

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И  
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Порядок организации и проведения  
лабораторной диагностики чумы  
для лабораторий территориального,  
регионального и федерального уровней**

Дополнения и изменения 1 к МУК 4.2.2940—11

Методические указания  
МУК 4.2.3398—16

Издание официальное

**Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека**

**4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И  
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Порядок организации и проведения  
лабораторной диагностики чумы  
для лабораторий территориального,  
регионального и федерального уровней**

**Дополнения и изменения 1 к МУК 4.2.2940—11**

**Методические указания  
МУК 4.2.3398—16**

ББК 51.9  
П60

**П60**     **Порядок организации и проведения лабораторной диагностики чумы для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней. Доп. и изм. 1 к МУК 4.2.2940—11: Методические указания.**—М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.—10 с.

ISBN 978—5—7508—1543—2

1. Разработаны Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (А. Ю. Попова, В. Ю. Смоленский, Е. Б. Ежлова, Ю. В. Демина, Н. Д. Пакскина), Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (В. В. Кутырев, С. А. Щербакова, И. Н. Шарова, Н. А. Осина, Е. С. Казакова, Г. А. Ерошенко).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой 1 сентября 2016 г.

3. Введены в действие с момента утверждения.

4. Введены впервые.

**ББК 51.9**

ISBN 978—5—7508—1543—2

**УТВЕРЖДАЮ**

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

А. Ю. Попова

1 сентября 2016 г.

Дата введения: с момента утверждения

**4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И  
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ**

**Порядок организации и проведения  
лабораторной диагностики чумы для лабораторий  
территориального, регионального и  
федерального уровней**

**Дополнения и изменения 1 к МУК 4.2.2940—11**

**Методические указания  
МУК 4.2.3398—16**

---

Внести следующие изменения и дополнения в МУК 4.2.2940—11:

1. В пункте 5 абзац десятый изложить в следующей редакции: «Для исследования от людей при подозрении на чуму отбирают:

– при всех формах чумы -- мокроту, при её отсутствии – мазок из зева (слизистое отделяемое ротовой полости и глотки), кровь из вены, мочу.

Дополнительно забирают:

– при бубонной форме – содержимое бубона, отечную жидкость при наличии выраженного отека вокруг бубона, отделяемое вскрывшегося бубона и пунктат из его плотной периферической части;

– при целлюлярнокожной форме чумы – отделяемое язв, плотный инфильтрат, окружающий язву, содержимое фурункулов, везикул, пустул, геморрагических карбункулов;

– при наличии расстройств желудочно-кишечного тракта – фекалии;

– при менингиальных явлениях – спинномозговую жидкость;

При легочной форме чумы забирают и мокроту, и мазок со слизистой зева.».

2. В пункте 5 абзац двенадцатый изложить в следующей редакции: «У лиц, контактировавших с больным чумой и находившихся в одинаковых по риску заражения условиях, а также при подозрении на возможность воздушно-капельного или воздушно-пылевого пути заражения, исследуют мокроту, при ее отсутствии мазок из зева (слизистое отделяемое ротовой полости и глотки), кровь.».

3. В пункте 5 раздел «Правила отбора и транспортирования проб клинического материала» абзац третий и четвертый изложить в следующей редакции: «Мокроту собирают в специальные широкогорлые контейнеры с завинчивающейся крышкой. При затрудненном отхождении мокроты, больного просят откашляться, слизистое отделяемое верхних отделов бронхов вместе со слюной собирают в контейнер.

У больных с любой формой чумы забирают для исследования мазок из зева (слизистое отделяемое ротовой полости и глотки).».

4. В пункте 5 раздел «Правила отбора и транспортирования проб клинического материала» абзац седьмой исключить.

5. В п. 6.1.4 раздел «Исследование материала от больного чумой» изложить в следующей редакции:

«Объекты исследования клинического материала представлены в п. 5.

**I этап** (начало исследований):

– микроскопия мазков (приготовление, окраска фиксированных мазков анилиновыми красителями, иммуноглобулинами чумными флуоресцирующими);

– выявление антигена F1 иммунологическими методами: реакция объемной агломерации, реакция непрямого гемагглютинации, реакция нейтрализации антител, иммуноферментный анализ, дот-иммуноферментный анализ, ИХ-тест и др. (моча, спинномозговая жидкость, пунктат бубона). С целью дифференциальной диагностики и в случае получения сомнительных результатов рекомендуется проведение исследования материала с диагностикумами на другие инфекции (туляремия и др.);

– выявление специфических антител в сыворотке крови больного – если больной с подозрением на чуму выявлен не в первые сутки от начала заболевания, а в более поздние сроки;

- выявление ДНК *Y. pestis* методом ПЦР;
- посев на жидкие и плотные питательные среды со стимуляторами роста чумного микроба (кровь, моча, спинномозговая жидкость, пунктат бубона);
- посев на плотные питательные среды со стимулятором роста чумного микроба и ингибиторами посторонней флоры (мокрота, мазок из зева, субстрат из вскрывшегося бубона, отделяемое язвы, моча, фекалии);
- проба с диагностическими бактериофагами (при посеве нативного материала на плотную питательную среду);
- определение чувствительности к антибиотикам диско-диффузионным методом (при посеве крови, мочи, спинномозговой жидкости, пунктатов бубона, плотных частей карбункулов, везикул, пустул на плотную питательную среду);
- заражение лабораторных животных (морские свинки, белые мыши) внутрибрюшинно и подкожно (кровь, пунктат бубона, спинномозговая жидкость), подкожно и накожно (мокрота, мазок из зева, отделяемое вскрывшегося бубона, язвы, моча, фекалии).

**II этап (2—6 ч от начала исследования):**

- учет результатов ИХ, ПЦР, МФА, ИФА, РНГА и РАО;
- выдача предварительного положительного ответа на основании следующих результатов: наличия в мазках, окрашенных по Граму, биополярно окрашенных грамтрицательных палочек; наличия специфического свечения в мазках, окрашенных иммуноглобулинами чумными флуоресцирующими; выявления ДНК *Y. pestis* в ПЦР; выявления специфических антигенов чумного микроба в иммунологических реакциях.

**III этап (18—48 ч от начала исследования):**

- учет результатов пробы с чумными бактериофагами и чувствительности к антибактериальным препаратам в первичных посевах исследуемого материала;
- просмотр первичных посевов исследуемого материала на плотных питательных средах и в бульоне;
- бактериоскопия мазков, приготовленных из подозрительных колоний, выросших на плотных питательных средах, из бульона и окрашенных по Граму и иммуноглобулинами чумными флуоресцирующими;
- отсев колоний чумного микроба на питательный агар для выделения и накопления чистой культуры и на питательный агар с добавлением дефибрированной крови (3—5 %) для определения продукции FI после инкубации при температуре 37 °С;

– постановка ИХ-тестов для экспресс-идентификации чумного микроба и ПЦР с материалом из подозрительных колоний (при достаточном количестве материала);

– подтверждение предварительного положительного ответа на основании следующих результатов: характерный рост на жидких и плотных питательных средах; наличие в мазках из колоний, выросших на средах, грамтрицательных палочек с биполярным окрашиванием; наличие специфического свечения при окраске мазка иммуноглобулинами чумными флуоресцирующими; положительной пробы с бактериофагами (наличие лизиса чумными бактериофагами Л-413С, Покровской и псевдотуберкулезным на первичных посевах исследуемого материала); положительного результата ИХ-теста для экспресс-идентификации чумного микроба и ПЦР с материалом из подозрительных колоний;

– предварительный результат чувствительности к антибактериальным препаратам (при посеве нативного материала) выдают после идентификации культуры, выросшей на среде с дисками антибиотиков, методами МФА, ИХА как культуры чумного микроба.

**IV этап (48—72 ч от начала исследования)** идентификация выделенной культуры на основании следующих признаков:

– специфичный характер роста на питательном агаре и в бульоне;

– характерные морфология и отношение к красителям микробных клеток в мазках, окрашенных по Грамму, и наличие специфического свечения клеток в мазке, окрашенном иммуноглобулинами чумными флуоресцирующими;

– выявление специфических антигенов чумного микроба в ИХА;

– чувствительность выделенной культуры чумного микроба к диагностическим бактериофагам Л-413С, Покровской, псевдотуберкулезному;

– отсутствие подвижности в 0,4%-м агаре при температуре 20—22 °С;

– наличие ферментативной активности по отношению к мочеvine, глюкозе, рамнозе, лактозе, арабинозе, сахарозе, мальтозе, манниту, глицерину;

– способность выделенной культуры чумного микроба синтезировать видоспецифический капсульный антиген (FI) при температуре 37 °С;

– выявление ДНК *Y. pestis* методом ПЦР;

– чувствительность выделенной культуры чумного микроба к антибиотикам.

На IV этапе проводят вскрытие павших биопробных животных, посев органов и крови на плотные и в жидкие питательные среды, приготовление и просмотр мазков-отпечатков органов, постановку ПЦР с суспензиями органов.

**V этап** (3—5-е сутки от начала исследования):

- учет результатов идентификации культур;
- просмотр посевов материала от павших биопробных животных;
- вскрытие павших или выживших биопробных животных, посев органов и крови на плотные и в жидкие питательные среды, приготовление и просмотр мазков-отпечатков органов, постановка ПЦР с суспензиями органов;

- выдача окончательного положительного ответа на основании результатов идентификации выделенной культуры чумного микроба по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам, чувствительности к чумным диагностическим бактериофагам, наличию специфических маркеров в ПЦР и специфических антигенов в иммунологических реакциях, наличию специфичного роста культуры от павших и умершвленных биопробных животных.

При отсутствии культуры возбудителя на чашках и в бульоне с первичными посевами окончательный положительный ответ выдают на основании характерных свойств культуры, выделенной от биопробного животного.

В случае невозможности выделения культуры возбудителя на фоне применения антибактериальной терапии до забора материала на исследование, но при наличии у больного характерных для чумы клинических проявлений и эпидемиологического анамнеза, диагноз может быть поставлен на основании положительных результатов ПЦР.

**VI этап** (на 5—8-е сутки от начала исследования):

- вскрытие выживших биопробных животных, исследование суспензий их органов бактериоскопическим, бактериологическим и молекулярно-генетическими методами;

- выдача отрицательного ответа на основании следующих результатов: отсутствие специфического роста культуры в первичных посевах исследуемого материала и материала от биопробных животных на жидких и плотных питательных средах; отсутствие патологоанатомических изменений у последних; отрицательные результаты ПЦР; отрицательные результаты иммунологических реакций при исследовании нативного материала и органов павших или выживших биопробных животных;



отсутствие в парных сыворотках больного увеличения титра специфических антител к чумному микробу.

*Исследование материала от лиц, контактировавших с больным чумой и находившихся в одинаковых по риску заражения условиях, а также при подозрении на возможность воздушно-капельного или воздушно-пылевого пути заражения*

Исследуемый материал – мазок из зева (слизистое отделяемое ротовой полости и глотки), кровь (для определения сероконверсии).

**I этап** (начало исследования):

- приготовление мазков, окраска по Граму, иммуноглобулинами чумными флуоресцирующими;
- постановка полимеразной цепной реакции;
- посев на плотные селективные среды;
- постановка иммунологических реакций;
- заражение лабораторных животных подкожно.

**II этап** (2—6 ч от начала исследования):

- учет результатов МФА, ПЦР, ИФА, РНГА и РАО;
- выдача предварительного положительного ответа на основании обнаружения специфического свечения клеток при просмотре мазков, окрашенных иммуноглобулинами чумными флуоресцирующими, положительных результатов ПЦР.

**III этап** (18—48 ч от начала исследования):

- учет первичных посевов исследуемого материала на плотных питательных средах;
- бактериоскопия мазков из подозрительных колоний (окраска по Граму и флуоресцирующими иммуноглобулинами);
- отсев подозрительных колоний на питательный агар для выделения и накопления чистой культуры и агар с содержанием дефибрированной крови (3—5 %) для определения продукции F1 после инкубации при температуре 37 °С;
- при достаточном количестве колоний постановка ПЦР, ИХ-теста для экспресс-идентификации чумного микроба, пробы на чувствительность к диагностическими бактериофагами, определение чувствительности к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом;
- подтверждение предварительного положительного ответа на основании следующих признаков: наличие характерных по морфологии колоний в посевах на плотной среде; наличие в мазках из этих колоний грамотрицательных палочек с биполярным окрашиванием; специфическое свечение при окраске мазка иммуноглобулинами чумными флуо-

ресцирующими; выявление ДНК чумного микроба в ПЦР и специфических антигенов чумного микроба в ИХА.

**IV этап** (3—4-е сутки от начала исследования):

- проведение идентификации выделенной культуры;
- вскрытие павших биопробных животных, посев органов и крови на плотные и в жидкие питательные среды, приготовление и просмотр мазков-отпечатков органов, постановка ПЦР с суспензиями органов.

**V этап** (5—8-е сутки от начала исследования):

- просмотр посевов материала от павших биопробных животных;
- вскрытие выживших биопробных животных, исследование суспензий их органов бактериоскопическим, бактериологическим и молекулярно-генетическими методами;
- выдача окончательного положительного ответа на основании результатов идентификации выделенной культуры чумного микроба по морфологическим, культуральным, биохимическим свойствам, чувствительности к чумным диагностическим бактериофагам, наличию специфических маркеров в ПЦР и специфических антигенов в иммунологических реакциях, наличию специфичного роста культур от павших и умершвленных биопробных животных.

При отсутствии культуры возбудителя на чашках и в бульоне с первичными посевами окончательный положительный ответ выдают на основании характерных свойств культуры, выделенной от биопробного животного;

- выдача отрицательного ответа на основании следующих признаков: отсутствие специфически светящихся клеток в мазках, окрашенных иммуноглобулинами чумными флуоресцирующими; отрицательные результаты ПЦР; отсутствие роста характерных для чумного микроба колоний на плотной среде и типичного роста в бульоне; отсутствие характерных для чумы изменений в органах биопробных животных и отсутствие специфического роста на плотной среде из посевов отпечатков их органов и специфических маркеров в иммунологических реакциях и ПЦР.

*Исследование материала от трупа человека, погибшего от чумы*

Исследования ведут по схеме, аналогичной схеме исследования материала от больного чумой.»

6. В пункте 6.5.1 абзац третий изложить в следующей редакции: «Штаммы возбудителя чумы, выделенные от людей и из объектов окру-

жающей среды, идентифицированные в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности, направляют в курирующий противочумный институт (Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней) и по согласованию в Референс-центр по мониторингу за чумой и другими особо опасными бактериальными инфекциями.».

В пункте 6.2.4 абзац третий изложить в следующей редакции: «Штаммы возбудителя чумы, выделенные от людей, из объектов окружающей среды и идентифицированные в лабораториях Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, направляют по согласованию в Референс-центр по мониторингу за чумой и другими особо опасными бактериальными инфекциями (Национальный центр верификации диагностической деятельности Роспотребнадзора, осуществляющий функцию Государственной коллекции возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I—II групп патогенности).».

**Порядок организации и проведения лабораторной диагностики  
чумы для лабораторий территориального, регионального и  
федерального уровней**

**Дополнения и изменения 1 к МУК 4.2.2940—11**

**Методические указания  
МУК 4.2.3398—16**

Ответственный за выпуск Н. В. Карташева

Редактор Л. С. Кучурова  
Компьютерная верстка Е. В. Ломановой

Подписано в печать 09.08.17

Формат 60x90/16

Тираж 125 экз.

Печ. л. 0,75  
Заказ 51

Федеральная служба по надзору  
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
127994, Москва, Вадковский пер., д. 18, стр. 5, 7

Оригинал-макет подготовлен к печати и тиражирован  
отделением издательского обеспечения отдела научно-методического обеспечения  
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора  
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Отделение реализации, тел./факс: 8 (495) 952-50-89