати одночасно як дослідження на холеру, так і на інші інфекції. При значній кількості досліджень на холеру може бути виділена окрема група спеціалістів.

2.1.4.2. Профілактичні дослідження на холеру проводяться на протязі робочого часу з використанням поживних середовищ з консервантами і з чергуванням за графіком.

2.1.4.3. Дослідження матеріалу від хворого з підозрою на холеру, або померлого від шлунково-кишкового захворювання проводиться на поживних середовищах без консервантів.

#### 2.1.5. Дослідження матеріалу.

2.1.5.1. Планові лабораторні дослідження в основному проводять лабораторії 1 рівня. Такі ж дослідження, з метою контролю роботи підлеглих лабораторій, можуть проводити лабораторії 2 та 3 рівня.

2.1.5.2. Дослідження трупного матеріалу проводиться, як правило, в лабораторіях 2 рівня, в окремих випадках до цієї роботи залучаються лабораторії 1 рівня.

#### 2.1.6. Обсяг дослідження.

##### 2.1.6.1. Лабораторії 1 рівня вирішують наступні задачі:

- проводять лабораторні дослідження до встановлення негативного результату, або виділення культури з характерними для вібріонів ростом на агарових та поліуглеводних середовищах з позитивною реакцією на оксидазу. Перевіряють чистоту культури в мазку, пофарбованому по Граму, її рухливість, слайд аглютинацію з холерними видоспецифічними сироватками O1. RO в концентрації 1:50 - 1:100 та типоспецифічними сироватками Огава та Інаба - 1:50.

- при позитивному результаті лабораторії терміново повідомляють в територіальні санітарно-епідеміологічні станції. Для остаточної ідентифікації такі культури терміново направляють в лабораторії особливо небезпечних інфекцій обласних, міських санепідстанцій.

- при негативному результаті слайд-аглютинації культуру ідентифікують в лабораторії по основним біохімічним ознакам (коротка ідентифікація). Визначається: активність, ферментація лактози, сахарози, манози, арабінози, інозиту, крохмалю; можливість росту на безсольовій, з 7 % та 10 % хлориду натрію, 1 % пептонній воді; наявність декарбоксилази лізину, дигідролази аргініну; окислення та ферментація глюкози на середовищі Хью-Лейфсона.

##### 2.1.6.2. Лабораторії 2 рівня проводять:

- повне діагностичне дослідження матеріалу від хворих та померлих з підозрою на холеру ;
- дослідження матеріалу з об'єктів довкілля та від людей з метою контролю якості та вірогідності досліджень бактеріологічних лабораторіях області ;
- ідентифікацію культур вібріонів, виділених в територіальних та відомчих лабораторіях по широкому набору ознак (розширена ідентифікація) та додатково до властивостей, які вивчають на 1 рівні - окислення маніту, саліцину, наявність декарбоксилази орнітину, здатність росту на 1 % пептонній воді з 5 % хлориду натрію, протеолітичні властивості, утворення індолу, сірководню, реакція з метил-ротом, розщеплення уреазу, а також чутливість до фагів "С", Ельтор, ДДФ, ХДФ-3,4,5, наявність гемаглютинації, чутливість до поліміксину (30 од.), утворення ацетилметилкарбінолу
- визначають таксономічну належність до роду, виду, біовару, вірулентність та токсигенність, чутливість до антибіотиків;
- бактеріологічний контроль якості поживних середовищ;
- термінову передачу (в установленому нормативними документами порядку): культур холерних вібріонів O1 від людей та перших культур з об'єктів довкілля;
- передачу протягом 5 днів, після закінчення ідентифікації інших культур холерних вібріонів O1 виділених з об'єктів довкілля та не O1 виділених від людей;
- контроль роботи та методичну допомогу територіальним лабораторіям незалежно від відомчої належності.

#### 2.1.6.3. Лабораторії 3 рівня виконують наступні задачі :

- проводять дослідження, які спрямовані на своєчасне виявлення випадків захворювання холерою, вібріоносіїв;
- досліджують об'єкти навколишнього середовища найбільш важливих в епідемічному відношенні місць в регіоні розміщення;
- підтверджують таксономічну належність культур холерних вібріонів O1 та не O1 від людей, та атипічних культур холерних вібріонів не O1 з об'єктів довкілля;
- вивчають особливості біологічних властивостей холерних вібріонів;
- ідентифікують всі атипічні культури холерних вібріонів, використовуючи при цьому додаткові серологічні, біохімічні та інші методи ідентифікації з метою уточнення таксономічної належності;
- визначають вірулентність та токсигенність культур, використовуючи при цьому комплекс методів (кроликів сосунків, полімеразну ланцюгову реакцію, блот-гібридизацію та ін.);
- визначають чутливість холерних вібріонів до антибіотиків методом серійних розведень;
- визначають фаговари у холерних вібріонів O1 та не O1 для епідемічної цілі;
- визначають серовари у холерних вібріонів не O1;
- проводять бактеріологічний контроль якості поживних речовин (кожну серію) холерних бакпрепаратів, згідно встановленого порядку;
- створюють банк даних біологічної характеристики холерних вібріонів O1 (від людей і об'єктів довкілля) і не O1 (від людей), які циркулюють на території;
- здійснюють моніторинг біологічних характеристик холерних вібріонів;
- здійснюють методичне керівництво по всім питанням лабораторного забезпечення епідемічного нагляду за холерою.

2.1.7. Обсяг лабораторних досліджень визначається нормативними та директивними документами МОЗ України.

2.1.8. Необхідні кадри, які виконують роботу лабораторії визначаються відповідно нормативних затрат часу (середній час дослідження, витрачене на одне дослідження, виражається в лабораторних одиницях, яка дорівнює 10 хвилинам), виходячи з суми середніх показників часу для кожного виду досліджень.

2.1.8.1. Середні показники витрат часу на 1 аналіз (в лабораторних одиницях усіма співробітниками (лікар, лаборант, санітарка)) для різних груп досліджень по повній схемі, якщо матеріал доставляється в 1 % пептонній воді надані в табл. 11.

Таблиця 11

N N	Характер дослідження	Середні витрати часу на 1 дослідження (аналіз) в лаб. одиницях	
		від людей	з об'єктів навколишнього середовища
1.	Повне дослідження з ідентифікацією виділеної культури по повній схемі	3.7	13.3
2.	Повне дослідження з ідентифікацією виділеної культури по скороченій схемі	3.3	11.2
3.	Повне дослідження з попередньою ідентифікацією культури в слайд-аналізі	2.5	9.5
4.	Ідентифікація культури по повній схемі з визначенням чутливості до антибіотиків методом дифузії в агар без проведення аналізу	21.2	

2.1.8.2. Для підрахунку витраченого на виконання певних об'ємів досліджень часу необхідно використовувати абсолютні показники по конкретних видах досліджень (в лабораторних одиницях):

- без відбору колоній від людей - 2,5
- "-----" "-----" з води - 5,0
- з відбором колоній без ідентифікації від людей - 6,0
- " - з води - 8,5
- ідентифікація культур до роду - 10,0
- " - до виду - 18,0
- визначення чутливості до шести антибіотиків методом дисків - 2,0
- методом серійних розведень - 6,0
- контроль якості поживних середовищ (одна серія) - 5,0

- прийом, реєстрація та видача результатів - 0,75
- приготування поживних середовищ - 0,25
- вивчення вірулентності культур - 6,0

2.1.9. Співробітники лабораторій (лікарі та лаборанти), які проводять дослідження на холеру, повинні бути підготовленими для проведення лабораторної діагностики холери на циклах по загальній бактеріології, техніці безпеки і забезпечені відповідники інструктивними матеріалами.

2.1.9.1. Лікарі-бактеріологи та лаборанти один раз в 5 років повинні пройти підготовку на тематичних, або предатестаційних циклах в інститутах удосконалення лікарів.

2.1.9.2. Лікарі та лаборанти протичумних закладів і відділів особливо небезпечних інфекцій на протязі першого року роботи проходять первинну підготовку на курсах спеціалізації по особливо небезпечним інфекціям в інститутах удосконалення лікарів та протичумних закладах, а потім один раз в 5 років - удосконалення на тематичних та предатестаційних циклах.

2.1.10. Планування лабораторної бази у вогнищі холери.

В період відносного епідемічного благополуччя повинні бути вирішені основні організаційні проблеми по створенню лабораторної бази у вогнищі холери.

2.1.10.1. В період виникнення вогнища холери проводиться робота лабораторії цілодобово.

2.1.10.2. Розрахунок потужності лабораторії.

Потужність лабораторії - це максимальна кількість аналізів, які вона може виконати за добу.

Потужність лабораторної бази вогнища визначається сумою показників потужності всіх лабораторій вогнища.

Розрахунок потужності проводиться сумісно лабораторною та протиепідемічною службами у відповідності кількісних показників аналізів для певних контингентів та об'єктів дослідження і визначення середньодобового об'єму по таблиці 12.

Таблиця 12

Розрахунок потужності лабораторної служби при роботі у вогнищі холери

N N з/п	Досліджуваний матеріал	Число осіб	Кількість аналізів по днях						
			1	2	..	10	11	..	
1.	Хворі на холеру, вібріононосіїв								
2.	Хворі ГКІ								
3.	Контактні з хворими і вібріононосіями								
4.	Обстеженим груп ризику на вібріононосієство								
	Всього досліджень від людей:								
5.	Дослідження об'єктів довкілля								
	Всього досліджень:								

2.1.10.2.1. Планування потужності лабораторної служби.

При плануванні потужності лабораторної бази необхідно брати до уваги:

- співвідношення хворих і вібрионосіїв - 1:1, поодинокі випадки - до 5, групові до 15-20, більше 20 - масові захворювання;
- загальна кількість аналізів на одного хворого холерою та вібрионосія;
- щоденна кількість провізорних дорівнює потроєній кількості щоденно реєстрованих випадків ГКІ, що реєструються в місті (районі) розрахованих по максимальних помісячних даних за останні п'ять років;
- кількість аналізів від провізорно госпіталізованих складає не менше 3-х в першу добу;
- кількість осіб, які підлягають обстеженню по контакту, визначається протиепідемічною службою і орієнтовно складає 20-25 на одного хворого або вібрионосія;
- кількість аналізів від контактних з носіями холерних вібрионів O1 - не менше 3-х в першу добу;
- кількість осіб, які підлягають обстеженню на вібрионосієвість, як, наприклад, групи ризику, декретовані групи, об'єкти зовнішнього середовища визначаються протиепідемічною та профілактичною службами;
- кількість аналізів від кожної особи з групи ризику та інших контингентів - 1;
- періодичність та кратність відбору проб - по одній пробі щоденно.

Потім здійснюється добовий підрахунок аналізів і 120 % від отриманої величини (20 % додається як резерв) визначають необхідну потужність лабораторії, і вирішують всі необхідні питання, які пов'язані з організацією лабораторної служби.

#### 2.1.10.3. Перепрофілювання та паспортизація лабораторій.

Для перепрофілювання лабораторій у вогнищі холери використовується паспорт (додаток 10). Формування лабораторної бази всіх рівнів для роботи у вогнищі холери повинно бути відображено в комплексному плані по санітарній охороні території. В ньому повинні бути вказані рішення інших проблем, пов'язаних з використанням відомчих лабораторій, переміщенням досліджуваного матеріалу з однієї лабораторії в іншу, виділення додаткового транспорту, організація виготовлення поживних середовищ в іншій уставові та інш.

Комплексний план і паспорт лабораторії повинні щорічно коректуватися.

#### 2.2. Лабораторне забезпечення протиепідемічних засобів в період вогнища холери.

##### 2.2.1. Планування лабораторної бази для роботи у вогнищі холери див. п.2.1.9.

2.2.2. Комплекс протихолерних заходів у вогнищі холери передбачає великий обсяг лабораторних досліджень, які визначаються загальними задачами в цей період:

- швидка і вірогідна бакдіагностика хворих холерою;
- обстеження контактних з хворими осіб, які мали підвищену загрозу для оточуючих (алкоголіків та інш. контингентів);
- обстеження померлих від діарей та невідомих причин;
- дослідження зовнішнього середовища, морської, річної, питної, стічної води, харчових продуктів, гідробіонтів з метою встановлення факторів та шляхів передачі холери.

##### 2.2.3. Структура лабораторної служби вогнища.

Лабораторна служба вогнища включає: лабораторну базу вогнища; формування, які забезпечують роботу лабораторії; групу консультантів та наукову групу.

Найбільш зручною формою організації лабораторної служби є профілізація за контингентами та централізація по обсягу досліджень (до 1000). Окрім лабораторій, які проводять, дослідження, необхідно створити окрему лабораторію (групу), яка буде проводити серологічні дослідження для визначення імунного стану населення у вогнищі.

2.2.3.1. Для оперативного управління лабораторною службою назначається начальник та його замісник по матеріально-технічному забезпеченню.

2.2.3.2. В кожна лабораторію, яка входить до бази, призначається завідуючий.

Завідуючі усіх лабораторій, що знаходяться у вогнищі холери підлеглі начальнику лабораторної служби.

2.2.3.3. Група консультантів по організації роботи лабораторної служби та проведенню лабораторних досліджень у вогнищі холери формується з висококваліфікованих спеціалістів, які мають досвід роботи у вогнищах холери.

2.2.3.4. Наукова група формується з висококваліфікованих науковців з метою розробки та втілення нових методів дослідження та діагностики випробування нових поживних середовищ, поглибленого вивчення біологічних властивостей циркулюючих культур та ін.

2.2.3.5. Групи, які відбирають проби входять до складу протиепідемічних, лікувальних та інших закладів. Навчає їх правилам відбору та доставки матеріалу від людей та з об'єктів довкілля, а також забезпечує всім необхідним для цього лабораторна служба.

2.2.4. В умовах епідемічних ускладнень при холері лабораторії, які проводять дослідження на холеру, але не мають дозволу на роботу з матеріалом II групи ризику, одержують тимчасовий дозвіл рішенням Центральної (обласної) режимної комісії. В лабораторіях, які проводять ці дослідження додержується режим роботи з матеріалом II групи ризику.

2.2.5. Розрахунок необхідних кадрів.

2.2.5.1. Особливістю роботи лабораторії у вогнищі являється необхідність вести дослідження цілодобово, а це потребує позмінної роботи. Для розрахунку потреби в кадрах для виконання тільки аналізів необхідно користуватися формулою:

$$M = P \times C / N_{ср},$$

$$\text{звідки } C = M \times N_{ср} / P, \text{ де}$$

M - виробнича потужність лабораторії (кількість аналізів за добу);

P - середня тривалість робочого дня одного співробітника в годинах (100 % робочого часу, з урахуванням 2-3 змінної роботи);

C - загальна кількість співробітників в лабораторії;

N<sub>ср</sub> - норма часу на 1 аналіз (людино-година).

N<sub>ср</sub> є сума середніх показників робочого часу лікаря, лаборанта, санітарки, які необхідні для якісного виконання одного аналізу. Показники N<sub>ср</sub> для аналізів від людей (Нл) та проб води (Нв) відрізняються за рахунок подвоєної кількості аналізів для води (1 проба - 2 аналізи) та переважної кількості аналізів, які потребують відбору підозрілих колоній та їх дослідження.

Тому для лабораторій, які проводять ці види досліджень, рахунок проводиться по формулі:

$$C = (M \times N_{л} + M_{в} \times N_{в}) / P$$

Для аналізів харчових продуктів, змивів та ін. N<sub>ср</sub> прирівнюються до аналізів від людей (табл. 13).

Таблиця 13  
Значення Нср для масових досліджень на холеру

Об'єкти дослідження	Виробнича потужність (М)					
	<100	>100	>200	>300	>500	>1000
Люди	0.45	0.40	0.35	0.30	0.23	0.20
Вода	1.40	1.20	1.00	0.90	0.75	0.60

При цьому приймаються оптимальні відношення лікар-лаборант-санітарка при  $M < 500$  як 1:2:1, в  $M > 500$  - 1:3:3.

2.2.5.2. Потреба в кадрах для лабораторій, які готують поживні середовища визначається додатково і залежить від: кількості поживних середовищ для виконання аналізів в залежності від потужності лабораторної служби.

2.2.5.3. Потреба лабораторної служби вогнища в кадрах визначається сумою показників (пункти 2.2.5.1. та 2.2.5.2.) для кожної з лабораторій, а не потужністю лабораторної служби.

2.2.6. Організація праці лабораторної служби.

Обсяг лабораторних досліджень відповідно потужності лабораторної служби може бути забезпеченим тільки при здійсненні раціональної та чіткої організації праці з вузькою спеціалізацією операцій, які виконуються кожним фахівцем лабораторії.

Максимальна потужність лабораторії може бути досягнута тільки на 3-ю добу: в 1-у - 50 %, в 2-у - 75 % та на 3-ю - 100 % розрахункової.

В кожній лабораторії повинні бути створені наступні функціональні групи:

2.2.6.1. Група прийому матеріалу.

Склад: лаборант, помічники.

Функції:

- приймають матеріал у відповідності до вимог режиму;
- перевіряють правильність доставки матеріалу, направлення до нього та відповідність кількості направлень з кількістю проб;
- при одержанні нативного матеріалу сіють його на чашки з агаровими середовищами та 1 % пептонну воду;
- реєструють направлення та складають графік пересівів;
- видають в установи під розписку негативні відповіді та стерильний посуд для відбору матеріалу.

2.2.6.2. Група пересівів.

Склад: лаборанти, які добре володіють методикою пересіву.

Функції:

- виконують пересів з першої 1 % пептонної води на чашки з агаровим середовищами та другу 1 % пептонну воду, а також з другої 1 % пептонної води на чашки з агаровими середовищами;
- записують в графік час висівів, при цьому лаборант ставить свій підпис;

- старший по групі, якого призначив завідуючий лабораторією, слідкує за правильністю виконаної роботи, приймає зміну у попередньої групи, слідкує за графіком пересівів та місцем знаходження матеріалу.

Таблиця 14  
Журнал роботи з посівами

№	Об'єкт дослідження	Дата і час надходження	Час виконання 1-го пересіву	Час виконання і підпис	Час виконання 2-го пересіву	Підпис
1	2	3	4	5	6	7

### 2.2.6.3. Група перегляду посівів та відбору підозрілих колоній.

Склад: кваліфіковані лікарі і лаборанти.

Функції:

- перегляд чашок з посівами;
- відбір підозрілих колоній;
- постановка реакції слайд-аглютинації підозрілих культур з O1 та RO холерними сироватками в розведенні 1:100;
- при позитивній реакції слайд-аглютинації: перевіряють її специфічність, письмово видають попередньо позитивну відповідь, передають культуру для подальшого вивчення в групу ідентифікації;
- при негативній реакції слайд-аглютинації холерними видоспецифічними сироватками: роблять висів на поліуглеводне середовище, на сектор щільного агарового середовища, які інкубують при 37 градусів С на протязі 18-24 годин, вивчають характер росту та передають підозрілі на холеру вібріони O1 та не O1 (від людей) культури до групи ідентифікації;
- ведуть облік результатів як попередньо позитивних, так і негативних в реєстраційних журналах дослідження матеріалу.

### 2.2.6.4. Група ідентифікації та прискореної діагностики.

Склад: висококваліфіковані лікарі та лаборанти, які мають досвід роботи з чистими культурами холери.

Функції:

- використання прискорених методів діагностики по направлення або по вказівці старшого лікаря по зміні;
- ідентифікація перших культур під час спалаху від людей та з об'єктів навколишнього середовища по скороченій схемі;
- перевірка правильності результатів попередньої ідентифікації в групі відбору підозрілих колоній з видо- та типоспецифічними сироватками;
- вивчення чутливості ідентифікованих культур до антибіотиків методом дисків;
- визначення вірулентності ідентифікованих культур за допомогою орієнтовних методів - гемолітичної активності по Грейгу та ферментації маніту експрес-методом, при чутливості культури до фагів eltoг в ДРТ - по комплексному методу (фаги - ХДФ-3,4,5 та гемолітичній активності з 1 % анічними еритроцитами);

- видача заключної відповіді - холерні вібріони O1 і не O1;
- підготовка культур для відправлення до Центру по ідентифікації патогенних вібріонів;
- ведення обліку роботи в журналі ідентифікації та прискорених методів і руху культур у відповідності до вимог режиму роботи у встановлених формах журналів.

#### 2.2.6.5. Група знезараження матеріалу.

Склад: кваліфіковані медичні працівники, які пройшли спеціальну підготовку для роботи на автоклавах і мають про це посвідчення.

Функції:

- своєчасне та ефективно знезараження у відповідності з вимогами режиму роботи з патогенними мікроорганізмами;
- контроль знезараження відпрацьованого в лабораторіях матеріалу та спецодягу;
- ведення журналу знезараження.

#### 2.2.6.6. Група, що миє посуд, готує та стерилізує посуд.

Склад: досвідчені санітарки, помічники із числа некваліфікованого персоналу, які пройшли інструктаж.

Функції:

- своєчасне і якісне миття посуду - чашок, флаконів, піпеток;
- сушіння посуду;
- пакування та стерилізація посуду.

#### 2.2.6.7. Група розливу поживних середовищ та підготовка їх до посівів.

Склад: один досвідчений лаборант або лабораторний дезінфектор, помічник із числа залучених до роботи у вогнищі.

Умови:

- можливість розплавлення агару у великих об'ємах;
- окрема кімната обладнана багатоярусними столами для одночасного розміщення 800-1000 чашок на кожному, або великою кількістю столів звичайної конструкції;
- дозуючий апарат для розливу рідких поживних середовищ;
- місця для зберігання та видачі поживних середовищ;
- запас готових поживних середовищ (агар у чашках, пептонна вода у пробірках та флаконах для пересівів) повинен забезпечити не менше ніж на половину потреби слідуєчої зміни;
- запас приготовлених поживних середовищ для видачі ЛПЗ, СЕС та іншим установам (пробірки, флакони з 1 % пептоною водою для забору матеріалу) повинен забезпечити не менш ніж добовий обсяг лабораторних досліджень.

Функції :

- розлив поживних середовищ в чашки Петрі, пробірки та флакони;
- стерилізація середовищ розлитих в пробірки та флакони;
- розміщення посуду з розлитими в ньому середовищами для зберігання.

#### 2.2.6.8. Група реєстрації та видачі результатів досліджень.

Склад: одна (або більше) грамотна людина з вищою або середньою освітою не обов'язково із числа медичних працівників.

Функції:

- реєстрація поступаючого матеріалу в журнал реєстрації відповідно з направленнями (особистими або груповими, у 2-х екземплярах, один з котрих віддається установі, що направила матеріал з результатами досліджень, другий - заповнюється та підшивається у папку);

- своєчасна видача результатів дослідження - відповідей;

- щоденний звіт про виконану роботу лабораторії за минулу добу та наростаючим ітогом з моменту початку роботи лабораторії у вогнищі по формі (табл.15), відрахунок часу доби ведеться з початку роботи ранкової зміни.

Таблиця 15  
Форма обліку даних по роботі лабораторії за добу

№ з/п	Аналізи	За минулу добу	З наростаючим підсумком
1.	- із холерного шпиталю Виділено V.cholerae 01/не 01		
2.	- із ізолятора Виділено V.cholerae 01/не 01 Проведено аналізів		
3.	- на вібріононосійство Виділено V.cholerae 01/не 01 Проведено аналізів		
4.	- від хворих ГКІ Виділено V.cholerae 01/не 01 Проведено аналізів		
5.	- Всього від людей Виділено V.cholerae 01/не 01		
6.	- проб води з відкритих водоймищ Виділено V.cholerae 01/не 01		
7.	- від гідробіонтів Виділено V.cholerae 01/не 01		
8.	- проб води з водопроводу Виділено V.cholerae 01/не 01		
9.	- проб стічної води Виділено V.cholerae 01/не 01		
10.	- проб харчових продуктів Виділено V. cholerae 01/не 01		
11.	- Всього з навколишнього середовища Виділено V.cholerae 01/не 01		

#### 2.2.6.9. Група матеріально-технічного забезпечення.

Склад: старший лаборант (несе матеріальну відповідальність за майно), господарський працівник, спеціаліст по обладнанню, електрик, санітарки.

Функції:

- забезпечення лабораторії майном, необхідними матеріалами та ін.;

- систематичний профілактичний нагляд за діючою апаратурою, станом електромережі, системами водопостачання та каналізації;

- поточне (не менше двох разів на добу, при цілодобовій роботі - не менш, ніж три рази на добу) прибирання приміщень.

2.2.7. Кількісний склад груп функціонального підрозділу визначається обсягом досліджень і структурою лабораторної служби.

При невеликій потужності лабораторії функціональні обов'язки персоналу не можуть бути розподілені з такою деталізацією, як в лабораторіях з великою потужністю, тому число буде менше, а обов'язки розширюються.

Разом з тим в лабораторії більшої потужності, що виконує дослідження від різних контингентів, можна працювати за допоміжним розподілом функціональних обов'язків по об'єктах обстеження.

Таблиця 16

Приблизний розподіл працівників по функціональних групах в лабораторії потужністю 1000 досліджень на добу (700 - від людей і 300 - з води) при 36 годинному тижні

NN з/п	Функціональні групи	Лікарі	Лаборанти	Санітарки
1	2	3	4	5
1.	Прийому матеріалу	-	8	-
2.	Пересіву	-	12	-
3.	Перегляду посівів	6	3	-
4.	Ідентифікації та при- скореної діагностики	4	4	-
5.	Знезараження	-	5	-
6.	Миття, стерилізація та підготовки посуду	-	5	22
7.	Розливу середовищ	-	4	4
8.	Реєстрації	1	3	-
9.	Матеріально-технічного забезпечення та господарських робіт (за винятком спеціалістів по обладнанню - електрика, сантехніка та ін.)	-	1	4
	Всього:	11	45	30

2.2.8. Організація цілодобової роботи у вогнищі холери диктується необхідністю обмеженого скорочення часу на проведення кожного дослідження, необхідністю виконання найбільшого обсягу досліджень з використанням мінімальної кількості лабораторій, швидкої видачі відповіді.

2.2.8.1. Режим роботи бригад лаборантів у вогнищі - в 3 зміни, 5 бригад. Робочий час 36 годин на тиждень.

2.2.8.2. В залежності від потужності лабораторії групи перегляду посівів, ідентифікації культур та прискореної діагностики (в окремих випадках - та інші) працюють в 1 і 2 зміни (денну та вечірню) в межах світового робочого дня.

2.2.8.3. Для керівництва роботою на кожній зміні призначається старший лікар, відповідальний за роботу всієї зміни.

2.2.9. Матеріально-технічне забезпечення лабораторії.

Розрахунок необхідного обладнання лабораторного посуду, спецодягу, поживних середовищ та діагностичних препаратів здійснюється з урахуванням норм витрат на 1 аналіз (додаток 2).

Примірний табель оснащення лабораторії різної потужності з тривалістю 30 діб вказаний в додатку 13. При додатковій потребі у витраті коштів складають заявку на ім'я начальника лабораторної служби.

2.2.10. Методичні підходи при роботі у вогнищі холери визначаються задачами, які стоять перед лабораторною службою і необхідністю швидкої видачі результатів аналізів. Для цього необхідно використовувати найбільш спрощені варіанти дослідження матеріалу.

2.2.10.1. Первинний посів матеріалу проводиться в 5 мл 1 % пептонної води з рН 7,8, котра використовується як середовище для транспортування матеріалу.

2.2.10.2. Ідентифікація по основним ознакам і паралельне використання експресних та прискорених методів проводиться при поодиноких та первинних випадках захворювання і вібріононосійства й не доцільна при масовій захворюваності.

2.2.10.3. При масових захворюваннях в розпалі спалаху, у виділених культур від людей, визначається здібність аглютинуватися холерними сироватками в реакції слайд-аглютинації (сироватки О, RО, Огава, Інаба), а при необхідності - імунофлюоресцентними і (або) імуноферментними методами, в реакції непрямой гемаглютинації та ін., визначається оксидазна активність;

- при позитивній слайд-аглютинації видається остаточний бактеріологічний діагноз. Додатково видається антибіотико- чутливість;

- при негативній слайд-аглютинації визначаються оксидазна активність і проводиться скорочена ідентифікація (див. п.2.1.4.1.), чутливість до антибіотиків.

2.2.10.4. В вогнищі холери, у виділених культур з об'єктів довкілля визнається здібність аглютинуватися холерними сироватками в реакції слайдаглютинації (сироватками О1, RО, Огава, Інаба), визначається оксидазна активність.

2.2.10.4.1. При позитивній реакції проводиться ідентифікація по скороченій схемі (див. п. 2.1.4.1.), по результатам якої видається остаточна відповідь.

2.2.10.4.2. При негативній реакції у культур виділених з об'єктів довкілля проводиться коротка ідентифікація, видається відповідь.

2.2.10.5. Для подальшого вивчення в центри ідентифікації патогенних вібріонів направляються культури:

- культури холерних вібріонів О1 після реакції слайд-аглютинації;
- культури холерних вібріонів не О1, виділених від людей;
- культури холерних вібріонів О1 з об'єктів довкілля після короткої ідентифікації для детального вивчення;
- культури холерних вібріонів О1 з об'єктів довкілля з атипічними властивостями та біологічними особливостями: слабо- в недиагностичних титрах аглютинуються видо- або типоспецифічними сироватками або лізуються холерними фагами не в ДРТ.

Умовні позначення: ^ - верхній індекс (ступінь).

В розробці інструкції приймали участь :

- від Міністерства охорони здоров'я : А.Г. Падченко, Е.А. Лауген, Є.В. Доброштан, Моїсеєнко Р.О.;

- від Київського науково-дослідного інституту епідеміології та інфекційних хвороб: А.М. Щербинська, В.В. Олексієнко, З.О. Лисенко, І.С. Бріт, Н.М. Ралко, О.В. Петренко, А.О. Руденко;

- від Українського центру державного санепіднагляду: М.П. Компанцев, Нестеренко, Л.В. Третьякова, І.М. Капітанова, В.А. Мухарська, І.Б. Присяжнюк, В.Г. Даниленко;
- від Національного медичного університету: Крамарев С.О.;
- від Київської медичної академії післядипломної освіти: А.Ф. Фролов, В.В. Гебеш, В.О. Знаменський, К.М. Синяк, О.М. Вернер;
- від Одеської протичумної станції: Ю.А. Бощенко, Л.Я. Могілевський, Н.В. Карпова, З.А. Хабло;
- від Кримської протичумної станції: Ю.В. Євстратов, А.Б. Хайтович, Т.Н. Захарова;
- від Кримської республіканської санепідстанції: Л.Н. Альянакі;
- від Одеського державного медуніверситету: Є.В. Нікітін;
- від Міністерства оборони: Городецький М.М.;
- від обласних санепідстанцій: Миколаївської - В.А. Ігнатенко, Одеської - І.С. Фучіжи, Херсонської - Б.Ю. Могілевський, Львівської - М.С. Нефедова.

Додаток 1 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Орієнтована схема відбору, доставки та пересівів матеріалу від людей при дослідженні на холеру в період епідблагополуччя, роботи лабораторії з 8 до 18 годин всі дні тижня, крім неділі.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.
N ва рі ан ту	Уста- нова, яка напра- вила мате- ріал	Час відбо- ру мате- ріалу	Сере- дови- ще для взят- тя мате- ріалу	При- зна- чен- ня се- ре- до- ви- ща	Умови збері- гання посі- вів до- від- прав- лен- ня в ла- бора- торію	Час дос- тавки в лабора- торію	Пересів з 1-ої п.в. на 2-у п. в. і лужний агар	Пересів з 2-ої п.в. на лужний агар
1.	Інфек- ційне відді- лення (ліка- рня)	З 0 до 12 годин всі дні тижня крім неді- лі	10-15 мл.1% п.в. рН 7.8	1-е се- ре- до- ви- ще зба- га- чен- ня	В тер- моста- ти при 37 град С	В 8 го- дин ран- ку та поміри достав- ки	Через 6-8 го- дин сумарного термостатуван- ня при 37 град С. (в інфекцій- ному відділен- ні і в лабора- торії)	Після тер- мостатуван- ня при 37 град. С
							а) до 13 год. пересів в 10мл 1% п.в. рН 7.8	а) через 5-6 годин
							б) після 13 го- дин пересів в 10 мл 1% п.в. 9.3 рН	б) через 14-20 го- дин
2.	"-"	З 12 до 24 годин всі дні тижня крім неді- лі протя- гом дня	10-50 мл.1% п.в. рН 9.3	"-"	"-"	В 8 го- дин ран- ку на слідую- чий день	Через 14-48 го- дин сумарного термостатуван- ня при 37 град С (в інфекцій- ному відділенні і/або в лабора- торії) пересів в 10мл 1% п.в. рН 7.8	Через 5-6 годин тер- мостатуван- ня при 37 град. С

3.	ФАП, поліклініка, сома-тичне відділення та ін	3 8 до 18 години	5 мл 1% п. рН 7.8	Транспортування	В закритій шафі, але не при кімнатній температурі	По мірі надходження, рН 7.8 або 9.3 але не пізніше ніж через 24 годин з моменту відбору матеріалу	Засівається в 50 мл 1% п.в. рН 7.8 або 9.3 в повному об'ємі (1-е середовище збагачення) і термостатується при 37 град. С рН 7.8 - 6 год., при рН 9.3 - 14-20 год. Пересіви з 1-ої і 2-ої п.в. проводяться як описано в варіанті 1.2	-"-
4.	Станція (відділення ШМД)	3 8 до 18 години	-"-	-"-	При кімнатній температурі	По мірі доставки	-"-	-"-
5.	-"-	3 18 години	-"-	-"-	-"-	По мірі доставки в інфекційне відділення (лікарню) для подальшої переработки в лабораторію	-"-	-"-

Примітка: термін доставки в лабораторію нативного матеріалу (випорожнення, блювотні маси, промивні води, жовч, трупний матеріал) не повинен перевищувати 2-3 годин.

Додаток 2 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Норми витрату діагностичних препаратів та поживних середовищ на 1 аналіз при дослідженні на холеру

№	Назва препаратів та середовищ	Од. вим.	Норми витрати абсолютні з повним дослідженням	Середні при масовому дослідженні
I. Діагностичні бактерійні препарати				
1.	Холерна аглютинуюча сироватка 01 серогрупи	мл	0.2	0.015
2.	Холерна аглютинуюча сироватка Огава	мл	0.2	0.01
3.	Холерна аглютинуюча сироватка Інаба	мл	0.2	0.01
4.	Холерна аглютинуюча сироватка RO	мл	0.1	0.015
5.	Холерні діагностичні фаги: холерний ельтор	мл мл	0.1 0.1	0.002 0.002
6.	Холерна люмінесцентна сироватка	мл	0.03	0.0005
7.	Холерна сироватка серогрупи	мл	0.05	0.025
II. Поживні середовища				
1.	Агар-агар	г	0.5	0.01

2.	Агар лужний: готовий	мл	100	50
	сухий	г	5	2.5
3.	Основний розчин пептону			
	а) аналіз від людей - 10%	г	10.0	5.0
	сухого	г	2.0	1.2
	б) аналіз води - 10%	мл	110	110
	сухого	г	20.0	20.0
4.	Телурит калію			
	а) аналіз від людей	г	0.001	0.001
	б) аналіз води	г	0.015	0.015

Додаток 3 до "Інструкції по організації та  
проведенню протихолерних заходів, клініці та  
лабораторній діагностиці холери"

Направлення на дослідження матеріалу від людей на виявлення холери

П.І.П. \_\_\_\_\_ вік \_\_\_\_\_  
Адреса \_\_\_\_\_  
Місце роботи \_\_\_\_\_  
Найменування матеріалу \_\_\_\_\_  
Діагноз \_\_\_\_\_  
Дата і час відбору матеріалу \_\_\_\_\_ середовище \_\_\_\_\_  
Установа, що направляє \_\_\_\_\_  
Підпис особи, яка направляє матеріал \_\_\_\_\_

---

лінія відриву

Результат

дослідження матеріалу від людей на виявлення холери

П.І.П. \_\_\_\_\_ вік \_\_\_\_\_  
N аналізу \_\_\_\_\_  
Дата і час прийому \_\_\_\_\_  
Результати дослідження \_\_\_\_\_  
Дата \_\_\_\_\_  
Куди направлено \_\_\_\_\_  
Підпис лікаря \_\_\_\_\_  
Дата видачі результату \_\_\_\_\_

Додаток 4 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Направлення з об'єктів довкілля для дослідження на холеру

Вид матеріалу \_\_\_\_\_  
Місце і об'єкт відбору проби \_\_\_\_\_  
Дата і час відбору проби \_\_\_\_\_  
Температура води \_\_\_\_\_  
рН \_\_\_\_\_  
Установа, що направила пробу \_\_\_\_\_  
Підпис та посада особи, яка відбирала пробу \_\_\_\_\_

---

лінія відриву

Результат дослідження

проб з об'єктів довкілля для дослідження на холеру

Вид матеріалу \_\_\_\_\_  
Дата і час відбору проби \_\_\_\_\_  
Результати дослідження \_\_\_\_\_  
Дата \_\_\_\_\_

Куди направлено \_\_\_\_\_

Підпис лікаря \_\_\_\_\_

Дата видачі результату \_\_\_\_\_

Додаток 5 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Форма журналу реєстрації матеріалу від людей на виявлення холери

№	№	Прізвище, ім'я та по батькові	Вік	Стать	Місце роботи, посада	Місце проживання	Установа, яка направила аналіз	Контингент або діагноз захворювання
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.

Назва матеріалу	Кількість відібраних колоній	Результати досліджень	Дата віді	Підпис лікаря
13.	14.	15.	16.	17.

Додаток 6 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Журнал реєстрації матеріалу з об'єктів довкілля на холеру

№	№	Установа	Об'єкт	Адреса	Дата і час відбо	Дата і час доставки	Температура	pH
п/п	ана	яка направила	дослідження	об'єкту	час відбо	доставки	ратура	води
п/п	лі	правила	ження	ту	ру проб	проб	ра	води
	зу	матеріал	матер.					
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.

Час висі	Час висі	Кількість	Результат	Дата закінчення	Підпис лікаря
ву на I п. в.	ву на II п. в.	добраних колоній	дослідження	аналізу та відповіді	
10.	11.	12.	13.	14.	15.

Додаток 7 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Журнал ідентифікації виділених культур для СЕС I рівня \*

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
п/п	штаму	Об'єкт дослідження	Дата забору	Морфологія колонокультур	Морфологія клітин	Рухливість	Індофеноксидаза	Слайдаглютинація холерними сироватками		
									O	RO
-----										
11.	12.	13.	14.	15.	16.	17.	18.	19.	20.	21.
Ферментація глюкози в середовищу Хью-Лейфсона		Лактоза	Сахароза	Манноза	Арабіноза	Маніт	Лізин декарбоксилаза	Орнітин дигідролаза	Аргінін	Результат дослідження
аеробі		анаеробі								
-----										

\* В журналі можуть бути внесені доповнення в залежності від територіальних особливостей.

Додаток 8 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Журнал ідентифікації виділених культур для лабораторії ОНІ

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.
NN	N	Дата	Морфо-	Морфо-	Рухли-	Індо-	Аглютинація	Ферментація				
п/	шта	виді-	логія	логія	вість	фено-	холерними	глюкози в				
п	му	лення	коло-	кліти-		локси	сироватками	середовищу				
		куль-	ній	ни		даза		Хью-Лейфсо-				
		тури						на				
								аеро		анаеро		
								O	Oга	Іна	RO	би
								ва	ба			

Лак	Са	Ма	Ара-	Ма-	Іно	Роз-	Утво-	Реак	Лізин	Орні-	Аргі-
то-	ха	но	біно	ніт	зіт	щеп-	рення	ція	декар	тин	нін
за	ро	за	за		лен-			Фоге	боксі	декар	дигі-
	за				ня			с-	лаза	боксі	дро-
					крох			Про-		лаза	лаза
					малю			ска-			
							-----	уера			
							ін	H2S			
							до				
							лу				

Чутливість до фагів				Реакція	Реакція	Чутливість	Гемо	Резуль	Дата,
				холерни	гемаглю	до полі-	ліз	тат	під-
				ми люм	тинації	міксину			пис
				сироват					
				ками					
-----									
хо	ель	ХДФ	ХДФ	ХДФ					
ле	тор	3	4	5					
р-									
но									
му									

27	28.	29.	30.	31.	32.	33.	34.	35.	36.	37.
----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

Додаток 9 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Паспорт штаму

Вид мікробу \_\_\_\_\_ Штам N \_\_\_\_\_  
П.І.П. обстежуваного (або назва об'єкту) \_\_\_\_\_

Дата доставки матеріалу \_\_\_\_\_ Дата виділення культури \_\_\_\_\_

Ким і де виділена культура (П.І.П., ліаря, станова) \_\_\_\_\_

Культуру підтвердили (Ф.І.П., лікаря, установи) \_\_\_\_\_

Характеристика штаму

1. Морфологія клітин.

Тінкторіальні особливості \_\_\_\_\_ 2. Рухливість \_\_\_\_\_

3. Культуральні особливості: на 1% п.в. \_\_\_\_\_  
на лужному агарі \_\_\_\_\_

4. Ідофенілоксидаза \_\_\_\_\_ 5. Лізіндекарбоксилаза \_\_\_\_\_  
Орнатіндекарбоксилаза \_\_\_\_\_ Аргіндигідролаза \_\_\_\_\_

6. Глюкоза на середовищі Хью-Лейфсона: аероби \_\_\_\_\_  
анаероби \_\_\_\_\_ сахароза \_\_\_\_\_ маноза \_\_\_\_\_

арабіноза \_\_\_\_\_ маніт \_\_\_\_\_ інозит \_\_\_\_\_  
лактоза \_\_\_\_\_ крохмаль \_\_\_\_\_

7. Протеолітична активність \_\_\_\_\_

8. Розщеплення сечовини \_\_\_\_\_

9. Аглютинабельність холерними сироватками:

O1 \_\_\_\_\_, Огава \_\_\_\_\_, Інаба \_\_\_\_\_, RO \_\_\_\_\_

O139 \_\_\_\_\_

10. Реакція з холерними лям. антитілами \_\_\_\_\_

11. Чутливість до фагів: холерному \_\_\_\_\_,  
ельтор \_\_\_\_\_ ХДФ-3 \_\_\_\_\_, ХДФ-4 \_\_\_\_\_,  
ХДФ-5 \_\_\_\_\_

12. Фаготип \_\_\_\_\_

13. Гемолітична активність по Грейгу \_\_\_\_\_

14. Реакція гемаглютивації \_\_\_\_\_

15. Вірулентність на крольчатах \_\_\_\_\_

16. Чутливість до поліміксину (30 од/мл) \_\_\_\_\_

17. Чутливість до тетрацикліну \_\_\_\_\_  
левоміцетину \_\_\_\_\_

18. Інші властивості штамів \_\_\_\_\_

19. Середовище зберігання \_\_\_\_\_

Підпис відповідального лікаря \_\_\_\_\_

Примітка: 1) В графі 10 вказати: негативне або до титру;

1/2 титру і т.п.

2) В графі 11 вказати: до титру, 1/2 титру і т.п.





Санітарки					
Всього:					

### 5. Матеріальне оснащення:

Найменування	Од. вим.	Орієнтовний розрахунок для лабора- торії на аналізів	Наявність	Не вистачає	Установа, яка виділяє відсутнє об- ладнання, майно, пре- парати та ін.
Лабораторне обладнання					
Захисний одяг та білизна					
Лабораторний посуд					
Поживні середо- вища, діагности- чні препарати, реактиви					
Засоби для дезин- фекції та дезинсекції					
Господарське майно					
Автотранспорт					

### 6. Комунально-побутове забезпечення лабораторії.

--	--	--	--	--	--

Вид забезпечення	Фактична наявність	Примітка
а. Водопостачання: вода холодна вода горяча		
б. Каналізація (місцева, центральна; наявність місцевих споруд по очищенню та знезараженню стічних вод)		
в. Електроенергія (наявність силових ліній - вказати потужність в квт.)		
г. Наявність газових установок (газ в балонах чи мережі)		
д. Прання (своїми силами чи централізовано)		
е. Отоплення (пічне, місцеве, водяне, централізоване)		
ж. Телефонний зв'язок (внутрішній, міський)		

**7. Інші дані, якщо необхідно.**

Керівник установи  
 Завідуючий лабораторією

(Підпис)

(Підпис)

Додаток 11 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Паспорт \*  
на стаціонарну точку N \_\_\_\_\_  
для відбору проб води

республіка, область, район, населений пункт \_\_\_\_\_

тип та назва водоймища (місце каналізування) \_\_\_\_\_

Місце розташування точки відбору (основні орієнтири) \_\_\_\_\_

Обґрунтування вибору точки (потрібне підкреслити, заповнити)

1. Характер водокористування в точці відбору:

- джерело централізованого господарчо-питного водопостачання, зона санітарної охорони водозабору; \_\_\_\_\_
- використання для господарчо-побутових потреб (так, ні);
- водозабір для технічного водопроводу (для якого підприємства) \_\_\_\_\_

- масовий організований відпочинок (купання, риболовство, водний спорт);

- місце каналізаційних споруд \_\_\_\_\_

2. Санітарно-гігієнічні умови:

- скидання стічних вод (господарчо-побутових, промислових, змішаних), які очищені (біологічно, механічно) або не очищені:

- місце скидання стічних вод: в точці відбору, вище точки відбору (по течії річки) на \_\_\_\_\_ км, нижче точки відбору по течії річки на \_\_\_\_\_ км, на відстані \_\_\_\_\_ км від точки відбору (для сточних водоймищ);

- об'єм скинутих стічних вод (м куб. в добу) \_\_\_\_\_

- наявність смітєвих звалищ: відстань від водомища \_\_\_\_\_ км від точки забору \_\_\_\_\_ км;

- аварійні і неорганізовані стоки (де, які, частота, об'єм).

3. Гідрологічна характеристика:

- глибина водоймища в точці забору (в м) \_\_\_\_\_

- швидкість течії (м/сек) \_\_\_\_\_

- згонно-нагонні явища (сезонність, частота) \_\_\_\_\_

- площа озера (ставка) \_\_\_\_\_ га.

\* Заповнюється лікарем-епідеміологом разом з лікарем по комунальній гігієні та іншими необхідними спеціалістами. Продовження дод. 11

Санітарно-бактеріологічна та фізико-хімічна характеристика водоймища в точці відбору (в період відбору проб):

Показники	Результати по датах дослідження					
Колі-індекс						
Патогенна мікрофлора (по видах)						

Холерні відріони 01						
Холерні відріони не 01 групи 0139						
Температура води						
pH						
Окислення перманганатне						
Розчинений кисень						
БПК 5:						
аміаку						
Азот: нітратів						
нітритів						
Хлориди						

Додаток 12 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Перелік предметів укладки для відбору матеріалу на холеру

п/п	Назва предметів	Одиниця виміру	Кількість	Примітка
1.	2.	3.	4.	5.
1.	Банки стерильні широкогорлі з кришками на різьбі або притертими пробками	200 мл	2	
2.	Те ж	500 мл	2	
3.	Петлі алюмінієві	шт.	2	стерил.
4.	Скляні трубки з гумовою грушею малого калібру	шт.	3	стерил.
5.	Пробірки бактеріолог.	шт.	5	стерил.
6.	Пробки гумові N 12, 14 (для пробірок, флаконів)	шт.	10	стерил.
7.	Тампони ватні	шт.	20-30	стерил.
8.	Рукавички гумові хірургічні	пари	2	стерил.
9.	Шпателі дерев'яні (металеві)	шт.	2	
10.	Штатив складний з 6 гнізд	шт.	1	
11.	Спирт ректифікат 96%	мл.	250	

12.	Спиртівка	шт.	1	
13.	Стерилізатор (середнього розміру)	шт.	1	
14.	Марлеві серветки 10 x 10 см	шт.	10	стерил.
15.	Пінцет анатомічний	шт.	1	
16.	Пляшка з ватною пробкою 0.5 л і запасною кірковою або гумовою	шт.	2	стерил.
17.	Шпагат	м	10	
18.	Бікс або металевий ящик для доставки проб в лабораторію	шт.	1	
19.	Сірники	кор.	1	
20.	Пенал металевий для пробірок	шт.	1	
21.	Поліетиленові пакети	шт.	5	
22.	Простий олівець	шт.	1	
23.	Вата 50.0	пачка	1	
24.	Лейкопластир	уп.	1	
25.	Папір для листа	аркуш	20	

26.   Папір копіювальний	аркуш	2	
-----			
27.   Хлорамін в пакеті по 300 г.,			
розрахований для одержання 10 л			
3 % розчину, і сухе хлорне			
вапно в пакеті з розрахунку по			
200 г на 1 кг випорожнень		по 10 уп.	
-----			

Додаток 13 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Табель

оснащення лабораторії потужністю 200, 500 та 1000 аналізів на холеру за добу (тривалість роботи 30 днів)

п/п	Найменування	Один. вимір	Потужність лаб. (кількість ан.)		
			200	500	1000
I. О б л а д н а н н я					
1.	Автоклав вертикальний електричний	шт.	1	2	3
2.	Автоклав горизонтальний	шт.	1	1	2
3.	Апарат для інактивації сироваток	шт.	1	1	1
4.	Бікс металевий різного розміру	шт.	7	10	20
5.	Балончик гумовий N 0 або 1	шт.	7	10	15
6.	Важки технічні (до 1 кг) з різновагами	шт.	1	1	1
7.	Важки аптечні з різновагами	шт.	1	1	1
8.	Гідропульт	шт.	1	1	1
9.	Дистилятор електричний переносний ДП-3	шт.	1	1	1
10.	Голки з шприцами різні	шт.	50	50	50

11.	Зажим для гумових трубок пружинячий	шт.	3	5	10
12.	Компаратор Міхаеліса ММ2	шт.	1	1	1
13.	Лабораторний рН-метр	шт.	1	1	1
14.	Корнцанг	шт.	3	3	3
15.	Лампи запасні для МЛД	шт.	1	2	2
16.	Лупа ручна 1 x 10, 1 x 2.5	шт.	2	3	5
17.	Мікроскоп МБР-1	шт.	2	3	5
18.	Мікроскоп (лупа) з пристроєм косо-го освітлення	шт.	1	1	1
19.	Мікроскоп люмінісцентний МЛД-1 або МЛД-2	шт.	1	1	1
20.	Ножиці	шт.	3	3	3
21.	Освітлювачі до мікроскопів ОД-19	шт.	3	3	3
22.	Насос водоструйний	шт.	1	1	1
23.	Випромінювач бактеріцидний настінний	шт.	1	2	3
24.	Термостатуючий прилад	шт.	1	1	2

25.	Петлі дротові (платинові) діам. 0.3-0.5 мм	гр.	2	3	5
26.	Петлі алюмінієві для відбору мате- ріалу	шт.	600	1500	3000
27.	Петлетримачі	шт.	6	8	15
28.	Пінцет анатомічний	шт.	5	5	5
29.	Пластини азбестові до фільтрів Зейтца 30 мм	шт.	15	20	30
30.	Піпетки автоматичні	шт.	3	5	5
31.	Пробки гумові різного розміру	кг.	1.5	3	5
32.	Пробки кіркові різного розміру	кг	0.3	0.5	0.5
33.	Пластини полістиролові для РНГА	шт.	10	15	50
34.	Сушильна шафа стерилізаційна 2Б-151	шт.	1	2	3
35.	Стерилізатор електричний різних розмірів	шт.	2	2	2
36.	Стерилізаційна коробка 39.5 x 19.5	шт.	2	2	2
37.	Стандарт мутності для суміші холер- них вібріонів N 10 і N 5	шт.	по 2	по 2	по 2
38.	Скальпелі	шт.	5	5	5

39.	Столик підіймальний	шт.	1	1	2
40.	Термометр хімічний на 200-250 град С	шт.	2	2	2
41.	Термометр хімічний на 100 град. С	шт.	2	2	2
42.	Термостат електричний	шт.	1	2	3
43.	Термометр медичний максимальний	шт.	5	5	5
44.	Прилад фазовоконтрастний	шт.	1	1	2
45.	Фільтри Зейтца 30 мм с пристроєм для фільтрації	шт.	2	2	3
46.	Холодильник побутовий ємк. 220 л	шт.	1	2	3
47.	Центрифуга лабораторна настільна ЦЛН-2	шт.	1	1	1
48.	Годинник пісочний	шт.	1	1	2
49.	Штатив великий 60-400 гнізд	шт.	15	30	50
50.	Штатив 10-20 гнізд	шт.	5	5	5
51.	Штатив великий Бунзена	шт.	1	1	1
52.	Шпатель металевий	шт.	5	5	5
53.	Шпатель дерев'яний	пачка	1	2	3

ІІ. Л а б о р а т о р н е с к л о					
1.	Ампули ємкість 1-2 мл	шт.	500	1000	1000
2.	Банка матеріальна білого скла з притертим корком на 250.0 мл	шт.	8	10	12
3.	Банка матеріальна білого скла з притертою пробкою на 500.0 мл	шт.	5	5	7
4.	Банка матеріальна білого скла з притертою пробкою на 100.0 мл	шт.	10	10	10
5.	Банка матеріальна ємк. 2-3 л	шт.	5	5	7
6.	Бутиль ємк. 1 л	шт.	150	300	700
7.	Бутиль ємк. 3 л	шт.	5	5	5
8.	Бутиль 3-х л з нижнім тубусом	шт.	1	1	2
9.	Буси скляні	кг.	0.1	0.1	0.1
10.	Бюретки градуйовані ємк. 25-50 мл	шт.	2	2	2
11.	Воронки хімічні різних розмірів	шт.	2	2	2
12.	Колба конічна плоскодонна ємк. 1000 мл	шт.	10	10	10
13.	Колба конічна плоскодонна ємк. 250 мл	шт.	10	10	10

14.	Колба конічна плоскодонна ємк. 500 мл	шт.	10	10	10
15.	Колба конічна плоскодонна ємк. 1000 мл	шт.	5	5	5
16.	Кристалізатор або емалірована миска	шт.	5	5	10
17.	Мензурка градусув. різної ємк.	шт.	3	3	3
18.	Мембранні фільтри NN 2, 3, 4, 5	шт.	400	400	400
19.	Піпетки градусув. на 1 мл	шт.	100	200	300
20.	Піпетки градусув. на 2 мл	шт.	20	50	100
21.	Піпетки градусув. на 5 мл	шт.	30	50	75
22.	Піпетки градусув. на 10 мл	шт.	15	30	50
23.	Піпетки градусув. на 0.1 мл	шт.	3	5	5
24.	Піпетка пастерівська	шт.	2000	2000	10000
25.	Пробірки бактеріологічні 12 x 120 з ватно-марлевым корком	шт.	2000	5000	10000
26.	Пробірки аглют. ватно-марлевими корком	шт.	100	200	400
27.	Поплавки	кг.	0.2	0.3	0.5

28.	Пробірки центрифужні	шт.	10	20	30
29.	Скло предметне	шт.	400	1000	2000
30.	Скло з луночкою	шт.	5	5	5
31.	Скло покривне	кор.	5	10	20
32.	Стакани фарфорові або гранчасті	шт.	10	15	20
33.	Ступки фарфорові з пестиком різних розмірів	шт.	5	7	10
34.	Спиртівки	шт.	4	6	10
35.	Флакони 100.0 мл з ватно-марл. корком	шт.	600	1500	3000
36.	Флакони 200.0 мл з ватно-марл. корком	шт.	50	100	150
37.	Флакони 500.0 мл з ватно-марл. корком	шт.	30	50	100
38.	Циліндр мірний	шт.	2	2	2
39.	Чашки Петрі для вирощ.бак. культур	шт.	2000	5000	10000
40.	Шприци 1.0; 2.0; 5.0	шт.	5	7	10
41.	Шприци дозатори	шт.	5	10	10
III. Поживні середо- вища, фарби, реакти-					

	В и				
С е р е д о в и щ а					
1.	Агар-агар	кг.	0.3	0.7	1.5
2.	Агар сухий поживний лужний	кг.	16	35	70
3.	Бульон МП	л.	4	10	20
4.	Основний розчин пептону сухого	кг.	42	105	210
5.	Пептон сухий	кг.	0.25	0.5	1
6.	Вуглеводи і спирти: маноза	г.	5	10	20
	арабіноза	г.	5	10	20
	сахароза	г.	50	125	250
	маніт	г.	5	10	20
	інозит	г.	1	2	5
	глюкоза	г.	50	100	200
	лактоза	г.	20	50	100
	саліцин	г.	1	2	5
	дульцит	г.	1	2	5

7.	Системи біолог. індикаторні	набір	2	5	10
8.	Еритроцити барана відмиті	мл.	5	10	10
9.	Еритроцити курячі відмиті	мл.	5	10	10
10.	Фізіологічний розчин	л.	готується на місці		
Р е а к т и в и ,   ф а р б и					
11.	Бромтімоловий синій	г.	3	5	5
12.	Папір лакмусовий червоний	кг.	20	50	100
13.	Папір лакмусовий синій	кг.	20	50	100
14.	Генціанвіолет	г.	10	25	50
15.	Гліцерин	кг.	2	3	5

Додаток 14 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Розрахункові норми витрат дезінфекційних засобів для проведення дезінфекційних заходів при холері

Препарат	Заклучна дезінфекція у вогнищі		Поточна дезінфекція		Витрати препарату в г (мл) на 1 відвідування в день в амбулаторно-поліклінічному закл.	Витрати на 1 реконвалісента протягом місяця* в г (мл)	
	місто	сільська місцев.	в стаціонарі	в ізоляції для контактн.		місто	сільська місцев.
1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
Хлорамін	1100	1100	2000	2000	0.5	1100	1100
Хлорне вапно	7600	8700	2500	2500	0.5	-	1100
Вапно білилне термост.	7600	8700	2500	2500	0.5	-	1100
Гіпохлорид кальція технічний (ГКТ)	7600	8700	2500	2500	0.5	-	1100
Нейтральний гіпохлорид кальція НГК	3800	4350	1250	1250	0.25	-	550
Сульфохлорантін	120	120	500	500	0.1	120	120
Метасилікат							

натрія	850	1050	5000	5000	-	-	6000
Пергідроль	8500	8500	25000	25000	10.0	-	-
Хлорантоін	120	120	500	500	0.1	120	120
1-хлорбетава -фтол	1200	1200	3000	3000	1.0	1200	1200
Лізол	18700	20000	500	500	-	-	-
ДП-2	120	120	500	300	0.25	-	550
Саніфект-128	400	400	700	700	0.2	400	400
Бацилоцид расант	200	200	350	350	0.1	200	200
Сокрена	400	400	700	700	0.2	400	400
Сані-Фреш	100	100	200	200	-	100	100
Стерилліум	100	100	200	200	-	100	100
Бактолін базик	100	100	200	200	-	100	100
Перметрін 0.1% водна емульсія	200	1000	100	100	-	-	-
Ціперметрин 0.1 % водна емульсія	200	1000	100	100	-	-	-

	Емпайр-20**				
	- 0.4% водна				
	емульсія	50мл на 1 м квад. поверхні	-	-	-

-----

\* після виписки хворого або вібрионосія із стаціонара.

\*\* норма витрат на 1 обробку

Додаток 15 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Засоби і методи дезінфекції, які використовуються при роботі з об'єктами, контамінованими холерними вібрионами

1. Хлорамін Б або ХБ (вміст активного хлору (АХ) не менше 26%) 0.5%, 1%, 2%, 3% (по препарату) розчини
2. Хлорне вапно (вміст АХ не менше 25%) суха речовина  
0.5%, 1%, 2% (по препарату) освітлені розчини  
10% (по препарату) освітлений і неосвітлений розчини  
20% (по препарату) хлорно-вапнового молока
3. Вапно білильне термостійне (вміст АХ не менше 25%) суха речовина  
0.5%, 1%, 2% (по препарату) освітлені розчини  
10% (по препарату) освітлений і неосвітлений розчини
4. Нейтральний гіпохлорид кальція НГК (вміст АХ не менше 52% для марки А і не менше 24% для марки Б)  
суха речовина  
0.15% (по АХ) розчини  
0.25%, 0.5%, 1% (по АХ) освітлені розчини  
5% (по препарату) освітлені і неосвітлені розчини
5. Гіпохлорид кальція технічний - ГКТ (вміст АХ не менше 35%) суха речовина  
0.4% (по АХ) освітлені розчини  
1.5% (по препарату) освітлений розчин  
5% (по препарату) освітлений і неосвітлений розчини
6. Двохтрьохосновна сіль гіпохлорида кальція - ДТС ГК (вміст АХ не менше 47%)  
суха речовина  
0.15%, 0.5% (по АХ) розчин  
0.25%, 1% (по препарату) освітлені розчини  
5% (по препарату) освітлений і неосвітлений розчини
7. Двохосновна сіль гіпохлорита кальція - ДСГК (вміст АХ не менше 30%)  
суха речовина  
1% (по препарату) освітлений розчин  
5% (по препарату) освітлений і неосвітлений розчини
8. Гіпохлорид натрія (вміст АХ не менше 14%)  
1% (по АХ) розчин
9. Гіпохлорид натрія, отриманий в електрохімічних установках  
0.125% (по АХ) розчин
10. Сульфохлорантин або сульфохлорантин М (вміст АХ не менше 15%)  
0.1%, 0.2%, по препарату розчини
11. Хлорантоїн (вміст АХ не менше 13.5%)
12. Пергідроль (вміст перекису водню 30%)  
3% розчин перекису водню
13. Перекис водню з миючими засобами (3% розчин перекису водню з 0.5% миючими засобами)
14. Пероксигідрат фторида калія (ПФК-1)  
(вміст перекису водню не менше 35%)  
3%, 6%, 7%, 9% (по препарату) розчини
15. Саніфект - 128 - США
16. Сані-Фреш (антисептичне мило) - США
17. Сокрена - Німеччина
18. Бацілоцид расант - Німеччина
19. Стериліум (антисептик для обробки шкіри рук) - Німеччина

20. Бактолін базик (рідкий миючий засіб) - Німеччина
21. Їдкий натр  
10% (по препарату) розчин
22. Формалін  
10%, 20%, 40% (по формальдегіду) водні розчини
23. Аміак  
10% водний розчин (для нейтралізації формальдегіда в співвідношені 1:1)
24. Кип'ятіння  
2% содовий розчин
25. Обробка водяним насиченим паром під тиском (автоклавування)  
0.20 МПА (2.0 кгс/см) 132 +/- 2 град С  
0.15 МПА (1.5 кгс/см) 126 +/- 2 град С  
0.11 МПА (1.1 кгс/см) 120 +/- 2 град С
26. Спирт етиловий 70 град.
27. Спалювання
28. Прокалювання
29. Обробка в дезінфекційних камерах: пароповітряний, пароформаліновий методи
30. Миюче-дезінфікуючі та чистячі засоби побутової хімії (Саніта, Білка, Блиск-2, ПЧД, Білизна, Дезус, Поліроль, тощо)
31. Лізол марки А і Б
32. Дезоксон-1 або Дезоксон-4
33. 1-Хлорбетанафтол
34. ДП-2
35. Інсектициди (Перметрін, Ціпермертин, Емпайр-20, тощо)

Додаток 16 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Режими знезараження різних об'єктів при холері

п/п	Об'єкти, що підлягають знезараженню	Спосіб знезараження	Знезаражуючий засіб	Експозиція, хв.	Норма витрат	
1.	2.	3.	4.	5.	6.	
1.	Поверхні приміщень (підлога, стіни, двері) меблі, оснащення і ін.	Зрошення або протирання з наступним вологим прибиранням	1% розчин хлораміна В або ХВ  1% освітлений розчин хлорного вапна або вапна білильного термостійкого  0.5% освітлений розчин (по АХ) НГК або ДТС ГК  0.4% (по АХ) освітлений розчин ГКТ  1% освітлений розчин ДСГК  0.25% розчин гіпохлорита натрія, отримано го на електрохімічних установках  1% по АХ розчин гіпохлорида натрія  0.2% розчин хлорантіону	60  60  60  60  60  60	300  300  300  300  300  300	мл/л  мл/л  мл/л  мл/л  мл/л  мл/л

			0.2% розчин сульфохлорантіна або сульфохлорантіна М	60	300 мл/л
			0.25% розчин Саніфект-128	30	500 мл/л
			0.25% розчин Бацілоцид расант	30	500 мл/л
			2.5% розчин Сокрени	30	500 мл/л
	Протирання або зрошення		1% розчин дезоксона-1 або дезоксона-4	30	300 мл/л
			3% розчин перекису водню з 0.5% миючими засобами	60	300 мл/л
	Протирання		9% розчин ПФК-1	30	200 мл/л
	Зрошення		5% розчин лізола А	20	500 мл/л
			3% розчин лізола А	60	
			0.5% розчин І-хлор-бетанафтола	60	100 мл/л
	Поліровані меблі	Протирання	Чистячий засіб "Поліроль"		
2.	Захисний одяг персонала (халати, шапочки, маски, косинки), білизна хворого	Паровий стерилізатор (автоклав)	Водний насичений пар під тиском 1,1 кгс/см <sup>2</sup> (120=2 град С), 0.11 МПа	30	



	налу (хала-ти, шапочки)				5л/кг
	зни маски, косинки), білизна хворого, забруднена виділеннями (блювотні маси та фекалії)	Замочування з наступним полосканням та пранням	1% розчин хлораміну В або ХБ	120	сухої білизни
			3% розчин хлораміну В або ХБ	30	
			0.25% розчину по АХ гіпохлорида натрія		
			0.25% розчин Саніфект-128	30	
			0.5% розчин Бацилоцид-расант	30	
			0.2% розчин сульфохлорантина або сульфохлорантина М	120	
			0.2% розчин хлорантін	30	
			3% розчин перекису водня в 0.5% миючого засобу	120	
			7% розчин ПФК-1	60	
			Водний насичений пар під тиском 1,1 кгс/см <sup>2</sup> (МПа 0.11), 120 +/- 2 град С	30	
4.	Гумові рукавиці	Занурення	1% розчин хлораміну В або ХБ	120	
			3% розчин перекису водня в 0.5% миючого засобу	30	

			0.2% розчин сульфохлорантина або сульфохлорантина М	120	
			0.25% розчин (по АХ) гіпохлорида натрія	60	
			0.2% розчин хлорантін	120	
			0.25% розчин Саніфект-128	15	
			0.5% розчин Бацілоцид расант	15	
			1.0% розчин Сокрени	15	
5.	Окуляри, фонендоскоп та інш.	Двократне протирання з інтервалом 15 хв. з наступним обмиванням водою	3% розчин перекису водню в 0.5% миючого засобу	30	
			3% розчин перекису водню	30	
			0.25% розчин Саніфект-128	30	
			0.5% розчин Бацілоцид расант	30	
			1.0% розчин Сокрени	30	
		Занурення	70 град. етиловий спирт	30	
6.	Гумове взуття	Протирання	Дезинфікуючі розчини,		

	тя, капці з шкіри та шкірозамінника		наведені в пункті 1		
7.	Ватні куртки, штани, постільні речі	Камерне знезараження	Пароповітряна суміш 80-90 град С	20	40 кг/м квадрат
8.	Спальна білизна, постільні речі	Камерне знезараження	Пароформалінова суміш 57-59 град С	45	30 кг/м квадрат
9.	Посуд хворого	Кип'ятіння /Занурення в дезрозчин з наступним обмиванням гарячою водою	2% розчин соди /після закіп'ятіння/ в дезінфікуючі розчини, зазначені в пункті 3	15	2 л на 1 комплект посуду
			0.25% розчин Саніфект-128	15	2 л на 1 комплект посуду
			1.0% розчин Сокрени	15	
			6% розчин ПФК-1		
10.	Іграшки (крім пластмаси)	Кип'ятіння /Занурення або протирання ганчірками, змоченими в розчині, з наступним змиванням водою	2% содовий розчин	15	Повне занурення
			0.5% освітлений розчин хлорного вапна, вапно білильне термостійке	60	Повне занурення або протиранням (200 мл/м квадрат. з наступним протиранням теплою водою
			0.5% розчин хлораміну В або ХВ	60	
			0.25% освітлений розчин НГК або ДТ СГК	60	

			0.2% розчин сульфохлорантіна або сульфохлорантіна М	60	Повне занурення або проти-
			-----	-----	ранням
			0.1% розчин ДП-2	30	(200 мл/м
			-----	-----	квад.
			1.0% розчин Сокрена	15	з наст
			-----	-----	упним
			0.125% розчин (по АХ) гіпохлориду натрія	60	проти-
			-----	-----	ранням
			3% розчин перекису водню в 0.5% миючого засоба	15	теплою водою
			-----	-----	
11.	Руки в гумових рукавичках	Занурення і миття	Дезинфікуючі розчини, наведені в пункті 4	2	
			-----	-----	
12.	Незахищені ділянки шкіри, руки	Міють та протирають тампоном, змоченим розчином, потім миють теплою водою з ін-	0.5% розчин хлораміну В або ХВ	2	3 л на 10 об-робок
		дивідуаль-	70 град. С спирт	2	5 мл
		ним туалет-	-----	-----	-----
		ним милом, витирають індивідуальним руш-	Антисептичне мило Сані-Фреш	15	1 мл
		ником	-----	-----	-----
			Стерилліум витирають в суху шкіру рук	3	3 мл
			-----	-----	-----
			Бактолін базик	1	1 мл
			-----	-----	-----
13.	Рідкі відходи, змивні води	Засипати та розмішати	Сухе вапно або білилль не термостійке вапно, або ДТСГК, або НГК ДСГК, або ГКТ	60 120	200 г/л
			-----	-----	-----

			0.75% розчин Саніфект-128	30	8 мл/л
			-----		
			0.5% розчин Вацілоцид-расант	30	5 мл/л
			-----		
14.	Випорожнення хворого: фекалії, блювотні маси, залишки їжі	Засипати та розмішати	Сухе вапно або білилль не термостійке вапно, або ДТСГК, або ДСГК, або НГК, або ГКТ	60 120 30 20	200г/л 150 200 200г/л мар.А 250г/л мар.Б
			-----		
		Залити	0.25% розчин Саніфект-128	45	8 мл/л
			-----		
			0.5% розчин Бацілоцид-расант	45	5 мл/л
			-----		
15.	Посуд з підвипорожнень хворого (підкладні посудна), кванчі, використані для миття посуду після знезараження зберігають в спеціальній тарі	Занурення в один із дезрозчинів з наступним миттям	1% освітлений розчин вапна або білилльного термостійкого вапна	30	
			-----		
			0.5% розчин НГК	30	
			-----		
			1% розчин хлораміну В або ХВ	60	
			-----		
			3% розчин хлораміну В або ХВ	30	
			-----		
			5% розчин ліоза А	60	
			-----		
			1.5% розчин ГКТ	30	
			-----		
			0.2% розчин сульфохлорантіна або сульфохлорантіна М	30	

			1% розчин (по АХ) гіпохлорида натрія	30	
			0.2% розчин хлорантін	30	
			0.25% розчин Саніфект -128	30	
			0.5% розчин Бацілоцид расант	30	
16.	Санітарно- технічне обладнання	Двічі про- тирання ганчір'ям, змоченим в одному з дезрозчи- нів. Протирання ганчір'ям, на яке на- носять ми- юче дезін- фікуючі засоби з наступним миттям	Дезинфікуючі розчини, наведені в пункті 1	60	500 мл /м куб
			Білка	15	
			Блиск-2	25	
			Саніта	15	
			ПЧД, Дезус, Білизна та інше	15	
17.	Прибираль- ний матері- ал, ганчі- р'я	Кип'ятіння занурення	2% содовий розчин	15	
			3% розчин хлораміну Б або ХБ	60	повне занур.
			0.2% розчин хлоранто- іну	60	повне занур.
			1.5% розчин ГКТ	120	повне занур.
			0.6% розчин з НГК	120	

			0.25% розчин з АХ, гіпохлорида натрія		
			0.1% розчин сульфохло- рантина або сульфохло- рантина М	120	
			3% розчин перекису водню в 0.5% миючого засоба	120	
			0.25% розчин Саніфект -128	30	
			0.5% розчин Бацілоцид расант	30	
			1.0% розчин Сокрени	30	
18.	Сміття	Спалювання Залити од- ним із дез- розчинів	10% освітлений розчин хлорного вапна або вапна білильного тер- мостійкого	120	
			5% розчин НГК	120	
			20% хлорно-вапняне молоко	60	
19.	Дворові туа- лети, тара для відхо- дів	Запрошують одним із дезрозчи- нів	10% освітлений розчин хлорного вапна або вапна білильного тер- мостійкого	60	500 мл /м куб
			5% розчин НГК	60	500 мл /м куб
			0.25% розчин Саніфект -128	60	500 мл /м куб

			0.5% розчин Бацілоцид расант	60	500 мл/ /м куб
20.	Транспорт	Зрошують з наступним протиран- ням сухим ганчір'ям	Дезинфікуючі розчини, наведені в пункті 1	30	300 мл/м квад.
21.	Вироби із синтетичних матеріалів	Камерне знезаражен ня	Пароформалінова суміш 57-59 град. С	60	30 кг/ м квад
		Занурення	1% розчин хлораміну В або ХВ	60	
			0.2% розчин формальде дегіда при температу- рі 70 град. С	60	
			0.25% розчин Саніфект -128	60	5 л/кг сухої білиз-
			0.5% розчин Бацілоцид расант	60	ни
22.	Боротьба з мухами	Зрошення	0.1% водна емульсія Перметрину	100	мл/м квад.
			0.1% водна емульсія Ціперметрину		
			0.4% водна емульсія Емпайр-20	50	мл/м квад.
			Аркуші або стрічки з липкою масою		

Додаток 17 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Забезпечення лабораторної бази вогнища холери обладнанням і середовищами діагностики

п/п	Середовища діагностики	Додаткова необхідність		Джерела поповнення
		одиниця виміру	кількість	
1.	Основне обладнання			
2.	Лабораторне скло			
3.	Поживні середовища			
4.	Діагностичні препарати			
5.	Дезинфекційні засоби			

Додаток 18 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Табель оснащення палати регідраційної терапії

1.	Спеціальне або пристосоване холерне ліжко.	2
2.	Градуйоване поліетиленове відро.	4
3.	Таз для бжвотних мас.	2
4.	Ємкість для знезараження випорожнень хворих (на 20-30 л)	2
5.	Ємкість для замочування горшків, підкладних суден (20-30 л)	1
6.	Ємкість для замочування білизни (на 10-15 л)	1
7.	Ємкість для знезараження столового посуду хворого (5-10 л)	1
8.	Ємкість для замочування спецодягу персоналу (20-30 л)	1
9.	Ємкість для замочування аптечного посуду (10-15 л)	1
10.	Відро з ганчірками для миття підлоги.	1
11.	Бутиль для приготування маточного розчину 10% хлорного вапна.	1
12.	Ємкість для миття (дезинфекції рук персоналу)	1
13.	Дезкилимок	1
14.	Стерилізатор, електроплитка	1+1
15.	Укладка для забору матеріалу для бакдосліджень, бікс для його транспортування	1
16.	Робочий стіл або тумбочка	1
17.	Центрифуга на 3000 об/хв.	1
18.	Набір флаконів для визначення питомої ваги плазми	1
19.	Штатив для вн. венної трансфузії	2
20.	Грілка.	5
21.	Тонometr з фонендоскопом	1
22.	Електрокардіограф портативний з автономним живленням	1
23.	Мішок з клейонки для зберігання і відправлення речей хворого і постільної білизни	2

Додаток 19 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Перелік

необхідних медикаментів і інших матеріалів для лікування 100 хворих на холеру \*

1. Для патогенетичної терапії (регідраційні матеріали)

- 650 пакетів глюкосолона (на 1 л розчину кожний)
- 300 флаконів по 400 мл молочно-кислого розчину Рингера (лактато Рингера) або іншого регідраційного розчину типу трисоль, хлосоль, квартасоль, дакський розчин 5:4:1
- 50 апірогенних систем для внутрішньо-венного введення
- 10 наборів для введення рідини в вени скальпа у дітей
- 3 інтраназальних катетера зовнішній діаметр 7.2 мм, внутрішній діаметр 1.5 мм, діаметр 38 см для дітей.

2. Антибіотики

Для дорослих:

- 60 капсул доксіцикліна (по 100 мг), що 3 капсули на кожний випадок ускладненого збезводнення або 480 капсул тетрацикліна (по 250 мг) - по 24 капсули на кожний випадок ускладненого збезводнення.

Для дітей:

- 300 таблеток триметапрім-сульфаметоксазола (ТМП-20 мг; + СМК 100 мг) по 15 таблеток на кожний випадок ускладненого збезводнення.

Якщо планується проведення вибіркової хіміопротекції, то додаткові потреби для чотирьох близьких контактів на кожного пацієнта з тяжким збезводненням (біля 80 чоловік) такі:

- 240 капсул доксіцикліна (по 100 мг) - 3 капсули на чоловіка або 1920 капсул тетрацикліна (по 250 мг), 24 капсули на чоловіка.

Інші предмети і матеріали для організації лікування:

- 2 великі баки з краном (з відміткою рівнів на 5 і 10 л) для приготування великої кількості розчину глюкосолона
- 20 посудів об'ємом на 1 л для розчину глюкосолона
- 40 склянок на 200 мл для пиття
- 20 чайних ложок
- 5 кг вати
- 3 котушки лейкопластиря
  - бінти різні - 20 шт
  - шприци одноразові на 2, 5, 10, 20 мл - 40 шт.
  - шприци звичайні, різного об'єму - 20 шт.
  - голки до шприців N 16-18 - 30 шт.
  - стерилізатор - 1 шт.
  - рукавиці хірургічні 6-9 розмірів - 50 шт.
  - марля - 20 метрів
  - жгути для здавлення вен кінцівок - 3 шт.
  - термометр, максимальний - 5 шт.

\* Примітка: Наведений запас медикаментів і матеріалів забезпечує достатню кількість рідин для внутрішньовенного введення з наступним оральним введенням розчину глюкосолона для лікування 20 хворих з тяжким збезводненням і виключне використання ОРС для інших 80 хворих.

Додаток 20 до "Інструкції по організації та проведенню протихолерних заходів, клініці та лабораторній діагностиці холери"

Порядок перевезення та захоронення трупів людей, які померли від холери

При перевезенні трупів людей, які померли від холери, необхідно дотримуватись правил протиепідемічного режиму роботи із збудниками II групи ризику.

Захоронення проводиться з урахуванням місцевих звичаїв на загальних кладовищах або трупи піддіються кремації.

Розтин та захоронення трупів осіб, що померли від холери, сибіркової виразки, сапу, меліоїдозу проводиться в захисному костюмі II типу.

Для запобігання витікання рідини з трупу, дерев'яна труна з внутрішньої сторони обивається клейонкою.

В виняткових випадках захоронення дозволяється проводити без труни, попередньо загорнувши трупу в простиню, змочену дезінфікуючим розчином.

Дно могили засипається хлорним вапном. Трупу, покладений в труну, зверху також засипається хлорним вапном і щільно закривається кришкою.

Транспорт, на якому перевозили трупи, захисні костюми і всі предмети, що доторкувалися до трупів, підлягають ретельному знезараженню.

( Перелік територій України за типами епідемічного прояву холери втратив чинність на підставі Наказу МОЗ N 188 від 17.05.2001 )

Затверджено наказом МО України від " \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 199 р. N \_\_\_\_\_

Обсяг профілактичних бактеріологічних досліджень на холеру \*

Перелік заходів	Тип території		
	1.	2.	3.
1.	2.	3.	4.
1. Бактеріологічне дослідження людей:			
1.1. Хворих з тяжкими формами гострих кишкових інфекцій	на всій території одноразово, постійно		
1.2. Хворих з дисфункцією кишкового тракту (пронози) в інфекційних та соматичних стаціонарних, а також залишених вдома	1.05-1.11. одноразово	1.06-1.10. одноразово	1.05-1.10. одноразово при реєстрації холери в Україні
1.3. Осіб з дисфункцією кишкового тракту, які поступають в установи спеціального режиму, психоневрологічні лікувальні заклади	з 1.05. по 1.11. одноразово на всій території		
1.4. Громадяни України та іноземні громадяни, які захворіли на гострі кишкові інфекції протягом 5-ти днів після повернення з держав, де зареєстровані захворювання на холеру	на всій території одноразово, постійно		
1.5. Особи, які знаходяться в інфекційних лікарнях з метою нагляду за хворими на гострі кишкові інфекції (матері та інші)	обстежуються разом з дитиною згідно з пп. 1.1., 1.2.		

2. Бактеріологічне дослідження об'єктів довкілля:			
2.1. Вода відкритих водоймищ в місцях скидання господарсько-фекальних стічних вод	1.06-1.11 один раз на тиждень, а в місяцях, де реєструвалась холера у попередньому році двічі		1.06-1.10. двічі на місяць
2.2. Вода відкритих водоймищах в місцях масового організованого рекреаційного водокористування	1.05-1.11. один раз на тиждень		1.06-1.10. один раз на тиждень при температурі води у водоймищах - 16 град С і вище
2.3. Господарсько-фекальні стічні води на головних очисних спорудах до очищення	1.05-1.10. один раз на тиждень		1.05-1.10. двічі на місяць
2.4. Стічні води інфекційних стаціонарів	протягом року один раз на тиждень		1.05-1.10. двічі на місяць
3. Дослідження трупного матеріалу померлих від тяжких форм гострих кишкових інфекцій	на всій території одноразово, постійно		

\* Обсяг заходів можна збільшувати залежно від епідемічної ситуації

Порядок інформування про виділення культур холерних вібріонів

1. Інформація про виділені культури від людей та із об'єктів навколишнього середовища подаються до Головного санепідуправління МОЗ України терміново цілодобово телефоном-факсом (293-55-40, 293-94-84) або електронною поштою та Українським центр держсанепіднагляду тел.-факсом (417-37-45):

номер штапу, вид, біовар, серовар;

час, об'єкт та місце виділення;

дата направлення матеріалу на дослідження;

діагноз при виділенні культур від людей;

гемолітична активність;

фаголізабельність.

2. Обласні (міські), басейнові, цивільної авіації та на залізничному транспорті санепідстанції передають культури холерного вібріона для подальшого вивчення терміново до Кримського відділення Української державної протичумної станції з території I-II типів, до українського центру державного санепіднагляду - з території III типу.

3. Обласні (міські), басейнові, цивільної авіації та на залізничному транспорті санепідстанції передають культури холерного вібріона не 01, виділені від людей, до Українського центру державного санепіднагляду для подальшого вивчення.

4. Українська державна протичумна станція, Український центр держсанепіднагляду по закінченню ідентифікації передають культури холерного вібріона до референс-лабораторії Київського НДІ епідеміології та інфекційних хвороб для вивчення на молекулярно-генетичному рівні та створення національної колекції штапів.

Обсяг оперативної інформації

про випадок захворюваності на холеру (вібриононосійства)

Оперативна інформація подається обласним (міським), басейновими, цивільної авіації та на залізничному транспорті санепідстанціями у Міністерство охорони здоров'я України терміново цілодобово телефоном-факсом (293-55-40, 293-94-84, 293-74-53) або електронною поштою та Український центр держсанепіднагляду тел.-факс (417-37-45). В інформації слід зазначити:

1. Прізвище, ім'я та по батькові
2. Рік народження
3. Місце проживання
4. Місце роботи, навчання
5. Фах
6. Ставлення до алкоголю
7. Дата захворювання
8. Дата звернення по медичну допомогу
9. Первинний діагноз
10. Дата госпіталізації
11. Дата смерті
12. Дата відбору матеріалу на бактеріологічне обстеження
13. Дата підтвердження діагнозу
14. Форма перебігу
15. Епідеміологічний анамнез, джерело зараження
16. Вжити протиепідемічні заходи.