



Тестування на холеру та міркування від і для лабораторій

Nadia WAUQUIER

Програма боротьби з холерою

Штаб-квартири ВООЗ

Секретаріат GTFCC

- Вітаю!
 - ✓ Лабораторії у сфері громадського здоров'я
 - ✓ Клініцистів, працівників закладів охорони здоров'я
 - ✓ Та всіх інших, хто приєднався

- План вебінару:
 - ✓ Загальна інформація про лабораторне тестування на холеру
 - ✓ Ключові міркування щодо вибору стратегії тестування
 - ✓ Фокус на громадському здоров'ї
 - ✓ Детальний опис того, як брати зразки та використовувати ШДТ
 - ✓ Загальний опис лабораторних протоколів (та відповідні документи з довідковою інформацією)
 - ✓ Сесія запитань і відповідей

Холера та *VIBRIO CHOLERAE*



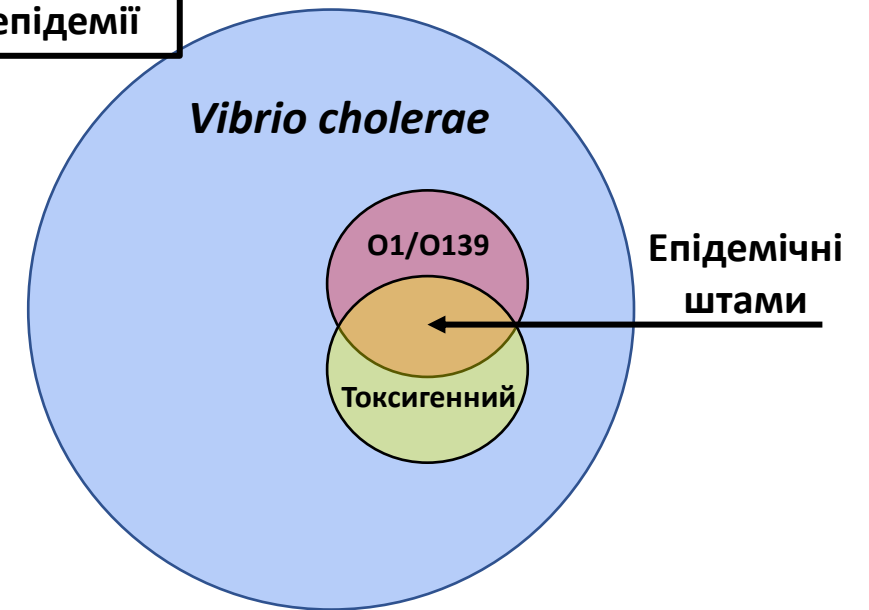
Фото бактерії *Vibrio cholerae*
www.cdc.gov/cholera

- Член родини Vibrionaceae
- Зігнута Грам-негативна палочка
- Рухлива, має флагеллу з одного боку
- Описано більше 200 серогруп базуючись на O-антигені
- Додатково класифікується на серогрупи і біотипи

Тільки токсигенні штами *V. cholerae*
O1 або O139 викликають епідемії

▪ Холера: гостра інфекція з діареєю, що викликається через проковтування їжі або води контамінованих токсигенними *Vibrio cholerae* O1 або O139.

▪ Може поширюватися і вбивати швидко в разі, якщо відсутнє лікування



ПІДОЗРЮВАНИЙ ВИПАДОК ХОЛЕРИ — ВИЗНАЧЕННЯ

Пацієнт віком ≥ 2 роки, який має гостру водянисту діарею
ТА
Тяжке зневоднення або помирає від них



НЕ кожен пацієнт незалежно від віку
НЕ всі типи діареї
НЕ лише діарея

ГОСТРА

Триває менше за 7 днів

ВОДЯНИСТА

Рідкі випорожнення без домішок крові, які
можуть містити домішки слизу

ДІАРЕЯ

Три чи більше рідких випорожнень протягом
24 годин

ТЯЖКЕ ЗНЕВОДНЕННЯ

Одна чи більше небезпечна ознака

Летаргія

Втрата свідомості

Відсутній чи слабкий пульс

Порушення дихання

АБО

Принаймні дві з таких ознак

Запалість очей

Нездатність пити чи відмова від пиття рідини

Дуже повільне розгладження шкірної складки

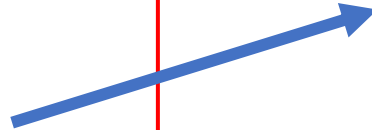
(> 2 секунди)

У РАЗІ ВИЯВЛЕННЯ ПІДОЗРЮВАНОВОГО ВИПАДКУ ХОЛЕРИ...

1 Лікування пацієнта (протокол регідrataції)
[вебінар щодо ведення випадків]

2 Тестування на холеру

3 Документування та негайне звітування
[вебінар щодо нагляду за холерою]



Для клінічного ведення випадків тестування не проводиться. Позитивний/негативний результат не змінює протокол лікування

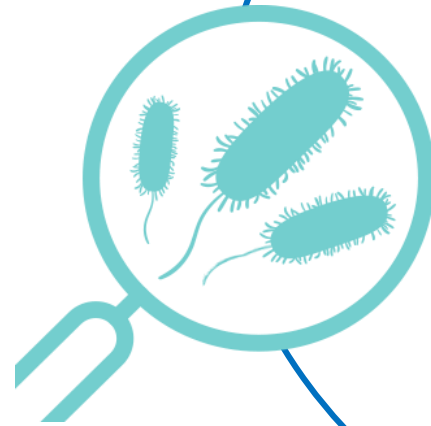
Отож, навіщо проводити тести?

- ✓ Швидке підтвердження циркуляції *Vibrio cholerae* з епідемічним потенціалом
- ✓ Нагляд із метою ефективнішого спрямування втручань у сфері громадського здоров'я для боротьби зі спалахом

Примітка: за можливості не давайте пацієнтам антибіотики до взяття зразків фекалій

ІНСТРУМЕНТИ ДІАГНОСТИКИ — ХОЛЕРА

Кожен тест має свою конкретну мету і не має виконуватися у кожному випадку та для кожного пацієнта/зразка.



→ Стратегія тестування

Швидкі діагностичні тести (ШДТ)

Виявлення антигенів VC серогруп O1 та O139
< 30 хв

Культуральне дослідження, тест на оксидазу, аглютинація з сироваткою

Золотий стандарт
Ймовірна ідентифікація VC серогруп O1 та O139
24–48 год

Полімеразна ланцюгова реакція

Виявлення генів холерних токсинів — обов'язково
Також може визначити вид VC, гени серогруп O1/O139
2–4 год

СТРАТЕГІЯ ТЕСТУВАННЯ — ХОЛЕРА

До підтвердження спалаху

■ Швидке виявлення підтвердженого випадку токсигенного VC серогрупи O1/O139

- ✓ ШДТ < 30 хв
- ✓ Виявляє O1 O139
- ✓ Не є на 100% точним
- ✓ Не підтверджує токсигенність
- ✓ Культуральне дослідження для підтвердження VC O1/O139 (у лабораторії, 24–48 год)
- ✓ ПЛР-тест для підтвердження токсигенності (у лабораторії, 4 год)
- ✓ При підтвердженні спалаху кільком першим випадкам проводять тестування чутливості до протимікробних препаратів

СТРАТЕГІЯ ТЕСТУВАННЯ — ХОЛЕРА

Після підтвердження спалаху

- Моніторинг оцінок інцидентності
 - ✓ ШДТ
 - ✓ Чудовий інструмент для швидкого визначення зразків, які слід відправляти в лабораторію; дає швидку оцінку
 - ✓ Підтвердження для частини зразків шляхом культурального дослідження

- Моніторинг географічного поширення
 - ✓ ШДТ для швидкого виявлення потенційного географічного поширення
 - ✓ Підтвердження шляхом культурального дослідження/ПЛР-тестування для визначення токсигенності VC O1/O139

- Моніторинг змін у профілях чутливості/стійкості
 - ✓ Тестування чутливості до протимікробних препаратів — регулярно, але нечасто
 - ✓ Початкове тестування, після чого нагляд

СТРАТЕГІЯ ТЕСТУВАННЯ — ХОЛЕРА

До підтвердження спалаху	Ранні етапи підтвердженого спалаху*
<p>Мета тестування: Раннє виявлення спалаху</p> <p>Збирайте зразки фекалій у всіх підозрюваних випадків</p> <p>Проводьте скринінг за допомогою ШДТ для всіх підозрюваних випадків</p> <p>Підтвердження ШДТ+ Культуральне дослідження та аглютинація з сироваткою</p> <p>токсигенності ПЛР-тест для підтвердження</p>	<p>Мета тестування: Моніторинг спалаху</p> <p>Збирайте зразки фекалій у 1 з 20 підозрюваних випадків</p> <p>Проводьте скринінг за допомогою ШДТ для 1 з 20 підозрюваних випадків</p> <p>Підтвердження ШДТ+ Культуральне дослідження та аглютинація з сироваткою</p> <p>токсигенності* ПЛР-тест для підтвердження</p> <p>Початкове тестування, після чого нагляд за СПП</p>

ПІДТВЕРДЖЕНИЙ ВИПАДОК ХОЛЕРИ Підозрюваний випадок, інфікований токсигенною бактерією *Vibrio cholerae* (серогрупи O1 чи O139)

ПІДТВЕРДЖЕНИЙ СПАЛАХ ХОЛЕРИ Щонайменше один підтверджений випадок холери з даними про передавання інфекції на місцевому рівні

ВЗЯТТЯ ЗРАЗКІВ ФЕКАЛІЙ

- **Перший крок для проведення будь-якого тестування**
- **Не давайте пацієнтам антибіотики до взяття зразків**
- **Якщо пацієнт приймав антибіотики, внесіть наявну інформацію до форм взяття зразків**
 - ✓ **Який саме антибіотик?**
 - ✓ **У якому дозуванні?**
 - ✓ **Коли?**

Примітка про відсутність інформації — також інформація!

ВЗЯТТЯ ЗРАЗКІВ ФЕКАЛІЙ



1. За можливості вдягайте рукавички під час взяття зразків та роботи з ними — основні правила гігієни.
2. Збирайте зразки фекалій пацієнтів у чисті контейнери (без залишків засобів для дезінфекції або мийних засобів) з герметичною кришкою. Примітка: не збирайте зразки з підкладних суден, оскільки вони можуть містити залишки мийного засобу чи інших забруднювальних речовин.

Якщо отримати зразок фекалій неможливо, можна використовувати ректальний мазок (крок 5).

3. Зніміть обгортку з ручки стерильного тампона. Не торкайтеся кінчика тампона.
4. Для зразків фекалій: наберіть невелику кількість фекалій, зануривши тампон із кінчиком із бавовни чи поліестеру у зразок та виконавши обертальні рухи. Слиз та шматочки епітелію кишківника, за наявності, повинні збиратися за допомогою тампона.

Взяття ректальних мазків: зволожите тампон у стерильному транспортному середовищі, введіть його на 2–3 см вглиб сфінктера прямої кишки, прокрутіть і витягніть. Впевніться, що фекальний матеріал видно на тампоні.

ВЗЯТТЯ ЗРАЗКІВ ФЕКАЛІЙ — продовження

5. Одразу помістіть тампон у транспортне середовище. Тампон слід проштовхнути до дна пробірки з транспортним середовищем.
6. Відламайте та викиньте верхню частину палички, яка контактувала з рукою у рукавичці.
7. Повторіть кроки 4–7 для взяття додаткового зразка у того самого пацієнта, використовуючи новий стерильний тампон. Помістіть другий тампон у ту ж пробірку із середовищем Кері-Блера. Щільно закрутіть ковпачком пробірку з середовищем Кері-
8. Блера для запобігання протіканням.

- Вкажіть номер зразка та за можливості ім'я/ініціали пацієнта і дату взяття зразка на
9. розміщеній на пробірці етикетці чи прикріпіть етикетку до пробірки клейкою стрічкою.

Безпечно утилізуйте усі забруднені матеріали. Не використовуйте їх повторно.



ВЗЯТТЯ ЗРАЗКІВ ФЕКАЛІЙ



Ресурси

<https://www.cdc.gov/cholera/pdf/englishjobaid-stool-col-to-caryblair2.pdf>

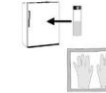
JOB AID: HOW TO COLLECT A FECAL SPECIMEN AND TRANSFER TO TRANSPORT MEDIUM

This document provides guidance on how to collect a fecal specimen and transfer to transport medium for diagnosis of acute bacterial diarrheal disease. Specimens that cannot be cultured within 2 hours of collection should be placed in Cary-Blair transport medium and refrigerated immediately.

Supplies needed:

- Specimen collection cup
- One tube of Cary Blair transport medium
- Sterile cotton or polyester-tipped applicators (swabs)
- Gloves
- Permanent marker
- Specimen labels or adhesive tape

1. Chill the tube of Cary Blair transport medium by placing it on ice packs or in the refrigerator 1 - 2 hours before collecting the specimen.



2. Gloves should be worn at all times when collecting and handling the specimen.



3. Collect stool from patients in a clean (no disinfectant or detergent residue) container with a tight-fitting, leak-proof lid. **Note:** Specimens should not be collected from bedpans, as they may contain residual disinfectant or other contaminants.

Alternatively if a stool specimen cannot be produced, rectal swabs may be collected as described in Step 5 below.

4. Remove the wrapper from the handle end of the sterile swab. Do not touch the tip of the swab.



5. **For Collected Stool Specimens:** Collect a small amount of stool by inserting a sterile cotton or polyester-tipped swab into the collected stool and rotating it. Mucus and shreds of intestinal epithelium, if present, should be sampled with the swab.



For Rectal Swabs: Moisten the swab in sterile transport medium, insert the swab through the rectal sphincter 2-3 cm (1-1.5 inches), rotate, and withdraw. Examine to ensure there is fecal material visible on the swab.



6. Immediately insert the swab into transport medium. The swab should be pushed completely to the bottom of the tube of transport medium.



7. Break off the top portion of the stick that was in contact with the gloved hand.



8. Repeat steps 4-7 for an additional sterile swab. Place the second swab in the same tube of Cary-Blair. Twist cap tightly on Cary-Blair tube to prevent leakage.



9. Record specimen number, and if possible the patient's name and date of collection, on the specimen label or adhesive tape and adhere to tube.



10. Safely dispose all contaminated materials. Do not reuse.



Doc. No. NERC/TEJ.002 Ver. No. 01 Effective Date: 05/01/2017

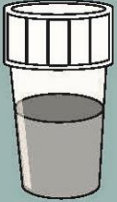

ВЗЯТТЯ ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ ДЛЯ ТРАНСПОРТУВАННЯ

ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ ФЕКАЛІЙ: 4 можливих варіанти

Під час роботи зі зразками завжди використовуйте рукавички і лабораторний халат.

Маркування зразків: Ретельно ідентифікуйте зразки та вкажіть (за допомогою перманентного маркера) ім'я пацієнта, дату, час та місце взяття зразка, а також місце перебування пацієнта, якщо він ймовірно інфікований.

Лабораторна форма: Використовуйте додаток 2В — форму для лабораторного повідомлення в рамках нагляду на основі випадків IDSR.¹

Зразок фекалій у контейнері для фекалій	ЛПВ (лужна пептонна вода)	Вологий та сухий фільтрувальний папір (ВФП/СФП)	Середовище Кері-Блера, зразок фекалій або ректальний тампон
 <p>Зберігайте зразок у первинному контейнері.</p>	 <p>Перенесіть фекальний матеріал із первинного контейнера до пробірки з ЛПВ. ПРИМІТКА: Об'єм фекального матеріалу не повинен перевищувати 10% об'єму середовища для збагачення (ЛПВ).</p>	<p>ВОЛОГИЙ ФІЛЬТРУВАЛЬНИЙ ПАПІР (ВФП)</p>  <p>Занурте диск із фільтрувального паперу у водянистий фекальний матеріал за допомогою одноразового інструмента (пінцета, голки), перенесіть до пробірки, додайте 2–3 краплі фізрозчину, закрийте пробірку.</p> <p>СУХИЙ ФІЛЬТРУВАЛЬНИЙ ПАПІР (СФП)</p> <p>Крапніть одну краплю водянистого фекального матеріалу на фільтрувальний папір. Висушіть папір на повітрі перед поміщенням в індивідуальний пакет із адсорбентом.</p>	 <p>Для зразків фекалій: занурте тампон у рідкі фекалії й перенесіть у середовище Кері-Блера.</p> <p>Ректальний тампон: Помістіть тампон безпосередньо в середовище Кері-Блера. Жодні подальші маніпуляції не є необхідними.</p>

Сумісність із методами тестування (безпосередньо зі зразка або після етапів інкубації в лужній пептонній воді для тих, які позначені *)

ШДТ, культуральне дослідження, молекулярний аналіз	ШДТ, культуральне дослідження, молекулярний аналіз	ВФП: культуральне дослідження, молекулярний аналіз, ШДТ* СФП: молекулярний аналіз	Культуральне дослідження, молекулярний аналіз* та ШДТ
--	--	--	---

НЕОБХІДНИЙ МАТЕРІАЛ

Контейнер для фекалій (пластиковий, з кришкою на закрутці, 30 мл, без засобу для дезінфекції)	ЛПВ, пробірки з кришками на закрутках, піпетки або тампони для перенесення.	ВФП: диски з фільтрувального паперу (6 мм Ø, нестерильні), фізрозчин, пінцет або голка, пробірка 2 мл (з ковпачком на закрутці). СФП: Листки фільтрувального паперу (903 protein saver, FTA Elute Micro Cards), одноразові піпетки для перенесення матеріалу, індивідуальні пакети, засіб для дезінфекції.	Середовище Кері-Блера (напівтвердий стан, пляшечка/пробірка), тампон (стерильний, бавовна/поліестер)
---	---	---	--

Парафілм або клейка стрічка для запечаткування пакетів та запобігання протіканням (не потрібні у випадку використання сухого фільтрувального паперу).

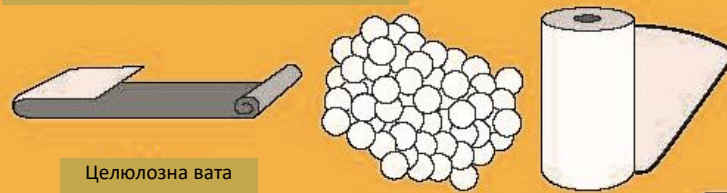
ВНУТРІШНЄ ТРАНСПОРТУВАННЯ (перевезення всередині країни автомобільним транспортом)

Первинні контейнери



Закриті первинні контейнери загортаються в пакувальний матеріал окремо. Між первинними і вторинними контейнерами розмішують поглинальний матеріал.

Поглиняльний матеріал



Целюзна вата

Ватні кульки

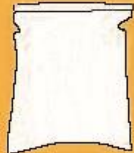
Паперові рушники



Вторинні контейнери



Полістирол для герметизації
Контейнер
(товщина стінок мінімум 1
дюйм [2,54 см])



Пластиковий
пакет на
застібці



Пластикові
резервуари

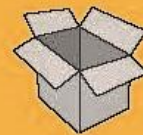


Контейнер із
кришкою на
закрутці

Третинні контейнери



Жорсткий охолоджувач
без акумуляторів
холоду



Гофрокартон



Біологічна
речовина,
категорія В

Зразки класифікуються як «Біологічна речовина, категорія В». Використання потрійного пакування з маркуванням UN3373 є рекомендованим, але не є обов'язковим. Альтернативи показані ліворуч.

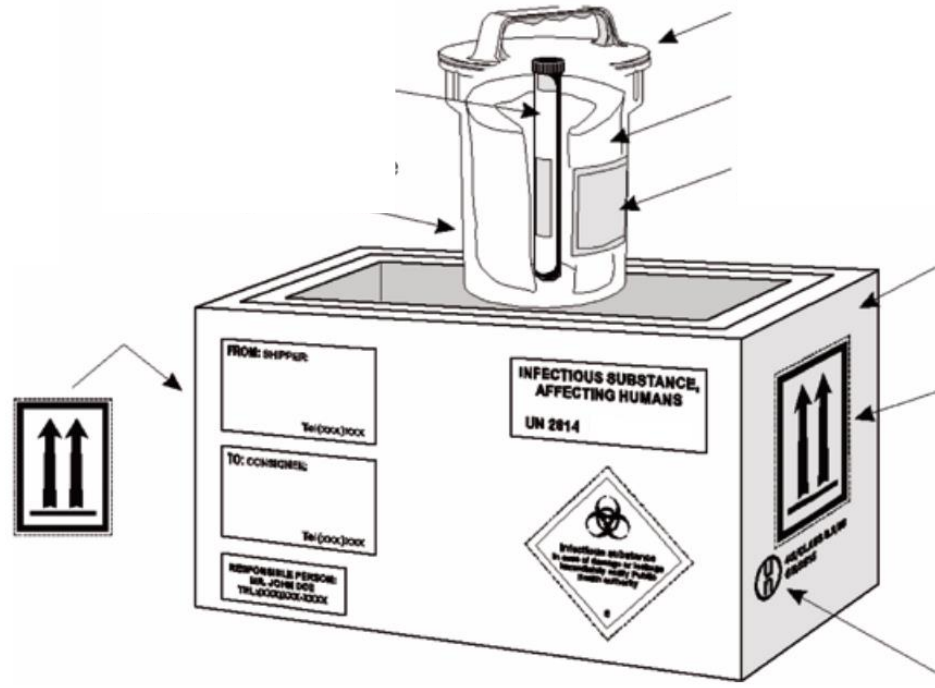
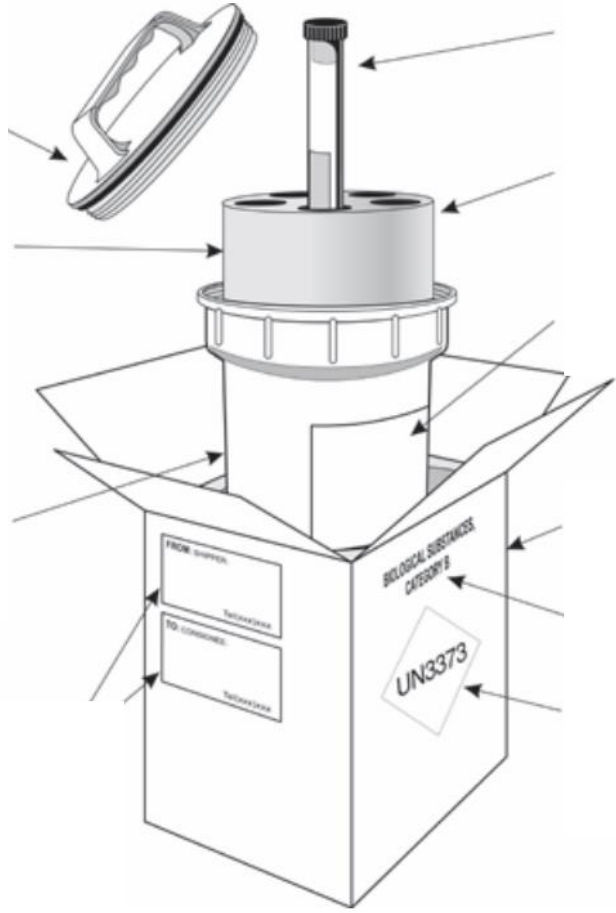
Зразки слід транспортувати з відповідною документацією (формами лабораторних запитів та/або списками). До такої документації рекомендовано додавати результати будь-яких тестів, які вже були проведені, напр., ШДТ. Не пишть назву організму на зовнішній стороні пакування, лише на бланках всередині коробки, якщо це необхідно.

ВАЖЛИВО: вкажіть повні адреси та номери телефонів відправника та одержувача. Поінформуйте приймаючу лабораторію про заплановане прибуття зразків.

ЗРАЗКИ СЛІД ТРАНСПОРТУВАТИ ПРИ ТЕМПЕРАТУРІ НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

GTFCSS, квітень 2019 року

¹ Annex 2B- Case-based laboratory reprint from https://www.afro.who.int/sites/default/files/2017-Q6/IDSR-Technical-Guidelines_Final_2010_0.pdf



ВЗЯТТЯ ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ ДЛЯ ТРАНСПОРТУВАННЯ






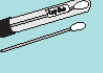




Ресурси

<https://www.gtfcc.org/wp-content/uploads/2020/09/gtfcc-job-aid-specimen-packaging-domestic-transportation-for-laboratory-confirmation-of-vibrio-cholerae.pdf>

<https://www.cdc.gov/cholera/pdf/englishjobaid-stool-col-to-caryblair2.pdf>

Specimen Packaging and Domestic Transportation for Laboratory Confirmation of *Vibrio cholerae* 01/0139



FAECAL SPECIMENS CONDITIONING: 4 possible options			
Use gloves and lab coat when handling samples at all times. Specimen Label: Carefully identify specimens and indicate (using a permanent marker) patient name, date of collection, time, location of sampling and location of patient when likely infected. Lab Form: Use Annex 2B-105R case-based laboratory reporting form.*			
Faecal Specimen in Stool Container	APW (alkaline peptone water)	Wet and Dry Filter Paper (WFP/DFP)	Cary Blair medium, Faecal Sample or Rectal Swab
 Keep in initial stool container.	 Transfer faecal material from initial container into APW tube. NOTE: The faecal material should not exceed 10% of the volume of the APW enrichment.	 WET FILTER PAPER (WFP) Dip filter disk into wet fecal material with single-use device (forceps, needle), transfer into tube, add 2 to 3 drops of saline, close tube. DRY FILTER PAPER (DFP) Deposit one drop of wet fecal stool into filter paper. Air dry paper before placing into individual pouch with desiccant.	 For faecal samples: dip swab in liquid stool and transfer into Cary Blair medium. Rectal swab: Place swab directly into Cary Blair. No further manipulation is required.
Compatibility with testing methods (either directly from sample or after incubation steps in APW for those marked with *).			
RDT, culture, molecular analysis	RDT, culture, molecular analysis	WFP: culture, molecular analysis, RDT* DFP: molecular analysis	Culture, molecular analysis* and RDT*
MATERIAL REQUIRED			
Stool container (plastic, screw cap, 50ml, without disinfectant)	APW tubes with screw cap, transfer pipettes or swabs	WFP: filter paper discs (6mm Ø, non-sterile), saline solution, forceps or needle, 2ml tube (screw cap) DFP: Whatman cards (903 protein saver, FTA Elute Micro Cards), disposable transfer pipettes, individual pouches, desiccant	Cary Blair (semi-solid, bottles/tubes), swab (sterile, cotton/polyester)
Parafilm or sealing tape to seal packages and prevent leakage (not required for dry filter paper).			
CONSERVATION			
Ambient temperature (ideally 22-25°C). Do not refrigerate. Keep stool container out of direct sunlight.			
2 hours max. if delay > 2h, use Cary Blair.	Less than 24 hours	WFP: ideally less than 15 days DFP: no limitation	Follow manufacturer's instructions, on average 7 days
DOMESTIC TRANSPORTATION (national shipment, by road)			
Primary Containers  Primary containers are individually wrapped, and absorbent material placed between the primary containers and the secondary containers.	Absorbent Materials  Culture Media Cotton Balls Paper Towels	Samples are categorized "biological substances" category II. The use of triple packaging with UN3373 labels are required, alternatives are shown on the left. Samples must travel with corresponding documentation (lab request form and/or lab log). Include any results that may have already been performed, such as RDT results. Do not write the name of the organism on the outside of the package, only on the paperwork inside the box where appropriate. IMPORTANT: Indicate complete address and phone number for sender and recipient. Inform recipient laboratory about upcoming arrival of samples. TRANSPORT AT AMBIENT TEMPERATURE ICHC, April 2019 <small>View the faecal specimen packaging: https://www.gtfcc.org/sites/default/files/2019-04/04-2019-faecal-specimen-packaging_2019_04.pdf</small>	
Secondary Container  Sealed Polyethylene Container (1-inch-thick minimum)	Tertiary Containers  Plastic Bag Plastic Container Screw Cap Can Rigid container without top pack Corrugated Fibre Board UN 3373 Biological Substances Category II		

JOB AID: HOW TO COLLECT A FECAL SPECIMEN AND TRANSFER TO TRANSPORT MEDIUM

This provides guidance on how to collect a fecal specimen and transfer to transport medium for diagnosis of acute bacterial diarrheal disease. Specimens that cannot be cultured within 2 hours of collection should be placed in Cary-Blair transport medium and refrigerated immediately.

Supplies needed:

- One tube of Cary Blair transport medium
- Sterile cotton-tipped applicators (swabs)
- Gloves
- Permanent marker
- Specimen labels or adhesive tape

- Chill the tube of Cary Blair transport medium by placing it on ice packs or in the refrigerator 1 - 2 hours before collecting the specimen.
- Gloves should be worn at all times when collecting and handling the specimen.
- Collect stool from patients in a clean (no disinfectant or detergent residue) container with a tight-fitting, leak-proof lid. **Note:** Specimens should not be collected from bedpans, as they may contain residual disinfectant or other contaminants.
- Remove the wrapper from the handle end of the sterile swab. Do not touch the tip of the swab.
- Collect a small amount of stool by inserting a sterile cotton- or polyester-tipped swab into the stool and rotating it. Mucus and shreds of intestinal epithelium if present, should be sampled with the swab.
- Immediately insert the swab into transport medium. The swab should be pushed completely to the bottom of the tube of transport medium.
- Break off the top portion of the stick that was in contact with the gloved fingers.
- Repeat steps 5-7 for an additional sterile swab. Place the second swab in the SAME tube of Cary-Blair. Twist cap tight on Cary-Blair tube and specimen cup to prevent leakage.
- Adhere specimen label to the container or write on adhesive tape and secure to tube.
- Safely dispose all contaminated materials. Do not reuse.



ШВИДКІ ДІАГНОСТИЧНІ ТЕСТИ (ШДТ) НА ХОЛЕРУ — Що це таке?

■ Обмежені чутливість та/або специфічність

- ✓ ШДТ+ >> ймовірність того, що підозрюваний випадок інфікований VC, є високою, однак 100% впевненість відсутня
- ✓ ШДТ- >> ймовірність того, що підозрюваний випадок не інфікований VC, є високою, однак 100% впевненість відсутня
- ✓ Уникайте довільного тлумачення результатів
 - ✓ Якщо спалах не був підтверджений, надсилайте зразки з позитивним результатом ШДТ до лабораторії для підтвердження
 - ✓ Якщо спалах був підтверджений, надсилайте 1 із 20 зразків із позитивним результатом ШДТ до лабораторії для підтвердження
- ✓ ШДТ, призначені для виявлення серогруп O1 та/або O139 мають тенденцію показувати більше позитивних результатів для O139



ШДТ НЕ СЛІД використовувати для ідентифікації окремих випадків захворювання

Це чудовий інструмент для скринінгу, прискорення виявлення спалахів та визначення зразків, які слід надсилати до лабораторії

ШВИДКІ ДІАГНОСТИЧНІ ТЕСТИ (ШДТ) НА ХОЛЕРУ — Що це таке?



- Імунохроматографічний аналіз

Виявлення антигенів O1 та/або O139

Виявлення у зразках фекалій

- Касета чи тест-смужка

(подібно до домашнього тесту на вагітність чи експрес-тестів на COVID)

- Можна застосовувати за місцем надання допомоги (необхідно зібрати зразок фекалій)

- На ринку наявна велика кількість ШДТ, що відрізняються за рівнем точності, і тому багато з них є менш придатними до використання. Жоден із них не пройшов прекваліфікацію ВООЗ. ВООЗ рекомендує та поширює такі ШДТ:

Crystal VC Ag O1/O139, SD Bioline Cholera Ag O1/O139



ШВИДКІ ДІАГНОСТИЧНІ ТЕСТИ (ШДТ) НА ХОЛЕРУ — Рекомендації перед тестуванням

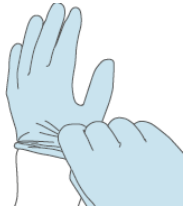
- **Перевірте строк придатності наявних ШДТ**
- **Перевірте, чи дотримано належних умов зберігання (відповідно до інструкцій виробника)**
- **ВООЗ рекомендує ШДТ 2 торгових марок. Усі інші ШДТ слід використовувати з обережністю та перевіряти, чи підходять вони для використання у поточних умовах**

- **Призначте працівників закладів охорони здоров'я чи лабораторій, які проводитимуть ШДТ**
- **Навчання**
 - Стратегія тестування (виявлення підозрюваних випадків, кого та коли тестувати)**
 - Використання ШДТ (як проводити тест)**
 - Базові заходи з ПІК та бар'єрний догляд**

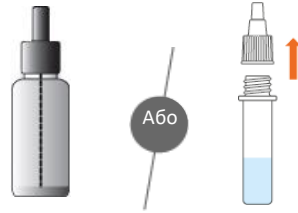
- **Тестування за місцем надання допомоги чи в лабораторії за умови належного транспортування зразків?**
- **Можна підвищити специфічність за рахунок збагачення зразка у ЛПВ**

ШВИДКІ ДІАГНОСТИЧНІ ТЕСТИ (ШДТ) НА ХОЛЕРУ — Інструкція з використання

1 Використовуйте відповідні засоби індивідуального захисту (ЗІЗ). Використовуйте нові рукавички для кожного пацієнта.



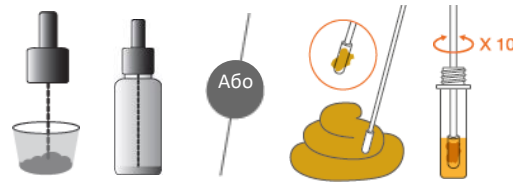
2 Відкрийте кришку пробірки для взяття зразків. Вкажіть на пробірці ідентифікаційні дані пацієнта.



Флакони для оброблення зразків

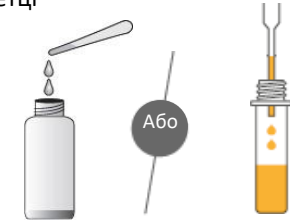
Пробірка для взяття зразків

3 **Тверді зразки фекалій:** Відберіть достатню кількість зразку фекалій за допомогою тампона для взяття зразків.



Після перенесення зразка у пробірку викидайте тампон або піпетку в контейнер для гострих відходів або пакет із подвійною застіркою і маркуванням «біонебезпека»

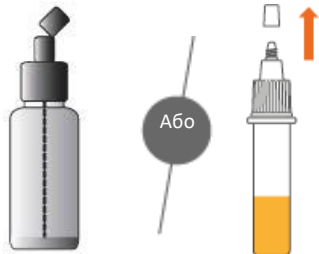
Рідкі зразки фекалій: Наберіть рідкий зразок фекалій до лінії, промаркованої на одноразовій піпетці



4 Щільно закрийте флакон для оброблення зразків або пробірку для взяття зразків та струсіть його(її) так, щоб вміст перемішався.



5 Відламайте/відкрийте кінчик/ковпачок (у напрямку від себе або прикриваючи його серветкою, щоб уникнути розбризкування зразка). Крапніть 4 краплі обробленого зразка у промарковану пробірку об'ємом 5 мл.



6 Обережно відкрийте пакет. Утилізуйте тест-смужку, якщо вона пошкоджена або якщо адсорбент відсутній чи має змінений колір. Напишіть ім'я пацієнта на тест-смужці чи касеті.



Тест-смужка



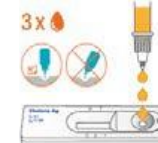
Касета

7 **Тест-смужка:** Помістіть тест-смужку в пробірку для тестування стрілками донизу. Переконайтеся, що кінець смужки занурений в оброблений зразок.



Пробірка із вставленою тест-смужкою

Касета: Тримаючи пробірку для взяття зразків вертикально, крапніть 3 краплі у лунку для зразка «S» касети.



Касета



8 **Тест-смужка:** Зачекайте 15–30 хвилин. Вийміть смужку і зчитайте результат.



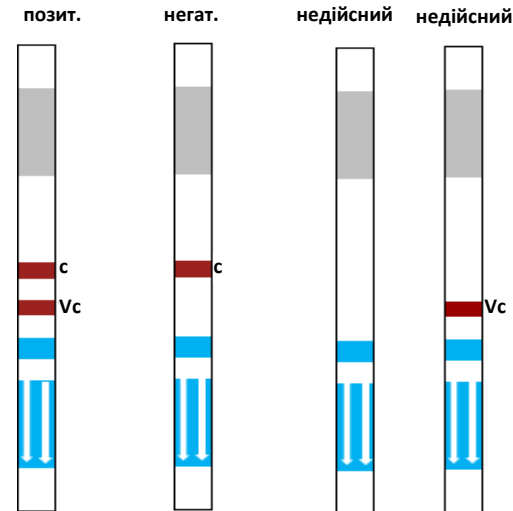
Касета: Зчитуйте результати тесту протягом 15 хвилин після додавання зразка.



Оскільки ШДТ різного типу — навіть одного і того самого виробника — можуть мати різне розташування контрольної лінії та лінії позитивного результату на смужці, для коректного тлумачення результатів користуйтеся інструкціями виробника, що надаються разом із ШДТ.

Приклад→

Контрольна лінія має з'явитися на всіх смугах. Якщо вона не з'являється, результат вважається недійсним, і зразок слід повторно протестувати за допомогою нового набору для тестування.



ШВИДКІ ДІАГНОСТИЧНІ ТЕСТИ (ШДТ) НА ХОЛЕРУ



Ресурси

<https://www.gtfcc.org/wp-content/uploads/2022/01/gtfcc-job-aid-rapid-diagnostic-test-for-cholera-detection.pdf>

<https://ensur.invmed.com/ensur/contentAction.aspx?key=ensur.451795.S2R4E4A3.20181224.9265.4192408>

<https://www.cdc.gov/cholera/pdf/crystal-vc-eng-p.pdf>

КУЛЬТУРАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЙМОВІРНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ ХОЛЕРИ

До підтвердження спалаху	Ранні етапи підтвердженого спалаху*
<p>Мета тестування: Раннє виявлення спалаху</p> <p>Збирайте зразки фекалій у всіх підозрюваних випадків</p> <p>Проводьте скринінг за допомогою ШДТ для всіх підозрюваних випадків</p> <p>Підтвердження ШДТ+ Культуральне дослідження та аглютинація з сироваткою</p> <p>токсигенності ПЛР-тест для підтвердження</p>	<p>Мета тестування: Моніторинг спалаху</p> <p>Збирайте зразки фекалій у 1 з 20 підозрюваних випадків</p> <p>Проводьте скринінг за допомогою ШДТ для 1 з 20 підозрюваних випадків</p> <p>Підтвердження ШДТ+ Культуральне дослідження та аглютинація з сироваткою</p> <p>токсигенності* ПЛР-тест для підтвердження</p> <p>Початкове тестування, після чого нагляд за СПП</p>

Культуральне дослідження всіх ШДТ+, ШДТ для всіх підозрюваних випадків

Культуральне дослідження всіх ШДТ+, ШДТ для 1 з 20 підозрюваних випадків*

Для підтвердження серогрупи O1/O139

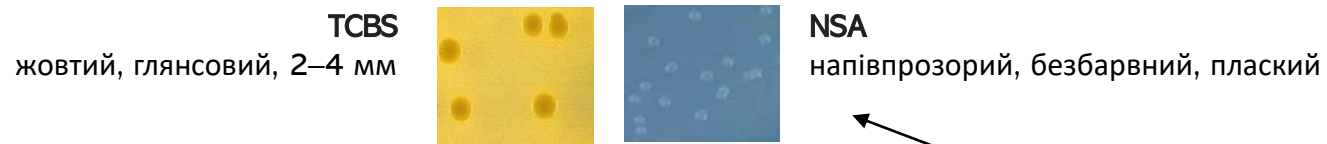
ІЗОЛЯЦІЯ *VIBRIO CHOLERAE*

ЗРАЗОК ФЕКАЛІЙ АБО РЕКТАЛЬНИЙ МАЗОК

18–24
ГОД



ВИЯВЛЕННЯ ПІДОЗРЮВАНИХ КОЛОНІЙ



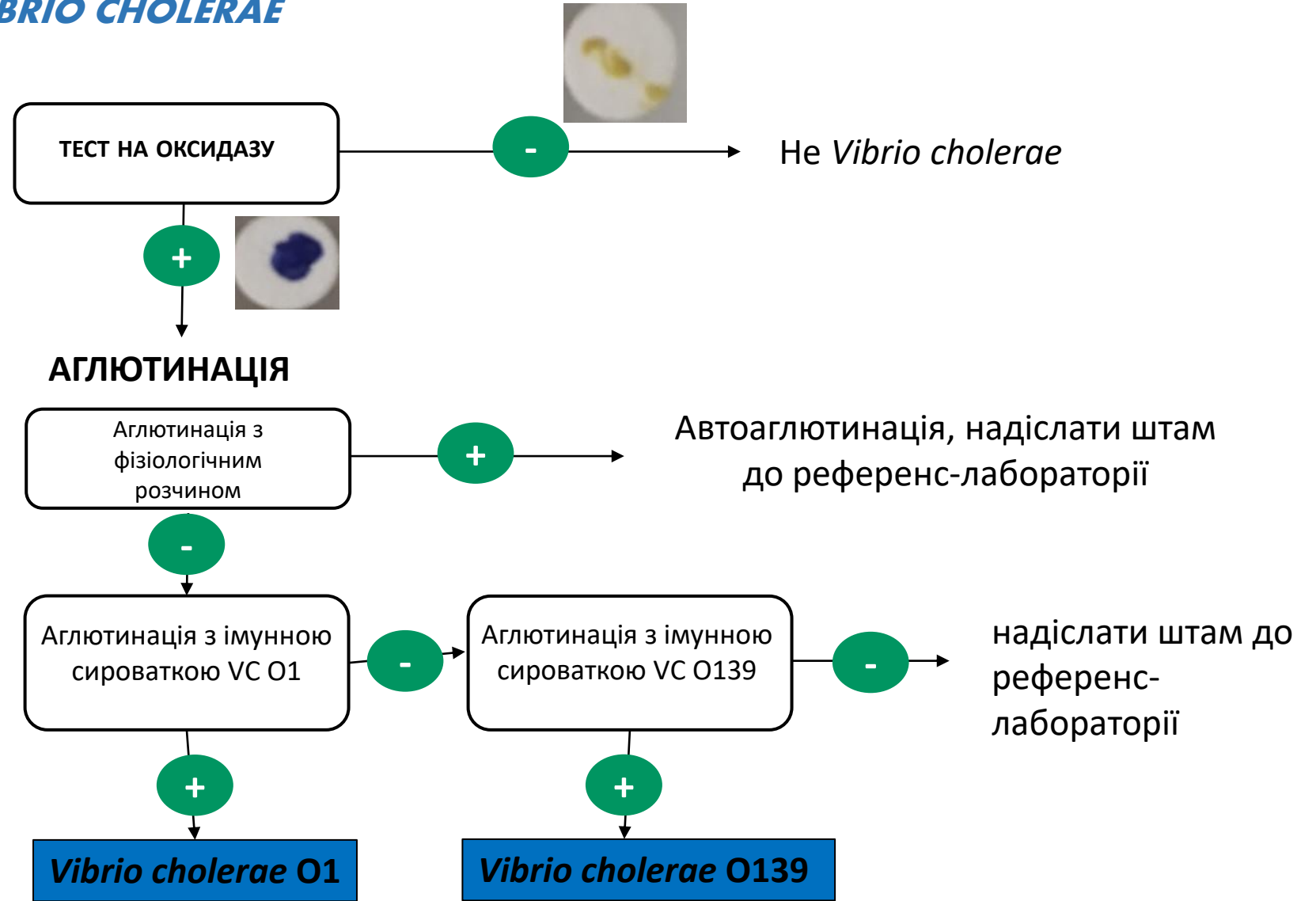
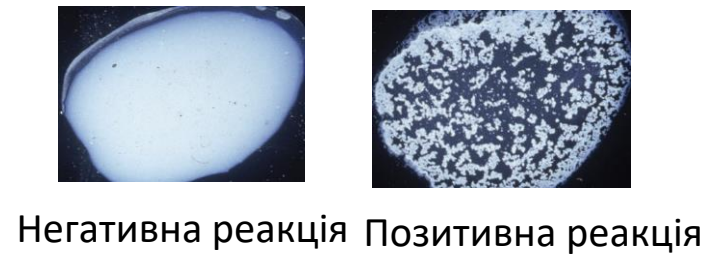
Інкубація протягом 18 год при т. 35+/-2°C

18
ГОД

ІЗОЛЯЦІЯ ПІДОЗРЮВАНИХ КОЛОНІЙ НА NSA

Якщо на цьому етапі підозрювані колонії добре ізольовані на NSA, можна одразу проводити тест на оксидазу

ЙМОВІРНА ІДЕНТИФІКАЦІЯ *VIBRIO CHOLERAE*



ПОВІДОМИТИ ВІДПОВІДНІ ОРГАНИ ВЛАДИ

КУЛЬТУРАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ *VIBRIO CHOLERAE*



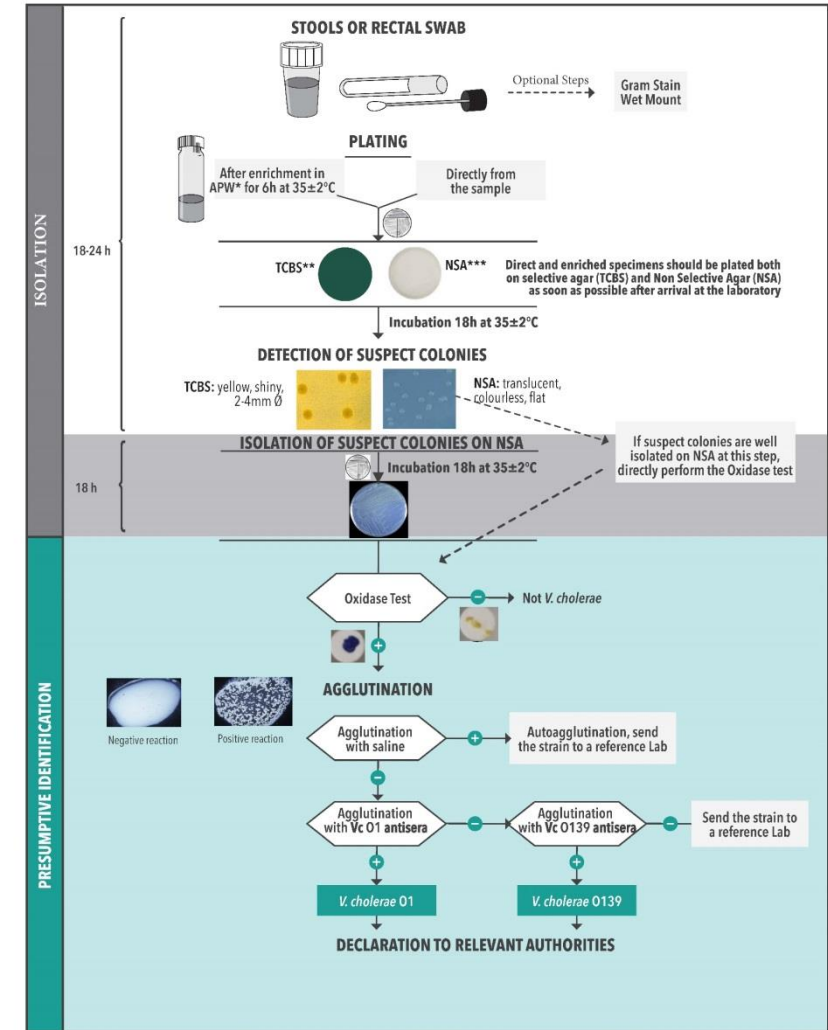
Ресурси

Isolation and Presumptive Identification of VC O1/O139 from fecal specimens (GTFCC Job Aid, soon to be published)

<https://www.cdc.gov/cholera/pdf/laboratory-methods-for-the-diagnosis-of-vibrio-cholerae-chapter-4.pdf>

<https://www.cdc.gov/cholera/pdf/laboratory-methods-for-the-diagnosis-of-vibrio-cholerae-chapter-6.pdf>

Isolation and Presumptive Identification of *Vibrio cholerae* O1/O139 from fecal specimen



GTFCC, V1.0, April 2019

ПОЛІМЕРАЗНА ЛАНЦЮГОВА РЕАКЦІЯ

До підтвердження спалаху	Ранні етапи підтвердженого спалаху*
<p>Мета тестування: Раннє виявлення спалаху</p> <p>Збирайте зразки фекалій у всіх підозрюваних випадків</p> <p>Проводьте скринінг за допомогою ШДТ для всіх підозрюваних випадків</p> <p>Підтвердження ШДТ+ Культуральне дослідження та аглютинація з сироваткою</p> <p>токсигенності ПЛР-тест для підтвердження</p>	<p>Мета тестування: Моніторинг спалаху</p> <p>Збирайте зразки фекалій у 1 з 20 підозрюваних випадків</p> <p>Проводьте скринінг за допомогою ШДТ для 1 з 20 підозрюваних випадків</p> <p>Підтвердження ШДТ+ Культуральне дослідження та аглютинація з сироваткою</p> <p>токсигенності ПЛР-тест для підтвердження</p> <p>Початкове тестування, після чого нагляд за СПП</p>

Всі O1/O139, всі ШДТ+, ШДТ для всіх підозрюваних випадків

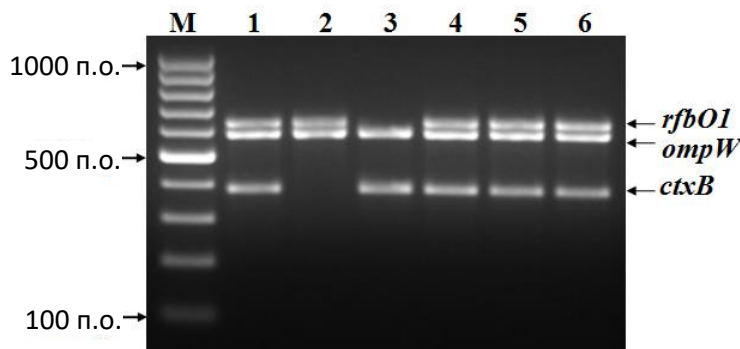
O1/O139, всі ШДТ+, ШДТ для 1 з 20 підозрюваних випадків*

Токсигенні O1/O139

ПОЛІМЕРАЗНА ЛАНЦЮГОВА РЕАКЦІЯ

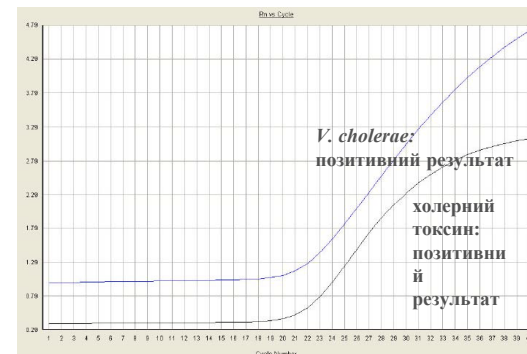
- Наразі не проводиться у країні
- Складнощі з постачанням наборів для ПЛР, у продажу відсутні схвалені набори для ПЛР
- Внутрішнє тестування працює добре, не стандартизоване
- Необхідна лише для підтвердження токсигенності на початку спалаху

Цільова послідовність	Мета застосування	Матриця зразка	Приклади бібліографічних посилань
ISR <i>ompW</i>	Ідентифікація виду	Зразок фекалій або очищена ДНК	Chun et al, AEM.1999, 65 , 2202-08 Nandi et al, JCM 2000, 38 (11):4145
ген <i>rfb</i> 01 ген <i>rfb</i> 0139	Визначення серогрупи	Зразок фекалій або очищена ДНК	Hoshino et al, FEMS IMM, 1998, 20 , 201-7
<i>ctxA</i> <i>ctxB</i>	Виявлення генів холерних токсинів	Зразок фекалій або очищена ДНК	Fields et al, JCM, 1992, 30 , 2118-21 Olsvik et al, JCM, 1993, 31 , 22-25



<http://dx.doi.org/10.4314/wsa.v39i5.4>

Завершена ПЛР
- симплексна
- мультиплексна



Мультиплексна ЗТ-ПЛР

JID 2013;208 (Додаток 1)

ТЕСТУВАННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО ПРОТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ

До підтвердження спалаху	Ранні етапи підтвердженого спалаху*
<p>Мета тестування: Раннє виявлення спалаху</p> <p>Збирайте зразки фекалій у всіх підозрюваних випадків</p> <p>Проводьте скринінг за допомогою ШДТ для всіх підозрюваних випадків</p> <p>Підтвердження ШДТ+ Культуральне дослідження та аглютинація з сироваткою</p> <p>токсигенності ПЛР-тест для підтвердження</p>	<p>Мета тестування: Моніторинг спалаху</p> <p>Збирайте зразки фекалій у 1 з 20 підозрюваних випадків</p> <p>Проводьте скринінг за допомогою ШДТ для 1 з 20 підозрюваних випадків</p> <p>Підтвердження ШДТ+ Культуральне дослідження та аглютинація з сироваткою</p> <p>токсигенності ПЛР-тест для підтвердження</p> <p>Початкове тестування, після чого нагляд за СПП</p>

Аналіз чутливості до антимікробних препаратів для перших підтверджених випадків
Після цього — періодичне тестування протягом періоду спалаху

ТЕСТУВАННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО ПРОТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ

- **Визначте профілі чутливості до протимікробних препаратів у перших лабораторно підтверджених ізолятах**
- **Періодичне тестування для повторного аналізу профілів чутливості. Будь-яка набута стійкість до протимікробних препаратів?**
 - ✓ **Основа для визначення стратегії протимікробної терапії**
- **Лабораторні набори ВООЗ містять реагенти та матеріали для:**
 - ✓ **Диско-дифузійного методу в агарі з використанням дисків, просочених антибіотиком у визначених концентраціях**
 - ✓ **Визначення мінімальної інгібувальної концентрації (МІК) за допомогою тестів-смужок, на які нанесений градієнт попередньо визначених концентрацій антибіотиків**

ТЕСТУВАННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО ПРОТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ



Ресурси

<https://www.gtfcc.org/wp-content/uploads/2021/04/gtfcc-job-aid-antimicrobial-susceptibility-testing-for-treatment-and-control-of-cholera.pdf>

Antimicrobial Susceptibility Testing for Treatment and Control of Cholera



OBJECTIVE : To provide instruction for determining in vitro susceptibility of *Vibrio cholerae* 01/0139

METHODS

Combination of two methods:

- Agar disk diffusion method with antibiotic impregnated disks at predetermined concentrations
- Measurement of minimum inhibitory concentration (MIC) by using test-strips impregnated with a gradient of predefined concentrations of antibiotics

NOTE: Test strips are recommended for antibiotics for which no breakpoint is defined or when complementary tests are needed.
NOTE: Control strain(s) should always be set up in parallel with test strains.

MATERIALS REQUIRED

- Mueller Hinton Agar (MHA) plates (4 mm ± 0,5mm deep)
- Sterile saline solution (0,85% or 0,9%) ± test tubes of identical size for bacterial suspensions and the McFarland turbidity standard
- Sterile cotton tipped swabs
- Automatic disk dispenser or template with 5 or 6 disk spacing pattern and forceps
- Metric ruler (that can measure in mm)
- 0.5 McFarland turbidity standard
- Sheet of white paper with sharp black lines (can be prepared by hand or printed out)
- Control strain : *Escherichia coli* ATCC 25922



Antibiotic to be tested and recommended method:

- Azithromycin (AZ), MIC measurement
- Ciprofloxacin (CIP), MIC measurement (used to monitor the level of susceptibility to CIP for strains resistant to NA)
- Nalidixic acid (NA), disk diffusion (30 µg)* (used as an indicator of reduced fluoroquinolones susceptibility)
- Tetracycline (TE), disk diffusion (30 µg)

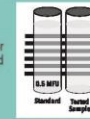
AZ, CIP and TE are the three selected antibiotics recommended for treatment of cholera according to GFCC: https://www.who.int/cholera/task_force/use-of-antibiotics-for-the-treatment-of-cholera.pdf?ua=1
• Store antibiotic disks and test-strips between -20°C and 8°C according to manufacturer's instructions.
• Check expiration date of antibiotic disks and test strips prior use.

PROCEDURE FOR DISK AND STRIP TESTING

1. Preparation of inoculum

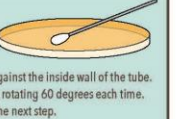
Prepare a bacterial suspension with a few well-isolated colonies from an overnight (18-24 hours at 35 ± 2°C) agar culture in sterile saline solution adjusted to 0,5 McFarland by comparison to the standard.

NOTE: Ensure that the Standard is aliquoted into a tube that is the same size as the tube used to prepare the test suspension.



2. Inoculation of MHA

- Not more than 15 minutes after preparing the inoculum suspension.
- Dip cotton swab in bacterial suspension; remove excess liquid by pressing the swab against the inside wall of the tube.
- Streak the entire surface of the plate 3 times, rotating 60 degrees each time.
- Ensure the surface is completely dry before the next step.



3. Application of antibiotic disks

- Not more than 15 minutes after swabbing.
- Place the disks individually with an automatic disk dispenser or sterile forceps, gently pressing down onto the agar.
- Do not move disks once deposited.
- Replace lid, invert the plates and place in the incubator.

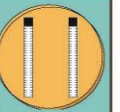
NOTE: Allow disks to reach ambient temperature before opening cartridge or container for storage.



4. Application of test-strips

- Not more than 15 minutes after swabbing.
- Place the strips on the agar according to the recommendations of the manufacturer.
- Do not move strips once deposited.
- Replace lid, invert the plates and place in the incubator.

NOTE: Test strips must be consistently stored in a freezer at -20°C. Allow strips that will be used to reach ambient temperature before placing on the agar.



5. Incubation: 18 hours at 35°C ± 2°C.

6. Reading: After 18 hours, observe the plate and measure the diameter (mm) of the inhibition ring. Read MIC value (in µg/ml) at the intersection of the lower part of the ellipse-shaped growth inhibition area with the test-strip. If a MIC value is between two fold dilutions, always round up to the highest value.

INTERPRETATION OF RESULTS

Results from the tetracycline disk should be used to predict susceptibility to doxycycline.
*NA susceptibility testing is an optional step but has proven to be a reliable and inexpensive first line screening tool for the detection of strains that should be individually tested for susceptibility to CIP. Strains categorized as sensitive to NA can be categorized as sensitive to CIP. If resistant to NA, the isolate should be tested for susceptibility to CIP by MIC measurement.

NOTE: Additional antibiotics can be tested for the epidemiological monitoring of strains (i.e., colistin, polymyxin B, ampicillin, chloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole, ceftazidime, first and second generations streptomycin).

Quality Control

If the control strain results are unexpected or out of range, any results on VC strains are invalid and the laboratory should investigate the sources of error.

INTERPRETATION: please refer to one of the following standards:

EUCAST: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables/v_9.0_Breakpoint_Tables.pdf (using interpretative criteria for the Enterobacteriaceae)

CLSI: https://clsi.org/media/1450/m45ed3_sample.pdf

NOTE: The standards are reviewed on a regular basis, please check you are using an up-dated version.

This document is intended for use by Reference Laboratories. Please keep update until testing is complete or in accordance with the laboratory sample retention policy.

©GTFCC, V1.0, March 2021

РЕКОМЕНДАЦІЇ ЩОДО НАГЛЯДУ ЗА ДОВКІЛЛЯМ



Загалом, ВООЗ та GTFCC не рекомендують тестувати джерела води на наявність *Vibrio cholerae* для виявлення спалахів в ендемічних місцевостях.

В Україні ситуація відрізняється, неендемічна місцевість >> серйозний дозорний нагляд за довкіллям та моніторинг усіх *Vibrios* та інших збудників у довкіллі >> встановлення ризику

- ✓ Пріоритет — виявлення осіб із холерою
 - ✓ Пам'ятайте, що виявлення VC серогруп O1/O139 у довкіллі не свідчить про ризик холери
- Вкрай важливо відрізнити нетоксигенні штами у довкіллі від токсигенних штамів, що циркулюють під час спалаху





Регулярна перевірка якості питної води

- **Мета: запобігання спалахам захворювання в умовах підвищеного ризику або пом'якшення наслідків спалахів: забезпечення доступу до безпечної питної води та моніторинг фекального забруднення (шляхом моніторингу бактерій, що вказують на фекальне забруднення)**
 - ✓ **Тестування рівнів залишкового вільного хлору**
 - ✓ **Бактерії, що вказують на фекальне забруднення (*Escherichia coli*, термотолерантні коліформні бактерії)**

ПОВІДОМЛЕННЯ

- Переглядайте звітну документацію, яку заклади охорони здоров'я надсилають до лабораторії (для відправлення зразків, інформацію про пацієнтів)
- Переглядайте звітну документацію лабораторій
- Надавайте інформацію:
 - Закладам охорони здоров'я, у які госпіталізовано пацієнтів
 - Підрозділам із нагляду за захворюваннями у відповідних органах влади у сфері охорони здоров'я

- ✓ Якомога раніше виявлення першого випадку >> швидке впровадження заходів із контролю
- ✓ Здійснення моніторингу спалаху, посилена увага до поширення у нових географічних районах

ПЛАН ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ ГОТОВНОСТІ



- **Визначте відповідальні лабораторії та персонал**
- **Перевірте СОП, розробіть СОП**
- **Забезпечте наявність достатньої кількості реагентів/матеріалів**
- **Регулярно оцінюйте потреби в матеріалах/реагентах**
- **Створіть системи швидкого поповнення запасів**
- **Забезпечте наявність системи для безпечного транспортування зразків до лабораторії**
- **Децентралізуйте тестування**
 - **Забезпечте спроможності для підтвердження випадків на периферії**
 - **Лабораторії при лікарнях, периферійні лабораторії**
 - **Під керівництвом центральної лабораторії у сфері громадського здоров'я**
- **Проведіть підготовку лаборантів / тренінги з підвищення кваліфікації**
 - **Культуральне дослідження та ПЛР**
- **Відпрацюйте процедури повідомлення**

ДЯКУЮ!

Контакти

Відділ з питань холери у
штаб-квартирі ВООЗ:
cholera@who.int

Секретаріат GTFCC:
GTFCCsecretariat@who.int

