Государственное санитарно-эпидемиологическое нормирование Российской Федерации

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания
МУК 4.2.2939—11

Издание официальное

Москва • 2012

gost.e-ecolog.ru

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

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания
МУК 4.2.2939—11

ББК 51.9
П59

П59 **Порядок** организации и проведения лабораторной диагностики гуляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней: Методические указания.—М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012.—59 с.

ISBN 978—5—7508—1106—9

1. Разработаны Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора (В. В. Кутырев, И. Н. Шарова, Н. А. Осина, Е. С. Казакова, Е. А. Плотникова, С. А. Пионтковский, Т. Ю. Красовская, Д. В. Уткин, С. А. Щербакова); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (С. В. Балахонов, Т. И. Иннокентьева, М. В. Чеснокова, А. В. Мазепа, С. А. Татарников); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (А. Н. Куличенко, О. В. Малецкая, Т. В. Таран, А. П. Бейер, А. В. Таран); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (В. В. Алексеев, А. В. Липницкий, В. А. Антонов, Д. В Викторов); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора (Н. В. Павлович, Н. Л. Пичурина., Н. В. Аронова, Н Н. Оноприенко, М. В. Цимбалистова, А. С. Водопьянов); Федеральным казенным учреждением здравоохранения «Противочумный центр» Роспотребнадзора (В. Е. Безсмертный, С. М. Иванова); Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора (В. Г. Сенникова, М. В. Зароченцев, В. В. Мордвинова); Федеральным государственным учреждением науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (И. А. Дятлов, А. Н. Мокриевич, С. Ф. Бикетов, М. В. Храмов, Н. И. Лунева); Федеральным государственным бюджетным учреждением «ГИСК им. Л. А. Тарасевича» Минздравсоцразвития (И. В. Борисевич, Л. В. Саяпина).

2. Рекомендованы к утверждению Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

3. Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 14 июля 2011 г.

4 Введены в действие с 14 июля 2011 г.

ББК 51.9

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

Содержание

1. Область применения ... 4
2. Нормативные ссылки ... 4
3. Перечень сокращений ... 7
4. Общие положения ... 7
5. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального уровня ... 10
5.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для бактериологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений ... 10
5.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании (городе и административных районах субъекта, объединенных по территориальному признаку) в субъекте Российской Федерации ... 16
5.3. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации ... 21
6. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий регионального уровня ... 31
6.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности в федеральных округах Российской Федерации ... 31
6.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности (противочумные учреждения) ... 32
6.3. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней ... 36
7. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий федерального уровня ... 38
7.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для Референс-центра по мониторингу за туляремией ... 38
7.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для Национального Центра верификации диагностической деятельности возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I—II групп патогенности Роспотребнадзора ... 40
Приложение 1. Направление на исследование клинического материала ... 42
Приложение 2. Питательные среды, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии ... 43
Приложение 3. Диагностические препараты, тест-системы, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии ... 45
Приложение 4. Химические реактивы, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии ... 49
Приложение 5. Приборы и оборудование, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии ... 50
Приложение 6. Расходные материалы, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии ... 56
Приложение 7. Антибактериальные препараты, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии ... 57
Приложение 8. Требования к профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторную диагностику туляремии ... 58

УТВЕРЖДАЮ
Руководитель Федеральной службы
по надзору в сфере защиты прав
потребителей и благополучия человека,
Главный государственный санитарный
врач Российской Федерации
Г. Г. Онищенко
14 июля 2011 г.
Дата введения: с момента утверждения

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

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

Методические указания
МУК 4.2.2939—11

1. Область применения

1.1. Настоящие методические указания определяют порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального, регионального и федерального уровней, формы и методы их взаимодействия, номенклатуру и объем исследования, требования к лабораториям, специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований, материально-техническому обеспечению исследований, к биологической безопасности проведения работ.

1.2. Настоящие методические указания предназначены для специалистов бактериологических лабораторий учреждений, осуществляющих государственный санитарно-эпидемиологический надзор за туляремией в Российской Федерации, лечебно-профилактических и противочумных учреждений.

2. Нормативные ссылки

2.1. Федеральный закон от 3.03.1999 № 52-ФЗ «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения».

2.2. Постановление Правительства Российской Федерации от 29.10.2007 № 720 «О внесении изменений в пункт 5 Положения о лицензировании деятельности, связанной с использованием возбудителей инфекционных заболеваний, утвержденного постановлением Правительства Российской Федерации от 22.01.2007 № 31».

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» (зарегистрировано в Минюсте Российской Федерации 10.04.2009 № 13745).

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» (зарегистрирован в Минюсте Российской Федерации 09.07.2009 № 14292).

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. СП 1.2.036—95 «Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности» (утв. постановлением Госкомсанэпиднадзора Российской Федерации от 28.08.1995 № 14).

2.7. СП 3.1.7.2642—10 «Профилактика туляремии» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 31.05.2010 № 61 «Об утверждении СП 3.1.7.2642—10». Зарегистрировано в Минюсте РФ 7.07.2010 № 7745).

2.8. СП 1.3.1285—03 «Безопасность работы с микроорганизмами I—II групп патогенности (опасности)» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 15.04.2003 № 42 «О введении в действие санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.1285—03». Зарегистрировано в Минюсте Российской Федерации 10.05.2003 № 4545).

2.9. 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» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 30.04.2003 № 85 «О введении в действие санитарно-эпидемиоло-

гических правил СП 1.2.1318—03». Зарегистрировано в Минюсте Российской Федерации 19.05.2003 № 4558).

2.10. СП 1.3.2322—08 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 28.01.2008 № 4 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 1.3.2322—08». Зарегистрировано в Минюсте Российской Федерации 21.02.2008 № 11197).

2.11. СП 1.3.2518—09 «Безопасность работы с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней». Дополнения и изменения 1 к СП 1.3.2322—08» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 2.06.2009 № 42. Зарегистрировано в Минюсте Российской Федерации 8.07.2009 № 14280).

2.12. СП 3.4.2318—08 «Санитарная охрана территории Российской Федерации» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 22.01.2008 № 3 «Об утверждении санитарно-эпидемиологических правил СП 3.4.2318—08». Зарегистрировано в Минюсте Российской Федерации 3.04.2008 № 11459).

2.13. СанПиН 2.1.7.2790—10 «Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 9.12.2010 № 163. Зарегистрировано в Минюсте Российской Федерации 17.02.2011 № 19871).

2.14. СанПиН 2.1.3.2630—10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность» (утв. постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 18.05.2010 № 58. Зарегистрировано в Минюсте Российской Федерации 9.08.2010 № 18094).

2.15. Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (утв. главным государственным санитарным врачом СССР от 6.04.73 № 1045—73).

2.16. МУ 3.1.2007—05 «Эпидемиологический надзор за туляремией».

2.17. МУ 3.3.2.2124—06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии».

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

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

2.20. МУ 4.2.2495—09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чумы, сибирской язвы, холеры, туляремии, бруцеллеза, сапа и мелиоидоза) к антибактериальным препаратам».

3. Перечень сокращений

ЛПС – липополисахарид
ЛПУ – лечебно-профилактическое учреждение
ООИ – особо опасные инфекции
СП – санитарно-эпидемиологические правила
СанПиН – санитарно-эпидемиологические правила и нормативы
МУ – методические указания
ПБА – патогенный биологический агент
МФА – метод флуоресцирующих антител
ИФА – иммуноферментный анализ
ПЦР – полимеразная цепная реакция
РА – реакция агглютинации
РНГА – реакция непрямой гемагглютинации
РТНГА – реакции торможения непрямой гемагглютинации
РНАт – реакция нейтрализации антител
МИС – магноиммуносорбенты
РЛА – реакция латекс-агглютинации
ИХ – иммунохроматография
ИХ-тест – иммунохроматографический тест

4. Общие положения

Характеристика болезни и возбудителя туляремии

Туляремия – зоонозная системная природно-очаговая бактериальная инфекционная болезнь, характеризующаяся симптомами общей интоксикации, лихорадкой, воспалительными изменениями в области ворот инфекции, регионарным лимфаденитом, склонностью к затяжному течению.

Основными резервуарами и источниками возбудителя туляремии в естественных условиях являются дикие животные (около 50 видов), главным образом различные виды грызунов, и зайцы. На территории природных очагов туляремии могут заражаться овцы, свиньи, крупный рогатый скот. Резервуаром и переносчиками возбудителя являются также кровососущие членистоногие: иксодовые и гамазовые клещи, комары, слепни, блохи. Больной человек эпидемиологической опасности не представляет.

Как и для всех зоонозов, для туляремии характерна множественность механизмов (аспирационный, контактный, фекально-оральный, трансмиссивный), а также путей и факторов передачи. В соответствии с Международной статистической классификацией болезней и проблем, связанных со здоровьем (Десятый пересмотр. Женева, 2003, (МКБ-10), и по локализации основного патологического процесса различают следующие формы туляремии:

- А21.0 – ульцерогландулярную (язвенно-бубонную);
- А21.1 – окулогландулярную (глазо-бубонную);
- А21.2 – легочную;
- А21.3 – желудочно-кишечную (абдоминальную);
- А21.7 – генерализованную;
- А21.8 – другие формы туляремии (ангинозно-бубонную);
- А21.9 – туляремия неуточненная.

Возбудитель туляремии относится к γ-подклассу протобактерий, семейству *Francisellaceae*, роду *Francisella.* В настоящее время род *Francisella* представлен тремя видами: *Francisella tularensis, Francisella philomiragia* и *Francisella hispaniensis.* Внутри вида *Francisella tularensis* выделяют 4 подвида (subspecies): *tularensis* (синоним – *nearctica*), *holarctica, mediasiatica* и *novicida* Голарктический подвид имеет три биовара: japonica, Ery^R и Ery^S.

Туляремийный микроб представляет собой мелкие кокковидные (до эллипсовидных) плеоморфные грамотрицательные палочки, окруженные слизистым (капсульным) веществом, неподвижные, не образующие спор. Факультативный анаэроб, но оптимальный рост наблюдается только в аэробных условиях. Температурный оптимум 36—37 °С, оптимум pH 6,8—7,4. Факультативный внутриклеточный паразит.

Бактерии культивируют на сложных агаровых или желточных средах с добавлением тканевых экстрактов, цистеина, кроличьей дефибринированной крови и других питательных веществ. Включение в питательную среду некоторых антибиотиков (полимиксина В или пенициллина) подавляет рост других микроорганизмов. Возбудитель туляремии не растет на простых питательных средах (мясопептонном агаре и бульоне), что служит одним из признаков при идентификации культуры. На плотных средах образует мелкие S-колонии молочно-белого цвета с голубоватым отливом, круглые, с ровным краем, выпуклые и блестящие. На жидких средах размножается хуже и только у поверхности среды, что связано с аэрофильностью бактерий. Хорошо культивируется в желточном мешке куриного эмбриона.

Возбудитель туляремии обладает слабой биохимической активностью. Имеет ферменты: каталазу, глутаминазу, аспарагиназу, дез- и трансаминазу, цитруллинуреидазу. Индол не образует. Образует сероводород. Ферментирует до кислоты глюкозу, мальтозу, левулозу и маннозу. На средах Гисса не растет, при необходимости дифференциации подвидов туляремийного микроба определяют ферментативную активность в отношении глицерина, наличие цитруллинуреидазной, фосфатазной и пенициллиназной активности, чувствительность к эритромицину, вирулентность для кроликов, наличие видо- и подвидспецифических генетических маркеров с помощью ПЦР, наличие SNP, специфичного для подвидов и биоваров.

Структура и антигенная специфичность ЛПС бактерий *F. tularensis* трех основных подвидов идентична. ЛПС туляремийного микроба является основным иммунодоминантным антигеном и мишенью специфического антительного ответа макроорганизма на возбудителя. Именно на выявлении специфических туляремийных антител против эпитопов ЛПС основана серологическая диагностика туляремии у человека и животных.

Геном туляремийного микроба представлен молекулой ДНК, размер которой около 1 830 т.п.н. У большинства *Francisella spp.* не обнаружены собственные фаги и плазмиды. Исключение составляет только *F. novicida*, у которой обнаружена мелкая криптическая плазмида pFN. На хромосоме туляремийного микроба располагается остров патогенности FPI (от англ. – pathogenicity island of *F. tularensis*) размером 30 т.п.н. В его состав входят оперон *iglABCD*, отвечающий за синтез белков, играющих решающую роль в персистенции возбудителя в макрофагах, и оперон *pdp ABC* (от англ. – pathogenicity determinant protein), продукты которого необходимы туляремийному микробу для проявления патогенных свойств. Генетическая вариабельность подвидов и отдельных штаммов туляремийного микроба связана с наличием областей дифференциации RD, с вариабельными тандемными повторами (VNTR) и полиморфизмом единичных нуклеотидов (SNP). Установлено, что VNTR- и SNP-типы *F. tularensis* имеют связь с географическим происхождением штаммов.

При выраженной общей резистентности при низких температурах окружающей среды возбудитель туляремии весьма чувствителен к различным физическим (солнечные, ультрафиолетовые лучи, ионизирующая радиация, высокая температура) и химическим воздействиям. Возбудитель туляремии чувствителен к аминогликозидам (стрептомицину, гентамицину, канамицину), тетрациклинам, хлорамфениколу и хинонам, но резистентен к пенициллинам, цефалоспоринам и полимиксину. Для

всех штаммов туляремийного микроба выявлена β-лактамазная активность, за исключением культур *F. tularensis* подвида *mediasiatica.*

5. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий территориального уровня

5.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для бактериологических лабораторий лечебно-профилактических учреждений

5.1.1. Требования к лабораториям лечебно-профилактических учреждений, осуществляющим исследования на туляремию

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Лечебно-профилактические учреждения, лаборатории которых осуществляют диагностические исследования на туляремию, должны иметь лицензию на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей III—IV групп патогенности (опасности).

Лаборатории ЛПУ должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими СП о порядке 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.

Учет, хранение, передача и транспортирование выделенных культур холерных вибрионов (подозрительных) должны осуществляться в соответствии с действующими нормативными документами о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности.

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах – отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с учреждениями Роспотребнадзора – должно соответствовать требованиям действующих нормативных и распорядительных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на туляремию

Исследования на туляремию могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, окончившие курсы подготовки по специальности «Бактериология» с освоением методов безопасной работы с возбудителями инфекционных болезней III—IV групп патогенности (опасности), имеющие допуск к работе с ПБА III—IV групп патогенности на основании приказа руководителя учреждения. Специалисты, проводящие диагностические исследования на туляремию, должны иметь необходимые профессиональные навыки в соответствии с номенклатурой проводимых исследований (прилож. 8).

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней, должны повышать квалификацию не реже одного раза в пять лет и иметь сертификат специалиста.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория, выполняющая исследования на туляремию, должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. 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 контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на туляремию в лабораториях ЛПУ включает:

- контроль качества диагностических препаратов и тест-систем, дистиллированной воды, химических реактивов и дезинфицирующих средств;
- своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
- контроль качества стерилизации лабораторной посуды;
- контроль работы паровых и суховоздушных стерилизаторов;

• контроль работы бактерицидных ламп;

• контроль температурного режима холодильников;

• контроль температурного режима термостатов;

• проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;

• проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на туляремию

Для забора материала и проведения диагностических исследований на туляремию в бактериологических лабораториях ЛПУ должны быть в наличии:

• диагностические препараты, тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 3);

• химические реактивы (прилож. 4);

• приборы, оборудование, расходные материалы (прилож. 5, 6);

• комплект медицинский (укладка универсальная для забора материала от людей и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные инфекционные болезни).

Персонал должен быть обеспечен спецодеждой и средствами индивидуальной защиты (для отбора проб клинического материала и проведения иммуносерологических реакций).

5.1.2. Номенклатура и объем исследований

В ЛПУ производят отбор клинического материала от лиц с подозрением на туляремию, больных различными формами туляремии и вакцинированных, а также секционного материала от умерших лиц.

В бактериологических лабораториях ЛПУ проводят исследования сывороток крови от больных туляремией и вакцинированных против туляремии лиц иммуносерологическими и аллергологическим методами:

1) выявление антител в парных сыворотках;

2) проведение реакции лизиса лейкоцитов.

Врач-инфекционист ЛПУ осуществляет оценку аллергологического статуса больных путем постановки аллергической пробы с тулярином.

5.1.3. Порядок лабораторной диагностики туляремии в лабораториях лечебно-профилактических учреждений

Отбор и транспортирование проб клинического материала

Материал от больных забирает медицинский персонал ЛПУ при поступлении больного, до начала лечения антибактериальными препаратами. Забор проб осуществляют два медицинских работника, один из которых врач-инфекционист или терапевт (хирург), подготовленный по вопросам диагностики особо опасных инфекций и соблюдения требований биологической безопасности при работе с клиническим материалом, подозрительным на содержание возбудителей инфекционных болезней I—II групп патогенности. Материал от вакцинированных лиц забирает медицинский персонал ЛПУ

Секционный материал забирают медицинские работники патолого-анатомических отделений (или БСМЭ) в присутствии специалиста по особо опасным инфекциям, руководствуясь действующими методическими указаниями по организации и проведению первичных противоэпидемических мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения, с соблюдением регламентированных требований биологической безопасности при работе с патогенными биологическими агентами I—II групп.

Для направления в бактериологические лаборатории учреждений Роспотребнадзора забирают:

- от больных людей в зависимости от клинической формы болезни: содержимое бубона, материал из зева, с конъюнктивы глаза, отделяемое язвы, мокроту, кровь;
- от умерших людей: увеличенные лимфатические узлы, измененные участки легких и селезенки, трахеи;
- от вакцинированных людей: кровь.

Забор проб всех видов материала осуществляют в стерильную стеклянную или пластиковую посуду, соответствующую объему проб.

Пунктат из бубона берут до 14—20 суток болезни шприцем емкостью не менее 5 мл. Кожу на участке, намеченном для прокола, обрабатывают 70 %-м спиртом, а затем смазывают 5 %-м раствором йода и вновь протирают 70 %-м спиртом. Иглу вводят с таким расчетом, чтобы ее острие достигло центральной части бубона, после чего, оттянув до отказа поршень, медленно вынимают иглу. Содержимое переносят в стерильную пробирку с завинчивающейся пробкой. Можно перед взятием материала ввести в бубон 0,3—0,5 мл стерильного 0,9 %-го раствора натрия хлорида и затем отобрать содержимое. При вскрывшемся бубоне

забирают материал отдельно из периферической плотной части и отделяемое свища.

Перед взятием *отделяемого язвы, папулы, везикулы или отторгнутого струпа* прединъекционной дезинфицирующей салфеткой осторожно очищают кожу вокруг пораженного места, при необходимости стерильной марлевой салфеткой удаляют некротические массы, гной. Прокатывая тампон по раневой поверхности от центра к периферии в течение 5—10 с абсорбируют материал на тампон. Тампон с материалом помещают в пробирку или транспортную среду. При использовании шприца иглу вводят у края везикулы (пустулы) и затем продвигают к середине. У язв пунктируют плотный край.

Мокроту собирают в специальные широкогорлые контейнеры с завинчивающейся крышкой.

Отделяемое слизистой зева забирают натощак или через 3—4 ч после еды. Аккуратно прижимая язык шпателем, вводят тампон между дужками миндалин и язычком (нельзя касаться тампоном губ, щек, языка) и собирают материал с задней поверхности глотки, миндалин и участков воспаления или изъязвления слизистой. Тампон с материалом помещают в стерильную пробирку или в пробирку с транспортной или питательной средой.

Кровь для исследований берут с соблюдением правил асептики и мер индивидуальной защиты. Кровь забирают из локтевой вены в количестве 10—20 мл одноразовым шприцем и переносят в пробирку для посева на питательные среды и заражения биопробных животных, в пробирку с антикоагулянтом (4 %-й раствор натрия цитрата в отношении 1 : 10 к объему крови или 6 %-й раствор ЭДТА в отношении 1 : 20 к объему крови) для ПЦР-анализа, в пробирку для получения сыворотки для иммуносерологических реакций.

Для постановки кровяно-капельной реакции агглютинации и реакции лейкоцитолиза кровь берут из пальца.

Отделяемое конъюнктивы глаза следует забирать до 17 суток болезни с помощью стерильного тампона, предварительно увлажненного 0,9 %-м раствором натрия хлорида. Пробы из каждого глаза собирают отдельными тампонами двумя-тремя круговыми движениями по слизистой оболочке глаза. Тампон с материалом помещают в стерильную пробирку или транспортную среду. При наличии обильного гнойного отделяемого стерильным сухим ватным тампоном берут гной с внутренней поверхности нижнего века движением к внутреннему углу глазной щели. Необходимо следить, чтобы ресницы не касались тампона (придерживать веко рукой). Доставка материала в лабораторию в течение 1 ч, если используются специальные транспортные среды – в течение суток.

Емкости с пробами маркируют, обрабатывают снаружи дезинфицирующим раствором, упаковывают в полиэтиленовый пакет с застежкой-молнией и помещают в контейнер для транспортирования биологического материала на исследование. Контейнер с упакованным материалом опечатывают и отправляют в лабораторию с нарочным на специально выделенном транспорте. Поверхность стола после упаковки проб обрабатывают дезинфицирующим раствором.

На доставляемые в лабораторию пробы заполняют направление (прилож. 1), в котором указывают: адрес учреждения, в которое направляется проба (пробы); фамилию, имя, отчество больного (умершего); пол, возраст, место жительства, дату заболевания, дату обращения за медицинской помощью, дату госпитализации, предварительный диагноз; особенности эпидемиологического анамнеза; проводилась ли больному до взятия материала антибактериальная терапия (когда, какие использовались препараты, в какой дозе); вид материала, взятого для бактериологического исследования; цель исследования; дату и час забора материала; адрес, по которому следует сообщить результаты бактериологического исследования; наименование учреждения, должность, фамилию и инициалы лица, направляющего пробу (пробы), подпись; время доставки пробы; должность, фамилию и инициалы принявшего пробы.

Материал транспортируют в лабораторию в сумке-холодильнике. В случае отсутствия условий для хранения материала на холоде время от момента взятия материала до начала исследования не должно превышать 5—6 ч.

Порядок исследования клинического материала

Постановку и учет иммуносерологических реакций проводят в бактериологической лаборатории ЛПУ в соответствии с инструкциями по применению диагностических препаратов. В динамике заболевания исследуют парные сыворотки с интервалом 7—10 дней. Диагностически достоверным является 4-кратное и более увеличение титра антител.

Гиперчувствительность у больных и вакцинированных лиц определяют *in vitro* в реакции лейкоцитолиза в соответствии с действующими методическими указаниями по эпидемиологическому надзору за туляремией.

Постановку и учет результатов аллергической пробы с тулярином (аллерген туляремийный жидкий, суспензия для накожного скарификационного нанесения) у лиц, зараженных или подозрительных на зараженность туляремией, осуществляет врач-инфекционист ЛПУ в соответствии с инструкцией по применению препарата.

Следует помнить, что аллергическая проба остается положительной у лиц, переболевших туляремией.

5.1.4 Оформление результатов исследования

Регистрацию результатов серологического и аллергического исследования сывороток на туляремию в бактериологических лабораториях ЛПУ осуществляют в соответствии с учетными формами, установленными в учреждении. Выдача ответов для историй болезней – по унифицированным формам.

5.1.5. Порядок взаимодействия лечебно-профилактических учреждений с организациями Роспотребнадзора

Информацию о положительных результатах серологического исследования на туляремию направляют в установленном порядке в соответствии с требованиями действующей нормативной документации.

Материал для бактериологических исследований на туляремию направляют в лабораторию особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации. При её отсутствии материал направляют в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности, Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики опасных инфекционных болезней (по согласованию).

Если лаборатория ЛПУ не выполняет серологические исследования на туляремию, материал, подлежащий исследованию, направляют в филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации или в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности (опасности).

5.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании (городе и административных районах субъекта, объединенных по территориальному признаку) в субъекте Российской Федерации

5.2.1. Требования к лабораториям филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации, осуществляющим исследования на туляремию

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, на базе филиалов которого функционируют бактериологи-

ческие лаборатории, должен иметь лицензию на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II—IV (или III—IV) групп патогенности (опасности).

Лаборатории филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации, выполняющие исследования на туляремию, должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами III—IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими СП о порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных болезней человека I—IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами.

Лаборатории филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование проб клинического материала должны осуществляться в соответствии с действующими СП о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности.

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с действующими санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с организациями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на туляремию

Исследования на туляремию могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, окончившие курсы подготовки по специальности «Бактериология» с освоением методов безопасной работы с возбудителями инфекционных болезней III—IV групп патогенности (опасности), имеющие допуск к работе с ПБА III—IV групп на основании приказа руководителя учреждения. Специалисты, проводящие диагностические исследования на туляремию, должны иметь необходимые профессиональные навыки в соответствии с номенклатурой проводимых исследований (прилож. 8).

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней, должны иметь сертификат специалиста и повышать квалификацию не реже одного раза в пять лет.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория, выполняющая исследования на туляремию, должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. 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.

Сотрудники учреждения, привлекаемые к эпизоотологическому обследованию энзоотичной территории, должны быть вакцинированы против туляремии с последующим контролем уровня иммунитета и регистрацией результатов в специальном журнале.

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на туляремию в лабораториях включает:

- контроль качества диагностических препаратов и тест-систем, дистиллированной воды, химических реактивов и дезинфицирующих средств;
- своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
- контроль качества стерилизации лабораторной посуды;
- контроль работы паровых и суховоздушных стерилизаторов;
- контроль работы бактерицидных ламп;
- контроль температурного режима холодильников;
- контроль температурного режима термостатов;
- проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;

• проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют в соответствии с требованиями действующих нормативно-методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на туляремию

Для проведения диагностических исследований на туляремию в бактериологических лабораториях филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» должны быть в наличии:

• диагностические препараты, тест-системы, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 3);

• химические реактивы (прилож. 4);

• приборы, оборудование, расходные материалы (прилож. 5, 6).

Рекомендуется для забора материала иметь комплект медицинский (укладку универсальную для забора материала от людей и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные инфекционные болезни).

Персонал должен быть обеспечен спецодеждой и средствами индивидуальной защиты.

5.2.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальных образованиях в субъекте Российской Федерации при осуществлении эпидемиологического надзора проводят контроль состояния противотуляремийного иммунитета у вакцинированных людей.

Исследования осуществляют в следующем объеме:

1) выявление антител;

2) постановка реакции лизиса лейкоцитов.

Если лаборатория ЛПУ не выполняет серологические исследования на туляремию, сыворотку больных или с подозрением на это заболевание исследуют в филиале ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации (по договоренности).

5.2.3. Порядок лабораторной диагностики туляремии в лабораториях филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации

Состояние иммунитета у вакцинированных проверяют через 5 лет после вакцинации и в последующем – 1 раз в 2 года.

Контроль состояния противотуляремийного иммунитета осуществляют с помощью аллергологического (реакция лейкоцитолиза) или одного из серологических методов исследования (РА, реакция объемной агломерации, РНГА, ИФА). При этом предпочтительнее использовать серологические методы исследования. Материалом для исследования являются кровь и сыворотка крови вакцинированного. При необходимости можно использовать кровяно-капельную реакцию, которая позволяет выдать ответ в течение 5 мин и может быть поставлена с сухой каплей крови.

От больных или лиц с подозрением на туляремию в динамике заболевания исследуют парные сыворотки с интервалом 7—10 дней. Диагностически достоверным является 4-кратное и более увеличение титра антител.

Гиперчувствительность у вакцинированных и больных лиц определяют *in vitro* в реакции лейкоцитолиза в соответствии с действующими методическими указаниями по эпидемиологическому надзору за туляремией.

5.2.4. Оформление результатов исследования

Регистрацию результатов исследований в лабораториях филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации осуществляют в соответствии с учетными формами, установленными в учреждении. Выдача ответов – по унифицированным формам.

5.2.5. Порядок взаимодействия филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в муниципальном образовании в субъекте Российской Федерации с другими организациями Роспотребнадзора

Информация о результатах лабораторной диагностики туляремии в лаборатории филиала ФБУЗ Центр гигиены и эпидемиологии в субъекте Российской Федерации передаётся в соответствии с действующими нормативными документами.

5.3. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации

5.3.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, в структуре которых отсутствуют отделы и лаборатории особо опасных инфекций

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации, в структуре которых отсутствуют отделы или лаборатории особо опасных инфекций, соответствует порядку организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий филиалов ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации (раздел 5.2).

5.3.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации

5.3.2.1. Требования к лабораториям особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, осуществляющим исследования на туляремию.

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, на базе которых функционируют лаборатории особо опасных инфекций, выполняющие исследования на туляремию, должны иметь лицензию на осуществление деятельности, связанной с использованием возбудителей II—IV групп патогенности (опасности).

Лаборатории ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации, осуществляющие исследования на туляремию, должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами II—IV групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими СП о порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных болезней человека I—IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами.

Лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации должны быть аккредитованы на техническую

компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование выделенных подозрительных культур возбудителя туляремии и/или проб клинического материала должны осуществляться в соответствии с действующими СП о порядке учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности.

Утилизация отходов должна осуществляться в соответствии с регламентированными санитарно-эпидемиологическими требованиями к обращению с медицинскими отходами.

Проведение исследований на всех этапах: отбор проб, их хранение, доставка в лабораторию, регистрация, порядок исследования, выдача результатов, взаимодействие с организациями Роспотребнадзора должны соответствовать требованиям действующих нормативных документов.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на туляремию

Исследования на туляремию могут выполнять специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим образованием, окончившие курсы подготовки по специальности «Бактериология» с основами безопасной работы с патогенными биологическими агентами (ПБА) I—II групп, имеющие допуск к работе с ПБА II—IV групп на основании приказа руководителя учреждения. Специалисты, проводящие исследования на туляремию, должны иметь необходимые профессиональные навыки (прилож. 8).

Специалисты, осуществляющие деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных болезней, должны иметь сертификаты и повышать квалификацию не реже одного раза в пять лет.

Требования к обеспечению безопасности работы персонала

Каждая лаборатория, осуществляющая исследования на туляремию, должна иметь пакет документов, определяющих режим безопасной работы сотрудников с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизмов. Документы должны быть согласованы с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности, специалистами по охране труда, противопожарным мероприятиям и утверждены руководителем учреждения. Результаты проверок знаний правил техники безопасности персонала при проведении работ фиксируются в специальном журнале.

Специалисты, осуществляющие эпизоотологическое обследование энзоотичной по туляремии территории и его лабораторное обеспечение, должны быть вакцинированы против туляремии с последующим кон-

тролем уровня иммунитета и регистрацией результатов в специальном журнале.

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

Порядок организации внутреннего контроля качества лабораторных исследований

Контроль качества диагностических исследований на туляремию в лабораториях ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» включает:

- контроль качества питательных сред, диагностических препаратов и тест-систем, дисков с антибактериальными препаратами, дистиллированной воды, химических реактивов и дезинфицирующих средств;
- своевременную поверку средств измерений, аттестацию испытательного оборудования;
- контроль качества стерилизации лабораторной посуды;
- контроль работы паровых и суховоздушных стерилизаторов;
- контроль работы бактерицидных ламп;
- контроль температурного режима холодильников;
- контроль температурного режима термостатов;
- проверку состояния воздуха производственных помещений и боксов, температурного режима, влажности;
- проверку санитарного состояния помещений, включая условия уборки, дезинфекции, контроль смывов с поверхностей и оборудования.

Результаты контроля фиксируют в специальных журналах.

Правила ведения документации

Ведение лабораторной документации, включая регистрационные и рабочие журналы, осуществляют ежедневно в соответствии с требованиями действующих методических документов.

Требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на туляремию

Для проведения диагностических исследований на туляремию в лабораториях должны быть в наличии:

- питательные среды, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 2);
- диагностические препараты, тест-системы, антибактериальные препараты, зарегистрированные в установленном порядке (прилож. 3, 7);
- химические реактивы (прилож. 4);
- приборы, оборудование, расходные материалы (прилож. 5, 6);

• комплект медицинский (укладка универсальная для забора материала от людей и из объектов окружающей среды для исследования на особо опасные инфекционные болезни).

Питательные среды подлежат обязательному контролю согласно действующим методическим указаниям по контролю диагностических питательных сред по биологическим показателям (для возбудителя туляремии).

5.3.2.2. Номенклатура и объем исследований.

Лаборатории ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъектах Российской Федерации, проводят:

• исследование материала от больных и умерших с подозрением на туляремию;

• исследование материала от лиц, подлежащих обследованию на туляремию в соответствии с требованиями эпиднадзора (по согласованию);

• исследование проб, собранных в ходе эпизоотологического обследования территории;

• исследование проб из объектов окружающей среды;

• идентификацию выделенных культур возбудителя туляремии по сокращенной схеме;

• контроль качества и ингибирующих свойств питательных сред.

Диагностические исследования материала осуществляют в следующем объеме:

а) индикация возбудителя в нативном материале методами экспресс- и ускоренной диагностики (МФА, ПЦР, ИФА, РА, РНГА, РНАт, селективное концентрирование на МИС с последующей постановкой ИФА);

б) постановка биологической пробы;

в) посев на питательные среды с целью выделения чистой культуры возбудителя;

г) выявление антител к возбудителю туляремии;

д) идентификация выделенной культуры по сокращенной схеме.

5.3.2.3. Порядок диагностических исследований на туляремию в лабораториях особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации.

Порядок исследования клинического материала

Отбор материала осуществляют в соответствии с п. 5.1.

Для выявления возбудителя туляремии используют диагностические препараты и сложные агаровые или желточные среды с добавлением цистеина, тканевых экстрактов, дефибринированной крови, глюкозы,

зарегистрированные в установленном порядке. Каждая серия агара должна быть проверена на чувствительность к росту туляремийного микроба согласно действующим нормативно-методическим документам. Для подавления роста посторонней микрофлоры используют пенициллин (100 ед./мл), ампициллин (100 ед./мл), полимиксин В (50—100 мкг/мл), кефзол (или цефалексин), амфотерицин В (или амфоглюкамин), ристомицина сульфат и некоторые другие антибактериальные препараты.

Объекты с посевами инкубируют при температуре 37 °С. Просмотр посевов осуществляют через 24—48 ч (далее – ежедневно в течение 10 суток от момента посева).

Подготовку проб для ПЦР осуществляют в соответствии с требованиями методических указаний по организации работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I—IV групп патогенности.

Исследование материала от больного человека (трупа)

I этап:

• приготовление мазков, окраска фиксированных мазков по Граму, Романовскому-Гимзе, иммуноглобулинами флюоресцирующими туляремийными;

• постановка ПЦР;

• постановка иммуносерологических реакций для обнаружения антигенов и антител к возбудителю туляремии (РА, МФА, РНГА, РНАт, ИФА и др.);

• постановка реакции лейкоцитолиза (кровь больного);

• заражение биопробных животных (морские свинки внутрибрюшинно; белые мыши внутрибрюшинно или подкожно (кровь, пунктат бубона), подкожно (мокрота, мазок из зева, вскрывшийся бубон, отделяемое язвы, конъюнктивы);

• посев на плотные питательные среды (кровь, пунктат бубона);

• посев на плотные питательные среды с ингибиторами посторонней флоры (мокрота, мазок из зева, субстрат из вскрывшегося бубона, отделяемое язвы, конъюнктивы).

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

• учет результатов МФА, ИФА, ПЦР;

• учет результатов РА, РНГА и РНАт через 18—24 ч;

• выдача *предварительного положительного ответа* на основании наличия в мазках мелких кокковидных палочек грамотрицательных или сиреневого цвета при окраске по Романовскому-Гимзе, их специфического свечения при окраске мазка иммуноглобулинами флуоресцирую-

щими туляремийными, положительного результата ПЦР, положительных иммуносерологических реакций при отрицательных контролях.

III этап (48—72 ч от начала исследования):

- просмотр посевов нативного материала на агаровых пластинках;
- бактериоскопия мазков из подозрительных колоний (окраска по Граму);
- постановка ИХ-теста для экспресс-идентификации туляремийного микроба с материалом из подозрительных колоний;
- отсев подозрительных колоний туляремийного микроба на питательный агар для выделения чистой культуры;
- выдача *подтверждения предварительного положительного ответа* на основании наличия характерного роста на плотных питательных средах, наличия в мазках из колоний мелких грамотрицательных кокковидных палочек, положительного ИХ-теста для экспресс-идентификации туляремийного микроба.

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

- после накопления чистой культуры постановка тестов для ее идентификации. Идентификацию выделенной культуры проводят по следующим тестам:
  - морфология клетки, характер окраски по Граму и иммуноглобулинами флуоресцирующими туляремийными;
  - характер роста на питательных средах FT-агаре или на свернутой желточной среде Мак-Коя;
  - отсутствие роста на простых питательных средах (мясопептонном агаре и/или бульоне);
  - агглютинация культур специфической туляремийной сывороткой или постановка РЛА с выделенной культурой;
  - экспресс-идентификация туляремийного микроба с использованием ИХ-теста;
  - выявление видоспецифичных ДНК-мишеней методом ПЦР;
- вскрытие павших биопробных животных, посев органов и крови на плотные питательные среды, приготовление и просмотр мазков-отпечатков органов, постановка ПЦР с суспензиями органов.

V этап (5—15-е сутки от начала исследования):

- учет результатов идентификации культур;
- просмотр посевов материала от павших биопробных животных;
- вскрытие и исследование забитых биопробных животных;
- выдача *окончательного положительного ответа* проводится на основании выделения чистой культуры туляремийного микроба из посевов нативного материала, его идентификации по морфологическим,

культуральным свойствам, положительных результатов иммуносерологических реакций, наличию ДНК возбудителя, а также на основании выделения идентичных культур от павших или забитых лабораторных животных.

VI этап (15—25-е сутки от начала исследования):

• выдача *отрицательного ответа* на основании отсутствия специфического роста на питательных средах при посеве нативного материала и органов забитых биопробных животных, отрицательных результатов ПЦР, отрицательных результатов иммуносерологических реакций с нативным материалом и суспензиями органов забитых или павших биопробных животных, отсутствия патолого-анатомических изменений у последних, отсутствия в парных сыворотках больного нарастания титров специфических антител к туляремийному микробу.

Запрещается давать окончательный (отрицательный или положительный) ответ на основании результатов экспресс- и ускоренной диагностики.

Исследование материала от вакцинированных туляремийной вакциной

Исследование проводят в соответствии с п. 5.2.3.

Порядок исследования проб, собранных в ходе эпизоотологического обследования территории природного очага туляремии

В ходе эпизоотологического обследования природного очага туляремии лабораторному исследованию подвергают: мелких млекопитающих или их трупы; собранных с них эктопаразитов (вшей, иксодовых, гамазовых и краснотелковых клещей, блох); подснежные гнезда грызунов; продукты жизнедеятельности мелких млекопитающих; погадки птиц; помет хищных млекопитающих; солому; мякину; талую воду и другие объекты, загрязненные выделениями грызунов; воду из естественных водоемов и колодцев; гидробионтов и др. Среди членистоногих переносчиков основное внимание уделяют иксодовым клещам. При трансмиссивных вспышках исследуют кровососущих двукрылых (комаров, москитов, слепней и др.). Кроме того, при соответствующих эпизоотологических и эпидемиологических показаниях исследуют кровь домашних животных серологическими методами.

Сбор, упаковку материала для исследования, доставку его в лабораторию осуществляют в соответствии с действующими нормативными документами.

Всех млекопитающих по отношению к туляремийной инфекции и их роли в эпизоотическом процессе разделяют на три группы.

Первая группа. Высоковосприимчивые и высокочувствительные млекопитающие (заражаются при попадании в организм единичных

микробных клеток возбудителя туляремии, остро болеют и быстро погибают с интенсивным обсеменением органов и тканей возбудителем). К этой группе относятся все виды мелких мышевидных грызунов, кроме полевой мыши, зайцеобразные и насекомоядные, за исключением ежей, куторы, выхухоли.

Вторая группа. Высоковосприимчивые, но малочувствительные млекопитающие (заражаются при попадании в организм единичных микробных клеток возбудителя туляремии, болеют тяжело, но быстро освобождаются от микроба, приобретая устойчивый иммунитет). К этой группе относятся полевая мышь, все виды крыс и сусликов, белки, бурундуки, бобры, ежи, выхухоль, кутора, белозубка и некоторые другие виды млекопитающих.

Третья группа. Маловосприимчивые и практически нечувствительные млекопитающие. К ним относится большинство хищных млекопитающих и сельскохозяйственных животных.

Схема исследования полевого материала

Лабораторное исслсдование полевого материала начинают сразу же после его поступления. Допускается его кратковременное хранение (не более 20 ч) при температуре от 4 до 6 °С. При вскрытии зверьков на месте сбора возможно хранение органов и доставка их в лабораторию в консерванте. Консервантами могут служить вазелино-парафиновая смесь (1 часть парафина и 10 частей вазелинового масла смешивают и стерилизуют 45 мин прогреванием на кипящей водяной бане), 5 %-й раствор поваренной соли, кроме того, используют глубокое замораживание в жидком азоте и др. В консервантах и при низкой температуре органы животных можно сохранять в течение одного месяца.

Исследование проводят биологическим, бактериоскопическими (световая и люминесцентная микроскопия), бактериологическими (посев на питательные среды, выделение чистых культур и их идентификация, молекулярно-генетическим (ПЦР-анализ) и иммуносерологическими (РА, РЛА, РНГА, РНАт, РНАг, ИФА) методами. Схема исследования материала зависит от группы чувствительности животных и от того, в каком виде доставлен материал.

Мелких млекопитающих, добытых в природе орудиями лова или живыми, исследуют групповым методом, объединяя в одну пробу органы нескольких зверьков (5—10) одного вида и пойманных в одном месте.

Для исследования отбирают кусочки селезенки, печени, лимфатические узлы, кровь или «смывы» из грудной полости. Материал исследуют биологическим, молекулярно-генетическим и иммуносерологическими методами.

Суспензию органов используют для заражения биопробных животных и выявления антигенов и ДНК возбудителя туляремии. Сыворотку крови или «смывы» из грудной полости исследуют на наличие антител к возбудителю туляремии.

Трупы зверьков, погибших в природе, павших в лаборатории, или животных, у которых при вскрытии обнаружены патолого-анатомические изменения, характерные для туляремии, подвергают индивидуальному исследованию. Кусочки селезенки, печени, почек, лимфатические узлы, костный мозг исследуют биологическим, бактериологическим, молекулярно-генетическим и иммуносерологическими методами.

В условиях установленной эпизоотии при исследовании животных первой группы можно ограничиться посевом органов на питательные среды и бактериоскопией мазков из органов, сохраняя часть их на холоде до получения результатов исследований. В сомнительных случаях прибегают к биологическому методу. Животных второй и третьей групп биологическим методом исследуют обязательно.

Вероятность обнаружения возбудителя туляремии в органах животных первой группы при микроскопическом исследовании (лучше использовать люминесцентную микроскопию) значительно выше, чем при бактериоскопии мазков из органов трупов животных второй группы.

Домашние животные (крупный рогатый скот, свиньи, овцы, северные олени) относятся к видам, малочувствительным к туляремии (третья группа). При их исследовании используют главным образом иммуносерологические методы (РА, РНГА, ИФА), реже – внутрикожную пробу с тулярином. Бактериологический и биологический методы применяют только при обследовании павших, забитых или больных животных. Исследуют в первую очередь лимфатические узлы и селезенку. При серологическом исследовании следует учитывать возможность обнаружения перекрестных реакций с бруцеллами и микробной флорой кишечника животных. Целесообразно исследовать сыворотки домашних животных, по крайней мере, в двух серологических реакциях. Положительные реакции в РНГА следует контролировать в РТНГА.

Погадки хищных птиц и помет хищных млекопитающих рекомендуется исследовать индивидуально. Гибель туляремийного микроба в погадках и помете происходит быстро (в первые сутки; при отрицательных температурах, возможно, медленнее), в связи с чем биологическое и бактериологические исследования этого материала нецелесообразны. Пробы погадок и помета используют для поиска антигена возбудителя туляремии иммуносерологическими методами и ДНК методом ПЦР.

Кровососущих насекомых и других беспозвоночных животных исследуют групповым методом, в одну пробу объединяют насекомых или

беспозвоночных животных одного вида (рода) и добытых из одного места.

Взрослых иксодовых клещей объединяют до 50 особей.

Личинок объединяют по 100—200 экземпляров, нимф – по 50—100 в зависимости от степени их упитанности. Промывание личинок и нимф иксодовых клещей в спирте не проводят, т. к. это может повредить анализу.

Блох, гамазовых клещей, вшей сортируют по видам (родам), а также по видам зверьков, с которых они были собраны, помещают в стерильные пробирки и далее подвергают обработке по той же методике, что личинок и нимф иксодовых клещей.

Кровососущих двукрылых насекомых усыпляют парами эфира для ограничения подвижности. У слепней предварительно отстригают конечности и крылья, комаров и мошек исследуют целиком. В один анализ включают до 25—50 слепней или до 100 комаров, или до 250 мошек.

Гидробионтов – ручейников, бокоплавов, дафний, циклопов и других перед исследованием промывают в нескольких порциях воды и 1—2 порциях стерильной дистиллированной воды. У животных, имеющих чехлики или раковинки, последние по возможности удаляют. Животных объединяют в группы по 5—10—50 экземпляров в зависимости от размеров особей отдельных видов.

Обнаружение туляремийного микроба или его ДНК в организме беспозвоночных наиболее эффективно при использовании биологического метода и ПЦР. Также возможно обнаружение специфического антигена туляремийного ЛПС с помощью ИХ-теста.

Пробы воды (100—200 мл) берут из различных водоемов: речек, ручьев, прудов, озер, болот, колодцев и т. п. Наиболее эффективно исследование воды в пойменно-болотных очагах туляремии в зимнее время. Пробы берутся в затененном месте, на глубине 10—20 см от поверхности стоячей или слабопроточной воды. Из каждой точки следует брать по 2 пробы. Отбирают пробы в местах обитания зверьков (возле кормовых столиков, нор, хаток бобров или ондатр). Для концентрирования возбудителя используют фильтрование, цетрифугирование, магнитные сорбенты и другие приемы. Для исследования используют биологический метод (белой мыши вводят подкожно до 1 мл, а морской свинке – до 5 мл воды), молекулярно-генетический и иммуносерологические методы, направленные на выявление ДНК и антигенов возбудителя туляремии.

Зерно, солому, гнездовой материал и другие субстраты (5—10 г) исследуют биологическим, молекулярно-генетическим и иммуносерологическими методами, направленными на выявление возбудителя туляремии, его антигенов или ДНК.

Этапы исследования проб, собранных в ходе эпизоотологического обследования, соответствуют этапам исследования материала от больного человека (трупа) в зависимости от используемых методов

5.3.2.4. Оформление результатов исследования.

Регистрация результатов анализа и выдача ответов в лаборатории ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации проводится по унифицированным формам.

5.3.2.5. Порядок взаимодействия лабораторий особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации с организациями Роспотребнадзора.

Информация о выделенных подозрительных или идентифицированных штаммах возбудителя туляремии передается в соответствии с действующей нормативной документацией и направляется в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики опасных инфекционных болезней (противочумное учреждение) и в Референс-центр по мониторингу за туляремией.

Штаммы возбудителя туляремии, выделенные от людей, из объектов окружающей среды и идентифицированные в лаборатории ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации передаются в установленном порядке в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики опасных инфекционных болезней (противочумное учреждение (по согласованию). Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Прилагаются паспорт на штамм в одном экземпляре, сопроводительное письмо, акт упаковки и акт передачи.

6. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий регионального уровня

6.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности в федеральных округах Российской Федерации

Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности в федеральных округах Российской Федерации соответст-

вует п. 5.3.2 «Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации».

6.1.1. Порядок взаимодействия лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности в федеральных округах Российской Федерации с организациями Роспотребнадзора

Информация о выделенных подозрительных или идентифицированных штаммах возбудителя туляремии передается в соответствии с действующей нормативной документацией и направляется в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики опасных инфекционных болезней (противочумное учреждение) и в Референс-центр по мониторингу за туляремией.

Штаммы возбудителя туляремии, выделенные от людей, из объектов окружающей среды и идентифицированные в лаборатории Регионального центра по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности в федеральных округах Российской Федерации передаются в установленном порядке в Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности или Центр индикации и диагностики опасных инфекционных болезней (по согласованию).

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Прилагаются паспорт на штамм в одном экземпляре, сопроводительное письмо, акт упаковки и акт передачи.

6.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности (противочумные учреждения)

6.2.1. Требования к лабораториям Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов

Учреждения, на базе которых функционируют лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней I—II групп патогенности, выполняющие исследования на туляремию, должны иметь лицензию на осуществление дея-

тельности, связанной с использованием возбудителей I—II групп патогенности (опасности).

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней I—II групп патогенности, осуществляющие исследования на туляремию, должны иметь санитарно-эпидемиологическое заключение о возможности проведения работ с микроорганизмами I—II групп патогенности (опасности) в соответствии с действующими СП о порядке выдачи санитарно-эпидемиологического заключения о возможности проведения работ с возбудителями инфекционных болезней человека I—IV групп патогенности (опасности), генно-инженерно-модифицированными микроорганизмами, ядами биологического происхождения и гельминтами.

Лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности и их подразделения должны быть аккредитованы на техническую компетентность в установленном порядке в соответствии с действующей законодательной базой Российской Федерации.

Учет, хранение, передача и транспортирование выделенных подозрительных культур возбудителя туляремии, утилизация отходов осуществляются в соответствии с действующими СП.

Требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на туляремию, требования к обеспечению безопасности работы персонала, порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований, правила ведения документации и требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на туляремию, аналогичны п. 5.3.2.1.

6.2.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории сезонных формирований (противоэпидемических отрядов) проводят:

- исследования проб, собранных в ходе эпизоотологического обследования территории природного очага туляремии;
- идентификацию выделенных культур возбудителя туляремии по сокращенной схеме.

Диагностические исследования материала осуществляют в следующем объеме:

а) постановка биологической пробы;

б) посев на питательные среды с целью выделения чистой культуры возбудителя туляремии;

в) выявление антигенов возбудителя туляремии и антител к ним;

г) идентификация выделенной культуры по следующим тестам:

• морфология клеток в мазках и отношение к окраске по Граму или Романовскому-Гимзе;

• характер роста на питательных средах (FT-агаре или свернутой желточной среде Мак-Коя);

• отсутствие роста на простых питательных средах (мясопептонном агаре и/или бульоне);

• экспресс-идентификация туляремийного микроба с использованием ИХ-теста;

• агглютинация сывороткой туляремийной диагностической или постановка РЛА с выделенной культурой.

Стационарные лаборатории Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности проводят:

• исследования материала от больных и умерших с подозрением на туляремию (по согласованию);

• исследования объектов окружающей среды (по согласованию);

• исследования проб, собранных в ходе эпизоотологического обследования территории природного очага туляремии;

• идентификацию культур возбудителя туляремии, выделенных на территории прикреплённых субъектов Российской Федерации;

• проверку качества и ингибирующих свойств питательных сред.

Диагностические исследования полевого материала осуществляют в следующем объеме:

а) индикация возбудителя в нативном материале методами экспресс- и ускоренной диагностики;

б) посев на питательные среды с целью выделения чистой культуры возбудителя туляремии и изучения культуральных свойств;

в) постановка биологической пробы;

г) выявление антител к возбудителю туляремии;

д) идентификация выделенной культуры по следующим тестам:

• морфология клеток в мазках, тинкториальные свойства бактерий при окраске по Граму или Романовскому-Гимзе и МФА;

• характер роста на питательных средах (FT-агаре или свернутой желточной среде Мак-Коя);

• отсутствие роста на простых питательных средах (мясопептонном агаре и/или бульоне);

• экспресс-идентификация туляремийного микроба с использованием ИХ-теста;

• агглютинация сывороткой туляремийной диагностической или постановка РЛА с выделенной культурой;

• определение вирулентности для белых мышей и морских свинок;
• выявление в ПЦР видоспецифичных ДНК-мишеней;
• определение чувствительности к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом.

6.2.3. Порядок диагностических исследований на туляремию в лабораториях противоэпидемических отрядов Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности

Порядок диагностических исследований на туляремию в лабораториях противоэпидемических отрядов Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности соответствует порядку исследования проб, отобранных в ходе эпизоотологического обследования территории природного очага туляремии для лабораторий ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации п. 5.3.2.3 (не используют ПЦР, МФА).

Штаммы возбудителя туляремии, выделенные в лабораториях противоэпидемических отрядов, направляют на соответствующую противочумную станцию – Региональный центр по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности. Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности.

6.2.4. Порядок диагностических исследований на туляремию в стационарных лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности

Порядок диагностических исследований на туляремию в стационарных лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности соответствует порядку диагностических исследований на туляремию в лабораториях особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации п. 5.3.2.3.

В схему идентификации дополнительно входят тесты по определению вирулентности для белых мышей и морских свинок и чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом.

6.2.5. Порядок взаимодействия лабораторий Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности с организациями Роспотребнадзора

Информация о выделенных и/или идентифицированных штаммах возбудителя туляремии передается в соответствии с действующей нормативной документацией и направляется в Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, Референс-центр по мониторингу за туляремией, Национальный Центр верификации диагностической деятельности Роспотребнадзора, осуществляющий функцию Государственной коллекции возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I—II групп патогенности.

Штаммы возбудителя туляремии, выделенные от людей, из объектов окружающей среды и/или идентифицированные в лабораториях Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности, направляют в Центр индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней (противочумные учреждения, курирующие прикрепленные субъекты Российской Федерации).

Заключение о результатах идентификации присланного на исследование штамма направляют в учреждение, из которого штамм получен.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Прилагаются паспорт на штамм в одном экземпляре, сопроводительное письмо, акт упаковки и акт передачи.

6.3. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней

6.3.1. Требования к лабораториям Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов, требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на туляремию, требования к обеспечению безопасности работы персонала, порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований, правила ведения документации и требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на туляремию аналогичны п. 6.2.1.

6.3.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней проводят:

- исследования материала от больных и умерших с подозрением на туляремию (по согласованию);
- исследования проб из объектов окружающей среды (по согласованию);
- идентификацию культур возбудителя туляремии, выделенных в прикреплённых субъектах, дают оценку вирулентности штаммов, проводят определение подвидов туляремийного микроба;
- определение чувствительности к антибактериальным препаратам;
- проверку качества и ингибирующих свойств питательных сред.

6.3.3. Порядок диагностических исследований на туляремию в лабораториях Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней

Порядок диагностических исследований на туляремию в лабораториях Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней соответствует порядку диагностических исследований на туляремию в лабораториях особо опасных инфекций ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» в субъекте Российской Федерации п. 5.3.2.3.

В схему идентификации дополнительно входят тесты по определению вирулентности для белых мышей или морских свинок и чувствительности возбудителя к антибактериальным препаратам, а также тесты внутривидового типирования:

- определение ферментативной активности по отношению к глицерину;
- определение цитрулинуреидазной, фосфатазной и пенициллиназной активности;
- определение вирулентности для кроликов;
- выявление подвидоспецифичных генетических маркеров с помощью ПЦР.

6.3.4. Порядок взаимодействия лабораторий Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней с организациями Роспотребнадзора

Информация о выделенных и/или идентифицированных штаммах возбудителя туляремии передается в соответствии с действующей нормативной документацией и направляется в Референс-центр по мониторингу за туляремией, Национальный Центр верификации диагностиче-

ской деятельности Роспотребнадзора, осуществляющий функцию Государственной коллекции возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I—II групп патогенности.

Штаммы возбудителя туляремии, выделенные от людей, из объектов окружающей среды и идентифицированные в лабораториях Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, направляют в Референс-центр по мониторингу за туляремией.

Заключение о результатах идентификации присланного на исследование штамма направляют в учреждение, из которого штамм получен.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Прилагаются паспорт на штамм в одном экземпляре, сопроводительное письмо, акт упаковки и акт передачи.

7. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для лабораторий федерального уровня

7.1. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для Референс-центра по мониторингу за туляремией

7.1.1. Требования к лабораториям Референс-центра по мониторингу за туляремией

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов, требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на туляремию, требования к обеспечению безопасности работы персонала, порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований, правила ведения документации и требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на туляремию аналогичны п. 6.2.1.

7.1.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории Референс-центра по мониторингу за туляремией проводят:

- полную идентификацию и изучение биологических, молекулярно-генетических, биохимических свойств возбудителя туляремии, в том числе культур с атипичными свойствами и вновь выделенных культур, явившихся причиной эпидемической вспышки;
- определение чувствительности возбудителя туляремии к антибактериальным препаратам, в том числе методом серийных разведений;

• исследование клинического материала и проб объектов окружающей среды – по эпидемическим показаниям.

7.1.3. Организация и обеспечение диагностической деятельности при мониторинге за туляремией

Материалом для исследования служат штаммы возбудителя туляремии, в том числе штаммы с атипичными свойствами, выделенные в лабораториях территориального и регионального уровней; вновь выделенные штаммы, явившиеся причиной вспышки; материал от больных туляремией, объекты окружающей среды – по эпидемическим показаниям.

При исследовании штаммов возбудителя туляремии, материала от людей и проб объектов окружающей среды используют весь комплекс методов, включая современные высокотехнологичные методы бактериологического, иммуносерологического и молекулярно-генетического анализа с использованием как зарегистрированных, так и экспериментально-лабораторных серий диагностических препаратов.

Порядок исследования клинического материала, проб из объектов окружающей среды на туляремию соответствует п. 6.3.3.

Идентификация поступивших культур осуществляется по полной схеме. Для характеристики штаммов по генам, ассоциированным с вирулентностью и персистенцией возбудителя в макроорганизме, таксономическим положением (с учетом рекомендаций ВОЗ), филогенетическим положением (16S рРНК, штаммовые отличия, происхождение), проводят расширенную идентификацию на основе генамплификационных, рестрикционных и секвенационных технологий (включая полногеномное секвенирование), в том числе с применением алгоритмов VNTR-, MLST-, RFLP- и SNP-типирования.

При идентификации культур возбудителя туляремии с атипичными свойствами осуществляется использование дополнительных молекулярно-биологических, серологических, иммунологических, биохимических и других методов для подтверждения видовой или подвидовой принадлежности штаммов возбудителя туляремии:

• ПЦР с использованием дополнительных видоспецифических подвидоспецифических праймеров и зондов;

• постановка иммуносерологических реакций с использованием моноклональных антител в частности, ИХ-тестов для экспресс-идентификации туляремийного микроба.

7.1.4. Порядок взаимодействия лабораторий Референс-центра по мониторингу за туляремией с организациями Роспотребнадзора

Информация о выделенных и/или идентифицированных штаммах возбудителя туляремии передается в соответствии с действующими нормативными документами и направляется в Национальный Центр верификации диагностической деятельности Роспотребнадзора, осуществляющий функцию Государственной коллекции возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I—II групп патогенности.

Штаммы возбудителя туляремии, идентифицированные в лабораториях Референс-центра по мониторингу за туляремией, передают в Национальный Центр верификации диагностической деятельности Роспотребнадзора, осуществляющий функцию Государственной коллекции возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I—II групп патогенности.

Заключение о результатах идентификации присланного на исследование штамма направляют в учреждение, из которого штамм получен.

Передачу и транспортирование осуществляют в соответствии с действующими СП по порядку учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I—IV групп патогенности. Прилагаются паспорт на штамм в одном экземпляре, сопроводительное письмо, акт упаковки и акт передачи.

7.2. Порядок организации и проведения лабораторной диагностики туляремии для Национального Центра верификации диагностической деятельности возбудителей особо опасных бактериальных инфекций I—II групп патогенности Роспотребнадзора

7.2.1. Требования к лабораториям Национального Центра верификации диагностической деятельности

Наличие разрешительных и регламентирующих работу документов, требования к специалистам и персоналу, участвующим в выполнении исследований на туляремию, требования к обеспечению безопасности работы персонала, порядок организации внутреннего контроля лабораторных исследований, правила ведения документации и требования к материальным ресурсам, необходимым для выполнения диагностических исследований на туляремию аналогичны п. 6.2.1.

7.2.2. Номенклатура и объем исследований

Лаборатории Национального Центра верификации диагностической деятельности осуществляют:

• верификацию результатов диагностики туляремии и идентификации культур, полученных из Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности, Центров индикации и диагностики опасных инфекционных болезней Роспотребнадзора, Референс-центра по мониторингу за туляремией;

• диагностические исследования материала от больных туляремией и умерших от этой болезни;

• хранение коллекционных штаммов, охраноспособное и авторское депонирование.

7.2.3. Организация и обеспечение диагностической деятельности

Порядок исследования клинического материала, проб из объектов окружающей среды на туляремию соответствует п. 5.3.2.3.

Идентификацию культур осуществляют по полной схеме, дополнительно проводят:

• определение чувствительности штаммов возбудителя туляремии к антибактериальным препаратам, в том числе методом серийных разведений;

• выявление родо-, видо- и подвидспецифичных локусов с учетом рекомендаций ВОЗ;

• секвенирование важных для филогенетического анализа генов (16S рРНК, sdhA, pilT и др.);

• типирование штаммов возбудителя туляремии с помощью молекулярно-биологических подходов: выявление генов, связанных с вирулентностью и аттенуированием возбудителя; получение VNTR-, MLST-, RFLP- и SNP-профилей;

• составление геномного портрета на основе результатов расширенной идентификации культур туляремийного микроба с помощью генамплификационных, рестрикционных и секвенационных (включая полногеномное секвенирование) технологий с целью создания электронного каталога.

7.2.4. Порядок взаимодействия лабораторий Национального Центра верификации диагностической деятельности с организациями Роспотребнадзора

Национальный Центр верификации диагностической деятельности направляет в Региональные центры по мониторингу за возбудителями инфекционных болезней I—II групп патогенности, Центры индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней, Референс-центр по мониторингу за туляремией результаты проведенных исследований.

Приложение 1

Направление
на исследование клинического материала

1. Наименование и адрес учреждения, куда направляется проба (пробы)

_____

2. Фамилия, имя, отчество больного (умершего) _____

_____

пол _____, возраст _____

Место жительства _____

_____

Дата заболевания _____

Дата обращения за медицинской помощью _____

Дата госпитализации _____

Диагноз предварительный _____

_____

3. Особенности эпидемиологического анамнеза _____

_____

_____

4. Проводилась ли антибактериальная терапия до взятия материала:

– дата проведения _____

– какие использовались препараты _____

– какая доза _____

5. Вид материала, взятого для исследования _____

_____

_____

6. Дата и время забора материала _____

7. Цель исследования _____

_____

8. Наименование учреждения

должность, фамилия и инициалы лица, направляющего пробу (пробы)

_____

_____

(подпись)

9. Время доставки пробы (проб) (час, минуты, число, месяц, год)

_____

10. Кто доставил пробы _____

(Ф., И., О., занимаемая должность, подпись)

11. Кто принял пробы _____

(Ф., И., О., занимаемая должность, подпись)

12. Адрес, по которому следует сообщить результаты исследования

_____

контактный телефон/факс _____

Приложение 2

Питательные среды, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии

№ п/п	Наименование среды	Номер регистрационного удостоверения	Нормативная документация	Изготовитель (разработчик)
1	2	3	4	5
Зарегистрированные питательные среды				
1	Набор реагентов для бактериологических исследований – «Питательный агар для культивирования и выделения туляремийного микроба сухая (FT-агар)»	ФСР 2007/0089	ТУ 9398-028-78 095 326—2007 ПР 78095326-17—2006	ФБУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск Тел.: (4967)36-00-09 Тел./факс: (4967) 36-00-20 E-mail: info@ obolensk.org Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
2	Глюкозо-витаминная добавка к питательной среде			ФБУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск Тел.: (4967)36-00-09 Тел./факс: (4967) 36-00-20 E-mail: info@ obolensk.org Веб-сайт: www.obolensk.org
3	Ингибиторная добавка к питательной среде			ФБУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск Тел.: (4967)36-00-09 Тел./факс: (4967) 36-00-20 E-mail: info@ obolensk.org Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
Незарегистрированные и разрабатываемые питательные среды				
4	Основа питательной среды для культивирования туляремийного микроба		ФСП 42-0291-2707—02 ПР № 01 898 090-03—06	ФКУЗ ИркутскНИПЧИ 664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78 Тел./факс: (3952) 22-01-35 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru

Продолжение

1	2	3	4	5
5	Питательная среда элективная для выделения возбудителя туляремии сухая (АДЭТ)	Экспериментальные серии		ФКУЗ Ростовский НИПЧИ, 344007 г. Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117, Тел./факс: (863) 234-13-76 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: hp.ic.ru/rostovpci
6	Среда для культивирования и выделения туляремийного микроба	Экспериментальные серии		ФГУП «НПО «Микроген» 127473, г. Москва, 2-й Волконский пер., 10, тел. 495, 790-77-73, НПО «Питательные среды» факс 495-783-88-04
Питательные среды иностранного производства				
7	Brain Heart Infusion Agar			*HiMedia*, Индия 124498 Москва а/я 130, тел. (495) 536-43-00 gost.e-ecolog.ru
8	Cystine Heart Agar			-«-
9	Cystine Tryotone Agar			-«-
10	Blood Agar Base			-«-

Приложение 3

Диагностические препараты, тест-системы, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии

№ п/п	Наименование препарата или тест-системы	Номер регистрационного удостоверения	Нормативная документация	Изготовитель (разработчик)
1	2	3	4	5
Зарегистрированные препараты				
1	Набор реагентов. Иммуноглобулины диагностические флюоресцирующие туляремийные сухие	ЛС-000195	ТУ 9389-023-01894956—2009	Филиал «Медгамал» ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18 Тел . (499)193-30-50; 190-44-59 Факс: (499)190-66-71 Веб-сайт: www.medgamal.ru
2	Набор реагентов. Альбумин бычий или бараний, меченный родамином, сухой	ФСР 2010/08410	ТУ 9389-015-01894956—2009	Филиал «Медгамал» ФГБУ «НИИЭМ им. Н. Ф. Гамалеи» Минздравсоцразвития России 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, 18 Тел.: (499)193-30-50, 190-44-59 Факс: (499)190-66-71 Веб-сайт: www.medgamal ru
3	Набор реагентов. Тест-система диагностическая для выявления возбудителя туляремии в иммуноферментном анализе (ИФА) «ИФА-Тул-СтавНИПЧИ»	ФСР 2010/06744	ТУ 9388-010-018978—2009	ФКУЗ СтавНИПЧИ 355035, г Ставрополь, ул. Советская, 13 Тел /факс: (6522) 26-03-12 E-mail: labdiagn@yandex.ru Веб-сайт:

gost.e-ecolog.ru

Продолжение

1	2	3	4	5
4	Набор реагентов для иммунохроматографического экспресс-выявления и идентификации возбудителя туляремии (ИХ-тест *F. Tularensis*)	ФСР 2009/05486	ТУ 9398-092-78095326—2000	ФБУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск Тел./факс: (4967) 36-00-10 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
5	Аллерген туляремийный жидкий (Тулярин), суспензия для накожного скарификационного нанесения	01-11/191-07	ФСП 42-0504-7374—06	ФГУП «НПО «Микроген» 127473, г. Москва, 2-й Волконский пер., 10, тел. 495, 790-77-73, факс 495-783-88-04; 644080, Омск, пр. Мира, 7 Предприятие по производству бактерийных препаратов тел. (3812) 65-14-63
6	Диагностикум туляремийный жидкий для объемной и кровянокапельной реакции агглютинации	ФСР 2008/03073	ТУ 9388-084-14237183—08	ФГУП «НПО «Микроген» 127473, г. Москва, 2-й Волконский пер , 10, тел. 495, 790-77-73, факс 495-783-88-04; 644080, Омск, пр. Мира, 7 Предприятие по производству бактерийных препаратов тел. (3812) 65-14-63
Незарегистрированные и разрабатываемые препараты (используются лабораториями территориального и регионального уровней только после регистрации)				
7	Сыворотка диагностическая туляремийная сухая для РА, лиофилизат для микробиологических целей	На регистрации	ТУ 8852-003-01898090—2010	ФКУЗ ИркутскНИПЧИ 664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78 Тел./факс: (3952) 22-01-40 E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru Веб-сайт: www.irkutsk.ru/chumin/
8	Набор реагентов для определения возбудителя туляремии *Francisella tularensis* в реакции латекс-агглютинации	Прошел приемочно-технические испытания в аккредитованном Росздравнадзором испытательном центре		ФБУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск Тел./факс: (4967) 36-00-10 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru

Продолжение

1	2	3	4	5
9	Набор реагентов. Тест-система иммуноферментная магноиммуносорбентная для выявления возбудителя туляремии моноклональная	Прошел приемочно-технические испытания в аккредитованном Росздравнадзором испытательном центре		ФБУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск Тел./факс: (4967) 36-00-10, E-mail. info@obolensk org Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru ФКУЗ СтавНИПЧИ 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15 Тел./факс: (8652) 26-40-39 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
10	Иммуномагнитная латексная тест-система на туляремию	Прошла приемочно-технические испытания в аккредитованном Росздравнадзором испытательном центре		ФБУН ГНЦ ПМБ 142279, Московская область, Серпуховский район, п. Оболенск Тел./факс: (4967) 36-00-10 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
11	Диагностикум туляремийный цветной сухой для РА и МРА	Экспериментальные серии		ФКУЗ ИркутскНИПЧИ 664047, г. Иркутск, ул Трилиссера, 78 Тел./факс: (3952) 22-01-35 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
12	Диагностикум эритроцитарный туляремийный антигенный жидкий	Экспериментальные серии		ФКУЗ СтавНИПЧИ 355035, г Ставрополь, ул. Советская, 13-15 Тел./факс: (8652) 26-40-39 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: www.stavnipchi.ru
13	Диагностикум эритроцитарный туляремийный иммуноглобулиновый жидкий	Экспериментальные серии		ФКУЗ СтавНИПЧИ 355035, г. Ставрополь, ул. Советская, 13-15 Тел./факс: (8652) 26-40-39 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru

Продолжение

1	2	3	4	5
14	Тест-система для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции (Ген-Тул)	Экспериментальные серии		ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
15	Набор реагентов для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции с гибридизационно-флуоресцентным учетом результатов в режиме реального времени (Ген *Francisella tularensis* – РГФ)	На регистрации	ТУ 9398-035-01898109—2011	ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
16	Набор реагентов для выявления ДНК *Francisella tularensis* методом полимеразной цепной реакции с электрофоретическим учетом результатов (Ген *Francisella tularensis* – РЭФ)	На регистрации	ТУ 9398-036-01898109—2011	ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: gost.e-ecolog.ru
	Тест-система для одновременной детекции ДНК возбудителей сибирской язвы, чумы, туляремии методом мультиплексной полимеразной цепной реакции	Экспериментальные серии		ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12 E-mail: microbe@san ru Веб-сайт: www microbe.ru
	Тест-система для детекции и характеристики возбудителя туляремии методом мультиплексной полимеразной реакции	Экспериментальные серии		ФКУЗ РосНИПЧИ «Микроб» 410005, г. Саратов, ул. Университетская, д. 46 Тел.: (8452) 26-21-31 Факс: (8452) 51-52-12 E-mail: gost.e-ecolog.ru Веб-сайт: www microbe.ru

Приложение 4

Химические реактивы, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии

№ п/п	Реактив
1	0,9 %-й раствор хлористого натрия
2	Вода дистиллированная
3	ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота)
4	Трис (гидроксиметил)аминомстан, хч
5	Борная кислота, ч
6	Бромистый этидий («Serva», Германия)
7	Агар-агар «Дифко»
8	Агароза
9	Спирт этиловый ректификованный
10	Набор реактивов для окрашивания мазков по Граму
11	Масло иммерсионное
12	Масло иммерсионное нефлуоресцирующее
13	Глицерин
14	Цигруллин
15	Краска по Романовскому-Гимзе
16	Цитрат натрия 5 %-й раствор
17	Кислота уксусная 3 %-я, подкрашенная метиленовой синькой до светло-голубого цвета
18	Мергиолят натрия (1 : 10 000)
19	Лизирующий буфер с гуанидинтиоцианатом
20	Калий гидрофосфат
21	L-цистеин гидрохлорид
22	Феноловый красный
23	Сахароза
24	Индикатор бромтимоловый синий
25	Глюкоза
26	Мальтоза
27	Манноза
28	Левулеза
29	Соляная кислота
30	Натрия гидроксид
31	Крезоловый красный
32	Фенолфталеиндифосфат

Приложение 5

Приборы и оборудование, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии

№ п/п	Наименование оборудования	Область применения	Кол-во
1	2	3	4
Лаборатории территориального и регионального уровней			
Лаборатории ООИ ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии», Региональных центров по мониторингу за возбудителями инфекционных и паразитарных болезней II—IV групп патогенности, Региональных центров по мониторингу за возбудителями I—II групп патогенности (лаборатории противочумных станций)			
Оборудование общего назначения			
1	Автоклав	Обеспечение лабораторных исследований	2
2	Сухожаровой шкаф стерилизационный	Обеспечение лабораторных исследований	1
3	Аквадистиллятор	Обеспечение лабораторных исследований	1
4	pH-метр	Обеспечение лабораторных исследований	1
5	Центрифуга до 9 000 об./мин для центрифужных стаканов (в том числе конических) объемом до 50 мл	Подготовка проб	1
Оборудование для бактериологических исследований			
6	Морозильная камера – 20 °С	Хранение диагностических препаратов и реактивов	1
7	Холодильник	Хранение диагностических препаратов и реактивов. Хранение исследуемого материала	2
8	Бокс биологической безопасности II класса защиты	Разбор и сортировка исследуемого материала. Бактериологические, иммуносерологические исследования	2
9	Бокс биологической безопасности с ламинарным потоком воздуха	Для розлива питательных сред	1
10	Термостат	Бактериологические исследования	3
11	Аппарат для инактивирования сывороток	Для иммуносерологических исследований	1
12	Микроскоп бинокулярный биологический иммерсионный	Бактериоскопические исследования	1

Продолжение

1	2	3	4
13	Микроскоп люминесцентный	Иммунофлуоресцентный анализ	1
14	Оптический стандарт для приготовления взвеси микроорганизмов	Бактериологические исследования	1
15	Весы лабораторные	Приготовление сред Подготовка проб	2
16	Комплект автоматических дозаторов	Обеспечение лабораторных исследований	4
17	Облучатели бактерицидные (передвижные и стационарные)	Обеспечение лабораторных исследований	4
18	Баня водяная	Для иммуносерологических и бактериологических исследований	1
	Оборудование для ПЦР-анализа		
19	Морозильная камера – 20 °С	Хранение диагностических препаратов и реактивов. Хранение исследуемого материала	2
20	Холодильник	Хранение диагностических препаратов и реактивов Хранение исследуемого материала	2
21	Бокс биологической безопасности II класса защиты	Разбор и сортировка исследуемого материала. Выделение ДНК/РНК	1
22	Вакуумный отсасыватель медицинский	Выделение ДНК/РНК	1
23	Микроцентрифуга для пробирок 1,5 мл; скорость до 13 400 об./мин	Подготовка проб, выделение ДНК/РНК	1
24	Миницентрифуга-вортекс	Подготовка проб, выделение ДНК/РНК, проведение амплификации	3
25	Термостат твердотельный	Подготовка проб, выделение ДНК/РНК	2
26	ПЦР-бокс настольный	Проведение амплификации	1
27	Охладитель проб	Проведение амплификации	1
28	Амплификатор	Проведение амплификации	1
29	Флуоресцентный анализатор (ПЦР-детектор)	Учет результатов ПЦР по конечной точке	1
30	Амплификатор с системой детекции результатов в режиме реального времени	Проведение амплификации	1
31	Весы лабораторные	Приготовление гелей	1
32	Электроплитка	Приготовление гелей	1

Продолжение

1	2	3	4
33	Камера для горизонтального электрофореза с заливочным устройством для подготовки гелей	Учет результатов ПЦР	1
34	Источник постоянного тока	Учет результатов ПЦР	1
35	Система фотодокументации (УФ-трансиллюминатор, фотокамера с бокс-штативом)	Учет результатов ПЦР	1
36	Комплект автоматических дозаторов переменного объема	Подготовка проб, выделение ДНК/РНК, проведение амплификации, проведение электрофореза	4
37	Облучатели бактерицидные (передвижные и стационарные)	Обеспечение лабораторных исследований	4
Оборудование для ИФА			
38	Морозильная камера – 20 °С	Хранение исследуемого материала	1
39	Холодильник	Хранение диагностических препаратов и реактивов. Хранение исследуемого материала	2
40	Комплект автоматических дозаторов переменного объема	Обеспечение лабораторных исследований	1
41	Планшетный спектрофотометр	Учет результатов реакции	1
42	Термошейкер на 37 °С (или термостат)	Инкубирование планшет	1
43	Промыватель планшет		1
44	Облучатели бактерицидные (передвижные и стационарные)	Обеспечение лабораторных исследований	1
Лаборатории Центров индикации и диагностики возбудителей опасных инфекционных болезней (лаборатории научно-исследовательских противочумных институтов) (дополнительно к комплекту оборудования лабораторий противочумных станций)			
Оборудование общего назначения			
45	Машина для мойки лабораторной посуды	Обеспечение лабораторных исследований	1
Оборудование для бактериологических исследований			
46	Бокс биологической безопасности III класса защиты	Разбор и сортировка исследуемого материала Бактериологические и иммуносерологические исследования	1
47	Микроскоп световой с системой фото- и видеодокументирования	Бактериоскопические исследования	1

Продолжение

1	2	3	4
	Оборудование для ИФА		
48	Бокс биологической безопасности II класса защиты	Разбор и сортировка исследуемого материала. Иммуносерологические исследования	1
49	Система для анализа биологических маркеров	Проведение многофакторного иммунологического анализа	1
50	Флуоресцентный сканер для биочипов	Учет результатов на иммуночипах	1
51	Центрифуга низкоскоростная	Подготовка образцов	1
52	Облучатели бактерицидные (передвижные и стационарные)	Обеспечение лабораторных исследований	1
	Оборудование для ПЦР-анализа		
53	Низкотемпературный морозильник (–70 °С)	Хранение исследуемого материала	1
54	Автоматическая станция для выделения ДНК/РНК (на основе принципа нуклеосорбции на магносорбенте или на основе систем фильтрации на спин-колонках)	Выделение ДНК/РНК	1
55	Компьютерная система для гель-документирования	Учет результатов реакции	1
	Флуоресцентный сканер для биочипов**	Учет результатов на ДНК-чипах	п. 50
	Система для анализа биологических маркеров**	Проведение многофакторного генетического анализа	п. 49
	Лаборатории национального уровня		
	Лаборатории Референс-центра по туляремии, Национального центра верификации диагностической деятельности (дополнительно к комплекту оборудования лабораторий регионального уровня)		
	Оборудование для бактериологических исследований		
56	Низкотемпературный морозильник (–70 °С)	Хранение банка генетического материала Хранение коллекционного материала (чистая культура возбудителя)	1
57	Система для лиофильного высушивания микроорганизмов (с устройством для вакуумного запаивания ампул)	Хранение коллекционного материала	1
58	Микроскоп универсальный (с системой фото- и видеодокументирования)	Бактериоскопические исследования, иммунофлуоресцентный анализ	1

Продолжение

1	2	3	4
59	Сканирующий зондовый микроскоп	Углубленное изучение и характеристика ультраструктуры возбудителя	1
60	Микробиологический анализатор для учета результатов антибиотикочувствительности и биохимической идентификации микроорганизмов	Бактериологические исследования	1
61	Диспенсер автоматический для нанесения дисков с антибиотиками	Бактериологические исследования	1
62	Денситометр с оптическими стандартами для приготовления взвесей микроорганизмов	Обеспечение лабораторных исследований	1
	Оборудование для молекулярно-биологических исследований		
63	Печь гибридизационная	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на геномном уровне	1
64	Универсальный мультиканальный сканер-ридер	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на геномном уровне	1
65	Персональный миниплоттер для печати биочипов	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на молекулярном уровне	1
66	Флуоресцентный сканер для биочипов	Учет результатов на ДНК-чипах	1
67	ДНК-анализатор (секвенатор)	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на геномном уровне	1
68	Комплект оборудования для PFGE-типирования (типирование методом электрофореза в переменном поле): источник тока, электрофоретическая камера, насос, холодильник	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на геномном уровне	1
69	Автоматизированная система для типирования бактериальных штаммов (РибоПринтер)	Молекулярное типирование штаммов возбудителей	1
70	Бокс биологической безопасности II класса защиты	Подготовка проб для секвенирования	1
71	ПЦР-бокс-настольный	Подготовка проб для секвенирования	1
72	Настольная центрифуга с охлаждением, максисмум скорости 13 200 об./мин	Подготовка проб для секвенирования	1

Продолжение

1	2	3	4
73	Миницентрифуга-вортекс	Подготовка проб для секвенирования	1
74	Термостат твердотельный	Подготовка проб для секвенирования	1
75	Амплификатор с «горячей крышкой»	Подготовка проб для секвенирования	1
76	Комплект автоматических дозаторов переменного объема	Обеспечение этапа подготовки проб для секвенирования, этапа секвенирования; подготовки чипов для молекулярного типирования	4
Оборудование для биохимических исследований			
77	Холодильник	Хранение диагностических препаратов и реактивов. Хранение исследуемого материала	2
78	Масс-спектрометр	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на протеомном уровне	1
79	Аналитический ВЭЖХ-хроматограф	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на протеомном уровне	1
80	Комплект оборудования для двумерного электрофореза (источник тока, электрофоретическая камера)	Углубленное изучение и характеристика возбудителя на протеомном уровне	1
81	Электронный микроскоп	Углубленное изучение и характеристика ультраструктуры возбудителя	1
82	Цитометр проточный (с модулем сортировки клеток)	Углубленное изучение и характеристика иммуногенных свойств возбудителя	1
83	Спектрофотометр для измерения концентрации веществ в сверхмалых объемах (мкл)	Обеспечение лабораторных исследований	1
84	Установка для получения высококачественной деионизованной воды	Обеспечение лабораторных исследований	1
85	Весы лабораторные аналитические	Обеспечение лабораторных исследований	1
86	pH-метр	Обеспечение лабораторных исследований	1

* Указано минимальное количество единиц лабораторного оборудования. В зависимости от объемов выполняемых исследований, структурно-функциональной организации лаборатории количество единиц лабораторного оборудования может быть увеличено

** Оборудование используется для учета результатов как на иммуночипах, так и на ДНК-чипах

Приложение 6

Расходные материалы, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии

№ п/п	Наименование материала
1	Пинцеты
2	Ножницы
3	Скальпель
4	Часы песочные на 1, 2 и 5 мин
5	Петля бактериологическая
6	Штативы для пробирок бактериологических
7	Штативы для микропробирок 1,5 мл
8	Штативы для микропробирок 0,5 мл
9	Штативы для микропробирок 0,2 мл
10	Микроцентрифужные полипропиленовые пробирки с крышками, типа «Эппендорф» объемом 1,5 мл
11	Пробирки с винтовой горловиной объемом 1,5 мл, снабженные крышкой с петлей и кольцевой прокладкой 1,5 мл, стерильные
12	Тонкостенные полипропиленовые пробирки (плоская крышка) для ПЦР объемом 0,6 мл
13	Наконечники универсальные для дозаторов объемом 200 и 1 000 мкл
14	Наконечники универсальные для дозаторов с фильтром объемом 10, 100, 200 и 1 000 мкл
15	Перчатки латексные
16	Чашки Петри пластиковые одноразовые
17	Пробирка П1-16-150 ХС
18	Стекла предметные
19	Стекла покровные
20	Пипетки 4-1-1, 4-1-2, 6-1-5, 6-1-10
21	Спиртовки СЛ-1, СЛ-2
22	Ступки фарфоровые с пестиками
23	Колбы стеклянные 200, 250, 500 мл
24	Химические стаканы вместимостью 500, 750, 1 000 мл
25	Цилиндры мерные вместимостью 10, 25, 50, 500, 1 000 мл
26	Полистироловые пластины с лунками вместимостью 2 мл
27	Микротитровальные пластины с вместимостью лунок 0,2 мл
28	Оптический стандарт мутности на 10 ед.
28	Емкость для промывания мазков
29	Мостик для мазков
30	Камера Горяева
31	Бумага фильтровальная лабораторная
32	Вата медицинская гигроскопическая
33	Марля медицинская

Приложение 7

Антибактериальные препараты, используемые при проведении лабораторной диагностики туляремии

№ п/п	Препарат	Производитель
1	Стрептомицин	НИЦФ, 192236, Россия, Санкт-Петербург, ул. Белы Куна, д. 30, лит. А, офис 400. Многоканальный тел./факс +7 (812) 327-5581; 320-7169; 320-71-38 gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
2	Амикацин	
3	Канамицин	
4	Гентамицин	
5	Доксициклин	
6	Налидиксовая кислота	
7	Ципрофлоксацин	
8	Офлоксацин	
9	Пефлоксацин	
10	Ломефлоксацин	
11	Левофлоксацин	
12	Эритромицин	
13	Пенициллин	
14	Ампициллин	
15	Кефзол(или цефалексин)	
16	Полимиксин В	
17	Рифампицин	
18	Амфотерицин В (или амфоглюкамин)	
19	Ристомицин	
20	Набор дисков с антибиотиками	

Приложение 8

Требования к профессиональным навыкам специалистов, осуществляющих лабораторную диагностику туляремии

1. Врачи-бактериологи и биологи должны знать:

• основные положения эпидемиологического надзора за туляремией;

• нормативные документы, используемые при проведении лабораторных исследований на туляремию;

• вопросы организации лабораторных исследований на туляремию;

• требования биологической безопасности при работе с зараженным и подозрительным на заражение микроорганизмами I—II групп патогенности материалом;

• таксономию и классификацию представителей рода *Francisella* семейства *Francisellaceae*;

• морфологические, культуральные, биохимические свойства возбудителя туляремии;

• бактериологический, иммуносерологические, молекулярно-генетические методы изучения возбудителя туляремии;

• методы определения вирулентности возбудителя;

• методы определения чувствительности к антибиотикам, химиопрепаратам и дезинфектантам;

• этапы лабораторного исследования на туляремию, сроки выдачи ответов, правила и сроки передачи выделенных культур;

• требования к доставке материала, его хранению, регистрации, уничтожению, подготовке к передаче и транспортированию;

• этапы подготовительной работы (подготовку питательных сред для выделения и идентификации возбудителя туляремии, диагностических препаратов, реактивов);

• критерии оценки качества питательных сред, используемых для диагностики туляремии, ингибиторов посторонней микрофлоры.

2. Врачи-бактериологи и биологи должны уметь:

• провести полное исследование по схеме лабораторной диагностики туляремии материала от больных и умерших с подозрением на туляремию, проб из объектов окружающей среды;

• идентифицировать выделенные культуры возбудителя туляремии по сокращенной и полной схеме;

• определить вирулентность возбудителя;

• определить чувствительность выделенных культур к антибактериальным препаратам;

• установить таксономическую принадлежность возбудителя туляремии;

• осуществлять контроль качества питательных сред и ингибиторов посторонней микрофлоры;

• вести необходимую документацию.

3. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны знать:

• морфологические, культуральные и основные биохимические свойства возбудителя туляремии;

• этапы лабораторного исследования;

• методы полной и сокращенной идентификации культур возбудителя туляремии;

• правила работы с материалом, зараженным или подозрительным на заражение возбудителем туляремии;

• этапы подготовительной работы (подготовку посуды, красок, питательных сред для выделения и идентификации возбудителя туляремии, диагностических препаратов, реактивов);

• методы определения качества питательных сред и ингибиторов посторонней микрофлоры.

4. Лаборанты, медицинские лабораторные техники и медицинские технологи должны уметь:

• приготовить или подготовить к работе питательные среды для выделения и идентификации возбудителя туляремии (приложение);

• приготовить основные ингредиенты для окраски мазков по Граму и Романовскому-Гимзе;

• приготовить реактивы для постановки идентификационных тестов;

• подготовить разведения сывороток для постановки иммуносерологических тестов;

• осуществить вскрытие животных и подготовку проб;

• произвести первичные посевы и пересевы поступившего материала;

• сделать мазки, зафиксировать их и окрасить;

• провести определение качества питательных сред;

• подготовить отработанный материал для автоклавирования.

А также должны участвовать в идентификации выделенной культуры по полной и сокращенной схемам, постановке биологической пробы.

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

Методические указания
МУК 4.2.2939—11

Редактор Л. С. Кучурова
Технический редактор Е. В. Ломанова

Подписано в печать 24.02.12

Формат 60x88/16 Печ. л. 3,75
Тираж 200 экз. Заказ 10

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

gost.e-ecolog.ru