

**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**

**Москва • 2012**

**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.</i> Подготовка кадров по лабораторным исследованиям иерсиниозов .....	33
<i>Приложение 2.</i> Требования к профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторные исследования иерсиниозов .....	35
<i>Приложение 3.</i> Питательные среды, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы .....	43
<i>Приложение 4.</i> Диагностические препараты, тест-системы, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы .....	46
<i>Приложение 5.</i> Химические реактивы, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы .....	48
<i>Приложение 6.</i> Приборы и оборудование, используемые для проведения лабораторных исследований на иерсиниозы .....	51
<i>Приложение 7.</i> Паспорт штамма бактерий рода <i>Yersinia</i> (для лабораторий территориального и регионального уровней) .....	55
<i>Приложение 8.</i> Состав и прописи питательных сред для первичного выделения культур .....	57

**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. pseudo-</i> <i>tuberculosis</i>	<i>Y. entero-</i> <i>colitica</i>	<i>Shigella</i> <i>spp.</i>	<i>Salmo-</i> <i>nella spp.</i>	<i>Escherichia</i> <i>spp.</i>	<i>Proteus</i> <i>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 орнитиндекарбоксылазы		-	+	-/+	+	x	-/+
Утилизация цитрата		-	-	-	+/-	-	x
Дезаминирование фенолаланина		-	-	-	-	-	+
Реакция Фогес-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	<i>Y. pestis</i>	<i>Y. pseudotuberculosis</i>	<i>Y. enterocolitica</i>					<i>Y. frederiksenii</i>	<i>Y. intermedia</i>	<i>Y. kristensenii</i>	<i>Y. ruckeri</i>	<i>Y. aldovae</i>	<i>Y. rohdei</i>	<i>Y. mollaretti</i>	<i>Y. bercovieri</i>	<i>Y. aleksiciae</i>	<i>Y. similis</i>	
			Биотипы															
			I	II	III	IV	V											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
Гидролиз мочевины	-	+	+	+	+	+	+	+	[+]	[+]	[+]	-	[+]	B	[-]	B	+	+
Образование индола	-	-	+	+	B	-	-	-	+	+	B	-	-	-	-	-	+	-
Подвижность (22 ± 2) °С	(22 ± 2) °С	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	B	+	+	+	+	+	+
	(37 ± 1) °С	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Реакция Фогеса-Проскауэра	(26 ± 2) °С	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
	(37 ± 1) °С	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Фенилаланиндезаминаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Орнитиндекарбоксылаза	-	-	+	+	+	+	+	B	+	+	+	+	B	[-]	[+]	[+]	+	-
Лизиндекарбоксылаза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	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 рН 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, детерминируемых 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 ассимиляцию ионов железа («остров высокой патогенности», НРІ). Штаммы *Y. pseudotuberculosis*, содержащие НРІ, 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, Корее, обнаруживается суперантиген, вызывающий системное поражение органов и тканей.

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

Гены НРІ 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 MDa обладают все штаммы *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* 1В, 2-5 биотипов. Основная функция плазмиды рУV – нейтрализация факторов иммунитета макроорганизма.

Плазмида 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, отсеиваемых 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 этикетировать, 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.

#### **I 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 посева 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 скошенные 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), среду 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 фенилаланином) 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.

#### У 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 «Эппендорф» 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 деионизованной 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  $56^\circ\text{C}$  в течение 30 мин для устранения

неспецифических гемагглютининов, которые могут содержаться в сыворотках крови людей.

4. Поскольку некоторые сыворотки крови человека содержат антитела 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 ёмкостей 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 посевами 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 гнивающей 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 см<sup>2</sup> 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 посевами на дифференциально-диагностические среды, отсев 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 ксиллозы, 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.

#### **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, иммунологического 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 соответствует 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» НРІ; «острова патогенности» YAPІ; 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 пульсотипа;
- мультилокусный вариабельный анализ (MLVA);
- определение вирулентности *Y. pseudotuberculosis* (определение LD<sub>50</sub> 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  
иерсиниозов**

№ п/п	Перечень бактериоло- гических лабораторий с учётом уровней	Уровни подготовки							
		Профессио- нальная пере- подготовка по специальности «Бактериоло- гия» («Лабо- раторное де- ло») (не менее 500 ч)		Повышение квалификации каждые 5 лет (не менее 144 ч)		Сертификаци- онный цикл		Другие виды подготовки (тематические семинары, рабочие места в лаборатори- ях Референс- центрах (по согласованию)	
		врачи, биоло- ги	лабо- ранты	врачи, биоло- ги	лабо- ранты	врачи	лабо- ранты	врачи, биоло- ги	лабо- ранты
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
<b>Территориальный уровень</b>									
1	ЛПО	+	+	+	+	+	+	+	+
2	Филиалы (отделения) ФБУЗ ЦГиЭ	+	+	+	+	+	+	+	+
3	ФБУЗ ЦГиЭ	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Региональный уровень</b>									
1	Региональные центры по мониторингу за возбудите- лями инфек- ционных бо- лезней II— IV групп па- тогенности	+	+	+	+	+	+	—	—
2	Опорные базы — кон- сультантов, сотрудни- чающие по согласова- нию с Рефе- ренс-цент- ром по иер- синиозам	+	+	+	+	+	+	—	—

Продолжение прилож. 1

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	+	+	+	+	+	+	—	—
<p>+ — обязательный уровень подготовки;</p> <p>— — не требуется подготовка для такого уровня;</p> <p>* — подготовка для такого уровня рекомендуется, но не является обязательной</p>									

## **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, пробоподготовку 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	Территориаль- ный 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	5	6	7	8	9	10
1	Мясопептонный бульон pH 7,6—7,8	+	+	+	+	+	+	+
2	Бульон Хоттингера	+	+	+	+	+	+	+
3	Мясопептонный агар	+	+	+	+	+	+	+
4	Агар Хоттингера	+	+	+	+	+	+	+
5	Фосфатно-буферный раствор pH 7,6—7,8	+	+	+	+	+	+	+
6	Пептонно-калиевая 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	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+

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 орнитином для определения орнитин-декарбоксилазы	—	—	—	—	+	+	+
21	Среда с фенилаланином	+	+	+	+	+	+	+
22	Среда с лизином для определения лизиндекарбоксилазы	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
23	Среда для определения липазы	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+
24	Среда для определения индолобразования	+	+	+	+	+	+	+
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 ксилозой	+	+	+	+	+	+	+
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 кишечнорастворимый О:3 антигенный сухой	+	+/-	+	+	+	+	+
7	Диагностические сыворотки псевдотуберкулезные моновалентные (содержат антитела к О-антигенам возбудителей псевдотуберкулеза сероваров I или III)	+/-	-	+/-	+/-	+	+	+
8	Тест-системы для выявления 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 pseudotuberculosis</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i>	-	-	-	+	+	+	+
12	Диагностические системы, энтеротесты для идентификации энтеробактерий	+/-	+/-	+/-	+/-	+	+	+

+ — обязательное использование данных тест-систем.

+/- — использование данных тест-систем рекомендовано, но не является обязательным.

- — не используются.

\* Возможно применение данных тест-систем при наличии лабораторного оборудования.

Используется любая из предложенных тест-систем или другие тест-системы коммерческого изготовления, разрешённые к применению на территории Российской Федерации



**Химические реактивы, используемые для проведения  
лабораторных исследований на иерсиниозы**

№ п/п	Наименование химических реактивов	Территориаль- ный 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, 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	Андредо	+	+	+	+	+	+	+
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	α-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	Гидроксид 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	+	+	+	+	+	+	+

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	+/-	-	+	+	+	+	+
<p>+ – обязательное использование данных средств.  +/- – использование данных средств рекомендовано, но не является обязательным.  - – не используются</p>								

**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 «ЦГиЭ»	ФБУЗ «ЦГиЭ»	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: $\pm 10$ мг	+	+	+	+	+	+	+
2	Весы электронные. Диапазон измерений до 400 г, класс точности или погрешность: $\pm 10$ 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 <sup>2</sup> или 3,0 кгс/см <sup>2</sup>	+	+	+	+	+	+	+
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: $t^{\circ}$ до $+ 10^{\circ}\text{C}$	+	+	+	+	+	+	+
16	Морозильная камера. Основные технические характеристики: $t^{\circ}$ не менее $- 18—20^{\circ}\text{C}$	+	+	+	+	+	+	+
17	Иммуноферментный анализатор	+	+/-	+	+	+	+	+
18	Автоматический идентификатор	+/-	-	+/-	+	+	+	+
19	Бокс абактериальной воздушной среды «Ламинар-С» класса II А	+	+/-	+	+	+	+	+
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: $0,17\text{ кгс/см}^2$	+	+/-	+	+	+	+	+
24	Твёрдотельный термостат. Основные технические характеристики: до $100^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$	+	+/-	+	+	+	+	+
25	Экстрактор нуклеиновых кислот	+/-	-	+/-	+	+	+	+
26	Амплификатор. Основные технические характеристики: $4—99^{\circ}\text{C} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$	+	+/-	+	+	+	+	+

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 <sup>3</sup> /ч ± 10 %	+	+	+	+	+	+	+
29	Шейкер. Основные технические характеристики: 0—800 об./мин тах нагрузка 2 кг	+	+	+	+	+	+	+
30	Аппарат для фильтрации	—	+	+	+	+	+	+
31	Плита электрическая	+	+	+	+	+	+	+
<p>+ — обязательное использование данных средств.  +/- — использование данных средств рекомендовано, но не является обязательным.  — — не используются</p>								

**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.) \_\_\_\_\_

**II. Биохимическая активность штамма:**

Тест	Реакция	Образование кислоты из:	Реакция
Гидролиз мочевины		Глюкозы	
Образование H <sub>2</sub> 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 персиниозы 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