

УДК 637:579.842.23:579.842.1/2

DOI 10.29326/2304-196X-2019-2-29-60-65

ОЦЕНКА ПРИГОДНОСТИ МЕТОДИКИ ВЫДЕЛЕНИЯ *YERSINIA ENTEROCOLITICA* В СЫРЬЕ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

И. В. Бородкина¹, Н. Б. Шадрова², О. В. Прунтова³, С. И. Данильченко⁴¹ Руководитель сектора, аспирант, филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия, e-mail: borodkina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5324-7678² Заведующий лабораторией, кандидат биологических наук, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: shadrova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7510-1269³ Главный эксперт, доктор биологических наук, профессор, ФГБУ «ВНИИЗЖ», г. Владимир, Россия, e-mail: pruntova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3143-7339⁴ Руководитель лабораторно-диагностического центра, кандидат ветеринарных наук, филиал ФГБУ «ВНИИЗЖ» в Республике Крым, г. Симферополь, Россия, e-mail: danylchenko@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7796-7349

РЕЗЮМЕ

В настоящее время во всех странах мира наблюдается тенденция к росту числа заболеваний людей кишечным иерсиниозом, вызываемым бактерией *Yersinia enterocolitica*. Данный микроорганизм широко распространен в природе, способен длительное время сохраняться в продукции животного происхождения, размножаться при низких температурах. Основными источниками инфекции являются мясо и мясные продукты. Для выявления *Yersinia enterocolitica* из образцов пищевых продуктов и кормов для животных применяют горизонтальный метод обнаружения согласно ГОСТ ISO 10273-2013. Отмечено, что выделение *Yersinia enterocolitica* связано с определенными трудностями, так как часто возбудитель содержится в пробе в незначительных количествах, и только использование специальных методов позволяет исключить сопутствующую микрофлору. В работе предложено при выполнении стандартной методики предварительно проводить холодное обогащение исследуемого материала при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$. Проведена валидация методики согласно ГОСТ ISO 16140-2011. В результате установлено, что валидируемый метод выявления бактерий *Yersinia enterocolitica* в пищевых продуктах, реализуемый в условиях лаборатории микробиологических исследований, является специфичным. Чувствительность метода составляет $10 \text{ КОЕ}/\text{см}^3$. Внутривлабораторная воспроизводимость и повторяемость подтверждены соответствующими испытаниями. Применение дополнительного этапа культивирования при температуре $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ позволяет полностью исключить рост не обладающих психрофильными свойствами микроорганизмов.

Ключевые слова: кишечный иерсиниоз, *Yersinia enterocolitica*, психрофильные микроорганизмы, холодное обогащение.

UDC 637:579.842.23:579.842.1/2

VALIDATION OF METHOD FOR *YERSINIA ENTEROCOLITICA* ISOLATION FROM RAW MATERIALS OF ANIMAL ORIGIN

I. V. Borodkina¹, N. B. Shadrova², O. V. Pruntova³, S. I. Danilchenko⁴¹ Head of Sector, Post-Graduate Student, FGBI "ARRIAH" Branch in Republic of Crimea, Simferopol city, Russia, e-mail: borodkina@arriah.ru; ORCID ID 0000-0002-5324-7678² Head of Laboratory, Candidate of Sciences (Biology), FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: shadrova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7510-1269³ Chief Expert, Doctor of Sciences (Biology), Professor, FGBI "ARRIAH", Vladimir, Russia, e-mail: pruntova@arriah.ru; ORCID ID 0000-0003-3143-7339⁴ Head of Laboratory and Diagnostic Centre, Candidate of Sciences (Veterinary Medicine), FGBI "ARRIAH" Branch in Republic of Crimea, Simferopol city, Russia, e-mail: danylchenko@arriah.ru; ORCID ID 0000-0001-7796-7349

SUMMARY

Upward trend in the number of human yersiniosis cases, caused by bacterium *Yersinia enterocolitica*, is globally observed nowadays. This microorganism is widely spread in the environment, able to persist for prolonged periods in animal products and propagate under low temperatures. Basic infection sources are meat and meat products. In order to isolate *Yersinia enterocolitica* from food and feed samples horizontal method for the detection pursuant to GOST ISO 10273-2013 was used. It was noted, that *Yersinia enterocolitica* isolation is associated with certain difficulties, because the sample contains only small quantities of the agent and only the use of special techniques allows removing the concurrent microflora. It was proposed to use cold enrichment $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ of the test material before conventional technique is started. The technique was validated pursuant to GOST ISO 16140-2011. As a result, it was established that validated method for *Yersinia enterocolitica* bacteria detection in food products, performed at the Microbiology Laboratory, is specific. The method sensitivity is $10 \text{ CFU}/\text{cm}^3$. Intralaboratory reproducibility and repeatability were confirmed by relevant tests. Additional culture step at $(4 \pm 1)^\circ\text{C}$ allows complete inhibition of non-psychrophilic microorganisms' growth.

Key words: yersiniosis, *Yersinia enterocolitica*, psychrophilic microorganisms, cold enrichment.

ВВЕДЕНИЕ

В последнее время проблема заболевания людей кишечным иерсиниозом все чаще оказывается в центре внимания. По данным литературы, в Российской Федерации иерсиниозы занимают второе место после сальмонеллезов. Ежегодно регистрируется 4–5 тыс. случаев данных заболеваний. В Республике Крым и Севастополе иерсиниозы выявляют практически ежегодно [1, 13–15]. Возбудителем является бактерия *Yersinia enterocolitica*.

В первой половине XX века в Европе появились сообщения о выделении от больных людей и животных возбудителей, которых сначала отнесли к роду *Pasteurella*, обозначив их как *Pasteurella X*. В 1946 г. J. Van Loghem предложил выделить вышеуказанные бактерии в новый род – *Yersinia*. В 1954 г. H. Mollaret и E. Thal предложили включить род *Yersinia* в семейство *Enterobacteriaceae*. В дальнейшем в род *Yersinia* был добавлен возбудитель иерсиниоза – *Yersinia enterocolitica* (*Pasteurella X*) [1, 24].

Род *Yersinia* состоит из 11 видов, из них патогенными для человека являются три: *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica* [1, 24].

Y. enterocolitica – грамотрицательная палочка с закругленными концами или коккобактерия, размером от 0,8 до 1,2 мкм в длину и от 0,5 до 0,8 мкм в ширину, окрашивается всеми анилиновыми красителями, подвижная при температуре 18–20 °С, теряет свою подвижность при температуре культивирования 28–37 °С, имеет много перитрихально расположенных жгутиков. Факультативный аэроб, в условиях строгого анабиоза не растет, спор не образует. Отдельные штаммы *Y. enterocolitica* имеют фимбриии [1, 3, 16, 18, 24].

Бактерия растет при температуре от 4 до 40 °С, способна к росту при 5% концентрации NaCl и pH среды от 5,2 до 9,0. Культивируют иерсинии на мясо-пептонном агаре, агаре Хоттингера, Мартена, Эндо. Для селективного выделения используют CIN-агар, SSDC-агар, иерсиния-агар [1, 3, 16, 18, 24].

Y. enterocolitica продуцирует сероводород и аммиак, положительно реагирует в пробе с метиловым красным, восстанавливает нитраты в нитриты, не обладает фибринолитическими, плазмокоагулирующими и протеолитическими свойствами, вызывает гемолиз эритроцитов кролика [1, 3, 16, 24].

Иерсинии широко распространены в природе. *Y. enterocolitica* выделены практически от всех видов млекопитающих, птиц, рыб, земноводных, моллюсков и насекомых. Среди диких животных они встречаются главным образом у грызунов [1, 6, 9]. Бактерию также выделяют из продуктов растительного происхождения (овощи, корнеплоды, зелень, фрукты) [2, 23].

По мнению А. В. Москалева и соавт., четко выраженной природной очаговости иерсиниоза на территории Республики Крым нет. Вместе с тем в большинстве административных районов выявлена циркуляция возбудителя кишечного иерсиниоза среди 10–20% мелких млекопитающих [17].

Из домашних животных бактерию *Y. enterocolitica* чаще выделяют от собак, свиней и крупного рогатого скота [1, 6, 9].

Согласно данным А. К. Бхуниа, основным носителем патогенных штаммов, вызывающих инфекционные заболевания у людей, являются свиньи (бактерии присутствуют как комменсалы). Патогенные *Y. enterocolitica* выделяют у 35–70% свиноголовья [3]. Поэтому мясо

и мясные продукты являются источником инфекции для человека. Это связано со способностью иерсиний длительное время сохраняться в продуктах животного происхождения, размножаться при низких температурах, а также выживать в большом диапазоне условий обитания [7].

Широкое распространение, нетребовательность к среде обитания и трудоемкость в постановке диагноза сделали актуальной проблему кишечного иерсиниоза. Изучение распространения данного заболевания среди животных затруднено, так как в РФ болезнь не подлежит обязательному учету как самостоятельная нозологическая единица [6, 12, 21].

В техническом регламенте Таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» нормировано содержание бактерий рода *Yersinia* в сухих овощах, картофеле и продуктах их переработки, изделиях из сырых овощей, овощах и фруктах нарезанных, бланшированных, в том числе замороженных, но при условии наличия неблагоприятной эпидемиологической ситуации в регионе производства, обусловленной данными продуктами [22]. Однако многие литературные источники свидетельствуют о наличии *Y. enterocolitica* в мясе, молоке и продуктах их производства [3, 4, 8–10, 18, 19].

Выделение *Y. enterocolitica* связано с определенными трудностями. Часто возбудитель содержится в пробе в незначительных количествах, и только использование специальных методов позволяет исключить сопутствующую микрофлору. Это вынуждает исследователей применять различные схемы селективного обогащения [6].

В настоящее время исследования проб пищевых продуктов и кормов для животных проводят согласно ГОСТ ISO 10273-2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения условно-патогенной бактерии *Yersinia enterocolitica*», в соответствии с которым образец обогащают в селективной жидкой среде, затем пересевают на чашки с агаром, отбирают характерные колонии и проводят идентификацию микроорганизмов [4].

Согласно МУК 4.2.3019-12 «Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях», при проведении исследования необходимо использовать холодное обогащение. Для этого исследуемый материал вносят в одну из сред накопления и инкубируют в холодильнике при температуре (6 ± 2) °С в течение 2–15 сут с высевом на плотные питательные среды на 2–3, 5–7 и 10–15 сут. Посевы инкубируют при температуре (26 ± 2) °С в течение 24 ч и проводят их до получения первого положительного результата, но не дольше 15 сут [11].

Исходя из вышеизложенного, при проведении работы стояла задача оценить возможность применения дополнительного этапа холодного обогащения при температуре (6 ± 2) °С для снижения концентрации сопутствующей микрофлоры при проведении испытаний сырья животного происхождения согласно рекомендациям ГОСТ ISO 16140-2011.

В соответствии с современными требованиями, предъявляемыми к проведению испытаний, любое изменение в стандартной методике подлежит валидации. При сравнительном исследовании качественных методов оценивают относительную точность, относительную специфичность и относительную чувствительность метода [5].

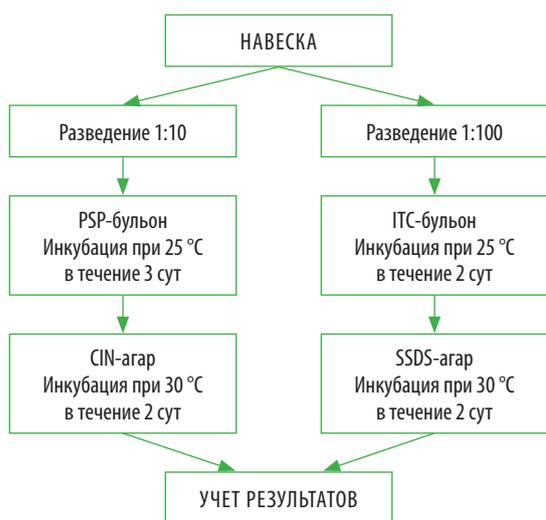


Рис. 1. Схема проведения исследований по ГОСТ ISO 10273-2013

Цель работы состояла в валидации методики по обнаружению бактерии *Y. enterocolitica* горизонтальным методом согласно ГОСТ ISO 10273-2013 для оценки ее пригодности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на базе лаборатории микробиологических исследований испытательного центра подведомственного Россельхознадзору ФГБУ «Федеральный центр охраны здоровья животных».

В качестве материала для искусственного заражения были выбраны образцы сырья и продукции животного происхождения, предварительно исследованные на наличие бактерий рода *Salmonella* и *Y. enterocolitica* по стандартным методикам с отрицательным результатом.

В работе использовали штамм *Y. enterocolitica* № 9610 ATCC и штамм *S. typhimurium* № 14028 ATCC.

При определении наличия бактерий *Y. enterocolitica* по ГОСТ ISO 10273-2013 использовали ИТС-бульон и PSB-

Рис. 2. Схема проведения исследования. Красным цветом выделена предложенная модификация метода, синим – постановка по ГОСТ ISO 10273-2013.

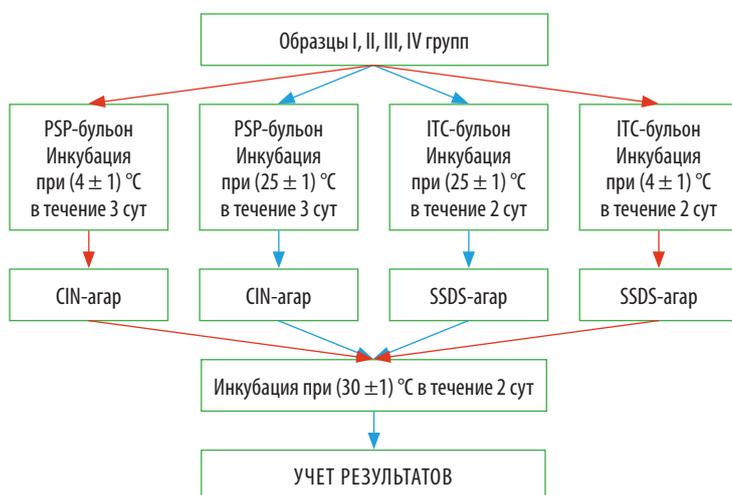


Таблица 1
Характер роста *Y. enterocolitica* № 9610 ATCC и *S. typhimurium* № 14028 ATCC на агаризованных средах

Штамм	CIN-агар	SSDS-агар
<i>Yersinia enterocolitica</i> № 9610 ATCC	Мелкие ровные колонии с красным центром	Мелкие прозрачные с кремовым оттенком колонии
<i>Salmonella typhimurium</i> № 14028 ATCC	Мелкие кремовые колонии с ровными краями и более темным центром	Мелкие бесцветные колонии с черным центром

бульон (HiMedia, Индия), пересев на плотные питательные среды проводили на селективный агар для иерсиний (CIN-агар, Merk, Германия), а также SSDS-агар для иерсиний (HiMedia, Индия) (рис. 1) [20].

Характер роста контрольных штаммов на используемых в опыте питательных средах представлен в таблице 1.

При проведении исследования в дополнение к стандартному методу было применено холодное обогащение по МУК 4.2.3019-12 «Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и федеральном уровнях» [22].

Валидацию проводили, руководствуясь ГОСТ ISO 16140-2011 «Микробиология продуктов питания и кормов для животных. Протокол валидации альтернативных методов».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Как было упомянуто выше, часто пищевые продукты контаминированы возбудителем в небольшом количестве и выделить его, исключив сопутствующую микрофлору, представляет определенную трудность.

Для того чтобы оценить, как влияет температура инкубации на этапе обогащения на рост сопутствующей микрофлоры и конечный результат исследования, проводили дополнительный посев навески продукта в жидкие питательные среды: ИТС-бульон и PSB-бульон с последующей инкубацией при температуре 4 °C. В дальнейшем исследование проводили согласно стандартной методике.

При проведении исследования пробу известной массы помещали в среды обогащения для получения разведений: 1:10 – на PSB-бульоне и 1:100 – на ИТС-бульоне. Отбирали по 10 см³ суспензии для каждого испытуемого образца и делили их на 4 группы:

I группа – инокулировали 0,5 см³ суспензии *Y. enterocolitica* с концентрацией 0,5 ед. по МакФарланду;

II группа – заражали в дозе 0,5 см³ суспензией *S. typhimurium* с концентрацией 0,5 ед. по МакФарланду;

III группа – вносили по 0,5 см³ суспензий *Y. enterocolitica* и *S. typhimurium* с концентрациями 0,5 ед. по МакФарланду;

IV группа – контрольная.

Дальнейшее исследование проводили по схеме, представленной на рисунке 2.

Образцы каждой из исследуемых групп инкубировали при температурах (4 ± 1) °C и (25 ± 1) °C в течение 48 ч для ИТС-бульона и 72 ч для PSB-бульона. Далее проводи-

Таблица 2
Влияние температуры инкубации на рост *Y. enterocolitica* и *S. typhimurium*
n=3

Исследуемый материал	Среда обогащения	Температура инкубации, °C	Селективный агар	Результат
Суспензия продукта + <i>Y. enterocolitica</i> , I группа	ITC	4 ± 1	SSDC	Характерные колонии, (21 ± 6) КОЕ
	PSB	4 ± 1	CIN	Характерные колонии, (29 ± 4) КОЕ
	ITC	25 ± 1	SSDS	Характерные колонии, (189 ± 10) КОЕ
	PSB	25 ± 1	CIN	Характерные колонии, (156 ± 8) КОЕ
Суспензия продукта + <i>S. typhimurium</i> , II группа	ITC	4 ± 1	SSDS	Мелкие единичные колонии
	PSB	4 ± 1	CIN	Рост отсутствует
	ITC	25 ± 1	SSDS	Бесцветные колонии с черным центром, (148 ± 8) КОЕ
	PSB	25 ± 1	CIN	Мелкие кремовые колонии с ровными краями и более темным центром, (168 ± 10) КОЕ
Суспензия продукта + <i>Y. enterocolitica</i> + <i>S. typhimurium</i> , III группа	ITC	4 ± 1	SSDS	<i>Y. enterocolitica</i> – характерные колонии, (23 ± 3) КОЕ; <i>S. typhimurium</i> – рост отсутствует
	PSB	4 ± 1	CIN	<i>Y. enterocolitica</i> – характерные колонии, (28 ± 4) КОЕ; <i>S. typhimurium</i> – рост отсутствует
	ITC	25 ± 1	SSDS	<i>Y. enterocolitica</i> – (144 ± 7) КОЕ; <i>S. typhimurium</i> – (291 ± 8) КОЕ
	PSB	25 ± 1	CIN	<i>Y. enterocolitica</i> – (89 ± 4) КОЕ; <i>S. typhimurium</i> – (198 ± 12) КОЕ
Суспензия продукта без добавления исследуемых микроорганизмов, IV группа	ITC	4 ± 1	SSDS	Рост отсутствует
	PSB	4 ± 1	CIN	Рост отсутствует
	ITC	25 ± 1	SSDS	Рост отсутствует
	PSB	25 ± 1	CIN	Рост отсутствует

ли пересев на плотные питательные среды (CIN- и SSDS-агар) и инкубировали при температуре (30 ± 1) °C. Учет результатов проводили через 48 ч.

Результаты исследований представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, в группе I на всех чашках отмечается характерный для иерсиний рост. При температуре инкубации (4 ± 1) °C количество характерных колоний было в среднем в 7 раз меньше (21 ± 6 и 29 ± 4 КОЕ), чем при (25 ± 1) °C (189 ± 10 и 156 ± 8 КОЕ).

В группе II при температуре инкубации (4 ± 1) °C на чашках с SSDS-агаром отмечали рост мелких единичных колоний, а на чашках с CIN-агаром рост сальмонелл отсутствовал. При температуре инкубации (25 ± 1) °C

наблюдали хороший рост бактерий рода *Salmonella* на обоих агарах (148 ± 8 и 168 ± 10 КОЕ).

В группе III при температуре инкубации (4 ± 1) °C на чашках с SSDS- и CIN-агаром наблюдали рост характерных колоний *Y. enterocolitica* (23 ± 3 и 28 ± 4 КОЕ), в то время как рост бактерий рода сальмонелла отсутствовал. При температуре инкубации (25 ± 1) °C на чашках с SSDS- и CIN-агаром наблюдали характерный рост обоих штаммов, однако во всех случаях рост *S. typhimurium* (291 ± 8 и 198 ± 12 КОЕ) в 2 раза превысил рост *Y. enterocolitica* (144 ± 7 и 89 ± 4 КОЕ).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что, используя дополнительный этап инкубации при

Таблица 3
Результаты оценки специфичности валидируемой методики

Номер образца	Характеристика образца	Полученный результат
1	Фарш из свинины + <i>Y. enterocolitica</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
2	Свинина охлажденная + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> отсутствуют в 25 г продукта
3	Свинина охлажденная + <i>Y. enterocolitica</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
4	Фарш из свинины + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> отсутствуют в 25 г продукта
5	Фарш из свинины + <i>Y. enterocolitica</i> + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
6	Фарш из свинины + <i>Y. enterocolitica</i> + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
7	Колбаса ливерная + <i>Y. enterocolitica</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
8	Колбаса ливерная + <i>S. typhimurium</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> отсутствуют в 25 г продукта
9	Колбаса ливерная + <i>S. typhimurium</i> + <i>Y. enterocolitica</i>	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены в 25 г продукта
10	Колбаса ливерная	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> отсутствуют в 25 г продукта

Таблица 4
Результаты определения чувствительности валидируемой методики

Исходная концентрация суспензии <i>Y. enterocolitica</i> , КОЕ/см ³	Результат
1×10 ⁶	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ⁵	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ⁴	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ³	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ²	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1×10 ¹	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> обнаружены
1	Бактерии <i>Y. enterocolitica</i> не обнаружены

температуре (4 ± 1) °С при выполнении стандартной методики, можно полностью исключить рост не обладающих психрофильными свойствами микроорганизмов.

Оценка специфичности методики. Специфичность микробиологического метода характеризуется способностью определять целевой штамм в матрице образца в присутствии нецелевых штаммов микроорганизмов. Результаты испытаний представлены в таблице 3.

Из таблицы 3 следует, что присутствие нецелевого штамма и компоненты матрицы не влияют на результаты определения бактерий *Y. enterocolitica*. Таким образом, валидируемая методика является специфичной.

Определение чувствительности метода. Под чувствительностью микробиологического метода понимают минимальную концентрацию микроорганизмов, которую возможно выявить при использовании данного метода.

Для определения чувствительности валидируемой методики применяли метод 10-кратных разведений суспензии целевого штамма *Y. enterocolitica*, приго-

товленной на физиологическом растворе. Начальная концентрация суспензии составила 0,5 ед. по МакФарланду, что соответствует 1,0×10⁸ КОЕ/см³. Результаты испытаний представлены в таблице 4.

Таким образом, чувствительность метода составила 10 КОЕ/см³.

Определение повторяемости и внутрилабораторной сходимости. Валидационная характеристика повторяемости определяется при оценке результатов испытаний идентичных образцов в условиях повторяемости, а показатель внутрилабораторной сходимости оценивается при анализе результатов, полученных при исследовании одних и тех же образцов разными сотрудниками лаборатории (табл. 5).

Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что повторяемость и внутрилабораторная воспроизводимость составляют 100%.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате валидации предложенной методики установлено, что горизонтальный метод выявления бактерий *Y. enterocolitica* в пищевых продуктах животного происхождения согласно ГОСТ ISO 10273-2013, реализуемый в условиях лаборатории микробиологических исследований, является специфичным. Чувствительность метода составляет 10 КОЕ/см³. Внутрилабораторная воспроизводимость и повторяемость подтверждены соответствующими испытаниями. Применение дополнительного этапа инкубирования образцов при температуре (4 ± 1) °С позволяет полностью исключить рост микроорганизмов, не обладающих психрофильными свойствами.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бакулов И. А., Смирнов А. М., Васильев Д. А. Токсикоинфекции и токсикозы: учебное пособие. – Ульяновск: УГСХА, 2002. – 70 с.
- Бренева Н. В., Марамович А. С., Климов В. Т. Экологические закономерности существования патогенных иерсиний в почвенных экосистемах // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 2005. – № 6. – С. 82–88.
- Бхуниа А. К. Патогенные микроорганизмы пищевых продуктов: пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2014. – 342 с.
- ГОСТ ISO 10273-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Горизонтальный метод обнаружения условно-патогенной бактерии *Yersinia enterocolitica*. – М.: Стандартинформ, 2014. – 43 с.
- ГОСТ ISO 16140-2011. Микробиология продуктов питания и кормов для животных. Протокол валидации альтернативных методов. – М.: Стандартинформ, 2013. – 60 с.
- Диагностика иерсиниозов животных: учебное пособие / А. А. Шевченко, О. Ю. Черных, Л. В. Шевченко [и др.]. – Краснодар: КубГАУ, 2013. – 27 с.
- Киселева И. С. Мясо как фактор передачи инфекции при иерсиниозе: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2005. – 27 с.
- Кузнецов В. Г., Багрянцев В. Н. Пастеризованное молоко как фактор передачи возбудителей иерсиниозов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1992. – № 4. – С. 22–26.
- Макарова В. Н. Иерсиниоз свиней в условиях крупного сельскохозяйственного региона: эпизоотология, меры борьбы, лабораторное обеспечение эпизоотологического надзора: автореф. дис. ... канд. вет. наук. – Нижний Новгород, 2006. – 20 с.
- Микробиологический мониторинг иерсиний как основа санитарно-эпидемиологического надзора за иерсиниозами в организованных коллективах / А. Л. Панин, Л. А. Краева, В. Б. Сбойчиков [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2013. – Т. 3, № 3. – С. 217–228; DOI: 10.15789/2220-7619-2013-3-217-228.
- МУК 4.2.3019-12. Организация и проведение лабораторных исследований на иерсиниозы на территориальном, региональном и фе-

Таблица 5
Определение повторяемости и внутрилабораторной сходимости результатов при проведении валидируемой методики

Номер образца	Результаты, полученные первым сотрудником, первый/второй повтор			Результаты, полученные вторым сотрудником, первый/второй повтор		
	0	1	2	0	1	2
1	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
2	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
3	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
4	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
5	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
6	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
7	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
8	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
9	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-
10	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	-/-

0 – матрица;

1 – матрица, зараженная целевым штаммом *Y. enterocolitica*;

2 – матрица, зараженная нецелевым штаммом *S. typhimurium*;

«+» – бактерии *Y. enterocolitica* обнаружены;

«-» – бактерии *Y. enterocolitica* не обнаружены.

деральном уровнях: методические указания. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2012. – 59 с.

12. Налепова М. Ю., Конев А. В., Трапезников С. В. Сравнительная оценка лабораторных методов индикации *Y. enterocolitica* от свиней // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2006. – № 3. – С. 35–38.

13. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2014 году: государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2015. – 206 с.

14. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2015 году: государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2016. – 200 с.

15. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2016 году: государственный доклад. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017. – 200 с.

16. Смирнов И. В. Возбудитель иерсиниоза и близкие к нему микроорганизмы // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6, № 1. – С. 10–21.

17. Современная характеристика активности природных очагов зоонозных инфекций Крыма / А. В. Москалев, П. В. Астапенко, В. Я. Апчел, О. Г. Цинцадзе // Вестник российской военно-медицинской академии. – 2016. – № 3 (55). – С. 117–121.

18. СП 3.1.094-96, ВП 13.3.1318-96. Профилактика и борьба с различными болезнями, общими для человека и животных. Иерсиниозы: утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода РФ 18.06.96 № 23, Госкомсанэпиднадзором РФ 31.05.96 № 11. – М., 1996. – 9 с.

19. СП 3.1.7.2615-10. Профилактика иерсиниоза: санитарно-эпидемиологические правила. – М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2010. – 19 с.

20. Спирихина Т. В. Сравнительное изучение штаммов *Yersinia enterocolitica* различного происхождения: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Саратов, 2006. – 23 с.

21. Ткаченко Л. И., Ртищева Л. В., Киселева Т. Ф. Диагностика иерсиниоза в амбулаторных условиях // Инфекции, обусловленные иерсиниозом: материалы II Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием. – СПб.: НИИЭМ им. Пастера, 2006. – С. 132–134.

22. ТР ТС 021/2011. О безопасности пищевой продукции: утв. решением комиссии Таможенного союза 09.12.2011 № 880. – 218 с.

23. Шустрова Н. М., Мисуренко Е. Н., Литвин В. Ю. О возможности передачи *Yersinia pseudotuberculosis* по цепочке почва–растение–животное // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. – 1992. – № 4. – С. 10–12.

24. Энтеробактерии (руководство для врачей) / И. В. Голубева, В. А. Килессо, Б. С. Киселева [и др.]; под ред. В. И. Покровского. – М.: Медицина, 1985. – 320 с.

REFERENCES

1. Bakulov I. A., Smirnov A. M., Vasiliev D. A. Toxic infections and toxicoses: study guide [Toksikoinfekcii i toksikozy: uchebnoe posobie]. Ulianovsk: USAA, 2002 (in Russian).

2. Breneva N. V., Maramovich A. S., Klimov V. T. Ecological patterns of pathogenic *Yersinia* prevalence in soil ecosystems [Ekologicheskie zakonomernosti sushchestvovaniya patogennykh iersinij v pochvennykh ekosistemah]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* [Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii]. 2005; 6: 82–88 (in Russian).

3. Bhunia A. K. Foodborne Microbial Pathogens: translated from English. SPb.: Professia, 2014 (in Russian).

4. GOST ISO 10273-2013. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Horizontal method for the detection of presumptive pathogenic *Yersinia enterocolitica* [Mikrobiologiya pishchevykh produktov i kormov dlya zhivotnykh. Gorizontallyy metod obnaruzheniya uslovno-patogennoj bakterii *Yersinia enterocolitica*]. M.: Standartinform, 2014 (in Russian).

5. GOST ISO 16140-2011. Microbiology of food and animal feeding stuffs. Protocol for the validation of alternative methods [Mikrobiologiya produktov pitaniya i kormov dlya zhivotnykh. Protokol validatsii al'ternativnykh metodov]. M.: Standartinform, 2013 (in Russian).

6. Diagnostics of animal yersiniosis: study guide [Diagnostika iersiniozov zhivotnykh: uchebnoe posobie]. A. A. Shevchenko, O. Yu. Chernykh, L. V. Shevchenko [et al.]. Krasnodar: KubSAU, 2013 (in Russian).

7. Kiseleva I. S. Meat as a factor of yersiniosis infection transmission [Myaso kak faktor peredachi infekcii pri iersinioze]: author's abstract Thesis of Candidate of Sciences (Biology). Saratov, 2005 (in Russian).

8. Kuznetsov V. G., Bagryantsev V. N. Pasteurized milk as a factor of yersiniosis agent transmission [Pasterizovannoe moloko kak faktor peredachi vozбудitelej iersiniozov]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* [Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii]. 1992; 4: 22–26 (in Russian).

9. Makarova V. N. Pig yersiniosis in large agricultural regions: epizootology, control measures, laboratory testing within epizootological surveillance [Iersinioz svinej v usloviyah krupnogo sel'skhozjajstvennogo regiona: epizootologiya, mery bor'by, laboratornoe obespechenie epizootologicheskogo nadzora]: author's abstract Thesis of Candidate of Sciences (Veterinary Medicine). Nizhny Novgorod, 2006 (in Russian).

10. Microbiological monitoring of *Yersinia* as a basis for sanitary and epidemiological surveillance of yersiniosis in organized groups of people [Mikrobiologicheskij monitoring iersinij kak osnova sanitarno-epidemiologicheskogo nadzora za iersiniozami v organizovannykh kolektivah]. A. L. Panin, L. A. Krayeva, V. B. Sboychakov [et al.]. *Russian Journal of Infection and Immunity* [Infektsiya i immunitet]. 2013; 3 (3): 217–228; DOI: 10.15789/2220-7619-2013-3-217-228 (in Russian).

11. MG 4.2.3019-12. Organization and performance of laboratory tests for yersiniosis on territorial, regional and federal levels: methodical guidelines [Organizatsiya i provedenie laboratornykh issledovanij na iersiniozy na territorial'nom, regional'nom i federal'nom urovnyah: metodicheskie ukazaniya]. M.: Rosпотребнадзор Federal Centre for Hygiene and Epidemiology, 2012 (in Russian).

12. Nalepova M. Yu., Konev A. V., Trapeznikov S. V. Comparative assessment of *Y. enterocolitica* laboratory identification methods in pigs [Sravnitel'naya ocenka laboratornykh metodov indikatsii *Y. enterocolitica* ot svinej]. *Veterinariya sel'skhozjajstvennykh zhivotnykh*. 2006; 3: 35–38 (in Russian).

13. Public Health and Hygiene in the Russian Federation in 2014: state report [O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossijskoj Federatsii v 2014 godu: gosudarstvennyj doklad]. M.: Federal Service for Consumer Rights and Human Welfare Protection, 2015 (in Russian).

14. Public Health and Hygiene in the Russian Federation in 2015: state report [O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossijskoj Federatsii v 2015 godu: gosudarstvennyj doklad]. M.: Federal Service for Consumer Rights and Human Welfare Protection, 2016 (in Russian).

15. Public Health and Hygiene in the Russian Federation in 2016: state report [O sostoyanii sanitarno-epidemiologicheskogo blagopoluchiya naseleniya v Rossijskoj Federatsii v 2016 godu: gosudarstvennyj doklad]. M.: Federal Service for Consumer Rights and Human Welfare Protection, 2017 (in Russian).

16. Smirnov I. V. *Yersinia* agent and related microorganisms [Vozбудitel' iersinioza i blizkie k nemu mikroorganizmy]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2004; 6 (1): 10–21 (in Russian).

17. Current characteristics of zoonotic infection natural niduses activity in Crimea [Sovremennaya harakteristika aktivnosti prirodnykh ochagov zoonoznykh infektsij Kryma]. A. V. Moskaev, P. V. Astapenko, V. Ya. Apchel, O. G. Tsintsadze. *Vestnik rossijskoj voenno-meditsinskoj akademii*. 2016; 3 (55): 117–121 (in Russian).

18. SP 3.1.094-96, VP 13.3.1318-96. Prevention and control of infectious diseases, common for humans and animals. Yersiniosis [Profilaktika i bor'ba s zaraznymi boleznyami, obshchimi dlya cheloveka i zhivotnykh. Iersiniozy]: approved by Veterinary Department of the RF Ministry of Agriculture and Food 18.06.96 No. 23. State Committee on Sanitary and Epidemiology Surveillance 31.05.96 No. 11. M., 1996 (in Russian).

19. SP 3.1.7.2615-10. Yersiniosis prevention: sanitary and epidemiological rules [Profilaktika iersinioza: sanitarno-epidemiologicheskie pravila]. M.: Rosпотребнадзор Federal Centre for Hygiene and Epidemiology, 2010 (in Russian).

20. Spirikhina T. V. Comparative study of *Yersinia enterocolitica* strains of different origin [Sravnitel'noe izuchenie shtammov *Yersinia enterocolitica* razlichnogo proiskhozhdeniya]: author's abstract Thesis of candidate of sciences (Biology). Saratov, 2006 (in Russian).

21. Tkachenko L. I., Rtsicheva L. V., Kiseleva T. F. Yersiniosis diagnostics in clinics [Diagnostika iersinioza v ambulatornykh usloviyah]. *Yersinia related infections: proceedings of II All Russian scientific and practical conference with participation of foreign specialists*. SPb: Saint-Petersburg Pasteur Institute, 2006; 132–134 (in Russian).

22. TR CU 021/2011. Food safety: approved by Customs Union Commission on 09.12.2011 No. 880.

23. Shustrova N. M., Misurenko Ye. N., Litvin V. Yu. Potential of *Yersinia pseudotuberculosis* transmission along soil–plant–animal chain [O vozmozhnosti peredachi *Yersinia pseudotuberculosis* po cepochke pochva–rastenie–zhivotnoe]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology* [Zhurnal mikrobiologii, èpidemiologii i immunobiologii]. 1992; 4: 10–12 (in Russian).

24. Enterobacteria (Doctor's guide) [Enterobakterii (rukovodstvo dlya vrachej)]. I. V. Golubeva, V. A. Kileso, B. S. Kiseleva [et al.]; ed. by V. I. Pokrovsky. M.: Meditsina, 1985 (in Russian).

Поступила 12.02.19
Принята в печать 26.05.19