



МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
АМУРСКОЙ ОБЛАСТИ

П Р И К А З

11.06.2015

№ 623

г. Благовещенск

О совершенствовании лабораторной диагностики и этиологической расшифровки гнойных бактериальных менингитов в медицинских организациях Амурской области

Во исполнении приказа министерства здравоохранения Амурской области от 04.08.2014 №1041 «О совершенствовании эпидемиологического надзора и профилактики гнойных бактериальных менингитов», информационного письма министерства здравоохранения Амурской области от 24.12.2014 № 01Г-12893 и с целью улучшения качества лабораторной диагностики и проведения мониторинга полной этиологической расшифровки гнойных бактериальных менингитов

п р и к а з ы в а ю:

1. Руководителям медицинских организаций, подведомственных министерству здравоохранения Амурской области, обеспечить:

1.1. Организацию лабораторной диагностики в подведомственной медицинской организации в соответствии с приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 23.12.1998 № 375 «О мерах по усилению эпидемиологического надзора и профилактики менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов», методическими указаниями МУК 4.2.1887-04 «Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов», утвержденными Главным санитарным врачом Российской Федерации 04.03.2004;

1.2. Проведение тематических занятий для медицинских работников подведомственной медицинской организации, в том числе специалистов бактериологических лабораторий, по вопросам отбора проб, доставки биологического материала в лабораторию и лабораторной диагностики гнойных бактериальных менингитов, с использованием памятки для медицинских работников, в соответствии с приложением № 1 к настоящему приказу;

1.3. Применение в лабораторной диагностике гнойных бактериальных менингитов в подведомственной медицинской организации современных некультуральных методов экспресс-диагностики.

1.4. Предоставление отчетов об этиологической расшифровке гнойных бактериальных менингитов и о зарегистрированных больных гнойными бактериальными менингитами, в соответствии с приложениями № 2 и № 3 к настоящему приказу, в срок до 20.06.2015 за 5 месяцев 2015 года, далее ежемесячно, до 05 числа месяца, следующего за отчетным, главному внештатному специалисту бактериологу министерства здравоохранения области (С.А.Слепакова) через защищенный канал VipNet в ГАУЗ АО «Амурская областная детская клиническая больница» (указывать: «для С.А.Слепаковой»);

2. Главному внештатному специалисту бактериологу министерства здравоохранения области (С.А. Слепакова) обеспечить:

2.1. Предоставление обобщенной информации ежемесячно до 10 числа месяца, следующего за отчетным, в адрес Управления Роспотребнадзора по Амурской области в установленном порядке, в соответствии с приложениями № 2 и № 3 к настоящему приказу;

2.2. Направление сводной аналитической информации об этиологической расшифровке гнойных бактериальных менингитов в медицинских организациях области и о зарегистрированных больных гнойными бактериальными менингитами на территории области, в соответствии с приложениями № 2 и № 3 к настоящему приказу, и предложениями по совершенствованию своевременного проведения этиологической расшифровки гнойных бактериальных менингитов ежемесячно до 10 числа месяца, следующего за отчетным главному внештатному специалисту неврологу министерства здравоохранения области (В.М.Остриченко) через защищенный канал VipNet в ГАУЗ АО «Амурская областная клиническая больница» (указывать: «для В.М.Остриченко»);

3. Главному внештатному специалисту неврологу министерства здравоохранения области (В.М.Остриченко) на основании аналитической информации главного внештатного специалиста бактериолога министерства здравоохранения области (С.А. Слепакова) об этиологической расшифровке гнойных бактериальных менингитов в медицинских организациях области и о зарегистрированных больных гнойными бактериальными менингитами на территории области обеспечить принятие мер, направленных на совершенствование оказания медицинской помощи больным с гнойными бактериальными менингитами на территории области.

4. Контроль за исполнением настоящего приказа возложить на первого заместителя министра здравоохранения Амурской области М.П. Гулевич.

Министр здравоохранения
Амурской области



Н.Л. Тезиков

**ПАМЯТКА
ДЛЯ МЕДИЦИНСКИХ РАБОТНИКОВ
ПО ОТБОРУ И ДОСТАВКЕ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ДЛЯ ОБСЛЕДОВАНИЯ
НА МЕНИНГОКОККОВУЮ ИНФЕКЦИЮ И БАКТЕРИАЛЬНЫЕ
МЕНИНГИТЫ**

В случае подозрения на менингококковую инфекцию или гнойный бактериальный менингит материал от пациента в регламентированные сроки и в соответствующих условиях доставляют в бактериологическую лабораторию.

Бактериологическое и серологическое исследование образцов материала проводят в соответствии с:

- приказом РФ от 23.12.1998 N 375 "О мерах по усилению эпидемиологического надзора и профилактики менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов";
- методическими указаниями Роспотребнадзора МУК 4.2.1887-04 "Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов".

Отбор материала для исследования

Основным биологическим материалом для исследования при бактериальных менингитах служит спинномозговая жидкость и кровь. Для бактериологического подтверждения менингококкового назофарингита и выявления назофарингеального менингококкового носительства исследуют носоглоточную слизь.

1. Спинномозговая жидкость.

Спинномозговую жидкость отбирают у больного при пункции в объеме 2,0 - 5,0 мл на этапе поступления в стационар **до начала антибиотикотерапии!** с соблюдением правил асептики. В сопроводительном документе (направлении) обязательно указывать применение антибиотиков до пункции, время забора материала.

Ликвор после пункции распределяют для исследования следующим образом:

- 1,0 мл направляют в клиническую лабораторию для проведения общего ликворологического и цитологического исследования;
- 0,2 мл направляют для постановки полимеразной цепной реакции (ПЦР);
- 1,0 мл направляют для первичного бактериологического посева (если не сделан в отделении при пункции), бактериоскопии и серологических исследований;
- 0,5 мл засевают в чашку с "шоколадным" агаром непосредственно у постели больного. Далее чашку хранят в условиях термостата при 37 °С до доставки в лабораторию.
- 0,5 мл ликвора засевают в среду обогащения (в 5,0 мл 0,1% полужидкого питательного агара) непосредственно у постели больного и далее хранят при 37 °С в условиях термостата до доставки в лабораторию.

2. Кровь.

Кровь отбирают из вены при поступлении больного в стационар с соблюдением

правил асептики и до начала антибиотикотерапии. Образцы распределяют следующим образом:

- для бактериологического посева на гемокультуру отбирают 5,0 - 10,0 мл крови у взрослых; 2,0 - 5,0 мл - у детей и 1,0 - 2,0 мл - у новорожденных и детей неонатального периода;

- 2,0 - 5,0 мл крови используют для серологических исследований с целью выявления специфических антигенов (встречный иммуноэлектрофорез - ВИЭФ) и специфических антител (реакция непрямой гемагглютинации - РНГА). Для получения достоверных результатов о нарастании титров антител в реакции РНГА важно исследовать парные сыворотки, т.е. сыворотки крови, взятые в первые дни болезни при поступлении больного в стационар и затем на 10 - 12 день заболевания;

- несколько капель крови наносят на предметное стекло для приготовления препарата "толстой капли" крови.

Доставка и хранение материала

Материал для бактериологических и серологических исследований доставляют в бактериологическую лабораторию немедленно после отбора в специальных контейнерах, способных поддерживать температуру 37 °С. При невозможности быстрой доставки материала из отделения в лабораторию (ночное время, выходные и праздничные дни и др.) материал хранят следующим образом:

- посеvy ликвора на первичной чашке с "шоколадным" агаром и в 0,1% полужидком питательном агаре, а также посев крови на гемокультуру хранят в условиях термостата при 37 °С;

- нативный ликвор и кровь для серологических исследований и ПЦР хранят в условиях холодильника при +4 °С. В лаборатории нативный ликвор используют только для бактериоскопии и постановки серологических реакций (латекс-агглютинация, ВИЭФ и др.). *Для бактериологического посева хранившийся в холодильнике нативный ликвор не используют!*

Бактериоскопия

Мазок препарата "толстая капля" крови.

На середину предметного стекла наносят каплю крови и распределяют с помощью чистого стерильного аппликатора так, чтобы диаметр мазка соответствовал величине пятикопеечной монеты. Стекло оставляют в горизонтальном положении до подсыхания крови. Данный фрагмент исследования выполняют непосредственно у постели больного при его поступлении в стационар. Далее препарат доставляют в бактериологическую лабораторию. Окраску мазка производят водно-спиртовым раствором метиленовой сини в течение 2 - 3 минут без предварительной фиксации. После окрашивания препарат осторожно промывают водой и подсушивают на воздухе. Препарат смотрят под иммерсией при большом увеличении, просматривая не менее 20 полей зрения или до обнаружения морфологически четких микробных клеток.

Инструкция по отбору и доставке биологического материала для исследования при бактериальных менингитах представлена в **таблице №1**. Общая схема проведения исследования ликвора и крови представлена на **рисунке 1 и 2**.

Таблица №1

№ п/п	Био-материал	Наименование исследования	Количество	Изделия, используемые для доставки пробы	Условия хранения	Температура	Время доставки
1	Ликвор	Общее ликворологическое и цитологическое исследование	1,0 мл	Стерильная пробирка	Немедленно после забора	18-25 ⁰ С	Немедленно после забора
		Бактериологический	1,0 мл	Стерильная центрифужная пробирка	В условиях термоконтейнера	37 ⁰ С	Немедленно
		Среда обогащения (для бактериологического посева)	0,5 мл	Пробирка с 5,0мл 0,1% полужидкого агара	В условиях термостата	37 ⁰ С	Немедленно, допускается 24-48ч в условиях термостата
		Серологическое исследование (латекс-агглютинация, ВИЭФ и др.)	0,5мл	Стерильная пробирка	В условиях холодильника	+4-8 ⁰ С	Согласно инструкции к тест-набору
2	Кровь	Приготовление «толстой капли»	Несколько капель	Предметное стекло	При комнатной температуре	18-25 ⁰ С	Не более 6ч
		Бактериологический	Новорожденные - 1,0-2,0 мл Дети - 2,0-5,0мл Взрослые 5,0-10,0мл	Флакон с питательной средой («двухфазная»)	1. При комнатной температуре 2. В условиях холодильника -	+2-8 ⁰ С	Не более 24ч
		Серологическое исследование (латекс-агглютинация, ВИЭФ, РНГА)	3,0-5,0мл	Стерильные пробирки	В условиях холодильника	+4-8 ⁰ С	Согласно инструкции к тест-набору
3	Нозофарингеальная слизь	Бактериологический	Тампон	Тампон со средой Амиес	При комнатной температуре	18-25 ⁰ С	Немедленно. Допускается до 24ч

Рисунок 1

Исследование ликвора для выделения и идентификации возбудителей генерализованных форм менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов

Материал отбирается при поступлении больного в стационар до назначения антибиотикотерапии

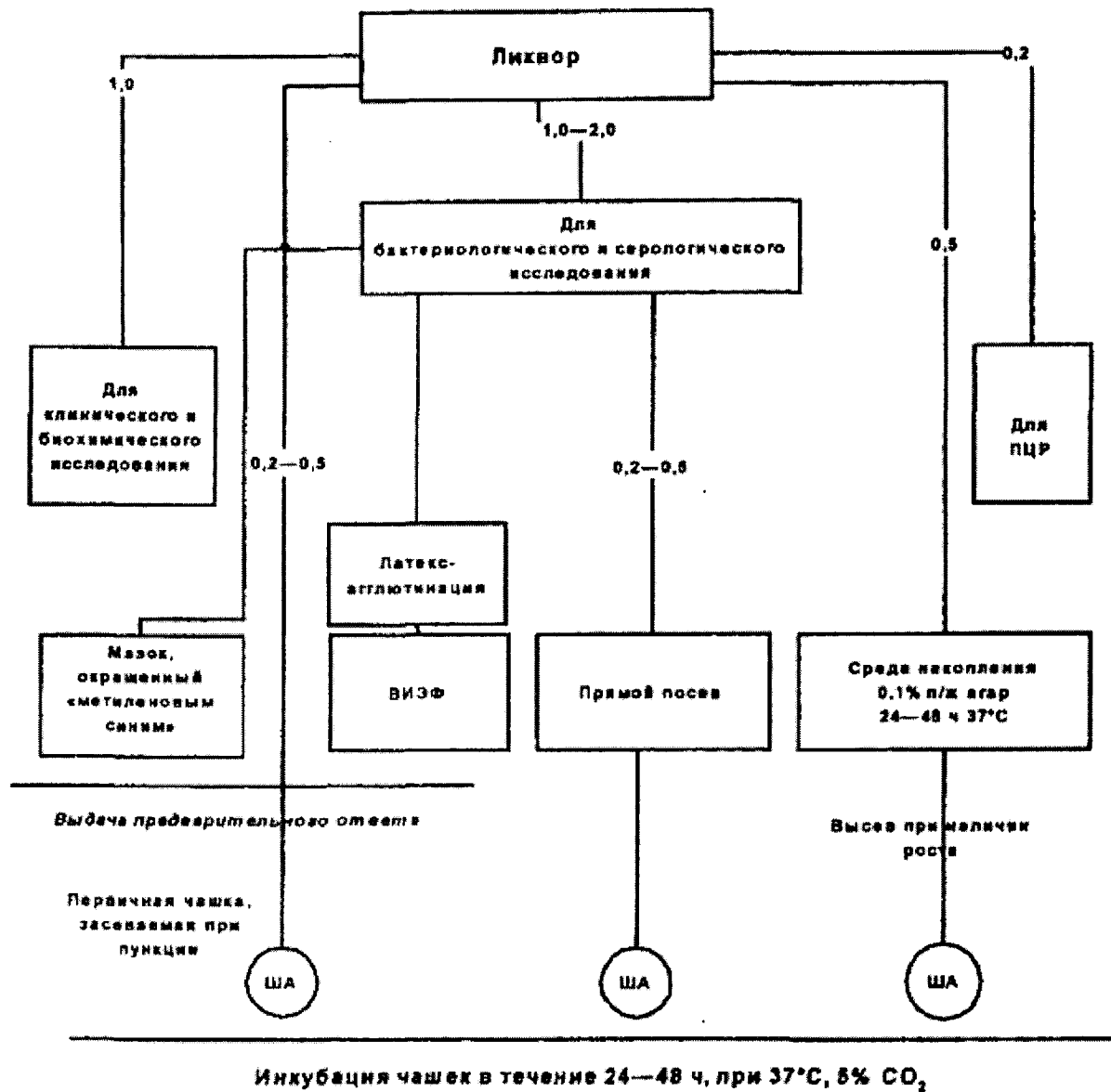
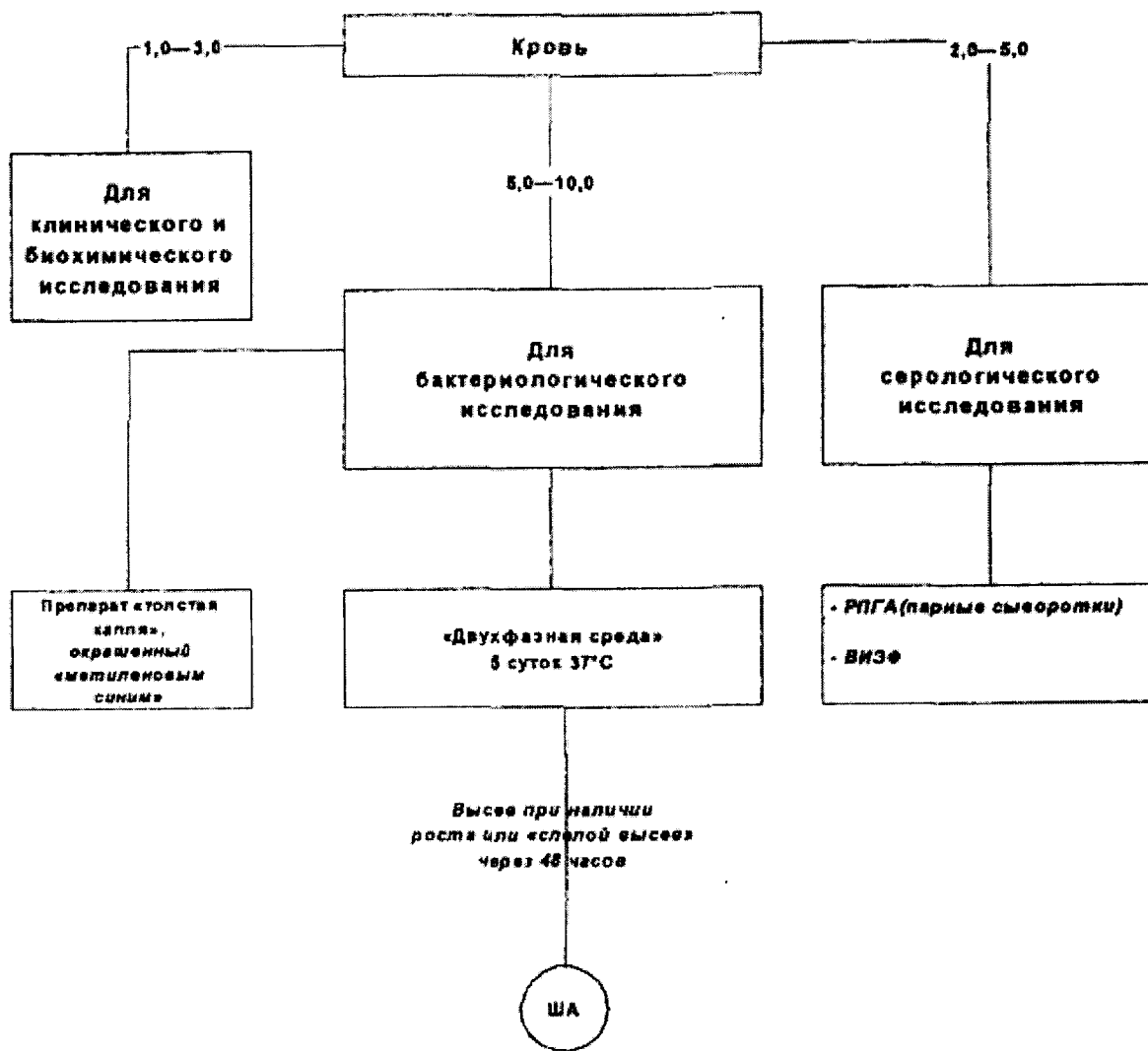


Рисунок 2

Исследование крови для выделения и идентификации возбудителей генерализованных форм менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов

Материал отбирается при поступлении больного в стационар до назначения антибиотикотерапии



Инкубация чашек в течение 24—48 ч, при 37°С, 5% CO₂

Приложение № 2
к приказу министерства здравоохранения
Амурской области
от 11.06. 2015 № 623

Отчет об этиологической расшифровке гнойных бактериальных менингитов

за _____ 2015г. _____

(наименование медицинской организации)

№	Биоматериал	Вид исследования	Количество исследований	Из них с положительным результатом	Наименование выделенных культур	Количество данного вида
1	Ликвор	Бактериологическое				
		Реакция латекс -агглютинации (экспресс)				
		Иммунофлюоресцентное исследование мазков				
		ПЦР				
2	Кровь	Бактериоскопия «толстая капля»				
		Бактериологическое				
		Реакция латекс -агглютинации (экспресс)				
		Иммунофлюоресцентное исследование мазков				
		Серологическое (РНГА)				
		ПЦР				

Приложение №3
к приказу министерства здравоохранения
Амурской области
от 11.06. 2015 № 623

Зарегистрированные больные гнойными бактериальными менингитами _____ район за _____ месяц _____ года

№ п/п	ФИО	Пол	Возраст	Адрес	Социальное положение	Дата заболевания	Дата обращения	Дата госпитализации	Первичный диагноз	Окончательный диагноз	Лабораторная диагностика			Исход	Дата назначения антибиотиков	Дата забора клинического материала	Причины отсутствия этиологической расшифровки
											выделенный возбудитель	Кровь	Ликвор				

Примечание:

Пол: мужской – м, женский – ж, Возраст: < 1 мес. – дни (например 15 дней), < 1 года – месяцы (например 6 месяцев), > 1 года указывать количество полных лет (например 6 лет).

Социальный статус : Р – рабочий, С – служащий, У – учащийся, Н/о – неорганизованный, О – организованный, П – пенсионер, Н/р – неработающий, Н/и – неизвестно.

Первичный диагноз: диагноз, установленный в ЛПУ

Окончательный диагноз: Гнойный бактериальный менингит – ГБМ, Гнойный бактериальный менингит не ясной этиологии – ГБМ н/э,

Лабораторная диагностика: Вид выделенного возбудителя – пример *S. aureus*, . Возбудитель не выделен – н/о. Материал не исследовался – Х.

Исход заболевания: В – выздоровление, С – смерть, НИ – неизвестно.