

Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование
Российской Федерации

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

**ИЗМЕНЕНИЯ № 1 В МУК 4.2.3745-22
«МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ»**

Методические указания по методам контроля
МУК 4.2. *4030* -24

Москва 2024

Изменения № 1 в МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры». МУК 4.2. ~~4030~~ - 24

1. Разработаны ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора (А.К. Носков, В.Д. Кругликов, О.С. Чемисова); ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (С.А. Портенко, Е.С. Казакова, Н.А. Осина).

2. Утверждены руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации А. Ю. Поповой «31» ~~ноя~~ 2024 г.

УТВЕРЖДАЮ

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



А.Ю. Попова

2024 г.

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

ИЗМЕНЕНИЯ № 1 В МУК 4.2.3745-22 «МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ ХОЛЕРЫ»

Методические указания по методам контроля
МУК 4.2. ~~4010-24~~

1. В пункте 3.2:

1.1. Абзац первый изложить в следующей редакции:

«Лаборатории территориального уровня, имеющие разрешение на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III-IV групп патогенности (опасности)¹², ведут исследования до получения отрицательного результата анализа (отсутствие культур, подозрительных на холерный вибрион) или до выделения культур с характерным для вибрионов ростом на агаровых и полиуглеводных питательных средах и положительной реакцией на оксидазу. Допускается исследование нативного материала с использованием ускоренных методов диагностики ПЦР и (или) метода флюоресцирующих антител (далее – МФА) при наличии оборудования и препаратов. Доставленные пробы, а также среды обогащения, в которые они были засеяны, сохраняют до окончания исследования. Информацию о положительных результатах исследований нативного материала методами ПЦР и МФА передают в соответствии со схемой передачи¹³. Культуры проверяют на чистоту в мазке, окрашенном по Граму, в реакции агглютинации на стекле

(далее – слайд-агглютинация или СА) с диагностическими холерными сыворотками O1, Огава, Инаба, RO и O139. Допускается использование (при наличии оборудования и препаратов) метода ПЦР и метода МФА, а также в сочетании с данными методами – метода иммунохроматографического анализа (далее – ИХА) и (или) MALDI-ToF масс-спектрометрии.».

1.2. Абзац второй:

а) изложить в следующей редакции:

«При положительном результате слайд-агглютинации и (или) ПЦР, и (или) МФА, и (или) ИХА информацию о культуре, выделенной из биоматериала от человека или из объекта окружающей среды, и выделенную культуру с паспортом передают в соответствии со схемой передачи информации и схемой передачи выделенных культур¹³⁽¹⁾.».

б) дополнить сноской 13(1) следующего содержания:

«Приложения 8, 9 МУК 4.2.3746-22.».

2. Абзац третий I этапа пункта 4.6 изложить в следующей редакции:

«При выявлении первых случаев подозрения на заболевание холерой необходимо использовать методы ускоренной диагностики (ПЦР, МФА, ИХА) при исследовании нативного материала и на последующих этапах исследования.».

3. В пункте 4.11:

3.1. В абзаце первом слова «регистрации проб и результатов исследований, выдаче протоколов» заменить словами «регистрация проб и результатов исследований, выдача протоколов».

3.2. Шестой, седьмой и восьмой абзацы изложить в следующей редакции:

«Предварительный положительный ответ выдают:

– на этапе исследования проб нативного материала или после его подращивания в пептонной воде по результатам ускоренной диагностики (ПЦР, МФА, ИХА);

– на этапе отбора подозрительных на холерный вибрион колоний (характерные морфологические признаки и наличие индофенолоксидазы) по результатам слайд-агглютинации с сыворотками холерными диагностическими O1 и O139 и (или) по положительным результатам ускоренной диагностики (ПЦР, МФА, ИХА) и в сочетании с этими методами (при наличии): метод иммуноферментного анализа на холерный токсин (ИФА-тест) и (или) MALDI-ToF масс-спектрометрия.».

4. Дополнить пунктом 4.12 следующего содержания:

«4.12. В случае выявления больного (с подозрением на холеру) среди прибывших из неблагополучных по холере стран в течение 10 дней после прибытия:

– нативный материал от больного (с подозрением на холеру) отбирается трехкратно (с интервалом 3 ч) до начала этиотропной терапии;

– проводится незамедлительная доставка нативного материала в лабораторию МО для ПЦР-диагностики и бактериологического исследования на холеру с целью выявления маркеров и культуры возбудителя холеры.

При отсутствии возможности проведения ПЦР-исследования на холеру на базе МО аликвота нативного материала доставляется в лабораторию центра гигиены и эпидемиологии в субъекте Российской Федерации или в противочумное учреждение для исследования ускоренными методами;

- ПЦР исследование отобранных образцов нативного материала проводится сразу при поступлении в лабораторию;

- параллельно проводится исследование образцов нативного материала бактериологическим методом;

При обследовании контактного с больным (с подозрением на холеру) среди прибывших из неблагополучных по холере стран в течение 10 дней после прибытия:

- нативный материал от контактного с больным (вибрионосителем) отбирается однократно до начала экстренной профилактики;

- проводится параллельное исследование отобранных образцов нативного материала сразу при поступлении в лабораторию методом ПЦР (с целью выявления маркеров возбудителя холеры) и бактериологическим методом;

- положительный результат исследования методом ПЦР в сочетании с положительным или отрицательным результатом бактериологического исследования нативного материала от контактного (при отсутствии клинических проявлений) оценивается как вибрионосительство;

- при отсутствии возможности проведения ПЦР-исследования проводится бактериологическое исследование нативного материала на холеру от контактного, аликвота нативного материала доставляется в лабораторию центра гигиены и эпидемиологии в субъекте Российской Федерации или в противочумное учреждение для исследования ускоренными методами;

- положительный результат бактериологического исследования нативного материала от контактного (при отсутствии клинических проявлений) оценивается как вибрионосительство;

- обследование контактного методом ПЦР проводится через 24 часа после окончания курса экстренной профилактики антибактериальными препаратами ежедневно до получения трех последовательных отрицательных результатов;

- при получении положительного результата о выявлении маркеров возбудителя холеры при исследовании нативного материала от контактного методом ПЦР после окончания курса экстренной профилактики проводят исследование бактериологическим методом.».

5. Дополнить пунктом 4.13 следующего содержания:

«4.13. При массовых заболеваниях в установленном очаге холеры с целью оперативного лабораторного обеспечения организации и проведения противоэпидемических (профилактических) мероприятий, предотвращения необоснованной перегрузки лабораторной службы:

- нативный материал от больного (с подозрением на холеру), контактного отбирается однократно до начала этиотропной терапии и экстренной профилактики;

– проводится однократное ПЦР исследование отобранных клинических образцов. При отрицательных результатах ПЦР бактериологическое исследование не проводится.

Положительные результаты ПЦР-анализа клинического материала от больных (с подозрением) и контактных при проведении массовых исследований в условиях эпидемии холеры считаются окончательными для постановки лабораторного диагноза и основанием для оперативной организации и проведения противоэпидемических (профилактических) мероприятий.

На основании данных эпидемиологического обследования, а также при регистрации в очаге новых подозрительных случаев заболевания холерой в срок больше инкубационного периода от последнего зарегистрированного случая до 10 % положительных в ПЦР проб клинического материала подлежат бактериологическому исследованию. Цель – динамическое определение изменчивости по антибиотикорезистентности циркулирующего в очаге возбудителя, быстрое установление новых завозов и оперативное реагирование на их возникновение (коррекция лечения, экстренной профилактики).

Идентификацию выделенной культуры проводят по сокращенной схеме: СА – слайд-агглютинация (агглютинирующие сыворотки O1, Огава, Инаба, O139, RO), тест на индофенолоксидазу (ОКСИ – тест), ПЦР (*hly*, *wbe*, *wbf*, *ctxAB*, *tcpAB*), ИХА (при наличии). Определяют антибиотикограммы (для коррекции экстренной профилактики и лечения), а также молекулярно-генетическое исследование выделенной культуры – секвенирование, при возможности проведение MLVA-, INDEL-типирования для определения генетических особенностей, установления вероятных направлений завоза и распространения.

При массовых заболеваниях выписка больного/вибриононосителя осуществляется при наличии трех последовательных отрицательных результатов ПЦР-анализа.»