

# Содержание

Список сокращений .....	10
От авторов .....	12
<b>ЧАСТЬ I. ОБЩАЯ МЕДИЦИНСКАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.....</b>	<b>15</b>
<b>Глава 1. Общие требования к организации работ с патогенными для человека микроорганизмами. Иванова С. М., Смирнов В. Н. ....</b>	<b>17</b>
1.1. Классификация микроорганизмов по группам патогенности (опасности) .....	17
1.2. Регламентация работ с патогенными для человека микроорганизмами .....	22
1.3. Лицензирование деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний .....	25
1.4. Аккредитация микробиологических лабораторий .....	26
<b>Глава 2. Оснащение микробиологической клинической лаборатории. Тихомирова О. И., Березкина Н. Е., Скаженник В. Ю. ....</b>	<b>33</b>
2.1. Требования к организации работ в медицинской микробиологической лаборатории .....	33
2.2. Общелабораторное оборудование в микробиологической лаборатории. ....	38
2.3. Специальное оборудование для микробиологической лаборатории .....	58
<b>Глава 3. Дезинфекция и стерилизация. Гололобова Т. В., Лабинская А. С. ....</b>	<b>64</b>
3.1. Организация и проведение дезинфекционных мероприятий в лабораториях .....	64
3.2. Стерилизация .....	82
<b>Глава 4. Принципы систематики, таксономии и классификации микроорганизмов. Бондаренко В. М. ....</b>	<b>92</b>
4.1. Основные термины и понятия .....	92
4.2. Прикладные аспекты систематики .....	96
4.3. Связь таксономии с медицинской микробиологией .....	103
<b>Глава 5. Морфология и ультраструктура прокариотических микроорганизмов. Волина Е. Г., Нетрусов А. И. ....</b>	<b>112</b>
5.1. Строение бактериальной клетки .....	121
<b>Глава 6. Микроскопические методы исследования. Быков А. С., Корн М. Я. ....</b>	<b>151</b>
6.1. Микроскопы и методы микроскопии .....	151
6.2. Методы изучения морфологии бактериальной клетки. Лабинская А. С., Ещина А. С. ....	159
<b>Глава 7. Физиология прокариотических микроорганизмов. Волина Е. Г., Нетрусов А. И. ....</b>	<b>182</b>
7.1. Химический состав микроорганизмов .....	182
7.2. Типы и механизмы питания микроорганизмов .....	184
7.3. Ферменты микроорганизмов .....	189
7.4. Метаболизм прокариотических микроорганизмов .....	191
7.5. Рост и размножение микроорганизмов .....	201
7.6. Влияние физико-химических факторов на рост микроорганизмов .....	206
7.7. Способы адаптации бактерий к условиям существования .....	215
7.8. Пигменты микроорганизмов и фотосинтез .....	217
7.9. Светящиеся и ароматообразующие бактерии .....	219
<b>Глава 8. Питательные среды в практике микробиологических исследований. Суханова С. М., Захарова Н. Е. ....</b>	<b>221</b>
8.1. Назначение и классификация питательных сред .....	221
8.2. Основные компоненты питательных сред. Необходимые условия роста микроорганизмов на питательных средах .....	225
8.3. Приготовление питательных сред .....	235

8.4. Контроль качества питательных сред . . . . .	242
8.5. Производители коммерческих питательных сред . . . . .	254
<b>Глава 9. Техника посева, культивирования и выделения чистых культур микроорганизмов.</b> <i>Лабинская А. С., Дриняев В. А., Березкина Е. Н.</i> . . . . .	266
9.1. Техника посева и выделения чистых культур микроорганизмов . . . . .	267
9.2. Методы изучения культуральных свойств микробов . . . . .	275
9.3. Бактериальный стандарт мутности . . . . .	278
9.4. Определение количества бактерий в 1 мл методом секторных посевов . . . . .	280
<b>Глава 10. Биологические и биохимические тесты идентификации микроорганизмов.</b> <i>Лабинская А. С., Ещина А. С.</i> . . . . .	281
10.1. Окислительно-восстановительные ферменты бактерий . . . . .	282
10.2. Углеводы, состав, свойства, значение в медицинской микробиологии . . . . .	287
10.3. Окисление — брожение . . . . .	291
10.4. Декарбоксилирование аминокислот . . . . .	301
10.5. Дезаминирование аминокислот . . . . .	303
10.6. Протолитические свойства бактерий . . . . .	308
<b>Глава 11. Антимикробные препараты. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.</b> <i>Сидоренко С. В.</i> . . . . .	321
11.1. Краткая характеристика антибактериальных препаратов . . . . .	324
11.2. Методы оценки антибиотико-чувствительности . . . . .	342
<b>Глава 12. Генетика бактерий.</b> <i>Каменова С. В.</i> . . . . .	362
12.1. Геном бактерий . . . . .	362
12.2. Формы переноса генетического материала бактерий . . . . .	369
12.3. Бактериальные плазмиды . . . . .	384
12.4. Мигрирующие элементы бактерий . . . . .	389
12.5. Перенос генов и изменчивость бактерий в природных условиях . . . . .	400
<b>Глава 13. Бактериофаги. Использование в диагностике, лечении и профилактике инфекционных болезней.</b> <i>Дарбеева О. С., Жиленков Е. Л.</i> . . . . .	405
13.1. Выделение бактериофага из патологического материала и объектов внешней среды . . . . .	410
13.2. Электронная микроскопия в исследовании фагов . . . . .	415
13.3. Практическое применение бактериофагов . . . . .	417
<b>Глава 14. Факторы патогенности и токсигенности микроорганизмов.</b> <i>Бондаренко В. М., Вертнев Ю. В.</i> . . . . .	422
14.1. Общее представление о патогенности микроорганизмов . . . . .	422
14.2. Характеристика основных факторов патогенности бактерий . . . . .	428
14.3. Молекулярная организация бактериальных токсинов . . . . .	436
14.4. Другие факторы патогенности . . . . .	441
<b>Глава 15. Содержание и использование лабораторных животных в клинических микробиологических лабораториях.</b> <i>Зверьков Д. А., Груздев К. Н.</i> . . . . .	448
15.1. Общие биологические сведения о грызунах, используемых в качестве лабораторных животных . . . . .	448
15.2. Санитарно-ветеринарные правила содержания лабораторных животных в экспериментально-биологической клинике (виварии) . . . . .	450
15.3. Подготовка животных к опыту . . . . .	461
15.4. Способы заражения лабораторных животных . . . . .	465
15.5. Техника взятия крови у лабораторных животных . . . . .	468
15.6. Получение различных ингредиентов крови . . . . .	471
15.7. Умерщвление и вскрытие лабораторных животных . . . . .	473
15.8. Определение вирулентности микробов . . . . .	475
<b>Глава 16. Иммуитет. Иммунная система. Основные параметры иммунного статуса и методы его оценки.</b> <i>Волина Е. Г.</i> . . . . .	479
16.1. Факторы неспецифической резистентности . . . . .	480
16.2. Антигены . . . . .	486

16.3. Иммунная система.....	490
16.4. Виды иммунитета и формы иммунного ответа.....	492
16.5. Основные параметры иммунного статуса человека и методы его оценки.....	509
16.6. Методы определения основных параметров иммунного статуса макроорганизма и серодиагностика инфекционных болезней.....	513
<b>Глава 17. Препараты для диагностики бактериальных инфекций и идентификации возбудителей.</b> <i>Шобухова Т. С., Саяпина Л. В., Ротанов С. В.</i> .....	557
<b>Глава 18. Вакцинопрофилактика бактериальных инфекций.</b> <i>Костинов И. П., Лукачев И. В.</i> .....	574
18.1. История развития иммунопрофилактики.....	574
18.2. Общая характеристика профилактических вакцин.....	575
18.3. Бактериальные вакцины, входящие в календарь обязательных профилактических прививок.....	581
18.4. Бактериальные вакцины, не входящие в календарь обязательных профилактических прививок.....	596
<b>Глава 19. Полимеразная цепная реакция в диагностике инфекционных болезней.</b> <i>Гребенкова Т. В.</i> .....	613
19.1. Сущность полимеразной цепной реакции.....	613
19.2. Техника постановки ПЦР.....	624
19.3. Преимущества ПЦР.....	636
19.4. Трудности ПЦР.....	637
19.5. Практические рекомендации по применению ПЦР в медицинских исследованиях.....	638
19.6. ПЦР в реальном времени — самый современный метод молекулярной диагностики.....	640
<b>Глава 20. Иммунодиагностика инфекционных заболеваний с использованием иммуноферментного анализа.</b> <i>Степанова Е. Н.</i> .....	643
20.1. Непрямой твердофазный ИФА.....	644
20.2. Другие виды ИФА.....	660
20.3. Конкурентный ИФА (Количественное определение циркулирующих антител и антигенов; тест-системы на основе конкурентного ИФА).....	663
20.4. ELISPOT — Иммуноферментный тест с локальным связыванием для качественного выявления выработки антител и интерлейкинов на клеточном уровне в системе <i>in vitro</i> .....	664
20.5. Основные требования к иммунодиагностике инфекционных заболеваний методом ИФА.....	666
<b>Глава 21. Современные технологии в клинической микробиологии.</b> <i>Нехорошева А. Г., Скала Л. З., Лукин И. Н.</i> .....	668
21.1. Идентификация микроорганизмов с использованием коммерческих микротест-систем.....	668
21.2. Автоматизация и компьютеризация при проведении микробиологических исследований.....	680
21.3. Система регистрации и анализа в работе микробиологических лабораторий.....	712
<b>Глава 22. Экспресс-методы идентификации микроорганизмов.</b> <i>Шелемех О. В.</i> .....	735
22.1. API-идентификация.....	735
22.2. Slidex-идентификация и диагностика.....	768
Рецептура красителей, индикаторов, буферных растворов, реактивов и питательных сред для постановки биохимических тестов. <i>Лабинская А. С.</i> .....	771
<b>ЧАСТЬ II. САНИТАРНАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ</b> .....	819
<b>Глава 1. Краткий очерк развития санитарной микробиологии.</b> <i>Мальшева З. Г., Уголькова Н. В.</i> .....	821
<b>Глава 2. Санитарно-микробиологическое исследование воды.</b> <i>Мальшева З. Г., Уголькова Н. В.</i> .....	836
2.1. Общие требования к качеству воды.....	836

2.2. Методы исследования.....	846
<b>Глава 3. Санитарно-микробиологическое исследование почвы. Мальшева З. Г., Уголькова Н. В.</b> .....	868
3.1. Общая характеристика микрофлоры почвы и цели санитарно-микробиологического исследования почвы.....	868
3.2. Методы исследования.....	874
<b>Глава 4. Санитарно-микробиологическое исследование воздуха. Мальшева З. Г., Уголькова Н. В.</b> .....	891
4.1. Общие сведения о микрофлоре воздуха и направлениях ее исследования.....	891
4.2. Методы исследования.....	894
<b>Глава 5. Санитарно-микробиологическое исследование пищевых продуктов. Мальшева З. Г., Уголькова Н. В.</b> .....	904
5.1. Особенности микрофлоры пищевых продуктов.....	904
5.2. Методы исследования.....	920
<b>Глава 6. Санитарно-микробиологическое исследование фармацевтических препаратов. Гунар О. В., Каграманова Л. А.</b> .....	989
6.1. Основные принципы микробиологического контроля качества лекарственных средств.....	989
6.2. Методы исследования фармацевтических препаратов на стерильность.....	993
6.3. Методы исследования микробиологической чистоты фармацевтических препаратов.....	995
<b>Питательные среды, используемые для санитарно-микробиологических исследований. Мальшева З. Г., Уголькова Н. В.</b> .....	1011
1. Дифференциально-диагностические среды для некоторых грамотрицательных бактерий.....	1013
2. Среда для учета различных групп почвенных микроорганизмов.....	1014
3. Среда для <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	1016
4. Среда для стрептококков.....	1017
5. Среда для мезофильных, термофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов.....	1017
6. Среда для дрожжей и плесневых грибов.....	1019
7. Среда для бактерий группы кишечных палочек.....	1021
8. Среда для сальмонелл.....	1023
9. Среда для стафилококков.....	1025
10. Среда для анаэробов.....	1027
11. Среда для энтерококков.....	1031
12. Среда для <i>Proteus</i> .....	1034
13. Среда для <i>Bacillus cereus</i> .....	1035
14. Среда для молочно-кислых бактерий.....	1036
15. Среда для листерий.....	1040
16. Среда для галофильных вибрионов.....	1043
17. Питательные среды для бактериологического исследования фармацевтических препаратов.....	1045
Перечень использованных нормативных документов на методы испытаний и исследований, действующих на декабрь 2006 года.....	1053
<b>Предметный указатель</b> .....	1063
<b>Словарь терминов</b> .....	1073

## Список сокращений

АГ — антиген	ДНК — дезоксирибонуклеиновая кислота
АДФ — аденозинфосфат	DLM — минимальная летальная доза
АМФ — аденозинмонофосфат	ДЭПК — диэтилпирикарбонат
АПК — антигенпрезентирующие клетки	DMSO — диметилсульфоксид
АТФ — аденозинтрифосфорная кислота	ETEC — энтеротоксигенные E. coli
АТСС — Американская коллекция типовых культур	EIEC — энтероинвазивные E. coli
АТ — антитело	EP — Европейская Фармакопея
АЧМ — антибиотикочувствительность микроорганизмов	Eh — окислительно-восстановительный потенциал
БГКП — бактерии группы кишечной палочки	ED50 — эффективная доза
БЛРС — бета-лактамазы расширенного спектра	ЖСА — желточно-солевой агар
БОЕ — бляшкообразующие единицы	ИЛ — интерлейкины
Vi-антиген — антиген вирулентности	ИМН — изделия медицинского назначения
ВКПМ — Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов	ИСО — Международная организация по стандартизации
ВМБ — веронал-мединаловый буфер	ИФ — иммунофлуоресценция
ВОЗ — Всемирная организация здравоохранения	IgA, IgG, IgM — иммуноглобулины классов A, G, M
ГИСК — Государственный институт стандартизации и контроля	inv-гены — гены, контролирующие инвазивность бактерий
ГЗТ — гиперчувствительность замедленного типа	IS-элементы — инерционные (вставочные) элементы генома
ГКГС — главный комплекс гистосовместимости	ИФА — иммуноферментный анализ
ГМФ — гидролизат мясного фарша	ИФН — интерфероны
ГНТ — гиперчувствительность немедленного типа	К-антиген — капсульный антиген
Gr- — грамотрицательный	КМАФАнМ — количество мезофильных аэробных факультативно-анаэробных микроорганизмов
Gr+ — грамположительный	КОА — коагулирование
ГРМ — гидролизат рыбной муки	КОЕ — колониеобразующая единица
ГФ — Государственная Фармакопея	кДа — килоДальтон
ГЦ% — содержание суммы пар гуанина и цитозина в ДНК, выраженное в процентах	кПа — килоПаскаль
ГМР — правила надлежащей производственной практики	CD — кластер дифференциации
Да — Дальтон	кДНК — комплементарная ДНК
ДВ — действующее вещество	КФС — колониестимулирующий фактор
	ИО/МЭК — специализированная система всемирной стандартизации
	ЛД — латексный диагностикум
	ЛПС — липополисахарид

- ЛС — лекарственные средства  
 ЛСТС — Английская национальная коллекция типовых культур  
 LD50 — доза, летальная для 50 % популяции подопытных животных  
 LT-токсин — летальный термолabileный токсин энтеробактерий  
 ЛЮМ — люминесцентный микроскоп  
 МАБ — метилакцентирующие белки  
 МАК — мембраноатакующий комплекс  
 МИФ — макрофагингибирующий фактор  
 МОЕ — международная оптическая единица мол. м. — молекулярная масса  
 МПА — мясопептонный агар  
 МПБ — мясопептонный бульон  
 МПК — минимальная подавляющая концентрация (антибиотика)  
 мРНК — матричная, или информационная, РНК  
 MDR — множественная лекарственная устойчивость  
 МЭК — Международная электротехническая комиссия  
 НАД — никотинамиддинуклеотид  
 НАДФ — никотинамиддинуклеотидфосфат  
 НД — нормативная документация  
 НВЧ — наиболее вероятное число  
 НЛС — нестерильные лекарственные средства  
 НОК — Национальный орган контроля  
 НК-клетки — натуральные (естественные) клетки-киллеры  
 НФБ — неферментирующие микроорганизмы  
 ОМЧ — общее микробное число  
 ОКБ — общие коли-формные бактерии  
 ООИ — особо опасные инфекции  
 ОСО — отраслевой стандартный образец  
 ОТ — обратная транскрипция  
 ОТ/ПЦР — совмещенная реакция обратной транскрипции амплификации  
 ОЧБ — общее число бактерий  
 ОЧГ — общее число грибов  
 ПАВ — поверхностно-активные вещества  
 ПБА — патогенные биологические агенты  
 ПБМ — патогенный биологический материал  
 ПДК — предельно допустимая концентрация п. о. — пара нуклеотидных оснований  
 ПС — питательные среды  
 ПЦР — полимеразная цепная реакция  
 РА — реакция агглютинации  
 РБТ — реакция бласттрансформации лимфоцитов  
 РГА — реакция гемагглютинации  
 РИА — радиоиммунный анализ  
 РИД — радиальная иммунодиффузия  
 РИФ — реакция иммунофлюоресценции  
 РЛА — реакция латекс-агглютинации  
 РНИФ — реакция непрямо́й иммунофлюоресценции  
 РНК — рибонуклеиновая кислота  
 РНКазы — рибонуклеазы  
 рРНК — рибосомальная рибонуклеиновая кислота  
 РНТФ — реакция нарастания титра фага  
 Р-компонент — регулярный компонент токсина (он же компонент А)  
 РС-компонент — рецепторсвязывающий компонент токсина (он же компонент В)  
 РПГА (РНГА) — реакция пассивной (непрямой) гемагглютинации  
 РСК — реакция связывания комплемента  
 РТПГА — реакция торможения пассивной гемагглютинации  
 RNAzin — ингибитор РНКаз  
 СМС — сухие микробиологические среды  
 СПА — сухой питательный агар  
 СПБ — сухой питательный бульон  
 СПС — сухие питательные среды  
 ST-энтеротоксин — термостабильный энтеротоксин E. coli  
 СПМ — санитарно-показательные микроорганизмы  
 СанПиН — санитарные нормы и правила  
 ТМАК — тетрааммония хлорид  
 тРНК — транспортная РНК  
 УФ-излучение — ультрафиолетовое излучение  
 ФНО — фактор некроза опухоли  
 ФСБ — фосфатно-солевой буфер  
 ЦПЦ — цитоплазматический цилиндр  
 ЦПМ — цитоплазматическая мембрана  
 ЦТК — цикл трикарбоновых кислот  
 ЦТЛ — цитотоксический лимфоцит  
 ЭДС — электродвижущая сила  
 ЭТЦ — электронно-транспортная цепь

## От авторов

Середина прошлого столетия ознаменовалась событием чрезвычайной важности: арсенал лекарственных средств мира пополнился совершенно новой группой антимикробных препаратов – антибиотиков для этиотропного лечения инфекционных заболеваний.

Введение антибиотиков в повседневную медицинскую практику привело к снижению тяжести и летальности многих инфекционных болезней. Резко сократилось выявление глоточных стрептококковых инфекций: тонзиллита, фарингита, скарлатины. Снизилась заболеваемость стрептококковой пиодермией и рожистым воспалением. Стали исчезать такие тяжелые последствия глоточных стрептококковых заболеваний, как ревматизм и острый диффузный гломерулонефрит.

В двадцатом веке клиницисты и эпидемиологи получили ряд высокоэффективных лечебных и профилактических препаратов. Микробиологи и иммунологи предложили для профилактики дифтерии и раневых инфекций анатоксины, а также ряд высококачественных вакцин против брюшного тифа, коклюша, бруцеллеза, туляремии, чумы, холеры, сибирской язвы, менингококковой инфекции и др. В перечень признанных антиинфекционных средств вошли специфические иммуноглобулины. Неоценимый вклад внесли микробиологи, создав серию лечебных бактериофагов для больных кишечными, урологическими и гнойными инфекциями, не поддающимися терапевтическому воздействию антибиотиков. Для корректировки нарушений нормальных биоценозов полостей человека созданы бактериальные препараты – пробиотики.

На фоне этих достижений клиницисты и эпидемиологи обрели уверенность, что в обозримом будущем проблема бактериальных инфекционных болезней станет объектом истории медицины.

После введения в практику широкого ассортимента антибиотиков больные получили доступ к их применению без врачебных рекомендаций. Да и врачи не всегда назначали адекватную антибиотикотерапию, это послужило началом массовой бесконтрольной и нерациональной терапии, результатом которой явилось формирование клонов антибиотикорезистентных патогенных микроорганизмов.

Этот процесс пошел интенсивно по двум направлениям: за счет нарастания количества видов, утративших чувствительность к применяемому антибиотику, и за счет увеличения спектра устойчивости к двум и более препаратам. В результате такие инфекции, как туберкулез, гонорея, сепсис, пневмококковая пневмония, дизентерия и др. снова оказались в ряду непобежденных.

Примерно в этот же период – последняя треть XX века – стали вновь появляться некоторые инфекционные болезни, считавшиеся исчезнувшими или побежденными. Так, в результате многолетних нарушений принципов массовой иммунизации анатоксином в начале 90-х годов в России возник небывалый для развитой страны подъем заболеваемости дифтерией, преимущественно среди взрослых. Участились локальные вспышки тонзиллита, фарингита, скарлатины. Во многих странах стали возрождаться исчезнувшие еще в доантибиотическую эру случаи тяжелых инвазивных форм стрептококковой инфекции – некротический миозит, фасциит, синдром токсического шока с летальным исходом, что объясняют сменой циркулирующих штаммов под влиянием иммунологического

прессинга и появлением более патогенных клонов. В последние две декады XX века в США и других странах зарегистрировано учащение случаев первичного ревматизма и рецидивов болезни. В довершение всего список инфекционных болезней XX века пополнился рядом новых, ранее неизвестных бактериальных инфекций.

Так, в 1976 году в Филадельфии среди участников Конгресса ветеранской организации «Американский легион» возникло 182 случая респираторной лихорадки и пневмонии неизвестной этиологии с 29 летальными исходами. Через несколько месяцев из легочной ткани умершего был выделен возбудитель «болезни легионеров», отнесенный к новому роду *Legionella* и семейству *Legionellaceae*. В 1983 году был открыт микроорганизм, связанный с возникновением гастрита, язвы и рака желудка, названный впоследствии *Helicobacter pylori*. Среди патогенных бактерий, открытие которых приходится на середину и даже на вторую половину XX века, относятся листерии, хламидии, возбудители ряда клещевых боррелиозов, кампилобактериозов, иерсиниозов, микоплазмозов, представители семейств риккетсий, анаплазм, коксииелл и др.

Успехи медицины, к сожалению, привели и к нежелательным последствиям – созданию когорт лиц с ослабленной резистентностью. Это недоношенные дети с малым весом, лица, леченные иммунодепрессантами, облучением, тяжелые хронические, онкологические больные, жизнь которых продлевается благодаря достижениям современной медицины. Выявленная недавно вирусная инфекция – вторичный иммунодефицит человека (ВИЧ-инфекция) также вносит свою долю в расширение числа лиц с ослабленной иммунологической защитой. Повсеместное распространение наркомании способствует увеличению количества людей со сниженной резистентностью.

Накопление такого рода «горючего материала» привело, в свою очередь, к развитию инфекций, вызываемых условно патогенными или даже считавшимися непатогенными бактериальными видами и штаммами из числа нормальной флоры человека и окружающей среды. Эти инфекции получили название «оппортунистических» (т. е. присоединившихся к основному заболеванию).

Проблема оппортунистических инфекций тесно смыкается с другой современной эпидемиологической проблемой – внутрибольничными инфекциями. Расширение многокочной госпитальной сети и увеличение числа инвазивных вмешательств, с одной стороны, и формирование в стационарах антибиотикорезистентных клонов микроорганизмов – с другой, привело к распространению «местных» резистентных штаммов, вызывающих тяжелые инфекции у ослабленных пациентов. Установление этиологических агентов при оппортунистических и внутрибольничных инфекциях, порой фенотипически неотличимых от представителей нормальной микрофлоры, по понятным причинам представляет трудности для классических бактериологов.

Начиная с последней трети прошедшего века сильно расширились наши представления о патогенности микроорганизмов, накопилось множество методов ее выявления и установления ее степени (вирулентности). В конце XX века возникли и продолжают развиваться представления о роли бактерий при заболеваниях, считавшихся неинфекционными (например, роль хламидий в возникновении атеросклеротической болезни). Существенно пополнили наши знания исследования последних десятилетий о некультивируемых формах бактерий, не выявляемых классическими методами. Накопились факты, свидетельствующие о взаимоотношениях бактериальных клеток внутри их сообществ, способствующих выживанию, устойчивых к действию антимикробных препаратов и средств иммунной защиты. По-видимому, врач-бактериолог в недалеком будущем, изучая факторы патогенности клинического изолята, станет определять его способность к формированию биопленки – устойчивого сообщества бактериальной популяции.



Несмотря на большие достижения XX века, открывшие новую эру в лечении и профилактике инфекционных болезней, проблема этого вида патологии не только не отошла на второй план, а, напротив, приобрела более высокую значимость, чем прежде, и поставила перед микробиологами ряд совершенно новых задач.

Основной задачей микробиологических лабораторий остается установление этиологического диагноза болезни. В современных условиях нередко при постановке физиологических тестов и определении биохимической активности микроорганизмов, в целях их идентификации, применяют стандартные тест-системы промышленного изготовления с использованием автоматических микробных анализаторов, упрощающих и ускоряющих проведение массовых бактериологических исследований.

Учитывая актуальность проблем современной инфектологии и растущий интерес специалистов к полноценному обследованию больных с подозрением на разного рода инфекционные процессы, а также необходимость грамотной интерпретации получаемых результатов, мы сочли целесообразным и своевременным подготовить настоящее «Руководство по медицинской микробиологии», состоящее из трех книг.

Книга I: Общая и санитарная микробиология.

Книга II: Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций.

Книга III: Оппортунистические инфекции и методы их этиологической диагностики.

Текст «Руководства» достаточно полно охватывает все аспекты общей и частной современной медицинской микробиологии. Изложенные в нем рекомендации базируются на современных научных сведениях и многолетнем личном опыте авторов, что, как мы надеемся, будет полезным в практической деятельности по выявлению, изучению и профилактике инфекционных болезней. Включены методы, рекомендуемые как обязательные, инструктивными материалами Министерства здравоохранения и социального развития России. Каждый раздел написан авторами, являющимися ведущими специалистами по рассматриваемому вопросу.

При написании «Руководства» мы стремились к тому, чтобы оно представляло интерес не только для микробиологов, но и для инфекционистов и эпидемиологов, расширяло бы кругозор каждого специалиста в области смежных дисциплин.

## Благодарность

Заканчивая работу над книгой I, мы хотели бы принести большую искреннюю благодарность доктору химических наук профессору **Т. В. Петелиной** за безотказную помощь при описании биохимических тестов, используемых для идентификации бактерий, и оформлении раздела «Приложение»; приносим также глубокую благодарность доктору химических наук **Д. А. Алдакову** за консультативную помощь, кандидату медицинских наук **М. С. Шевчук** за ряд ценных советов и замечаний по рецептуре питательных сред, **М. Н. Лайко** за предоставление научной, методической и нормативной литературы, кандидату биологических наук **Н. В. Яшиной** и **В. И. Иванову** за помощь в обработке графического материала.

Большое спасибо членам наших семей – **И. Г. Костюкову**, **Е. Ю. Лабинской** и **Е. А. Мартыноку** за понимание, моральную поддержку и посильную помощь.

*А. С. Лабинская*

---

---

Часть I

**ОБЩАЯ МЕДИЦИНСКАЯ  
МИКРОБИОЛОГИЯ**

---

---

## ЧАСТЬ I

ГЛАВА 1.	Общие требования к организации работ с патогенными для человека микроорганизмами. <i>Иванова С. М., Смирнов В. Н.</i> . . . . .	17
ГЛАВА 2.	Оснащение микробиологической клинической лаборатории. <i>Тихомирова О. И., Березкина Н. Е., Скаженник В. Ю.</i> . . . . .	33
ГЛАВА 3.	Дезинфекция и стерилизация. <i>Гололобова Т. В., Лабинская А. С.</i> . . . . .	64
ГЛАВА 4.	Принципы систематики, таксономии и классификации микроорганизмов. <i>Бондаренко В. М.</i> . . . . .	92
ГЛАВА 5.	Морфология и ультраструктура прокариотических микроорганизмов. <i>Волина Е. Г., Нетрусов А. И.</i> . . . . .	112
ГЛАВА 6.	Микроскопические методы исследования. <i>Быков А. С. Корн М. Я.</i> . . . . .	151
ГЛАВА 7.	Физиология прокариотических микроорганизмов. <i>Волина Е. Г., Нетрусов А. И.</i> . . . . .	182
ГЛАВА 8.	Питательные среды в практике микробиологических исследований. <i>Суханова С. М., Захарова Н. Е.</i> . . . . .	221
ГЛАВА 9.	Техника посева, культивирования и выделения чистых культур микроорганизмов. <i>Лабинская А. С., Дриняев В. А., Березкина Е. Н.</i> . . . . .	266
ГЛАВА 10.	Биологические и биохимические тесты идентификации микроорганизмов. <i>Лабинская А. С., Ещина А. С.</i> . . . . .	281
ГЛАВА 11.	Антимикробные препараты. Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам. <i>Сидоренко С. В.</i> . . . . .	321
ГЛАВА 12.	Генетика бактерий. <i>Каменева С. В.</i> . . . . .	362
ГЛАВА 13.	Бактериофаги. Использование в диагностике, лечении и профилактике инфекционных болезней. <i>Дарбеева О. С., Жиленков Е. Л.</i> . . . . .	405
ГЛАВА 14.	Факторы патогенности и токсигенности микроорганизмов. <i>Бондаренко В. М., Вертнев Ю., В.</i> . . . . .	422
ГЛАВА 15.	Содержание и использование лабораторных животных в клинических микробиологических лабораториях. <i>Зверьков Д. А., Груздев К. Н.</i> . . . . .	448
ГЛАВА 16.	Иммунитет. Иммунная система. Основные параметры иммунного статуса и методы его оценки. <i>Волина Е. Г.</i> . . . . .	479
ГЛАВА 17.	Препараты для диагностики бактериальных инфекций и идентификации возбудителей. <i>Шобухова Т. С., Саяпина Л. В., Ротанов С. В.</i> . . . . .	557
ГЛАВА 18.	Вакцинопрофилактика бактериальных инфекций. <i>Костинов И. П., Лукачев И. В.</i> . . . . .	574
ГЛАВА 19.	Полимеразная цепная реакция в диагностике инфекционных болезней. <i>Гребенкова Т. В.</i> . . . . .	613
ГЛАВА 20.	Иммунодиагностика инфекционных заболеваний с использованием иммуноферментного анализа. <i>Степанова Е. Н.</i> . . . . .	643
ГЛАВА 21.	Современные технологии в клинической микробиологии. <i>Нехорошева А. Г., Скала Л. З., Лукин И. Н.</i> . . . . .	668
ГЛАВА 22.	Экспресс-методы идентификации микроорганизмов. <i>Шелемех О. В.</i> . . . . .	735
Рецептура красителей, индикаторов, буферных растворов, реактивов и питательных сред для постановки биохимических тестов. <i>Лабинская А. С.</i> . . . . .	771	

# Общие требования к организации работ с патогенными для человека микроорганизмами

---

## 1.1. Классификация микроорганизмов по группам патогенности (опасности)

Важнейшей составляющей повседневной деятельности микробиологических лабораторий различного профиля является обеспечение безопасности работ с патогенными биологическими агентами (ПБА), т. е. защита персонала, населения и окружающей среды от их негативного воздействия. В число ПБА входят патогенные для человека микроорганизмы (бактерии, вирусы, хламидии, риккетсии, простейшие, грибы, микоплазмы), в том числе генно-инженерно-модифицированные, яды биологического происхождения (токсины), гельминты, а также любые объекты и материалы биотической и абиотической природы, подозрительные на их содержание.

В целях регламентации работ с патогенными микроорганизмами последние по степени биологической опасности (патогенности) разделены на 4 группы:

I группа — возбудители особо опасных инфекций;

II группа — возбудители высококонтагиозных эпидемических заболеваний человека;

III группа — возбудители инфекционных болезней, выделяемые в самостоятельные нозологические группы;

IV группа — условно-патогенные микробы (возбудители оппортунистических инфекций).

Принятая в Российской Федерации классификация разработана в соответствии с рекомендациями ВОЗ; помимо микроорганизмов она включает яды биологического происхождения. Однако нумерация групп патогенности, принятая в России, отличается от классификации ВОЗ обратным порядком.

Приведенная ниже *классификация патогенных для человека микроорганизмов (кроме вирусов), являющихся возбудителями инфекционных заболеваний человека, и ядов биологического происхождения* — извлечение из принятой в настоящее время

в Российской Федерации «Классификации микроорганизмов— возбудителей инфекционных заболеваний человека, простейших, гельминтов и ядов биологического происхождения по группам патогенности». По мере открытия новых возбудителей инфекционных болезней классификация корректируется.

Группа патогенности	Возбудитель	Заболевание
1	2	3
I группа II группа         III группа	<b>БАКТЕРИИ</b> 1. <i>Yersinia pestis</i> 1. <i>Bacillus anthracis</i> 2. <i>Brucella abortus</i> <i>Brucella melitensis</i> <i>Brucella suis</i> 3. <i>Francisella tularensis</i> 4. <i>Burkholderia mallei</i> 5. <i>Burkholderia pseudomallei</i> 6. <i>Vibrio cholerae</i> O1 токсигенный 7. <i>Vibrio cholerae</i> non O1 (O139) токсигенный 1. <i>Bordetella pertussis</i> 2. <i>Borrelia recurrentis</i> 3. <i>Campylobacter fetus</i> 4. <i>Campylobacter jejuni</i> 5. <i>Clostridium botulinum</i> 6. <i>Clostridium tetani</i> 7. <i>Corynebacterium diphtheriae</i> 8. <i>E. coli</i> O157:H7 и другие серотипы-продуценты веротоксина 9. <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> 10. <i>Helicobacter pylori</i> 11. <i>Legionella pneumophila</i> 12. <i>Leptospira interrogans</i> 13. <i>Listeria monocytogenes</i> 14. <i>Mycobacterium leprae</i> 15. <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Mycobacterium bovis</i> <i>Mycobacterium avium</i> 16. <i>Neisseria gonorrhoeae</i> 17. <i>Neisseria meningitidis</i>	Чума Сибирская язва Бруцеллез  Туляремия Сап Мелиоидоз Холера Холера  Коклюш Возвратный тиф Абсцессы, септицемии Энтерит, холецистит, септицемии Ботулизм Столбняк Дифтерия Геморрагический колибактериоз  Эризипелоид Гастрит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки Легионеллез Лептоспироз Листерииоз Проказа Туберкулез  Гонорея Менингит

*Продолжение*

1	2	3
IV группа	18. <i>Nocardia asteroides</i> <i>Nocardia brasiliensis</i>	Пневмония, абсцесс мозга, менингоэнцефалит, менингит, сепсис, остеомиелит
	19. <i>Pasteurella multocida</i>	Пневмония, менингит и др.
	20. <i>Proactinomyces israelii</i>	Актиномикоз
	21. <i>Salmonella paratyphi A</i>	Паратиф А
	22. <i>Salmonella paratyphi B</i>	Паратиф В
	23. <i>Salmonella typhi</i>	Брюшной тиф
	24. <i>Shigella</i> spp.	Дизентерия
	25. <i>Treponema pallidum</i>	Сифилис
	26. <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Псевдотуберкулез
	27. <i>Vibrio cholerae</i> O1 не токсигенный	Диарея
	28. <i>Vibrio cholerae</i> non O1 не токсигенный	Диарея, раневые инфекции, септицемия и др.
	1. <i>Aerobacter aerogenes</i>	Энтерит
	2. <i>Bacillus cereus</i>	Пищевая токсикоинфекция
	3. <i>Bacteroides</i> spp.	Сепсис, гнойные инфекции головы и шеи, гнойные инфекции ЦНС, стоматоинфекции, гнойные плевриты, гнойные инфекции мягких тканей, параректальные абсцессы, декубитальные язвы, язвы стопы, остеомиелиты, внутриабдоминальные инфекции
	4. <i>Borrelia</i> spp.	Клещевой спирохетоз
	5. <i>Bordetella bronchiseptica</i> <i>Bordetella parapertussis</i>	Бронхосептикоз
	6. <i>Branchamella catarrhalis</i>	Воспалительные заболевания нижних и верхних дыхательных путей, хронические бронхиты, уретриты, эндокардиты, менингиты
	7. <i>Burkholderia cepacia</i>	Местные воспалительные процессы, сепсис
	8. <i>Campylobacter</i> spp.	Гастроэнтериты, гингивиты, периодонтиты
9. <i>Citrobacter</i> spp.	Местные воспалительные процессы, пищевая токсикоинфекция	
10. <i>Clostridium perfringens</i> <i>Clostridium novyi</i> <i>Clostridium septicum</i> <i>Clostridium histolyticum</i> <i>Clostridium bifermentans</i>	Газовая гангрена	
11. <i>Eikinella corrodens</i>	Перитонзиллярные абсцессы, абсцессы мозга	
12. <i>Escherichia coli</i>	Энтерит	
13. <i>Eubacterium endocarditidis</i>	Септический эндокардит	

*Продолжение*

1	2	3
	14. Eubacterium lentum Eubacterium ventricosum 15. Enterococcus faecalis Enterococcus faecium  16. Flavobacterium meningosepticum 17. Haemophilus influenzae 18. Hafnia alvei 19. Klebsiella ozaenae 20. Klebsiella pneumoniae 21. Klebsiella rhinoscleromatis 22. Mycobacterium spp. Photochromogens Scotochromogens Nonphotochromogens Rapid growers 23. Micoplasma hominis 1 Micoplasma hominis 2 Micoplasma pneumoniae 24. Propionibacterium avidum 25. Proteus spp.  26. Pseudomonas aeruginosa  27. Salmonella spp. 28. Serratia marcescens  29. Staphylococcus spp.  30. Streptococcus spp.   31. Vibrio spp. Vibrio parahaemolyticus Vibrio mimicus Vibrio fluviales Vibrio vulnificus Vibrio alginolyticus 32. Yersinia enterocolitica 33. Actinomyces albus	Вторичные септицемии, абсцессы  Эндокардиты, хронический обструктивный бронхит, раневые инфекции, септицемии  Менингит, септицемии Менингит, пневмония, ларингит Холецистит, цистит Озена Пневмония Риносклерома Микобактериозы  Местные воспалительные процессы, пневмония  Сепсис, абсцессы Пищевая токсикоинфекция, сепсис, местные воспалительные процессы Местные воспалительные процессы, сепсис Сальмонеллезы Местные воспалительные процессы, сепсис Пищевая токсикоинфекция, септицемия, пневмония Сепсис, тонзиллит, пневмония, менингит, гломерулонефрит, эндокардит, ревматизм, гнойные инфекции челюстно-лицевой области, некротизирующие фасциты, миозиты, синдром токсического шока, скарлатина, зубной кариес, импетиго, рожистое воспаление Диарея, пищевые токсикоинфекции, раневые инфекции, септицемия и др.  Энтерит, колит Актиномикоз

Продолжение

1	2	3
II группа	<b>РИККЕТСИИ</b> 1. Rickettsia prowazeki	Эпидемический сыпной тиф и болезнь Брилля
	2. Rickettsia typhi	Крысиный сыпной тиф
	3. Rickettsia rickettsii	Пятнистая лихорадка Скалистых гор
	4. Rickettsia tsutsugamushi	Лихорадка цуцугамуши
III группа	5. Coxiella burnetii	Коксиеллез (лихорадка Ку)
	1. Rickettsia sibirica	Клещевой сыпной тиф Северной Азии
	2. Rickettsia conorii	Средиземноморская пятнистая лихорадка
	3. Rickettsia sharoni	Израильская лихорадка
	4. Rickettsia sp.now?	«Астраханская лихорадка»
	5. Rickettsia acari	Везикулезный риккетсиоз
	6. Rickettsia australis	Клещевой сыпной тиф Северного Квинсленда
	7. Rickettsia japonica	Японская пятнистая лихорадка
	8. Rickettsia sp.now?	«Африканская лихорадка»
	9. Rickettsia sp.now? штамм «ТТТ»	«Клещевой риккетсиоз Таиланда»
III группа	<b>ЭРЛИХИИ</b> 1. Ehrlichia sennetsu	Болезнь сеннетсу
	2. E.canis	Название отсутствует
	3. E.chaffeensis	Название отсутствует
II группа	<b>ХЛАМИДИИ</b> 1. Chlamydomphila psittaci	Орнитоз — пситтакоз
III группа	1. Chlamydia trachomatis	Трахома, уrogenитальный хламидиоз
	2. Chlamydomphila pneumoniae	Пневмония, артриты
II группа	<b>ГРИБЫ</b> 1. Blastomyces dermatitidis	Бластомикоз
	2. Histoplasma capsulatum	Гистоплазмоз
	3. Coccidioides immitis	Кокцидиоидомикоз
	4. Paracoccidioides brasiliensis	Паракокцидиоидомикоз (южноамериканский бластомикоз)
III группа	1. Aspergillus flavus	Аспергиллез
	Aspergillus fumigatus	
	2. Candida albicans	Кандидоз
	3. Cryptococcus neoformans	Криптококкоз
IV группа	1. Absidia corymbifera	Мукороз
	2. Aspergillus niger	Аспергиллез
	Aspergillus nidulans	
	3. Candida brumptii	Кандидоз
	Candida crusei	
	Candida intermedia	



Окончание

1	2	3
	Candida pseudotropicalis Candida tropicalis Candida guilliermondii 4. Cephalosporium acremonium Cephalosporium cinnabarium 5. Epidermophyton floccosum 6. Geotrichum candidum 7. Microsporium spp. 8. Mucor mucedo 9. Penicillium crustosum Penicillium luteo-viride Penicillium notatum 10. Pityrosporum orbiculare 11. Rhizopus nigricans 12. Trichophyton spp. 13. Trichosporon cerebriforme	Цефалоспориоз  Эпидермофития Геотрихоз Микроспория Мукороз Пенициллиоз  Разноцветный лишай Мукороз Черепитчатый микоз Узловатая трихоспория
II группа	<b>ЯДЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ</b>	
III группа	1. Ботулинические токсины всех типов 2. Холерный токсин 3. Столбнячный токсин 1. Микотоксины 2. Дифтерийный токсин 3. Стрептококковый токсин группы А	

*Примечание.* Атенуированные штаммы возбудителей I–II групп относят к III группе патогенности, аттенуированные штаммы III–IV групп – к IV группе патогенности.

## 1.2. Регламентация работ с патогенными для человека микроорганизмами

Степень биологической опасности определяется как свойствами самого ПБА, так и рядом факторов, повышающих ее. Такими факторами являются особенности выполняемых в лаборатории работ (диагностические, экспериментальные или производственные), их организация, состояние защитных инженерных систем, знание и соблюдение персоналом правил биологической безопасности, профессиональная подготовленность специалистов. С учетом этого при организации работ в микробиологических лабораториях наряду с созданием нормальных с точки зрения санитарно-гигиенических норм и правил условий труда необходимо обеспечить биологическую безопасность персонала, населения и окружающей среды, т. е. защиту от возможного заражения патогенными микроорганизмами.

В России много внимания уделяется созданию и совершенствованию системы обеспечения биологической безопасности. Прежде всего создана ее нормативно-правовая основа в виде блока санитарно-эпидемиологических правил (СП), введенных в действие постановлениями Главного государственного санитарного врача Российской Федерации:

- СП «Порядок выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I–IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами»;
- СП «Безопасность работы с микроорганизмами I–II групп патогенности (опасности)»;
- СП «Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности и гельминтами»;
- СП «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности».

В связи с внедрением в широкую практику методов генной диагностики в дополнение к соответствующим санитарным правилам введены методические указания «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного микроорганизмами I–II групп патогенности» и «Организация работы при исследованиях методом ПЦР материала, инфицированного патогенными биологическими агентами III–IV групп патогенности», поскольку проведение исследований по выявлению ДНК (РНК) микроорганизмов сопряжено с необходимостью выполнения правил биологической безопасности работ и требований к организации и проведению ПЦР-анализа с целью предотвращения контаминации исследуемых проб.

Соблюдение санитарных правил является обязательным для юридических лиц (учреждений, организаций), независимо от их ведомственной принадлежности, и индивидуальных предпринимателей на территории всей страны.

Работу с ПБА I–IV групп проводят в организациях, лицензированных на этот вид деятельности, и только в лабораториях, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I–IV групп патогенности (опасности), выданное в порядке, регламентированном соответствующими санитарными правилами.

Работу лабораторий с ПБА I–II групп разрешает Главный государственный санитарный врач Российской Федерации, с ПБА III–IV групп – главные государственные санитарные врачи субъектов Российской Федерации. Санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека I–IV групп патогенности (опасности) оформляется на каждую конкретную лабораторию и выдается на срок до 5 лет. Оно утрачивает силу при перепланировке или передислокации лаборатории, а также может быть аннулировано при нарушениях требований биологической безопасности в процессе проведения работ.

Работу с ПБА разрешают лабораториям, в которых имеются условия для соблюдения требований биологической безопасности, предусмотренных соответствующими СП, при полном разделении диагностических и экспериментальных исследований. К диагностическим относят исследования, проводимые с целью обнаружения и идентификации возбудителя, его антигена или специфических антител к нему; к экспериментальным — все виды работ с живыми культурами возбудителей инфекционных заболеваний человека. Понятие «производственная работа» означает деятельность по производству медицинских иммунобиологических препаратов с использованием микроорганизмов и продуктов их микробиологического синтеза.

Исследования в лаборатории проводят строго с теми группами ПБА, на которые получено санитарно-эпидемиологическое заключение. Исключение составляют диагностические исследования на холеру и ботулинический токсин, выполняемые с целью профилактики этих инфекций, а также серологические исследования по обнаружению в крови людей антител к микроорганизмам II группы патогенности, которые могут проводиться в лабораториях, имеющих разрешение на работу с микроорганизмами III–IV групп патогенности.

Санитарными правилами безопасности работ с микроорганизмами I–II и III–IV групп патогенности дифференцированно, в зависимости от группы патогенности биологических агентов и вида работ, определены требования к помещениям и оборудованию лабораторий, проведению работ в лаборатории, порядку использования средств индивидуальной защиты, обеззараживанию материала и уборке помещений, а также регламентированы мероприятия по локализации и ликвидации последствий аварий при работе с ПБА, организация контроля выполнения требований биологической безопасности и др.

Санитарные правила «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I–IV групп патогенности» устанавливают единый порядок учета, хранения, передачи ПБА и направлены на обеспечение личной и общественной безопасности при их транспортировании, исключение несанкционированной передачи и безучетного хранения.

Для централизованного учета, хранения и депонирования штаммов микроорганизмов в ряде научно-исследовательских институтов созданы специализированные коллекции с информационными функциями.

В организациях, систематически работающих с ПБА I–IV групп, разрешается иметь коллекции типовых, авторских и депонированных штаммов для научной работы, производства и диагностических целей. Эталонные и производственные штаммы микроорганизмов I–IV групп патогенности разрешается получать только из специализированных коллекций.

О выделении культур микроорганизмов I–II групп патогенности и атипичных III–IV групп необходимо информировать руководителей специализированных коллекций и по согласованию с ними передавать культуры в коллекции. Штаммы микроорганизмов I–II групп патогенности, не подлежащие передаче в коллекции, уничтожают по распоряжению руководителя организации, а III–IV групп — руководителя подразделения.

В организациях, на базе которых проводятся любые виды работ с ПБА, создаются комиссии по контролю за соблюдением требований биологической безопасности, которые являются исполнительно-консультативным органом, следящим за порядком проведения работ с биологическим материалом в диагностических, научно-исследовательских и производственных лабораториях. Каждый сотрудник лаборатории несет личную ответственность за соблюдение требований биологической безопасности. Ответственными за обеспечение биологической безопасности подразделения (лаборатории) являются их заведующие, а по организации в целом — руководитель организации.

### **1.3. Лицензирование деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний**

Деятельность, связанная с использованием возбудителей инфекционных заболеваний, в обязательном порядке лицензируется. Лицензия оформляется на юридическое лицо (учреждение, организацию) или индивидуального предпринимателя. В соответствии с Федеральным законом «О лицензировании отдельных видов деятельности» Постановлением Правительства Российской Федерации утверждено «Положение о лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний».

Положением определен порядок лицензирования указанной деятельности, лицензирующий орган (Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека), а также условия и требования к лицензиату (соискателю лицензии).

Обязательными условиями и требованиями к соискателю лицензии являются:

- наличие соответствующих государственным санитарно-эпидемиологическим нормам и правилам производственных помещений, оборудования и приборов, необходимых для осуществления лицензируемой деятельности;
- соблюдение государственных санитарно-эпидемиологических норм и правил проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний;
- наличие у работников юридического лица или у индивидуального предпринимателя профессионального образования или специальной подготовки, соответствующих требованию и характеру выполняемой работы.

Для получения лицензии в лицензирующий орган, наряду с заявлением о предоставлении лицензии, копиями учредительных документов и свидетельства о государственной регистрации, копией свидетельства о постановке на учет в налоговом органе, предоставляются копии документов, подтверждающих квалификацию работников и обязательно копия санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных заболеваний человека соответствующей группы патогенности, выданного в установленном порядке.

Лицензия на деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных заболеваний, предоставляется на 5 лет.

Лицензирующий орган ведет реестр лицензий, осуществляет в пределах своей компетенции контроль за соблюдением лицензиатом лицензионных требований и условий в форме плановых и внеплановых проверок

#### 1.4. Аккредитация микробиологических лабораторий

Аккредитация испытательных лабораторий как процедура квалифицированной объективной оценки их компетентности стала актуальной, когда у потребителя продукции или услуг появилась реальная возможность выбирать на рынке товар и его поставщика. Единственным надежным критерием выбора может быть только достоверная информация о характеристиках товара, которую можно получить при лабораторных исследованиях. Но испытания готового товара не улучшают его качества (а лишь способны повысить достоверность информации о качестве). Естественное стремление к эффективности производства и обращения товара на рынке потребовало минимизировать количество испытаний при обеспечении хорошей достоверности. Это возможно при наличии уверенности, что лаборатория, в которой испытывался товар, является компетентной и способна давать объективную информацию. Данные качества и являются объектом оценки при аккредитации испытательной лаборатории.

В соответствии с Руководством ИСО/МЭК 2 аккредитация — это процедура, посредством которой авторитетный орган официально признаёт, что организация или лицо является компетентным в отношении выполнения конкретных работ. Мировая наука и практика накопила большой опыт по проведению работ, результатом которых является отмеченное в руководстве признание. Методология этой работы, критерии оценки, правила проведения определены в документах, которые в силу их общности приняты двумя международными организациями: Международной организацией по стандартизации (ИСО) и Международной электротехнической комиссией (МЭК). Из них важнейшими для аккредитации испытательных лабораторий являются:

- Международный стандарт ИСО/МЭК 17025:1999 «Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий»;
- Руководство ИСО/МЭК 58 «Системы аккредитации калибровочных и испытательных лабораторий. Общие требования к функционированию и признанию»;
- Руководство ИСО/МЭК 43 «Проверка компетентности путем межлабораторных сравнений»: часть 1 «Разработка и применение программ проверки компетентности», часть 2 «Выбор и использование программы компетентности органами по аккредитации лабораторий».

Перечисленные документы определяют общие критерии и правила аккредитации лабораторий, которые следует применять и при аккредитации микробиологических лабораторий. При этом могут быть определены дополнительные требования на основании специфики деятельности.

Для подтверждения своей компетентности и ее демонстрации как потребителям услуг лаборатории, так и проверяющим органам, в том числе и аккредитующим, микробиологическая лаборатория должна определить и оформить область своей деятельности. В этом документе должны быть указаны:

- испытываемые товары, контролируемые среды;
- определяемые микроорганизмы, их количественные и качественные характеристики;
- применяемые методы микробиологических исследований;
- используемые нормативные документы.

Испытательная лаборатория по своему усмотрению может быть аккредитована на всю область деятельности или на ее часть.

В соответствии с областью деятельности микробиологическая лаборатория должна определить свою организационную структуру и структуру управления. При этом независимо от выполнения других функций следует назначить одного ответственного специалиста за функционирование системы качества лаборатории, а также других ответственных лиц за основные направления обеспечения деятельности лаборатории (нормативное, материальное, метрологическое и т. д.).

Лаборатория должна осуществлять свою деятельность таким образом, чтобы гарантировать заказчику (потребителю) конфиденциальность информации, включая процедуры защиты передачи и хранения электронной информации.

Микробиологическая лаборатория должна установить (разработать), внедрить и поддерживать систему качества. Общие задачи системы качества устанавливаются в заявлении о политике в области качества, которое включает:

- обязательства о качестве проведения испытаний;
- задачи, стоящие перед этой системой, решение которых позволит реализовать заявленные обязательства;
- требования к персоналу, касающиеся знания документации о качестве и следования в работе установленным в нем требованиям, правилам и рекомендациям;
- обязательство руководства осуществлять деятельность в лаборатории в соответствии со стандартом ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025-2000.

Политика в области качества, конкретизация поставленных задач реализуются в процедурах руководства по качеству. Руководство по качеству может содержать ссылки на конкретные процедуры, правила оформления документов, формы документов, на применяемые нормативные документы и др.

В руководстве по качеству должны быть определены функции и ответственность персонала: руководящего, контролирующего, проводящего испытания, обеспечивающего стабильность работы лаборатории.

Одной из задач лаборатории по поддержанию системы качества являются работы по анализу и улучшению эффективности работы микробиологической лаборатории.

В соответствии с упомянутым стандартом ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025-2000 основными процедурами системы качества в микробиологических лабораториях должны быть:

1. Процедура управления документацией, обеспечивающей качество работы лаборатории. Эта процедура должна включать этапы определения потребности в официально изданных документах и их получения, обеспечения рабочих мест, актуализации нормативной документации (контрольного фонда и на рабочих местах), замены изношенных, изъятие устаревших (отменённых) документов, хранения экземпляра устаревших документов для юридических целей.

Указанные процедуры могут быть реализованы на бумажных носителях информации или в электронном виде, в том числе по внутренней вычислительной сети. При любой форме реализации процедуры управления документацией должно быть обеспечено исключение несанкционированного доступа к документации, исключение возможности ее утери или искажения.

2. Процедура анализа заказов (заявок, договоров, направлений) на микробиологические исследования. Эта процедура проводится для того, чтобы оценить способность лаборатории выполнить исследования в полном объёме или необходимость принятия дополнительных мер, в том числе заключения субподрядов. Заказ и результаты анализа регистрируются, заявка (направление) в лабораторию кодируются для обеспечения объективности испытаний и соблюдения принципа конфиденциальности.

3. Процедура заключения субподрядов на проведение микробиологических исследований. Заключение субподрядов может быть осуществлено по непредвиденным причинам, например, временная перегрузка лаборатории, выход из строя средств испытаний или измерений, временное отсутствие необходимых материалов.

Проведение испытаний передается компетентному субподрядчику; при этом за их качество в целом отвечает лаборатория, принявшая заказ. Лаборатория должна вести учет субподрядчиков с регистрацией их компетентности и качества работ. При необходимости передачи каких-либо исследований субподрядчику лаборатория обязана уведомить об этом заказчика.

4. Процедура приобретения необходимых материальных средств, включая эталонные культуры, среды, расходные материалы, реактивы, а также оказания услуг сторонними организациями (техническое обслуживание, ремонт, поверка средств измерений). Лаборатория должна иметь их перечень, а также перечень поставщиков с оценкой качества поставляемых средств и услуг.

5. Процедура обслуживания заказчиков начиная от консультирования по вопросам возможности лаборатории выполнять микробиологические исследования и обсуждения заказа (договора, контракта) до предоставления результатов выполненных исследований и обратной связи с заказчиком по их результатам.

6. Процедура по разрешению претензий со стороны заказчика, правила регистрации и хранения претензий, способы анализа и принятия решений, при необходимости, принятия корректирующих (управляющих) действий.

7. Процедура управления исследованиями, не соответствующими установленным требованиям. Эта процедура включает определение и оценку несоответствия, выявление и устранение причин, принятие корректирующих мер, при необходимости извещение заказчика, принятие решения о прекращении или возобновлении (повторении) работы.

8. Процедура принятия корректирующих действий. Она определяет полномочие персонала по их оценке и проведению, анализу причин, назначению (выбору) действий, контролю эффективности.

9. Процедура осуществления предупреждающих действий. Она включает определение потенциальных источников несоответствий (ухудшения качества) при проведении микробиологических исследований, планирование (изыскание) и реализацию необходимых улучшений.

10. Процедура управления регистрацией данных. Данная процедура включает работы по их идентификации, сбору и систематизации, а также процедуры ведения, доступа и изъятия зарегистрированных данных об исследованиях и их качестве. Проводимые в процессе исследований записи или их электронный аналог должны быть удобными для использования, давать полную информацию о ходе исследований, условиях их проведения, исполнителях. Необходимо исключить возможность их утери и искажения. Срок хранения данных определяется возможным временем, в течение которого может возникнуть необходимость обращения к результатам проведенной работы. Условия хранения данных должны обеспечивать их конфиденциальность. Зарегистрированные данные в период проведения исследований и последующего хранения не должны уничтожаться. Ошибочные данные подлежат исправлению, но не уничтожению; при этом должно быть указано лицо, осуществившее исправления, и дата их внесения.

11. Процедура внутренней проверки эффективности системы качества. Эта процедура должна предусматривать проведение периодических проверок системы качества, принятой в данной лаборатории. Проверки проводятся по программе, утвержденной руководителем лаборатории или организации, в состав которой входит лаборатория. Внутренние проверки являются одним из предупреждающих действий. Комплексная проверка системы качества по всем ее аспектам должна проводиться не реже одного раза в год. При выявлении недостатков анализируются причины их появления, намечаются и осуществляются корректирующие действия.

12. Процедура анализа системы качества со стороны руководства. В соответствии с международной и отечественной теорией и практикой обеспечения качества работы любой организации наряду с вышеприведенными внутренними проверками эффективность системы качества по основополагающим направлениям должно проверять руководство. Анализу подлежат:

- пригодность на момент проверки объявленной ранее политики в области качества и способность установленных процедур реализовать эту политику;
- отчеты руководящих и контролирующих сотрудников о качестве работы лаборатории, в том числе о последней внутренней проверке;



- проведенные в лаборатории за анализируемый период корректирующие и предупреждающие действия;
- результаты оценок, проведенных сторонними органами, в том числе при аккредитации, инспекционном контроле, межлабораторных сравнениях и других формах оценки (подтверждения) компетентности;
- изменения в применяемых методах исследований и объеме работ;
- количество претензий и результаты их рассмотрения;
- другие факторы, влияющие на обеспечение качества проводимых исследований.

Стандарт ГОСТ Р ИСО/МЭК 17025-2000 определяет также технические требования, которым должна удовлетворять микробиологическая лаборатория, чтобы быть аккредитованной на соответствие требованиям к компетентности, установленным этим стандартом. Эти требования охватывают:

- человеческий фактор;
- помещение и окружающую среду;
- методы исследований;
- оборудование;
- обеспечение единства измерений;
- отбор образцов;
- обращение с испытываемым образцом.

Одним из важнейших является требование обеспечения компетентности персонала, включающее следующие аспекты:

- подбор специалистов с соответствующим образованием;
- программу переподготовки и повышения квалификации, подготовку к аттестации экспертов по микробиологическим исследованиям, наличие необходимого количества экспертов;
- работу со стажерами, контроль со стороны экспертов;
- наличие должностных инструкций.

Микробиологическая лаборатория должна определить необходимые требования к помещениям и окружающей среде и обеспечить их соблюдение. В число этих требований как минимум входят следующие:

- обеспечение лаборатории помещениями необходимых площадей, объемов, планировки и качества (например, включающего необходимую гладкость стен, потолков, полов и др.);
- создание условий, позволяющих свести к минимуму риск перекрестного загрязнения (например, обеспечение поточности по принципу «обратной дороги нет», разделение действий во времени и пространстве, оборудование отдельного входа для поступления зараженного материала);
- разработка и внедрение программы контроля окружающей среды в лаборатории, обеспечивающей достоверность результатов (температура, влажность, чистота и др.), контроль условий загрязнений;
- оптимальное содержание помещений, их вентиляция, исключение лишней мебели, использование мебели, не имеющей шершавых или открытых деревянных поверхностей, и др.;
- обеспечение персонала защитной одеждой;

- ограничение доступа в лабораторию (в определенные ее зоны допускается только уполномоченный персонал);
- проведение дезинфекционных мероприятий и мер обеззараживания.

Микробиологическая лаборатория должна пользоваться в своей деятельности методами и методиками, соответствующими области ее деятельности. Они должны включать отбор образцов, обращение с образцами, транспортировку, хранение и подготовку к исследованиям, процедуру исследований, оценку результатов, включая оценку погрешности измерений. Следует отдавать предпочтение методам исследований, приведенным в международных и региональных стандартах. Методы, разработанные лабораторией для собственного использования, должны быть проверены, в том числе и путем сравнений.

Лаборатория должна располагать всем необходимым оборудованием для отбора проб, подготовки и испытаний образцов, обработки и анализа данных. Оборудование микробиологической лаборатории должно быть аттестовано по ГОСТ Р 8.568-97 «Государственная система обеспечения единства измерений. Аттестация испытательного оборудования».

Необходим учет работоспособности оборудования. На каждую единицу последнего должна быть карта или другой документ, в котором регистрируются:

- наименование оборудования;
- изготовитель и дата выпуска;
- дата ввода в эксплуатацию в лаборатории;
- данные о техническом состоянии, проверках, обслуживании, настройках, ремонтах, описание имевших место повреждений.

Обслуживание и ремонт должны осуществляться в соответствии с планом. На каждый вид потенциально опасного в эксплуатации оборудования должна быть инструкция по безопасной работе с ним.

Лаборатория обязана принимать необходимые меры по обеспечению единства измерений в соответствии с действующим законодательством и стандартами. Она должна обладать необходимыми для проведения микробиологических исследований средствами измерений. Вопросы технического обеспечения работоспособности средств измерений решаются так же как для испытательного оборудования. Микробиологические лаборатории, осуществляющие деятельность в сфере, отнесенной законом «Об обеспечении единства измерений» к сфере государственного метрологического контроля и надзора, должны применять средства измерений утверждённых типов и своевременно поверенные. Для обеспечения своевременности поверки в лаборатории должен быть оформлен и соблюдаться график поверки.

Микробиологическая лаборатория должна иметь необходимые стандартные образцы, аттестованные смеси и контрольные образцовые вещества, штаммы микроорганизмов. Необходимо создать и соблюдать условия их хранения, в том числе исключающие возможность их ошибочного использования.

Методики выполнения измерений должны быть аттестованы по ГОСТ Р 8.563-96 «Государственная система обеспечения единства измерений. Методики выполнения измерений».

Контроль качества проведения испытаний нужно осуществлять с учетом требований комплекса стандартов ГОСТ Р ИСО 5725-2002 «Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений».

В микробиологической лаборатории необходимо (целесообразно) назначить одного специалиста (независимо от выполняемых им функций) ответственным за метрологическое обеспечение. В число функций этого специалиста входят:

- участие в работах по аттестации испытательного оборудования;
- контроль за состоянием и применением средств измерений;
- контроль за применением аттестованных методик выполнения измерений;
- контроль за соблюдением метрологических правил и норм;
- контроль за своевременностью поверки средств измерений и периодической аттестацией испытательного оборудования.

В лаборатории должны быть планы и процедуры отбора образцов (проб) для проведения микробиологических исследований. В процессе отбора образцов следует соблюдать и контролировать условия с тем, чтобы обеспечить достоверность исследований.

Должны быть определены процедуры транспортирования, получения, обращения, защиты, хранения (обеспечения сохранности) и удаления образцов. Последняя процедура для микробиологических лабораторий особенно важна. Получение образца должно быть зарегистрировано. На исследование он поступает под кодовым обозначением.

В микробиологической лаборатории должна быть процедура обеспечения качества проведения испытаний. Она может включать:

- регулярное проведение внутрилабораторного контроля точности результатов;
- участие в межлабораторных сравнениях;
- дублирование испытаний;
- повторные испытания для контроля воспроизводимости.

В лаборатории должны быть установлены и соблюдаться соответствующие направлениям исследований формы отчетности (протоколы, отчеты и др.).

Аккредитация лабораторий проходит следующие основные этапы:

Первый этап — представление и прием заявки на аккредитацию с комплектом документов.

Второй этап — экспертиза представленных лабораторией документов.

Третий этап — проверка лаборатории на месте аттестационной комиссией.

Четвертый этап — принятие решения об аккредитации, оформление и выдача аттестата аккредитации (или отказ в аккредитации).

Пятый этап — инспекционный контроль аккредитованной лаборатории.