

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

**Организация и проведение лабораторных
исследований на иерсиниозы
на территориальном, региональном и
федеральном уровнях**

**Методические указания
МУК 4.2.3019—12**

Издание официальное

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

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

**Организация и проведение лабораторных
исследований на иерсиниозы
на территориальном, региональном и
федеральном уровнях**

**Методические указания
МУК 4.2.3019—12**

ББК 51.9
О64

О64 **Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях: Методические указания.**—М.: **Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора**, 2012.—59 с.

ISBN 978—5—7508—1147—2

1. Разработаны Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Е. Б. Ежлова, Ю. В. Демина, Н. В. Шеенков); Федеральным бюджетным учреждением науки «Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора (Г. Я. Ценева, Е. А. Воскресенская, Г. И. Кокорина, Е. А. Богумильчик); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора (М. В. Чеснокова, С. В. Балахонов, В. Т. Климов, К. А. Тирских, М. Б. Черепанова); Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Центр гигиены и эпидемиологии в Новосибирской области» (Т. В. Каримова, О. В. Якунина).

2. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 18 июня 2012 г.

3. Введены в действие с момента утверждения.

4. Введены впервые.

ББК 51.9

ISBN 978—5—7508—1147—2

© Роспотребнадзор, 2012
© Федеральный центр гигиены и
эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012

Содержание

1. Область применения	4
2. Нормативные и методические документы	4
3. Перечень сокращений	5
4. Общие положения	6
5. Порядок организации и проведения лабораторных исследований на иерсиниозы для лабораторий территориального уровня	11
5.1. Рекомендованный порядок организации и проведения лабораторных исследований на иерсиниозы в материале от людей в лабораториях лечебно-профилактических организаций	11
5.2. Порядок организации и проведения лабораторных исследований на иерсиниозы в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании (городе, административном районе) в субъекте Российской Федерации	21
5.3. Порядок организации и проведения лабораторных исследований на иерсиниозы в лабораториях ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации	24
6. Порядок организации и проведения исследований на иерсиниозы для лабораторий регионального уровня	28
6.1. Порядок организации и проведения исследований на иерсиниозы в лабораториях Региональных центров по мониторингу возбудителей инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности в федеральных округах	28
7. Порядок организации и проведения исследований на иерсиниозы в лабораториях федерального уровня (Референс-центр по мониторингу за иерсиниозами, Референс центр по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней)	30
7.1. Требования к лабораториям Референс-центра по мониторингу за иерсиниозами и Референс центра по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней	30
7.2. Номенклатура и объем исследований	30
7.3. Организация и обеспечение деятельности при мониторинге за иерсиниозами	31
7.4. Порядок взаимодействия лабораторий Референс-центра по мониторингу за иерсиниозами с организациями Роспотребнадзора	32
<i>Приложение 1. Подготовка кадров по лабораторным исследованиям иерсиниозов</i>	<i>33</i>
<i>Приложение 2. Требования к профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторные исследования иерсиниозов</i>	<i>35</i>
<i>Приложение 3. Питательные среды, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы</i>	<i>43</i>
<i>Приложение 4. Диагностические препараты, тест-системы, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы</i>	<i>46</i>
<i>Приложение 5. Химические реактивы, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы</i>	<i>48</i>
<i>Приложение 6. Приборы и оборудование, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы</i>	<i>51</i>
<i>Приложение 7. Паспорт штамма бактерий рода <i>Yersinia</i> (для лабораторий территориального и регионального уровней)</i>	<i>55</i>
<i>Приложение 8. Состав и прописи питательных сред для первичного выделения культур</i>	<i>57</i>

УТВЕРЖДАЮ

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

Г. Г. Онищенко

18 июня 2012 г.

Дата введения: с момента утверждения

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

**Организация и проведение лабораторных исследований
на иерсиниозы на территориальном, региональном и
федеральном уровнях**

**Методические указания
МУК 4.2.3019—12**

1. Область применения

1.1. Настоящие методические указания (далее – МУ) определяют организацию и порядок проведения исследований на иерсиниозы в лабораториях территориального, регионального и федерального уровней.

1.2. МУ предназначены для специалистов органов и организаций Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, а также могут быть использованы медицинскими и другими организациями, независимо от организационно-правовой формы и формы собственности.

2. Нормативные и методические документы

В настоящих методических указаниях использованы ссылки и положения следующих нормативных и методических документов:

2.1. Федеральный закон от 03.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

2.2. Постановление Правительства Российской Федерации от 16.04.2012 № 317 «О лицензировании деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных (за исключением случая, если указанная деятельность осуществляется в медицинских целях) и генно-инженерно-модифицированных организмов III–IV степени потенциальной опасности, осуществляемой в замкнутых системах».

2.3. Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 24.02.2009 № 11 «О представлении внеочередных донесений о чрезвычайных ситуациях в области общественного здравоохранения санитарно-эпидемиологического характера».

2.4. Приказ Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации от 7.07.2009 № 415н «Об утверждении квалификационных требований к специалистам с высшим и послевузовским медицинским и фармацевтическим образованием в сфере здравоохранения».

2.5. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 17.03.2008 № 88 «О мерах по совершенствованию мониторинга за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней».

2.6. СанПиН 2.1.7.2790—10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами».

2.7. СП 1.3.1318—03 «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».

2.8. СП 1.3.2322—08 «Санитарно-эпидемиологические правила «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

2.9. СП 1.3.2518—09 «Санитарно-эпидемиологические правила «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней. Дополнения и изменения № 1 к СП 1.3.2322—08».

2.10. МУ 1.3.2569—09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I—IV групп патогенности».

2.11. МУК 4.2.2316—08 «Методы контроля бактериологических питательных сред».

2.12. МУ 3.1.2438—09 «Эпидемиологический надзор и профилактика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза».

2.13. МУК 4.2.2746—10 «Порядок применения молекулярно-генетических методов при обследовании очагов острых инфекций с групповой заболеваемостью».

2.14. СП 3.1.7.2615—10 «Профилактика иерсиниозов».

3. Перечень сокращений

БХ – бульон Хоттингера

ЗФР – забуференный физиологический раствор

ИФА – иммуноферментный анализ

ЛПО – лечебно-профилактические организации
 МО – медицинские организации
 ОРА – ориентировочная реакция агглютинации
 ПУС – полиуглеводная среда
 ПК – пептонно-калиевая среда
 ПЦР – полимеразная цепная реакция
 РА – реакция агглютинации
 РНГА – реакция непрямой гемагглютинации
 СанПиН – санитарные правила и нормы
 СБТС – среда с бромтимоловым синим
 СП – санитарно-эпидемиологические правила
 УСС – универсальный скошенный столбик

4. Общие положения

Yersinia pseudotuberculosis (возбудитель псевдотуберкулеза) и *Yersinia enterocolitica* (возбудитель кишечного иерсиниоза) – энтеропатогенные иерсинии, относимые к возбудителям зооантропонозных инфекций. Заражение *Y. pseudotuberculosis* происходит через инфицированные продукты питания (преимущественно овощи), *Y. enterocolitica* – чаще при употреблении в пищу молочных и мясных продуктов.

Иерсиниозы широко распространены в мире. В ряде стран Европы кишечный иерсиниоз занимает третье место по заболеваемости среди кишечных инфекций, после кампилобактериоза и сальмонеллеза. Заболеваемость псевдотуберкулезом в Российской Федерации регистрируется практически повсеместно, преимущественно в виде вспышек, кишечным иерсиниозом – в виде спорадических случаев.

Характеристика иерсиний

Род *Yersinia* включает группу грамотрицательных, не образующих спор, палочковидных (кокки или овоиды) факультативно-анаэробных микроорганизмов, относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*. Среди 17 видов, входящих в род *Yersinia*, три отнесены к патогенным для человека и животных – возбудитель чумы *Y. pestis*, возбудитель псевдотуберкулеза *Y. pseudotuberculosis* и 11 представителей вида *Y. enterocolitica* патогенных биотипов 1В и 2-5.

Y. enterocolitica биотипа 1А относят к непатогенным, однако они могут быть возбудителями оппортунистических инфекций. Также непатогенными являются 13 видов иерсиний: *Y. aldovae*, *Y. bercovieri*, *Y. frederiksenii*, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*, *Y. mollaretii*, *Y. rohdei*, *Y. ruckeri*, *Y. aleksici*, *Y. similis*, *Y. massiliensis*, *Y. nurmii*, *Y. pekkanenii*, *Y. entomophaga*.

Основные биохимические свойства *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* и некоторых других представителей *Enterobacteriaceae*,

которые используются в практической работе при первичном изучении выделенных культур, представлены в табл. 1 и 2.

По О-антигену известен 21 серотип *Y. pseudotuberculosis*. Среди *Y. enterocolitica* различают 6 биотипов и 30 серотипов, из них 9 наиболее часто ассоциируются с заболеваниями человека: 0:3; 0:4; 0:5,27; 0:9; 0:8; 0:13; 0:18; 0:20; 0:21 (табл. 3).

Антигенное родство (по О-антигену) *Y. pseudotuberculosis* и большинства серотипов *Y. enterocolitica* выражено слабо. Значительное сходство по антигенной структуре выявлено у *Y. pseudotuberculosis* серотипа 0:1 и *Y. enterocolitica* «американских» серотипов 0:8; 0:18 и 0:21.

Таблица 1

Основные дифференциальные признаки *Y. pseudotuberculosis*,
Y. enterocolitica и других представителей семейства *Enterobacteriaceae*

Признаки		<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>	<i>Shigella spp.</i>	<i>Salmonella spp.</i>	<i>Escherichia spp.</i>	<i>Proteus spp.</i>
1		2	3	4	5	6	7
Рост на универсальном скошенном столбике (УСС)	Окраска столбика среды	Малиновый	Желтый, по уколу черно-бурая полоска	Желтый	Желтый или черный + газ	Желтый + газ	Малиновый
	Окраска скошенной поверхности среды	Малиновая	Желтая	Красная	Красная	Желтая	Желтая или малиновая, верх черный
Рост на трехсахарном агаре с мочевиной (среде И. С. Олькеницкого)	Окраска столбика среды	Малиновый (через 20 ч Желтый)	Малиновый (через 20 ч Желтый)	Желтый	Желтый или черный + газ	Желтый + газ	Малиновый или черный
	Окраска скошенной поверхности среды	Малиновая	Малиновая	Красная	Красная	Желтая	Малиновая
Рост на трехсахарном агаре с мочевиной (среде Ресселя I)	Окраска столбика среды	Малиновый со дна пробирки	Малиновый со дна пробирки	Желтый/зеленый	Желтый, + газ	Желтый, + газ	Малиновый, + газ
	Окраска скошенной поверхности среды	Сиреневая	Сиреневая	Сиреневая	Сиреневая	Желтый/зеленый	Сиреневая
Рост на трехсахарном агаре с сахарозой и маннитом (среде Ресселя II)	Окраска столбика среды	Желтый	Желтый, газ	Желтый/Красный	Желтый, почернение по уколу	Желтый, +/- газ	Желтый/Красный, почернение по уколу
	Окраска скошенной поверхности среды	Малиновая	Желтая	Желтая	Желтая/Красная	Желтая/Красная	Желтая/Красная

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	
Ферментация углеводов	Сахароза	–	+	–	–	x	x
	Рамноза	+	–	–/+	+	+/-	–/+
	Раффиноза	–/+	–	–/+	–	x	–/+
	Маннит	+	+	+/-	+	+	–/+
	Сорбит	–	+	–/+	+	+/-	–
Наличие орнитиндекарбоксилазы	–	+	–/+	+	x	–/+	
Утилизация цитрата	–	–	–	+/-	–	x	
Дезаминирование фенолаланина	–	–	–	–	–	+	
Реакция Фогеса-Проскауэра (37 ± 1) °С	–	–	–	–	–	–/+	

Примечание: «+» – положительная реакция; «–» – отрицательная реакция; «–/+» – большинство штаммов позитивно, но некоторые негативно; «+/-» – большинство культур негативно, некоторые штаммы позитивны; «x» – разные реакции

Таблица 2

Основные биохимические свойства бактерий рода *Yersinia* (26 ± 2) °С

Тест или субстрат	1	2	3	<i>Y. enterocolitica</i>					10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
				Биотипы														
				I	II	III	IV	V										
1A	1B																	
Гидролиз мочевины	–	+	+	+	+	+	+	+	[+]	[+]	[+]	–	[+]	B	[–]	B	+	+
Образование индола	–	–	+	+	B	–	–	–	+	+	B	–	–	–	–	–	+	–
Повыженность (22 ± 2) °С	(22 ± 2) °С	–	+	+	+	+	+	+	+	+	+	B	+	+	+	+	+	+
	(37 ± 1) °С	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Реакция Фогеса-Проскауэра	(26 ± 2) °С	–	–	+	+	+	+	+	+	+	–	–	+	–	–	–	–	–
	(37 ± 1) °С	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Фенилаланиндезаминаза	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Орнитиндекарбоксилаза	–	–	+	+	+	+	+	B	+	+	+	+	B	[–]	[+]	[+]	+	–
Лизиндекарбоксилаза	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	B	–	–	–	–	+	–
Липаза (Твин-80)	–	–	+	+	–	–	–	–	B	B	B	B	–	–	–	–	–	–
Цитрат Симмонса	–	–	–	–	–	–	–	–	B	+	–	+	+	–	–	–	–	–
Гидролиз эскулина	B	+	[+]	–	–	–	–	–	[+]	+	–	–	–	–	–	[–]	–	+

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Образование кислоты из:																		
D-ксилозы	+	+	+	+	+	+	-	B	+	+	[+]	-	B	B	B	+	+	+
мальтозы	[+]	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	B	+	+	+
мелибиозы	[-]	B	-	-	-	-	-	-	-	[+]	-	-	-	B	-	-	-	-
L-рамнозы	-	B	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+
рафинозы	-	[-]	-	-	-	-	-	B	B	-	-	-	B	-	-	-	-	-
салицина	B	[-]	+	-	-	-	-	-	+	+	[-]	-	-	-	[-]	[-]	-	-
сахарозы	-	-	+	+	+	+	+	B	+	+	-	-	[-]	+	+	+	-	-
D-сорбитола	B	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	B	B	+	+	+	+	-
трегалозы	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	[+]	+	+	+	+	+

«+» – положительная реакция у 90 % и более штаммов; «[+]» – положительная реакция у 76—89 % штаммов; «B» – положительная реакция у 26—75 % штаммов; «[-]» – положительная реакция у 11—25 % штаммов; «-» – отрицательная реакция у 90 % и более штаммов

Таблица 3

Био- и серотипы *Y. enterocolitica* и их связь с патогенностью

Патогенные свойства	Биотип	Серотип
есть	1B	O:8; O:4; O:13a; O:18; O:20; O:21;
	2	O:9; O:5,27;
	3	O:1,2,3; O:5,27;
	4	O:3;
	5	O:2,3
нет	1A	O:5; O:6,30; O:6,31; O:7,8; O:10; O:13,7; O:14; O:16; O:19,8; O:22; O:36; O:41,42; O:41,43; O:46; O:63; O:64; O:65; O:66; O:72

Температурный фактор является одним из важнейших определяющих изменчивость микробов и устойчивость их во внешней среде. Оптимальная температура для жизнедеятельности иерсиний – 28—30 °С, однако они могут, хотя и гораздо медленнее, размножаться при температуре 4—1 °С.

Достаточно долго иерсинии выживают на различных продуктах питания и даже могут на них размножаться (например, на овощах, особенно приготовленных в виде салатов). В молоке сохраняются до 18 суток, в сливочном масле – до 145 суток, на хлебе, кондитерских изделиях – от 16 до 24 суток. Иерсинии чувствительны к высокой температуре: при 100 °С погибают в течение нескольких секунд, однако при температуре

50—60 °С способны выживать до 20—30 мин, переносят большие (до 10 %) концентрации раствора натрия хлорида, особенно при низких температурах. На микробы губительно действует прямая солнечная радиация, чувствительны иерсинии и к высушиванию. Во влажной среде и невысокой температуре (14—18 °С) выживают длительно. Кислотность среды (при уровнях pH 3,6—4,0) также губительна для иерсиний. В дезинфицирующих растворах в стандартных разведениях микробы *Yersinia* погибают в течение 5—10 мин. Раствор перманганата калия в концентрации 0,5—0,3 % вызывает гибель бактерий через 3 мин.

Патогенные *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* обладают широким набором факторов патогенности, детерминированных хромосомными и плазмидными генами.

Способность *Y. pseudotuberculosis* к адгезии и инвазии в клетки эпителия кишечника зависит от экспрессии хромосомного *inv*-гена, кодирующего синтез белка наружной мембраны инвазина с молекулярной массой 108 кДа. Диссеминация микроба в организме хозяина связана с функционированием группы хромосомных генов, ответственных за асимилацию ионов железа («остров высокой патогенности», НР1). Штаммы *Y. pseudotuberculosis*, содержащие НР1, редко выделяются в России (3,9 %), в основном они циркулируют в Европе, Австралии, Северной Америке.

Важным фактором патогенности *Y. pseudotuberculosis* является синтез суперантигена (УРМ), ответственного за поликлональную активацию Т-лимфоцитов и гиперпродукцию провоспалительных цитокинов. Клинически это выражается развитием синдрома токсического шока. У 98 % штаммов этого вида, выделенных от больных в России, Японии, Корею, обнаруживается суперантиген, вызывающий системное поражение органов и тканей.

Патогенные *Y. enterocolitica* также имеют факторы патогенности, обеспечивающие им адгезивные и инвазивные свойства (ген *ail*).

Гены НР1 не выявляются у непатогенных *Y. enterocolitica* биотипа 1А и у низкопатогенных штаммов биотипов 2-5, но они определяются у всех высокопатогенных штаммов биотипа 1В. Энтеротоксигенность *Y. enterocolitica* биотипов 1В и 2-5 связана с экспрессией хромосомного гена *ystA*. У непатогенных представителей биотипа 1А обнаружен ген *ystB*.

Плазмидой вирулентности иерсиний рУV 42-48 МДа обладают все штаммы *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* 1В, 2-5 биотипов. Основная функция плазмиды рУV – нейтрализация факторов иммунитета макроорганизма.

Плазмиды с молекулярной массой 82 MDa (pVM) обнаружена только у *Y. pseudotuberculosis* 1 серотипа. Штаммы, имеющие плазмиду pVM, вызывают более тяжелое течение псевдотуберкулеза.

5. Порядок организации и проведения лабораторных исследований на иерсиниозы для лабораторий территориального уровня

5.1. Рекомендованный порядок организации и проведения лабораторных исследований на иерсиниозы в материале от людей в лабораториях лечебно-профилактических организаций

5.1.1. Требования к лабораториям, осуществляющим исследования на иерсиниозы

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Лаборатории, которые осуществляют исследования на иерсиниозы, должны иметь разрешительные документы на этот вид деятельности согласно действующему законодательству.

Проведение исследований на всех этапах: взятие проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов должны соответствовать требованиям действующих нормативных и методических документов.

Обеззараживание отходов должно осуществляться в соответствии с действующими нормативными и методическими документами по обращению с медицинскими отходами.

Требования к специалистам и вспомогательному персоналу, участвующим в выполнении исследований на иерсиниозы

Исследования на иерсиниозы могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским образованием, имеющие допуск к работе с ПБА III—IV групп патогенности на основании приказа руководителя учреждения, окончившие курсы по специальности «Бактериология», знающие правила работы с ПБА III—IV группы патогенности. Специалисты должны проходить профессиональную переподготовку не реже одного раза в пять лет. Лица, имеющие высшее (среднее) медицинское образование должны иметь сертификат специалиста («Бактериология» / «Лабораторное дело»).

Инженерно-технический персонал, дезинфекторы и санитарки проходят специальную подготовку по месту работы в соответствии с должностными обязанностями.

Необходимый уровень подготовки специалистов лабораторий представлен в прилож. 1.

Требования к знаниям и умениям специалистов лабораторий приведены в прилож. 2.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая бактериологическая лаборатория должна иметь пакет нормативно-методической документации и инструкций, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Все сотрудники должны выполнять требования по обеспечению безопасности работы с материалом, подозрительным или зараженным возбудителями инфекционных болезней III—IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими нормативными документами.

Порядок организации внутреннего и внешнего контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества исследований на иерсиниозы в лабораториях включает:

- контроль качества питательных сред, диагностических препаратов и тест-систем, дезинфицирующих средств и химических реактивов;
 - своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
 - контроль качества стерилизации лабораторной посуды;
 - контроль работы паровых и суховоздушных стерилизаторов;
 - контроль температурного режима работы холодильников и термостатов;
 - контроль работы бактерицидных ламп;
 - проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;
 - проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроля смывов с поверхностей и оборудования.
- Результаты контроля фиксируют в специальных журналах, формулярах или других учётных документах.

Внешний контроль качества лабораторных исследований включает:

- участие в межлабораторных сличительных испытаниях (МСИ);
- участие в Федеральной системе внешней оценки качества (ФСВОК);
- приобретение шифрованных образцов для идентификации иерсиний.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая состояние регистрационных и рабочих журналов, осуществляют ежедневно в соответ-

вии с требованиями действующих нормативных и методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения исследований на иерсиниозы

Для проведения исследований на иерсиниозы в лабораториях должны быть в наличии:

- питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 3 к МУ);
- диагностические препараты, тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 4 к МУ);
- химические реактивы (прилож. 5 к МУ);
- приборы и оборудование (прилож. 6 к МУ);

5.1.2. Номенклатура и объем исследований

В лабораториях МО проводят:

- диагностические исследования материала от госпитализированных в стационар и амбулаторных больных с целью дифференциальной диагностики и установления этиологии заболевания при спорадической и вспышечной заболеваемости;

- исследования патолого-анатомического материала.

В лабораториях МО проводят исследования материала в следующем объеме:

- 1) посев на среды накопления, «холодовое обогащение» с периодическими высевами на дифференциально-диагностические среды, отсев характерных по морфологическим свойствам колоний иерсиний на ПУС;
- 2) идентификация и дифференциация выделенных культур до вида по морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам, в том числе с использованием полу- или автоматизированных систем идентификации («Vitek-2», «Mini API», «Микроб-2», «Микроб-Автомат» и др.) при наличии оборудования и тест-систем;
- 3) выявление антител в парных сыворотках (РА, РНГА, ИФА);
- 4) экспрессные методы исследования (ПЦР) – при наличии оборудования.

5.1.3. Порядок лабораторных исследований на иерсиниозы

5.1.3.1. Правила отбора и транспортирования проб клинического материала

При проведении бактериологического анализа на иерсиниозы исследуется клинический материал: испражнения, моча, кровь, мазки из зева, операционный или секционный материал: аппендикулярные от-

ростки, мезентериальные лимфоузлы и патологически измененные органы и ткани, сгустки крови, желчь, содержимое кишечника.

Материал от больного (подозрительного на заболевание) отбирает медицинский персонал МО немедленно при выявлении больного (подозрительного на заболевание) до начала лечения антибиотиками.

При совместном использовании бактериологического и ПЦР методов отбор материала осуществляется в одноразовую посуду.

Правила отбора материала от больных (подозрительных на заболевание):

- *испражнения** берут на протяжении всего периода заболевания в количестве 0,5—1,0 г стерильной ложечкой из судна и помещают в стерильный широкогорлый флакон с 5,0—10,0 мл среды накопления;

- *мочу* исследуют в первые 7 дней болезни, берут 20—30 мл средней порции утренней мочи в стерильную посуду. Осадок после центрифугирования помещают в 5,0 мл среды накопления;

- *смыв из зева* берут в первые 3 дня болезни натошак с задней стенки глотки и корня языка тампоном, смоченном в физиологическом растворе и помещают в 5,0 мл среды накопления;

- *кровь* исследуют в течение болезни на высоте лихорадки, весь лихорадочный период и в период рецидива болезни. Кровь забирают натошак в количестве 5—10 мл из локтевой вены с соблюдением правил асептики, выдерживают при комнатной температуре в наклонном положении (под углом 30—45°) до образования сгустка (30—40 мин), после чего сгусток отделяют от стенки, сыворотку переносят в пробирку для серологических реакций, а сгусток помещают в 5,0 мл среды накопления.

Правила отбора операционного или секционного материала:

- *Аппендикулярный отросток.* Стерильно ножницами измельчают 1,0—2,0 г пробы и помещают в 5,0—10,0 мл среды накопления.

- *Мезентериальные лимфоузлы, другие органы и ткани.* Стерильно ножницами измельчают 1,0—2,0 г пробы и помещают в 5,0—10,0 мл среды накопления.

- *Желчь.* В 5,0 мл среды накопления помещают 0,5—1,0 мл.

- *Содержимое кишечника.* В 5,0 мл среды накопления помещают 0,5—1,0 мл.

- *Сгусток крови.* Стерильно измельчают 0,5—1,0 мл пробы и помещают в 5,0 мл среды накопления.

* Высеваемость иерсиний наиболее высока в первые 3—5 дней болезни и до назначения антибиотиков. Результаты бактериологического исследования улучшаются, если взятие материала производится 3-кратно в течение первой недели болезни (госпитализации).

Пробы этикетировывают, обрабатывают снаружи дезинфицирующим раствором, упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой-молнией, заполняют бланк направления и помещают в контейнер для транспортирования биологического материала на исследование.

Транспортирование материала в лабораторию осуществляется при температуре (4—12) °С в течение двух часов после взятия.

1 этап исследования

(пробоподготовка и посев нативного материала)

Проводят «холодовое обогащение» исследуемого материала: внесенный в среду ПК, в ЗФР или 1 %-ю пептонную воду (среды накопления) материал помещают в холодильник (6 ± 2) °С и выдерживают в нем до первого положительного высева на 2—3, 5—7 или 10—15 сутки.

Постановка ускоренных методов исследования нативного материала: ПЦР или ИФА для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза 1 серотипа*. При получении положительного результата выдают предварительный положительный ответ.

II этап исследования

(на 2—3 сутки от начала исследования)

Проводят высев со сред накопления (2—3 сутки «холодового обогащения») на плотные дифференциально-диагностические среды (СБТС, Эндо) или другие коммерческие дифференциальные среды для диагностики иерсиниозов, разрешенные к применению на территории Российской Федерации (среда Мак-Конки и др.) — петлей из верхней трети слоя среды (но не с поверхности!), не взбалтывая пробирки (!).

Для инактивации посторонней микрофлоры перед каждым высевом на плотную питательную среду проводят щелочную обработку материала 0,72 %-м раствором гидроксида калия в 0,5 %-м растворе хлорида натрия (30—60 с) или 5 %-м раствором тринатрий фосфата. Посевы инкубируют при (26 ± 2) °С 48 ч (на среде СБТС) или (на среде Эндо) 24 ч (не более 30 ч!).

Ускоренные методы исследования материала из сред накопления (2—3-и сутки «холодового обогащения»): ПЦР или ИФА для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза 1 серотипа. При получении положительного результата выдают подтверждение предварительного положительного ответа и продолжают бактериологическое исследование пробы до выделения культуры. При отрицательных результатах ПЦР на

* Производственный выпуск «Тест-системы иммуноферментной для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза 1 серотипа» будет осуществляться в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера с 2012 г.

этапах I—II дальнейшее бактериологическое исследование пробы прекращают.

III этап исследования

(4—5-е сутки от начала исследования)

Просмотр посевов на дифференциально-диагностических средах, засеянных на этапе II исследования, и учет морфологии колоний.

Проводят отбор характерных для *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* колоний на дифференциальную среду с мочевиной (среду Олькеницкого, УСС или среды Ресселя I и II)* и той же колонии – на скошен-ные столбики (или сектора) МПА (АХ) для накопления бактериальной массы. Посевы инкубируют на средах Олькеницкого, УСС, Ресселя I при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, на МПА (АХ), среде Ресселя II – при $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$. При наличии сложности отбора колонии на две среды возможен первичный отбор колоний на среды с мочевиной с последующим пересевом уреазоположительных культур на МПА (АХ), среде Рессель II.

IV этап исследования

(5—6-е сутки от начала исследования)

Проводят идентификацию и дифференциацию уреазоположительных культур из пробирки (или чашки) с МПА, засеянных на этапе II исследования (2—3 сутки «холодового обогащения»):

- микроскопия мазка, окрашенного по Граму;
- тест на цитохромоксидазу;
- ферментативная активность на средах Гисса** ($26 \pm 2)^\circ\text{C}$: маннитол, сахароза, рамноза, раффиноза, сорбитол, мелибиоза, салицин, ксилоза;
- реакция Фогеса-Проскауэра (среда Кларка) при $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ и $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- декарбоксилирование орнитина (среда Биргера–Крушинской) при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- утилизация цитрата (среда Симмонса) при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- дезаминирование фенилаланина (агар с фенилalaniном) при $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- образование индола (0,3 % полужидкий агар) при $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ и $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$;

* Прописи сред и способ приготовления представлены в прилож. 8.

** При использовании сред Ресселя I и II проводят постановку следующих биохимических тестов – сахароза, рамноза, раффиноза, салицин, ксилоза, сорбит, индол.

- проба с псевдотуберкулезным фагом (агар Хоттингера, МПА) при $(26 \pm 2) ^\circ\text{C}$;
- постановка ОРА на стекле с псевдотуберкулезной и иерсиниозной сыворотками – культуры с МПА (АХ), среды Ресселя II;
- идентификация возбудителя с использованием полу- или автоматизированных систем идентификации («Vitek-2», «Mini API», «Микроб-2», «Микроб-Автомат» или аналоги) – при наличии оборудования и тест-систем.

V этап исследования

(5—7-е сутки от начала исследования)

Проводят высев со сред накопления (5—7-е сутки «холодового обогащения») на плотные дифференциально-диагностические среды после предварительной щелочной обработки.

Проводят учет результатов биохимической идентификации и дифференциации *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, проведенных на IV этапе исследования (2—3-и сутки «холодового обогащения»), определяют биотип *Y. enterocolitica*.

Проводят реакцию агглютинации на стекле с сывороткой к вирулентным иерсиниям.

Выдача окончательного положительного ответа.

VI этап исследования

(7—8-е сутки от начала исследования)

Просмотр посевов на дифференциально-диагностических средах, засеянных на V этапе исследования (5—7-е сутки «холодового обогащения»).

Проводят отбор характерных для *Y. pseudotuberculosis* и *Y. Enterocolitica* колоний на дифференциальную среду с мочевиной (среду Олькеницкого, УСС или среды Ресселя I и II) и МПА (АХ).

VII этап исследования

(8—10-е сутки от начала исследования)

Проводят идентификацию и дифференциацию уреазоположительных культур, засеянных на VI этапе исследования (5—7-е сутки «холодового обогащения») по тестам, предусмотренным на IV этапе исследования.

VIII этап исследования

(9—11-е сутки от начала исследования)

Проводят учет результатов биохимической идентификации и дифференциации *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, проведенных на VII этапе исследования (5—7-е сутки «холодового обогащения»), определяют биотип *Y. enterocolitica*.

Проводят реакцию агглютинации на стекле с сывороткой к вирулентным иерсиниям.

Выдача окончательного положительного ответа.

**IX этап исследования
(10-е сутки от начала исследования)**

Проводят высеv со сред накопления на дифференциально-диагностические среды после предварительной щелочной обработки (10-е сутки «холодового обогащения»).

**X этап исследования
(12-е сутки от начала исследования)**

Просмотр посевов на дифференциально-диагностических средах, засеянных на IX-м этапе исследования (10-е сутки «холодового обогащения»), отбор характерных для *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* колоний на дифференциальную среду с мочевиной (среду Олькеницкого, УСС или среды Ресселя I и II) и агар МПА (АХ).

**XI этап исследования
(13-е сутки от начала исследования)**

Проводят идентификацию и дифференциацию уреазоположительного изолята, засеянного на X-м этапе исследования (10-е сутки «холодового обогащения»), по набору биохимических тестов, предусмотренных на IV-м этапе исследования.

**XII этап исследования
(14-е сутки от начала исследования)**

Проводят учет результатов биохимической идентификации и дифференциации *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, проведенных на XI-м этапе исследования (10-е сутки «холодового обогащения»);

Выдача окончательного положительного ответа.

Передача выделенной культуры для дальнейшей идентификации в специализированную лабораторию возможна на любом этапе исследования.

5.1.3.2. Полимеразная цепная реакция

Для выявления ДНК иерсиний используют наборы для ПЦР, зарегистрированные в установленном порядке. Постановку и учет реакции осуществляют в соответствии с инструкцией по применению. Материал для исследования отбирается в одноразовую пробирку (или контейнер) в соответствии с п. 5.1.3.1 в среду накопления ЗФР (рН 7,2—7,4).

Наиболее информативным для ПЦР являются испражнения и кровь в период лихорадки. Материал забирается немедленно при выявлении больного и до назначения антибиотиков (!).

Исследование проб проводят в первые сутки их получения и на 2—3 сутки после «холодового обогащения» в ЗФР. Непосредственно перед исследованием проводят пробоподготовку материала, используя набор для выделения ДНК.

При использовании этих методов при пробоподготовке получают препарат суммарной ДНК всех содержащихся в пробе микроорганизмов, что может вызвать ингибирование ПЦР и снижение ее чувствительности. Разработан способ подготовки проб, основанный на использовании щелочной обработки материала, при котором большая часть индигенной микрофлоры погибает и удаляется как супернатант при центрифугировании, а относительно устойчивые к щелочи иерсинии выживают (патент от 27.07.2000 № 2153671):

1. Исследуемый материал (нативный) центрифугируют при 500—1 000 об./мин 1,5—2,0 мин для осаждения грубых частиц или отстаивают 2—3 ч при комнатной температуре.

2. Переносят 0,2—0,5 мл верхней фазы (в том числе, после «холодового обогащения» в течение 2—3 суток) в лунки полистиролового планшета для серологических реакций и смешивают с 0,72 % КОН в таком же объеме.

3. После 30—60 с экспозиции проводят посев материала на дифференциально-диагностические среды и сразу же в лунки планшета добавляют 0,2—0,5 мл БХ для прекращения действия щелочи как селективного агента.

4. Материал из лунки переносят в пробирку типа «Эплендорф» и центрифугируют на микроцентрифуге при 10 000—12 000 об./мин 3—5 мин.

5. Надосадочную жидкость удаляют, осадок дважды промывают дистиллированной водой путем центрифугирования.

6. К осадку добавляют 20 мкл деионизированной воды, прогревают 10 мин при 100 °С, центрифугируют при 12 000 об./мин 2 мин. Для ПЦР используют 1—3 мкл надосадочной жидкости.

5.1.3.3. Иммунологические методы выявления специфических антигенов

Для выявления антигенов иерсиний используют тест-систему иммуноферментную для выявления антигенов иерсиний псевдотуберкулеза I серотипа.

Материал для исследования, сроки и правила его взятия аналогичны п. 5.1.3.1.

Исследование проб проводят в первые сутки их получения и затем на 3—5-е сутки после «холодового обогащения» в среде ПК. Непосред-

ственно перед исследованием материал инактивируют 30 мин при $(56 \pm 1)^\circ\text{C}$, центрифугируют при 3 000 об./мин и берут для исследования надосадочную жидкость. Постановку и учет реакции осуществляют в соответствии с инструкцией по применению.

5.1.3.4. Серологическое исследование на иерсиниозы

Для исследования требуется две пробы крови, взятые в разные периоды заболевания (парные сыворотки!): 1-я неделя начала заболевания и конец 2-й, начало 3-й недели болезни.

Серологическая диагностика основывается на появлении или нарастании титра антител в течение болезни. Достоверным считается 2—4-кратное и выше нарастание титра антител при исследовании парных сывороток.

Реакция агглютинации (РА). Для постановки РА используют стандартные иерсиниозные антигены распространенных серотипов, представляющие собой 10 млрд взвесь иерсиний эталонных штаммов в S-форме, убитых формалином и суспендированных в 0,9 %-м растворе хлорида натрия. Перед постановкой микробную взвесь разводят в 10 раз до рабочей концентрации 1 млрд/мл. Реакцию ставят методом равных объемов (0,5 мл сыворотки + 0,5 мл взвеси). Диагностический титр — 1:160.

Реакция непрямой гемагглютинации (РНГА). Для постановки РНГА используют коммерческие эритроцитарные диагностикумы к *Y. pseudotuberculosis* I серотипа и *Y. enterocolitica* серотипов O:3 и O:9, представляющие собой полисахаридные антигены иерсиний, фиксированные на поверхности формализированных бараньих эритроцитов. Методика постановки и учета РНГА приведена в инструкции по применению. При постановке РНГА с псевдотуберкулезным диагностикумом диагностический титр равен 1 : 100, кишечной иерсиниозными — 1 : 200.

Для повышения диагностической эффективности РНГА и исключения ложноположительных результатов рекомендуется соблюдать следующие правила при постановке:

1. Непосредственно перед постановкой РНГА чистые полистироловые пластины ополаскивают дистиллированной водой, а затем высушивают.

2. Накануне постановки РНГА эритроцитарный диагностикум разводят 10 мл ЗФР (рН 7,2) и помещают в холодильник на ночь (для регидратации эритроцитов). Диагностикум, используемый сразу после разведения, часто дает нечеткий результат.

3. Исследуемые сыворотки крови, разведенные ЗФР в соотношении 1 : 25, необходимо прогреть при 56°C в течение 30 мин для устранения

неспецифических гемагглютининов, которые могут содержаться в сыворотках крови людей.

4. Поскольку некоторые сыворотки крови человека содержат антигена к эритроцитам барана (последние используются для конструирования коммерческого диагностикума), рекомендуется предварительно перед использованием провести адсорбцию каждой сыворотки 50 %-й взвесью бараньих эритроцитов (0,1 мл на 1 мл сыворотки) в течение ночи при температуре холодильника.

Иммуноферментный анализ (ИФА). Для постановки ИФА используют тест-системы «Иерсиниоз-ИФА-IgA», «Иерсиниоз-ИФА-IgM», «Иерсиниоз-ИФА-IgG», предназначенные для выявления антител классов А, М и G к возбудителям кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза. Постановку и учет реакции осуществляют в соответствии с инструкцией по применению.

5.1.4. Регистрация и оформление результатов исследования

Данные о проведении исследований (испытаний) регистрируются в учётной документации, включающей:

- направления на проведение исследований;
- журналы регистрации образцов, поступивших на исследование;
- журналы регистрации результатов исследований.

Результаты каждого исследования (испытания) оформляются по унифицированным формам.

5.2. Порядок организации и проведения лабораторных исследований на иерсиниозы в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании (городе, административном районе) в субъекте Российской Федерации

5.2.1. Требования к лабораториям филиалов (отделений) ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании (городе, административном районе) в субъекте Российской Федерации, осуществляющим исследования на иерсиниозы

Согласно п. 5.1.1.

5.2.2. Номенклатура и объем исследований

Микробиологические лаборатории филиалов (отделений) ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании (городе, административном районе) в субъекте Российской Федерации при проведении эпидемиологического надзора в соответствии с требованиями СП 3.1.2615—10 «Профилактика иерсиниозов» осуществляют в плановом порядке:

- исследование проб с эпидемически значимых объектов («объекты риска»): смывы с оборудования, инвентаря, овощей, пищевых продуктов в овощехранилищах, мясо- и молокоперерабатывающих предприятиях, объектах торговли продуктами растительного происхождения, пищеблоках объектов общественного питания, общеобразовательных учреждений, детских и медицинских организациях;

- исследования продуктов животноводства, птицеводства, плодово-овощной продукции в разрезе Программы производственного контроля (по согласованию);

- лабораторные исследования материала от больных (подозрительных на заболевание) – осуществляются по согласованию.

По эпидпоказаниям исследованию подлежат:

- материал от людей, находящихся в одинаковых с больными условиях по риску заражения, в эпидемических очагах при проведении эпидемиологического расследования и санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий;

- в эпидемических очагах иерсиниозов или при неблагоприятной эпидемиологической ситуации:

- смывы с овощей, фруктов и других продуктов, не подвергающихся термической обработке;

- смывы с поверхности оборудования, инвентаря и тары в овощехранилищах, пищеблоках организованных коллективов, домашних очагах;

- остатки подозреваемых пищевых продуктов (салаты, сок домашнего приготовления, фляжное молоко, творог домашнего приготовления, сырое свиное мясо, субпродукты и т. д.);

- экскременты домашних и сельскохозяйственных животных, смывы с их подстилок;

- помет мелких млекопитающих;

- вода открытых водоемов и из емкостей для хранения.

В лабораториях филиалов (отделений) ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании (городе, административном районе) в субъекте Российской Федерации проводят диагностические исследования материала в следующем объеме:

- 1) посев на среды накопления, «холодовое обогащение» с периодическими высевами на дифференциально-диагностические среды, отсев характерных по морфологическим свойствам колоний иерсиний на ПУС;

- 2) идентификация и дифференциация выделенных культур до вида возбудителя по морфологическим, биохимическим и серологическим свойствам;

3) выявление антител в парных сыворотках (РНГА, ИФА).

5.2.3. Порядок лабораторных исследований на иерсиниозы в филиалах (отделениях) ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании (городе, административном районе) в субъекте Российской Федерации

5.2.3.1. Правила отбора и транспортирования проб из объектов окружающей среды

Отбор проб и доставку осуществляют специалисты, владеющие методами отбора проб из объектов окружающей среды филиалов (отделений) ФБУЗ «ЦГиЭ».

- *Пищевые продукты.* В стерильную емкость помещают 25 г каждого продукта.

- *Овощи.* Одним влажным стерильным тампоном делают смыв не менее чем 10 экз. каждого вида овощей на границе здоровой и гниющей части, помещают тампон в 5,0—10,0 мл среды накопления.

- *Смывы с оборудования, инвентаря, тары.* Одним влажным тампоном производят смыв с одноименных поверхностей площадью 100 см² каждая, тампон помещают в 5,0—10,0 мл среды накопления.

- *Вода из емкостей для хранения и открытых водоемов.* В стерильные флаконы забирают 1—2 л воды.

- *Помет.* Собирают стерильной палочкой 1—2 г и помещают в 5,0 мл среды накопления.

Пробы маркируют, обрабатывают снаружи дезинфицирующим раствором, упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой-молнией, заполняют бланк-направление и помещают в контейнер для транспортирования материала для исследования. Транспортирование осуществляют при температуре 4—12 °С в течение двух часов после забора.

5.2.3.2. Правила отбора и транспортирования проб от больных (подозрительных на заболевание) и лиц, находящихся с ними в одинаковых условиях по риску заражения.

Материал от больных (подозрительных на заболевание) и лиц, находящихся с ними в одинаковых условиях по риску заражения, забирает медицинский персонал МО немедленно при выявлении больного, до начала лечения антибиотиками.

Пробы маркируют, обрабатывают снаружи дезинфицирующим раствором, упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой-молнией и вместе с бланком-направлением транспортируют при 4—12 °С в лабораторию МО или филиал (отделение) ФБУЗ «ЦГиЭ» (по договоренности) в течение двух часов после забора.

Взятие материала осуществляют согласно п. 5.1.3.1.

5.2.3.3. Порядок проведения лабораторного исследования на иерсиниозы объектов окружающей среды и материала от людей.

Исследование проб объектов окружающей среды, исследование клинического материала на иерсиниозы, видопринадлежность выделенных культур осуществляют в соответствии с п. 5.1.3.

5.2.4. Регистрация и оформление результатов исследования

Регистрация результатов анализа производится по учетным формам филиалов (отделений) ФБУЗ «ЦГиЭ» согласно п. 5.1.4.

5.2.5. Порядок передачи информации и выделенных культур лабораториями филиалов (отделений) ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в ФБУЗ

«Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации

Информация о выделенных штаммах *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* в лабораториях филиалов (отделений) ФБУЗ «ЦГиЭ» от людей и объектов окружающей среды передается в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации.

Культуры *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* направляются в лаборатории ФБУЗ «ЦГиЭ» в субъекте Российской Федерации. Передача и транспортирование осуществляются в соответствии с действующими санитарными правилами по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Прилагается паспорт на культуру в одном экземпляре (прилож. 7 к МУ), сопроводительное письмо, акт передачи живых культур.

5.3. Порядок организации и проведения лабораторных исследований на иерсиниозы в лабораториях ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации

5.3.1. Требования к лабораториям ФБУЗ

«Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации

Согласно п. 5.1.1.

5.3.2. Номенклатура и объем исследований

Микробиологические лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации проводят в плановом порядке:

- исследования проб с эпидемиологически значимых объектов «объектов риска» (смывы с оборудования, инвентаря, овощей, пищевых продуктов в овощехранилищах, мясо- и молокоперерабатывающих

предприятиях, объектах торговли продуктами растительного происхождения, пищеблоках объектов общественного питания, общеобразовательных учреждениях, детских и медицинских организациях);

- исследования продуктов животноводства, птицеводства, плодово-овощной продукции в разрезе Программы производственного контроля (по согласованию);

- исследования материала от больных (подозрительных на заболевание) (по согласованию);

- подтверждение и идентификацию культур иерсиний, выделенных лабораториями МО и филиалами (отделениями) ФБУЗ «ЦГиЭ» по морфологическим, культурально-биохимическим и серологическим свойствам.

По эпидпоказаниям исследованию подлежат:

- материал от людей, находящихся в одинаковых с больными условиях по риску заражения, в эпидемических очагах при проведении санитарно-противоэпидемических мероприятий;

- смывы с овощей, фруктов и других продуктов, не подвергающихся термической обработке;

- смывы с поверхности оборудования, инвентаря и тары в овощехранилищах, пищеблоках организованных коллективов, домашних очагах;

- остатки подозреваемых пищевых продуктов (салаты, сок домашнего приготовления, фляжное молоко, творог домашнего приготовления, сырое свиное мясо, субпродукты и т. д.);

- экскременты домашних и сельскохозяйственных животных, смывы с их подстилок;

- помет мелких млекопитающих;

- вода открытых водоемов и из ёмкостей для хранения;

- исследование проб, собранных в ходе эпизоотологического обследования (тонкий кишечник мелких млекопитающих и птиц, брыжейка и мезентеральные лимфоузлы, гнезда грызунов, почва).

В лабораториях ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации проводят исследования материала в следующем объеме:

- 1) посев на среды накопления, «холодовое обогащение» с периодическими высевами на дифференциально-диагностические среды, отсева характерных для иерсиний колоний на ПУС с одновременным выполнением экспресс-методов диагностики иерсиниозов (ПЦР, Real-time ПЦР);

- 2) идентификация и дифференциация выделенных культур до вида по морфологическим, биохимическим и антигенным свойствам, в том числе с использованием полу- или автоматизированных систем иденти-

фикации («Vitek-2», «Mini API», «Микроб-2», «Микроб-Автомат» или аналоги) при наличии оборудования и тест-систем;

3) индикация и идентификация культур иерсиний с использованием ПЦР, Real-time ПЦР;

4) выявление антител в парных сыворотках (РНГА, ИФА, РА).

5.3.3. Порядок лабораторных исследований на иерсиниозы в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации

5.3.3.1. Правила отбора и транспортирования проб из объектов окружающей среды.

Отбор и транспортирование материала осуществляют согласно п. 5.2.3.1.

5.3.3.2. Правила отбора и транспортирования клинического материала.

Отбор и транспортирование материала осуществляют согласно пп. 5.1.3.1 и 5.2.3.2.

5.3.3.3. Правила отбора проб материала от животных, собранных при обследовании природных или антропоургических очагов иерсиниозов.

Материал, собранный в ходе обследования природных и антропоургических очагов, должен быть свежим, поэтому органы животных следует забирать в максимально короткие сроки или соблюдать низкотемпературный режим для транспортировки и хранения полевого материала. Лабораторному исследованию подвергают: тонкий кишечник мелких млекопитающих, птиц, сельскохозяйственных и домашних животных, субстрат гнезд грызунов:

• *Тонкий кишечник.* 1,0—2,0 г в месте перехода тонкой кишки в толстую с содержимым забирают стерильно и помещают в 5,0 мл среды накопления.

• *Брыжейка, мезентеральные лимфоузлы.* 1,0—2,0 г стерильно измельчают, 1 мл суспензии помещают в 5,0 мл среды накопления.

• *Гнезда грызунов.* Субстраты гнезд (примерно 10 г каждого) растирают в ступке пестиком с фосфатно-буферным раствором, 1,5 мл взвеси вносят в 15,0 мл среды накопления.

5.3.3.4. Порядок проведения лабораторного исследования на иерсиниозы объектов окружающей среды, материала от людей, полевого материала, выделенных культур.

Исследование материала от людей с диагностической целью и по эпидпоказаниям, проб из объектов окружающей среды по эпидпоказаниям проводят в соответствии с п. 5.1.3. При осуществлении планового эпизоотологического мониторинга за природными очагами иерсиниозов высевы со сред накопления рекомендуется проводить до 21 суток.

Идентификация выделенной культуры проводится по следующим тестам:

- характерная морфология колоний;
- типичные биохимические свойства;
- чувствительность к псевдотуберкулезному фагу;
- серологическое типирование с использованием диагностических сывороток к *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*;
- биотипирование *Y. enterocolitica* по набору тестов (ферментация салицина, липазная активность, образование индола, ферментация ксилы, нитратредуктазная активность, реакция Фогес-Проскауэра);
- определение вирулентности иерсиний по фенотипическим признакам (тест на аутоагглютинацию, определение кальцийзависимости роста иерсиний);
- РА на стекле с сывороткой к вирулентным иерсиниям.

5.3.4. Регистрация и оформление результатов исследования

Регистрация результатов анализа производится по учетным формам ФБУЗ «ЦГиЭ» согласно п. 5.1.4.

5.3.5. Порядок передачи информации и выделенных культур лабораториями ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации в Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности

Информация о выделенных или идентифицированных культурах *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* передается в Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности.

Культуры иерсиний, выделенных от людей, мелких млекопитающих и объектов окружающей среды, и идентифицированные в лабораториях ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации передаются в установленном порядке в Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности. Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов II—IV групп патогенности. Прилагается паспорт на культуру, сопроводительное письмо и акт передачи патогенных биологических агентов III—IV групп за пределы организации.

6. Порядок организации и проведения исследований на иерсиниозы для лабораторий регионального уровня

6.1. Порядок организации и проведения исследований на иерсиниозы в лабораториях Региональных центров по мониторингу возбудителей инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности в федеральных округах

6.1.1. Требования к лабораториям Региональных центров по мониторингу возбудителей инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности

Согласно п. 5.1.1.1.

6.1.2. Номенклатура и объем исследования

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности проводят:

- верификацию культур иерсиний и их расширенную идентификацию;
- диагностические исследования материала от больных и объектов окружающей среды – в случае отсутствия диагностических возможностей на местах, трудности дифференциальной диагностики, наличия тяжелых и атипичных форм инфекции и т. д.;
- исследование проб, собранных в ходе эпизоотологического обследования природных и антропоургических очагов иерсиниозов;
- контроль качества питательных сред.

Лаборатории Региональных центров по мониторингу возбудителей инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности проводят исследования в следующем объеме:

- идентификация культур, доставленных (определение биотипа, серотипа возбудителя, определение вирулентности культуры по фенотипическим признакам);
- индикация и идентификация культур иерсиний при использовании ПЦР, Real-time ПЦР;
- посев на среды накопления с одновременным выполнением экспресс-методов диагностики (ПЦР, Real-time ПЦР);
- высев со сред накопления на дифференциально-диагностические среды, отсев подозрительных колоний для последующей родовой и видовой дифференциации;
- идентификация возбудителя с использованием полу- или автоматизированных систем идентификации («Vitek-2», «Mini API», «Микроб-2», «Микроб-Автомат» или аналоги) при наличии оборудования.

6.1.3. Организация и обеспечение исследований на иерсиниозы в лабораториях Региональных центров по мониторингу возбудителей инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности

Порядок исследований клинического материала, проб из объектов окружающей среды, грызунов, птиц, материала от сельскохозяйственных и домашних животных проводят в соответствии с п. 5.1.3.

К подтверждающим тестам относительно *Y. pseudotuberculosis*/*Y. enterocolitica* относятся:

- характерная морфология колоний;
- типичные биохимические свойства;
- чувствительность к псевдотуберкулезному бактериофагу;
- серологическое типирование с использованием диагностических сывороток к *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis*;
- биотипирование *Y. enterocolitica* по набору тестов (ферментация салицина, ксилозы, образование индола, редукция нитратов, реакция Фогес-Проскауэра);
- тест на аутоагглютинацию, определение кальцийзависимости роста иерсиний, определение температурозависимой морфологии колоний; РА на стекле для выявления вирулентных иерсиний с СВИ;
- определение чувствительности к антибиотикам диско-диффузионным методом;
- определение видоспецифических ДНК-мишеней методом ПЦР.

6.1.4. Регистрация и оформление результатов исследования

Регистрация результатов исследования оформляется согласно п. 5.1.4.

6.1.5. Порядок передачи информации и выделенных культур лабораториями Региональных центров по мониторингу возбудителей инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности в Референс-центры

Информация о выделенных и идентифицированных культурах *Y. pseudotuberculosis* и патогенных *Y. enterocolitica* передается в Референс-центр по мониторингу за возбудителями иерсиниозов (ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера» Роспотребнадзора) и Референс-центр по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекций (ФКУЗ «Иркутский НИПЧИ Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора).

При невозможности проведения диагностических исследований для установления причинно-следственной связи при работе в эпидемическом очаге, верификации и расширенной идентификации культур в Региональном центре по мониторингу за возбудителями II—IV групп па-

тогенности лабораторные исследования (пп. 6.1.2 и 6.1.3) проводятся в других Региональных центрах по мониторингу за возбудителями II—IV групп патогенности по согласованию с Референс-центром по иерсиниозам (Региональные опорные базы-консультантов). Лаборатории данных центров должны соответствовать требованиям, изложенным в п. 5.1.1.

Культуры *Y. pseudotuberculosis* и патогенных *Y. enterocolitica* от людей, грызунов и объектов окружающей среды, идентифицированные в лабораториях ФБУЗ «ЦГиЭ» в субъекте РФ, Региональных центрах по мониторингу возбудителей II—IV групп патогенности и в Региональных опорных базах – консультантов в федеральных округах передаются в установленном порядке в Референс-центр по иерсиниозам, а для территорий Сибирского и Дальневосточного федеральных округов – в Референс-центр по природно-очаговым инфекционным болезням.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов II—IV групп патогенности. Прилагается паспорт на культуру (прилож. 7 к МУ), сопроводительное письмо и акт передачи патогенных биологических агентов III—IV групп за пределы организации.

7. Порядок организации и проведения исследований на иерсиниозы в лабораториях федерального уровня (Референс-центр по мониторингу за иерсиниозами, Референс-центр по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней)

7.1. Требования к лабораториям Референс-центра по мониторингу за иерсиниозами и Референс-центра по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней

Согласно п. 5.1.1.

7.2. Номенклатура и объем исследований

Диагностические лаборатории Референс-центров проводят:

- расширенную идентификацию и изучение биологических, биохимических, молекулярно-генетических характеристик иерсиний, в том числе культур с атипичными свойствами;
- проводят генотипирование иерсиний современными методами;
- проводят исследования клинического материала, проб из объектов окружающей среды и проб полевого материала – на договорной основе;
- оказывают консультативно-методическую помощь по проведению лабораторных исследований на иерсиниозы организациям Роспотребнадзора и здравоохранения в субъектах Российской Федерации;

- обеспечивают повышение профессиональной подготовки специалистов лабораторного звена организаций Роспотребнадзора и здравоохранения при наличии соответствующих разрешительных документов;
- направляют в Государственные коллекции штаммы иерсиний в установленном порядке;
- организуют работы по внешнему контролю качества лабораторных исследований и мониторинга за иерсиниями по согласованию с Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

7.3. Организация и обеспечение деятельности при мониторинге за иерсиниозами

Материалом для исследования служат культуры иерсиний, в том числе культуры с атипичными свойствами, выделенные в лабораториях территориального (муниципального) и регионального уровней; клинический материал, сыворотка крови больных иерсиниозами и подозрительных на инфекцию лиц, пробы из объектов окружающей среды и полевой материал по эпидпоказаниям и на договорной основе.

При исследовании культур возбудителей иерсиниозов, в том числе культур с атипичными свойствами, используют биологические и современные высокотехнологичные методы бактериологического, иммуносерологического и молекулярно-генетического анализа, а также современные серологические методы исследования сывороток крови больных иерсиниозами и подозрительных на эти инфекции, обследуемых по эпидпоказаниям.

Порядок исследования клинического материала, проб из объектов окружающей среды, мелких млекопитающих на иерсиниозы соответствуют п. 5.1.3.

Идентификация поступивших культур осуществляется по полной схеме:

- характерная морфология колоний;
- изучение биохимических свойств на расширенной биохимической панели, определение биотипа *Y. enterocolitica*;
- постановка развернутой реакции агглютинации с иерсиниозными агглютинирующими сыворотками (к *Y. enterocolitica* серотипов O:3; O:5,27; O:8; O:9 и др.; к *Y. pseudotuberculosis* серотипов O:1, O:3);
- определение детерминант патогенности в ПЦР (гены «острова высокой патогенности» НР1; «острова патогенности» YAP1; гены адгезии – инвазии *inv*, *ail*, гены энтеротоксинов *ystA*, *ystB*, гены плазмиды вирулентности иерсиний);

- определение чувствительности к антибиотикам (диско-диффузионным методом, методом разведений в агаре и бульоне);
- определение плазмидного спектра выделенных штаммов;
- определение серо- генотипа ПЦР (в случае отсутствия диагностических сывороток);
- электрофорез в пульсирующем поле (PFGE) – определение пульсогипа;
- мультилокусный варибельный анализ (MLVA);
- определение вирулентности *Y. pseudotuberculosis* (определение LD₅₀ при пероральном заражении белых мышей с помощью зонда; постановка кератоконъюнктивальной пробы на морских свинках).

При идентификации культур иерсиний с атипичными свойствами используют дополнительные биохимические, серологические, иммунологические и другие методы для подтверждения принадлежности культур к роду *Yersinia* и известным видам:

- расширенная панель биохимических тестов;
- ПЦР с использованием дополнительных специфических праймеров;
- постановка иммуносерологических реакций с использованием моноклональных антител.

Окончанием идентификации должно быть составление молекулярного профиля возбудителя.

7.4. Порядок взаимодействия лабораторий Референс-центра по мониторингу за иерсиниозами с организациями Роспотребнадзора

Информация об идентифицированных культурах иерсиний направляется в Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности по согласованию с Референс-центром по иерсиниозам. Оригинальные штаммы иерсиний, идентифицированные в бактериологических лабораториях Референс-центров, передаются в Государственную коллекцию штаммов микроорганизмов Национального центра верификации диагностической деятельности ФКУЗ «РосНИПЧИ «Микроб» Роспотребнадзора.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Прилагается паспорт на культуру в одном экземпляре, сопроводительное письмо, акт передачи патогенных биологических агентов III—IV групп за пределы организации.

**Подготовка кадров по лабораторным исследованиям
нерсиниозов**

№ п/п	Перечень бактериологических лабораторий с учётом уровней	Уровни подготовки								
		Профессиональная переподготовка по специальности «Бактериология» («Лабораторное дело») (не менее 500 ч)		Повышение квалификации каждые 5 лет (не менее 144 ч)		Сертификационный цикл		Другие виды подготовки (тематические семинары, рабочие места в лабораториях Референс-центрах (по согласованию))		
		врачи, биологи	лаборанты	врачи, биологи	лаборанты	врачи	лаборанты	врачи, биологи	лаборанты	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Территориальный уровень										
1	ЛПО	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Филиалы (отделения) ФБУЗ ЦГиЭ	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3	ФБУЗ ЦГиЭ	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Региональный уровень										
1	Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности	+	+	+	+	+	+	+	—	—
2	Опорные базы – консультантов, сотрудничающие по согласованию с Референс-центром по нерсиниозам	+	+	+	+	+	+	+	—	—

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Федеральный уровень									
1	Референс-центр по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней	+	+	+	+	+	+	-	-
	Референс-центр по мониторингу за иерсиниозами	+	+	+	+	+	+	-	-
+ – обязательный уровень подготовки; -- не требуется подготовка для такого уровня; * – подготовка для такого уровня рекомендуется, но не является обязательной									

Требования к профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторные исследования иерсиниозов

1. Требования к знаниям и умениям специалистов МО, выполняющих исследования на иерсиниозы

1.1. Врачи-бактериологи, врачи-лаборанты ПЦР-лаборатории должны знать:

- основные положения клинико-эпидемиологических проявлений иерсиниозов и характеристику иерсиний, особенности лабораторного обследования больного в соответствии с клиническими формами заболеваний;

- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на иерсиниозы;

- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на заражённость возбудителями III—IV групп патогенности;

- порядок сбора, хранения, обеззараживания, утилизации биологических отходов;

- порядок доставки, приёма, регистрации клинического материала;

- порядок проведения работ, обеспечивающих лабораторное исследование (подготовка диагностических препаратов, химических реактивов, расходных материалов, лабораторной посуды, сред, пробоподготовка клинического материала);

- этапы лабораторного исследования;

- методы лабораторного исследования;

- морфологические, культуральные, серологические, биохимические, вирулентные, молекулярно-биологические свойства иерсиний;

- порядок работы на лабораторном оборудовании;

- порядок выдачи результатов лабораторного исследования;

- порядок, сроки передачи культур иерсиний в специализированную лабораторию для дальнейшего изучения;

- требования биологической безопасности при передаче ПБА.

1.2. Врачи-бактериологи должны уметь:

- проводить отбор типичных для иерсиний колоний с питательных сред;

- проводить пересев колоний на полиуглеводные среды;

- проводить биотипирование выделенных культур *Y. enterocolitica*;

- проводить с выделенными культурами *Y. enterocolitica* РА с сывороткой к вирулентным иерсиниям;

- проводить учёт полученных морфологических, культуральных, серологических, биохимических, вирулентных свойств исследуемого микроорганизма;

- проводить учёт серологического исследования крови;

- выдавать ответ по результатам исследований;

- готовить культуры, материал для передачи в специализированную лабораторию;

- вести необходимую документацию.

1.3. Врачи-лаборанты ПЦР-лаборатории должны уметь:

- готовить рабочее место для проведения ПЦР-исследования;

- проводить выделение нуклеиновых кислот, амплификацию, учёт результатов;

- проводить обеззараживание рабочего места после окончания работ;

- выдавать ответ по результатам исследований;

- вести необходимую документацию.

1.4. Лаборанты-бактериологи должны знать:

- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на иерсиниозы;

- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на заражённость возбудителями III—IV групп патогенности;

- порядок сбора, хранения, обеззараживания, утилизации биологических отходов;

- порядок доставки, приёма, регистрации клинического материала;

- порядок проведения работ, обеспечивающих лабораторное исследование (подготовка диагностических препаратов, химических реактивов, расходных материалов, лабораторной посуды, сред, пробоподготовка клинического материала);

- этапы лабораторного исследования;

- методы лабораторного исследования;

- порядок работы на лабораторном оборудовании.

1.5. Лаборанты-бактериологи должны уметь:

- принимать, регистрировать клинический материал, оценивать соблюдение требований доставки клинического материала;

- проводить подготовку диагностических препаратов, химических реактивов, расходных материалов, лабораторной посуды, сред, пробоподготовки клинического материала;

- выполнять первичные посевы клинического материала, пересевы со сред обогащения, проведение биохимических тестов;

- выполнять постановку серологических реакций (РА, ИФА, РНГА);

- готовить дезинфицирующие средства, обеззараживать посевы, биологические отходы;

- готовить культуры, материал для передачи в специализированную лабораторию;

- готовить рабочие места врача и лаборанта, после окончания работ проводить обеззараживание;

- вести необходимую документацию.

1.6. Лаборанты ПЦР-лаборатории должны уметь:

- принимать, регистрировать клинический материал, оценивать соблюдение требований забора, доставки клинического материала;

- готовить рабочее место для проведения ПЦР-исследования;

- проводить пробоподготовку клинического материала;

- проводить выделение нуклеиновых кислот;

- проводить обеззараживание рабочего места после окончания работ;

- готовить дезинфицирующие средства, обеззараживать биологические отходы.

2. Требования к знаниям и умениям специалистов филиалов (отделений) ФБУЗ ЦГиЭ, выполняющих исследования на иерсиниозы

2.1. Врачи-бактериологи должны знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за иерсиниозами, в том числе контингент обследуемых, клинические формы заболеваний, виды исследуемых проб из объектов окружающей среды;

- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на иерсиниозы;

- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на заражённость возбудителями III—IV групп патогенности;

- порядок сбора, хранения, обеззараживания, утилизации биологических отходов;

- порядок доставки, приема, регистрации клинического материала, проб из объектов окружающей среды;

- порядок проведения работ, обеспечивающих лабораторное исследование (подготовка диагностических препаратов, химических реактивов, расходных материалов, лабораторной посуды, сред, пробоподготовка материала);

- этапы лабораторного исследования;
- методы лабораторного исследования;
- морфологические, культуральные, серологические, биохимические, вирулентные свойства иерсиний;
- порядок работы на лабораторном оборудовании;
- порядок выдачи результатов лабораторного исследования;
- порядок, сроки передачи культур иерсиний в специализированную лабораторию для дальнейшего изучения;
- требования биологической безопасности при передаче ПБА в другую организацию.

2.2. Врачи-бактериологи должны уметь:

- проводить отбор типичных для иерсиний колоний с питательных сред;
- проводить пересев колоний на полиуглеводные среды;
- проводить биотипирование выделенных культур *Y. enterocolitica*;
- проводить с выделенными культурами *Y. enterocolitica* РА с сывороткой к вирулентным иерсиниям;
- проводить учёт полученных морфологических, культуральных, серологических, биохимических свойств и маркеров вирулентности исследуемого микроорганизма;
- проводить учёт серологического исследования крови;
- выдавать ответ по результатам исследований;
- готовить культуры, материал для передачи в специализированную лабораторию;
- вести необходимую документацию.

2.3. Лаборанты должны знать:

- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на иерсиниозы;
- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на заражённость возбудителями III—IV групп патогенности;
- порядок сбора, хранения, обеззараживания, утилизации биологических отходов;

- порядок доставки, приёма, регистрации клинического материала, проб из внешней среды;
- порядок проведения работ, обеспечивающих лабораторное исследование;
 - этапы лабораторного исследования;
 - методы лабораторного исследования;
 - порядок работы на лабораторном оборудовании.

2.4. Лаборанты должны уметь:

- принимать, регистрировать клинический материал, оценивать соблюдение требований доставки клинического материала;
- проводить подготовку диагностических препаратов, химических реактивов, расходных материалов, лабораторной посуды, сред, пробоподготовку исследуемого материала;
- выполнять первичные посевы клинического материала, пересевы со сред обогащения, проведение биохимических тестов, тестов на маркеры вирулентности иерсиний – аутоагглютинации, кальцийзависимости;
- выполнять постановку серологических реакций (РА, ИФА, РНГА);
- готовить дезинфицирующие средства, обеззараживать посевы, биологические отходы;
- готовить рабочие места врача и лаборанта, после окончания работ проводить обеззараживание;
- готовить культуры, материал для передачи в специализированную лабораторию;
- вести необходимую документацию.

3. Требования к знаниям и умениям специалистов региональных центров по мониторингу за возбудителями (II—IV групп патогенности), ФБУЗ ЦГиЭ, выполняющих исследования на иерсиниозы

3.1. Врачи-бактериологи должны знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за иерсиниозами, в том числе контингенты обследуемых, клинические формы заболеваний, виды исследуемых проб от людей, из объектов окружающей среды;
- порядок организации и обеспечения консультативной и практической помощи лабораториям ЛПУ, филиалов (отделений) ФБУЗ ЦГиЭ, ФБУЗ ЦГиЭ территориального уровня;
- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на иерсиниозы;

- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на заражённость возбудителями III—IV групп патогенности;
- порядок сбора, хранения, обеззараживания, утилизации биологических отходов;
- порядок доставки, приёма, регистрации клинического материала, проб из внешней среды;
- порядок проведения работ, обеспечивающих лабораторное исследование (подготовка диагностических препаратов, химических реактивов, расходных материалов, лабораторной посуды, сред, пробоподготовка материала):
 - этапы лабораторного исследования;
 - методы лабораторного исследования;
 - морфологические, культуральные, серологические, биохимические, вирулентные, молекулярно-биологические свойства иерсиний;
 - порядок работы на лабораторном оборудовании;
 - порядок выдачи результатов лабораторного исследования;
 - порядок, сроки передачи культур иерсиний в Референс-центр по иерсиниозам для дальнейшего изучения;
 - требования биологической безопасности при передаче ПБА в другую организацию.

3.2. Врачи-бактериологи должны уметь:

- проводить отбор типичных для иерсиний колоний с питательных сред;
- проводить посев на полиуглеводные среды;
- проводить типирование выделенных культур *Y. enterocolitica* на наличие маркеров вирулентности:
 - проводить с выделенными культурами *Y. enterocolitica* РА с сывороткой к вирулентным иерсиниям;
 - проводить серологическое типирование культур иерсиний;
 - проводить учёт полученных морфологических, культуральных, серологических, биохимических свойств и маркеров вирулентности исследуемого микроорганизма;
 - проводить учёт серологического исследования крови;
 - выдавать ответ по результатам исследований;
 - готовить культуры, материал для передачи в лаборатории Регионального центра по мониторингу за возбудителями I—II группы патогенности. Референс-центр по иерсиниозам;

- вести необходимую документацию.

3.3. Врачи ПЦР-лаборатории должны уметь:

- готовить рабочее место для проведения ПЦР-исследования;
- проводить выделение нуклеиновых кислот, амплификацию, учёт результатов;

- проводить обеззараживание рабочего места после окончания работ;

- выдавать ответ по результатам исследований;

- вести необходимую документацию.

3.4. Лаборанты должны знать:

- нормативные документы, регламентирующие проведение исследований на иерсиниозы;

- требования биологической безопасности при работе с материалом, подозрительным на заражённость возбудителями III—IV групп патогенности;

- порядок сбора, хранения, обеззараживания, утилизации биологических отходов;

- порядок доставки, приёма, регистрации клинического материала;

- порядок проведения работ, обеспечивающих лабораторное исследование ;

- этапы лабораторного исследования;

- методы лабораторного исследования.

3.5. Лаборанты-бактериологи должны уметь:

- принимать, регистрировать клинический материал, оценивать соблюдение требований забора, доставки клинического материала;

- проводить подготовку диагностических препаратов, химических реактивов, расходных материалов, лабораторной посуды, сред, пробоподготовку клинического материала;

- выполнять первичные посевы клинического материала, пересевы со сред обогащения, проведение биохимических тестов, тестов на маркеры вирулентности иерсиний – аутоагглютинации, кальцийзависимости;

- выполнять постановку серологических реакций (РА, ИФА, РНГА);

- готовить дезинфицирующие средства, обеззараживать посевы биологические отходы;

- готовить рабочие места врача и лаборанта, после окончания работ проводить обеззараживание;

- вести необходимую документацию.

3.6. Лаборанты ПЦР-лаборатории должны уметь:

- принимать, регистрировать клинический материал, оценивать соблюдение требований забора, доставки клинического материала;

- готовить рабочее место для проведения ПЦР-исследования;
- проводить пробоподготовку клинического материала;
- проводить обеззараживание рабочего места после окончания работ;
- готовить дезинфицирующие средства, обеззараживать биологические отходы.

4. Требования к знаниям и умениям специалистов МО, ФБУЗ ЦГиЭ (филиалов, отделения филиалов), осуществляющих отбор клинического материала, проб объектов окружающей среды для исследования на иерсиниозы

4.1. Специалисты должны знать:

- основные положения эпидемиологического надзора за иерсиниозами, в том числе контингенты обследуемых, клинические формы заболеваний, виды исследуемых проб от людей, из объектов окружающей среды;

- нормативные документы, регламентирующие забор материала, проб для исследований на иерсиниозы;

- требования биологической безопасности при заборе, доставке материала, подозрительного на заражённость возбудителями III—IV групп патогенности;

- порядок доставки клинического материала, проб из внешней среды;

- порядок заполнения сопроводительной документации.

4.2. Специалисты должны уметь:

- проводить отбор проб от людей, из объектов окружающей среды;

- заполнять сопроводительную документацию;

- доставлять клинический материал, пробы из внешней среды в лабораторию в соответствии с требованиями.

**Питательные среды, используемые для проведения
лабораторных исследований на иерсиниозы**

№ п/п	Наименование питательных сред	Территориальный уровень			Региональный уровень		Федеральный уровень	
		МО	Филиалы (отделения) ФБУЗ «ЦГ иЭ»	ФБУЗ «ЦГ иЭ»	Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности	Опорные базы – консультантов, сотрудничающие по согласованию с Референс-центром по иерсиниозам	Референс-центр по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней	Референс-центр по мониторингу за иерсиниозами
1	2	3	5	6	7	8	9	10
1	Мясонептонный бульон pH 7,6—7,8	+	+	+	+	+	+	+
2	Бульон Хоттингера	+	+	+	+	+	+	+
3	Мясонептонный агар	+	+	+	+	+	+	+
4	Агар Хоттингера	+	+	+	+	+	+	+
5	Фосфатно-буферный раствор pH 7,6—7,8	+	+	+	+	+	+	+
6	Пептонно-калевая среда pH 7,6—7,8	+	+	+	+	+	+	+
7	Транспортная среда Кузнецова pH 7,2—7,4 ^{***}	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
8	Питательная среда для определения чувствительности к антибактериальным препаратам (АГВ)	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
9	Среда Эндо ^{**}	+	+	+	+	+	+	+
10	Среда с бромтимоловым синим (СБТС) ^{**}	+	+	+	+	+	+	+
11	Полужидкий агар (0,2—0,4 %) для определения подвижности	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+

Продолжение прилож. 3

1	2	3	5	6	7	8	9	10
12	Среда Мак Конки**	+	+	+	+	+	+	+
13	Бульон Кларка	-	-	-	-	+	+	+
14	УСС (универсальный скошенный столбик)***	+	+	+	+	+	+	+
15	Трехсахарный агар с мочевиной (среда Олькеницкого)***	+	+	+	+	+	+	+
16	Трехсахарный агар с мочевиной (среда Ресселя I)*,***	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
17	Трехсахарный агар с сахарозой и маннитом (среда Ресселя II)*,***	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
18	Среда с мочевиной для определения уреазы	+	+	+	+	+	+	+
19	Среда для определения гидролиза эскулина	+	+	+	+	+	+	+
20	Среда с орнитинном для определения орнитиндекарбоксилазы	-	-	-	-	+	+	+
21	Среда с фенилаланином	+	+	+	+	+	+	+
22	Среда с лизином для определения лизиндекарбоксилазы	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
23	Среда для определения липазы	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
24	Среда для определения индолообразования	+	+	+	+	+	+	+
25	Среда Симмонса для определения способности утилизировать цитрат	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
Среды Гисса для определения ферментации углеводов								
26	Среда Гисса с сахарозой	+	+	+	+	+	+	+
27	Среда Гисса с рамнозой	+	+	+	+	+	+	+
28	Среда Гисса с раффинозой	+	+	+	+	+	+	+
29	Среда Гисса с трегалозой	+	+	+	+	+	+	+

Продолжение прилож. 3

1	2	3	5	6	7	8	9	10
30	Среда Гисса с сорбитом	+	+	+	+	+	+	+
31	Среда Гисса с ксилитом	+	+	+	+	+	+	+
32	Среда Гисса с салицином	+	+	+	+	+	+	+
33	Среда Гисса с маннитом	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
34	Среда Гисса с сорбозой	--	--	--	--	+	+	+
35	Среда Гисса с мальтозой	--	--	--	--	+	+	+
36	Среда Гисса с меллибиозой	--	--	--	--	+	+	+

+ – обязательное использование данных сред.
+/- – использование данных сред рекомендовано, но не является обязательным.
-- – не используются.
* Возможно применение данных сред при наличии в лабораториях ингредиентов для приготовления.
** Используется любая из предложенных сред или другие среды для выращивания иерсиний коммерческого изготовления, разрешённые к применению на территории Российской Федерации.
*** Используется любая из предложенных полиуглеводных сред или другие дифференциальные иерсиниозные среды, в том числе коммерческого изготовления, разрешённые к применению на территории Российской Федерации

**Диагностические препараты, тест-системы, используемые
для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы**

№ п/п	Наименование диагностических препаратов, тест-систем, биологических препаратов	Территориальный уровень			Региональный уровень		Федеральный уровень	
		МО	Филиалы (отделения) ФБУЗ «ЦГиЭ»	ФБУЗ «ЦГиЭ»	Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности	Опорные базы – консультантов, сотрудничающие по согласованию с Референс-центром по иерсиниозам	Референс-центр по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней	Референс-центр по мониторингу за иерсиниозами
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Иммуноглобулины диагностические флуоресцирующие псевдотуберкулезные адсорбированные лошадиные, лиофилизат для диагностических целей	-	-	+	+	+	+	+
2	Фаг диагностический псевдотуберкулезный сухой, лиофилизат для диагностических целей	-	-	+	+	+	+	+
3	Тест-система иммуноферментная для выявления антигенов иерсиний I серотипа	+	-	+	+	+	+	+
4	Диагностикум псевдотуберкулезный эритроцитарный антигенный сухой	+	+/-	+	+	+	+	+
5	Диагностикум эритроцитарный кишечно-иерсиниозный O:9 антигенный сухой	+	+/-	+	+	+	+	+

Продолжение прилож. 4

1	2	3	4	5	6	7	8	9
6	Диагностикум эритроцитарный кишечнo-иерсиниозный O:3 антигенный сухой	+	+/-	+	+	+	+	+
7	Диагностические сы-воротки псевдотуберкулезные моновалентные (содержат анти-тела к O-антигенам возбудителей псевдо-туберкулеза сероваров I или III)	+/-	-	+/-	+/-	+	+	+
8	Тест-системы для вы-явления ДНК <i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	+	-	+	+	+	+	+
9	Тест-системы для выявления ДНК <i>Yersinia enterocolitica</i>	+	-	+	+	+	+	+
10	Набор для подготовки проб (выделение ДНК)	+	-	+	+	+	+	+
11	ПЦР-тест-системы для выявления генов вирулентности <i>Yersinia pseudotuber- culosis</i> , <i>Yersinia en- terocolitica</i>	-	-	-	+	+	+	+
12	Диагностические сис-темы, энтеротесты для идентификации энте-робактерий	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+

+ – обязательное использование данных тест-систем.
+/- – использование данных тест-систем рекомендовано, но не является обяза-
тельным.
-- не используются.
* Возможно применение данных тест-систем при наличии лабораторного обо-
рудования.
Используется любая из предложенных тест-систем или другие тест-системы
коммерческого изготовления, разрешённые к применению на территории Рос-
сийской Федерации

Химические реактивы, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы

№ п/п	Наименование химических реактивов	Территориальный уровень			Региональный уровень		Федеральный уровень	
		МО	Филиалы (отделения) ФБУЗ «ЦГиЭ»	ФБУЗ «ЦГиЭ»	Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности	Опорные базы — консультантов, сотрудничающие по согласованию с Референс-центром по иерсиниозам	Референс-центр по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней	Референс-центр по мониторингу за иерсиниозами
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Андредэ	+	+	+	+	+	+	+
2	Бриллиантовый зелёный	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
3	Бромтимоловый синий	+	+	+	+	+	+	+
4	Генциан-виолет	+	+	+	+	+	+	+
5	Конго красный	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
6	Метиленовый синий	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
7	Феноловый красный	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
8	Фуксин	+	+	+	+	+	+	+
9	Сахароза	+	+	+	+	+	+	+
10	Рамноза	+	+	+	+	+	+	+
11	Раффиноза	+	+	+	+	+	+	+
12	Сорбит	+	+	+	+	+	+	+
13	Ксилоза	+	+	+	+	+	+	+
14	Сорбоза	-	-	-	-	+	+	+
15	Фукоза	-	-	-	-	+	+	+
16	Мальтоза	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
17	Мелибиоза	-	-	-	-	+	+	+
18	Крахмал	+	+	+	+	+	+	+
19	Маннит	+	+	+	+	+	+	+

Продолжение прилож. 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
20	Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+
21	Лактоза	+	+	+	+	+	+	+
22	Салицин	+	+	+	+	+	+	+
23	Эскулин	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
24	Трегалоза	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
25	Орнитин	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
26	Цистин	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
27	Фенилаланин	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
28	6-нафтол	+	+	+	+	+	+	+
29	Диметилпарафенилендиамин (тетраметилпарафенилендиамин, оксалат)	+/-	+/-	+/-	+	+	+	+
30	Тиосульфат натрия	+	+	+	+	+	+	+
31	Йод кристаллический	+	+	+	+	+	+	+
32	Сернисто-кислый натрий	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
33	Хлористый натрий	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
34	Калия гидрофосфат	+	+	+	+	+	+	+
35	Тринатрий фосфат	+	+	+	+	+	+	+
36	Хлористый натрий					+	+	+
37	Гидроокись калия	+	+	+	+	+	+	+
38	Молибденово-кислый аммоний	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
39	Углекислый натрий безводный	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
40	Железо-аммонийные квасцы	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
41	Мочевина	+	+	+	+	+	+	+
42	Танин	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
43	Леворин	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
44	Грамицидин	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
45	Желчь	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
46	Масло вазелиновое	+	+	+	+	+	+	+
47	Масло иммерсионное	+	+	+	+	+	+	+
48	Масло иммерсионное нефлуоресцирующее	+/-	-	+	+	+	+	+
49	Спирт этиловый	+	+	+	+	+	+	+

Продолжение прилож. 5

1	2	3	4	5	6	7	8	9
50	Глицерин	+	+	+	+	+	+	+
51	Хлорамин или другие дезинфектанты, активные в отношении иерсиний, разрешённые к применению на территории РФ	+	+	+	+	+	+	+
52	ДП – 2Т	+/-	-	+	+	+	+	+
+ – обязательное использование данных средств. +/- – использование данных средств рекомендовано, но не является обязательным. -- не используются								

Приборы и оборудование, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы

№ п/п	Наименование оборудования, СИ	Территориальный уровень			Региональный уровень		Федеральный уровень	
		МО	Филиалы (отделения) ФБУЗ «ЦГ иЭ»	ФБУЗ «ЦГ иЭ»	Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней II—IV групп патогенности	Опорные базы – консультантов, со-трудничающие по согласованию с Референс-центром по иерсиниозам	Референс-центр по мониторингу за возбудителями природно-очаговых инфекционных болезней	Референс-центр по мониторингу за иерсиниозами
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Весы электронные. Диапазон измерений до 600 г, класс точности или погрешность: ± 10 мг	+	+	+	+	+	+	+
2	Весы электронные. Диапазон измерений до 400 г, класс точности или погрешность: ± 10 мг	+	+	+	+	+	+	+
3	pH-метр. Диапазон измерений: 0—14 pH, погрешность: $\pm 0,002$ pH	+	+	+	+	+	+	+
4	Дозатор пипеточный 1-канальный. Диапазон измерений: 25 мкл точность 1,5 %, 50 мкл точность 1,0 %	+	+/-	+	+	+	+	+
5	Дозатор пипеточный 1-канальный. Диапазон измерений: 0,5—10 мкл ССП $\pm (10,0—2,5)$ % СКО 7,0—3,0 %	+/-	+/-	+	+	+	+	+

1	2	3	4	5	6	7	8	9
	2—20 мкл СКО 6—3 % ССП ± 8—2 %, 10—100 мкл ССП ± 2,5—1,5 % СКО 3,0—2,0 %, 100—1 000 мкл ССП ± 1,5—1,0 % СКО 2,0—1,0 %							
6	Термостат электрический суховоздушный. Основные технические характеристики: 28—55 °С ± 1 °С	+	+	+	+	+	+	+
7	Термостат электрический суховоздушный с охлаждением. Основные технические характеристики: 5—60 °С ± 1,5 °С или 5—70 °С ± 0,5 °С	+	+	+	+	+	+	+
8	Шкаф сушильный стерилизационный. Основные технические характеристики: 50—350 °С	+	+	+	+	+	+	+
9	Стерилизатор паровой. Основные технические характеристики: 2,2 кгс/см ² или 3,0 кгс/см ²	+	+	+	+	+	+	+
10	Центрифуга. Основные технические характеристики: N: не менее 3 000 об./мин	+	+	+	+	+	+	+
11	Аппарат для свертывания и инактивирования сыворотки. Основные технические характеристики: 50—90 °С ± 0,5 °С	+	+/-	+	+	+	+	+
12	Микроскоп стереоскопический с увеличением: ×3,3—100	+	+	+	+	+	+	+

Продолжение прилож. 6

1	2	3	4	5	6	7	8	9
13	Микроскоп световой с увеличением: $\times 3,3—100$	+	+	+	+	+	+	+
14	Микроскоп люминесцентный с увеличением: $\times 3,3—100$	+/-	+/-	+	+	+	+	+
15	Холодильник. Основные технические характеристики: t° до $+ 10^{\circ}C$	+	+	+	+	+	+	+
16	Морозильная камера. Основные технические характеристики: t° не менее $- 18—20^{\circ}C$	+	+	+	+	+	+	+
17	Иммуноферментный анализатор	+	+/-	+	+	+	+	+
18	Автоматический идентификатор	+/-	-	+/-	+	+	+	+
19	Бокс абактериальной воздушной среды «Ламинар-С» класса II A	+	+/-	+	+	+	+	+
20	УФО-бокс	+	+/-	+	+	+	+	+
21	Микроцентрифуга. Основные технические характеристики: N: не менее 12 000 об./мин	+	+/-	+	+	+	+	+
22	Вортекс-встряхиватель. Основные технические характеристики: не менее 2 000 об./мин	+	+/-	+	+	+	+	+
23	Медицинский отсасыватель. Основные технические характеристики: $0,17 \text{ кг/см}^2$	+	+/-	+	+	+	+	+
24	Твёрдотельный термостат. Основные технические характеристики: до $100^{\circ}C \pm 1^{\circ}C$	+	+/-	+	+	+	+	+
25	Экстрактор нуклеиновых кислот	+/-	-	+/-	+	+	+	+
26	Амплификатор. Основные технические характеристики: $4—99^{\circ}C \pm 0,2^{\circ}C$	+	+/-	+	+	+	+	+

Продолжение прилож. 6

1	2	3	4	5	6	7	8	9
27	Термоциклер с гибридно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени	+	+/-	+	+	+	+	+
28	Аквадистиллятор. Основные технические характеристики: 25 дм ³ /ч ± 10 %	+	+	+	+	+	+	+
29	Шейкер. Основные технические характеристики: 0—800 об./мин тах нагрузка 2 кг	+	+	+	+	+	+	+
30	Аппарат для фильтрации	-	+	+	+	+	+	+
31	Плита электрическая	+	+	+	+	+	+	+
+ — обязательное использование данных средств. +/- — использование данных средств рекомендовано, но не является обязательным. -- не используются								

ПАСПОРТ
штамма бактерий рода *Yersinia*
(для лабораторий территориального и регионального уровней)

1. Видовое название штамма _____
2. Лабораторный номер штамма _____
3. Особое обозначение штамма (серотип, биотип) _____
4. Источник выделения штамма:
 - 4.1. Ф. И. О., возраст, № истории болезни, год, МО, окончательный диагноз (основное заболевание, течение, осложнения) _____
 - 4.2. Вид животного _____
 - 4.3. Объект окружающей среды или продукт питания _____
5. Субстрат, из которого выделен штамм _____
6. Дата выделения _____
7. Место выделения штамма (область, район, населенный пункт) _____
8. Метод выделения _____
9. Ф. И. О. лица, идентифицировавшего штамм _____
10. Культурально-морфологические и другие свойства штамма (рост на плотных, жидких питательных средах и пр.) _____
11. Биохимическая активность штамма:

Тест	Реакция	Образование кислоты из:	Реакция
Гидролиз мочевины		Глюкозы	
Образование H ₂ S		Лактозы	
Фенилаланиндезаминаза		Маннитола	
Орнитиндекарбоксилаза		Сахарозы	
Лизиндекарбоксилаза		Рамнозы	
Реакция Фогес-Проскауэра (26 ± 2) °С		Раффинозы	
Реакция Фогес-Проскауэра (37 ± 1) °С		Мелибиозы	
Липаза (Твин 80)		Ксилозы	
Образование индола		Салицина	
Подвижность (26 ± 2) °С		Сорбитола	
Подвижность (37 ± 1) °С		Мальтозы	
Гидролиз эскулина		Нитратредуктазная активность	

12. Тесты патогенности:

Наличие способности к аутоагглютинации	
Наличие кальцийзависимости	

13. Другие тесты

Серологический вариант	
Биотип	

14. Дата последней проверки свойств штамма _____

15. Условия хранения и транспортирования _____

16. Дата отправки штамма, координаты отправителя (адрес, электронная почта, тел /факс) _____

**Состав и прописи питательных сред
для первичного выделения культур**

Трехсахарный агар с мочевиной (Рессель I)

Состав:

№ п/п	Ингредиенты	Количество
1	Сухой питательный агар	25,0 г
2	Глюкоза	1,0—1,5 г
3	Лактоза	7,0—10,0 г
4	Мочевина	3,0 г
5	Кальций хлористый	2,0 г
6	Феноловый красный, 1 %-й водный р-р	2,0 мл
7	Метиленовый синий	1,0 мл
8	Вода дистиллированная	1 л

Приготовление

Твердые ингредиенты помещают в дистиллированную воду в любой последовательности. После того, как растворится агар, смесь нагревают до кипения, добавляют индикаторы – феноловый красный и метиленовый синий. РН 7,0—7,2 (в горячем виде среда грязно-зеленого цвета), разливают по пробиркам (5—6 мл в каждую) и стерилизуют автоклавированием 15 мин под давлением 0,5 атм.

Свежестерилизованная среда приобретает желтый или желто-оранжевый цвет в результате восстановления (обесцвечивание) метиленового синего при автоклавировании.

Осторожным встряхиванием (!) каждой пробирки в наклонном положении вновь придают еще горячей среде её исходную грязно-серую окраску. Это происходит за счет окисления метиленового синего кислородом воздуха.

Среду скашивают, оставляя столбик высотой 2 см и косую поверхность 4—5 см. Застывшая среда должна в течение 2—3 дней «дозреть», т. е. приобрести однотонную сиреневато-светло-коричневую окраску, что свидетельствует об окислении, т. е. о восстановлении цветности метиленового синего по всей глубине среды. Посев культуры осуществляют штрихами по скошенной поверхности и уколом в столбик среды.

Трехсахарный агар с сахарозой и маннитом (Рессель II)

Состав:

№ п/п	Ингредиенты	Количество
1	Дистиллированная вода	1 л
2	Сухой питательный агар	25,0 г
3	Сухой пептон (Семипалатинский)	10,0 г
4	Сахароза	8,0—10,0 г
5	Маннит	0,8—1,0 г
6	Цистин	0,4 г
7	Тиосульфат натрия (гипосульфит)	0,3 г
8	Железоаммониевые квасцы	0,4 г
9	Феноловый красный. 1 %-й водный р-р	3,5—4,0 мл
10	Крахмал	2,0 г

Приготовление

Ингредиенты вводят в следующем порядке: в холодной воде растворить квасцы, затем добавить крахмал и сухой питательный агар, дать им хорошо раствориться, после чего внести остальные компоненты.

Среду доводят до кипения, устанавливают рН 7,2—7,4, разливают в пробирки по 7—8 мл, автоклавируют при 0,5—0,7 атм. 15—20 мин, после чего скашивают. Цвет среды розово-красный.

Универсальный скошенный столбик

Состав:

№ п/п	Ингредиенты	Количество
1	Агар сухой питательный	3,5 г
2	Лактоза	0,4 г
3	Глюкоза	0,08 г
4	Крахмал растворимый	0,05 г
5	Сахароза	1,5 г
6	Мочевина	0,25 г
7	Уксусно-кислый свинец	0,03 г
8	Тиосульфат натрия	0,03 г
9	Цистин	0,003 г
10	Феноловый красный. 1 %-й водный р-р	2,5 мл
11	Дистиллированная вода	100 мл

Приготовление

Ингредиенты вносить в любом порядке. Количество питательного агара, вносимого в среду, зависит от его серии. Если на этикетке указано, что на 100 мл воды его надо брать 5 г, то в среду добавляют 3,5 г, если на этикетке имеется рекомендация 3,5 г на 100 мл, то добавляют 2,5 г. Среду кипятить в течение 10—15 мин, разливать в стерильные пробирки по 5 мл, автоклавировать при 0,5 атм. 15 мин, после чего скашивать. Цвет среды абрикосовый.

**Организация и проведение лабораторных исследований
на персидские язвы на территориальном, региональном и
федеральном уровнях**

**Методические указания
МУК 4.2.3019—12**

Редактор Н. В. Кожока
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 30.11.12

Формат 60x88/16

Тираж 200 экз.

Печ. л. 3,75
Заказ 75

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
отделом издательского обеспечения
Федерального центра гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора
117105, Москва, Варшавское ш., 19а

Отделение реализации, тел./факс 952-50-89