

© Семёнов С.Ю., Стерликов А.В., Тананыкин Н.И., Колбутова К.Б., Моисеева Е.С., Добрицкая Н.Н., Куриленко Ю.В., Воронков А.В., 2018

УДК 614.3

ОРГАНИЗАЦИЯ МЕЖЛАБОРАТОРНЫХ СЛИЧИТЕЛЬНЫХ ИСПЫТАНИЙ В ЛАБОРАТОРИЯХ, ПРОВОДЯЩИХ ПРЯМЫЕ ИЗМЕРЕНИЯ НА ОБЪЕКТАХ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

С.Ю. Семёнов¹, А.В. Стерликов¹, Н.И. Тананыкин¹, К.Б. Колбутова²,
Е.С. Моисеева², Н.Н. Добрицкая², Ю.В. Куриленко³, А.В. Воронков³

¹ФГУП «Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены»
ФМБА России, ул. Щукинская, 40, г. Москва, 123103, Россия

²ФГБУЗ «Головной центр гигиены и эпидемиологии» ФМБА России,
1-й Пехотный пер., 6, г. Москва, 123182, Россия

³ООО «ПКФ Цифровые приборы», ул. Енисейская, 24-150, г. Москва, 129281, Россия

Представлены результаты проведения экспериментального раунда межлабораторных сличительных испытаний с использованием методов прямых измерений физических и химических факторов.

Ключевые слова: межлабораторные сличительные испытания, прямые измерения, физические факторы.

S.Yu. Semyonov, A.V. Sterlikov, N.I. Tananykin, K.B. Kolbutova, E.S. Moiseeva, N.N. Dobritskaya, Yu.V. Kurilenko, A.V. Voronkov □ **ORGANIZATION OF INTER-LABORATORY PROFICIENCY TESTING IN LABORATORIES PERFORMING DIRECT MEASUREMENTS ON THE ENVIRONMENTAL OBJECTS** □ Scientific and Technical Center of Radiation-Chemical Safety and Hygiene of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, 40, Shchukinskaya str., Moscow, 123103, Russia; Head Center of Hygiene and Epidemiology of the Federal Medical-Biological Agency of Russia, 6, 1st Pekhotny lane, Moscow, 123182, Russia; PKF Tsifrovye pribory, 24-150, Eniseyskaya str., Moscow, 129281, Russia.

The results of the pilot round of inter-laboratory proficiency tests, using the methods of direct measurements of physical and chemical factors, are presented.

Key words: inter-laboratory proficiency testing, direct measurements, physical factors.

Контроль качества исследований – одна из основ системы менеджмента качества в испытательных лабораториях (центрах), далее ИЛ (ИЛЦ), осуществляющих санитарно-эпидемиологические исследования, испытания. Одной из важных его составляющих является участие в межлабораторных сличительных (сравнительных) испытаниях (МСИ) [1, 2, 6, 7, 9–11].

Участие в МСИ позволяет лабораториям повысить качество и надежность исследований/испытаний.

Традиционно процедуры внутри лабораторного контроля и МСИ разрабатывались для исследований, проводимых в лабораторных условиях, и главным образом для количественного химического анализа. Эти процедуры основаны на использовании эталонных образцов (образцов контроля) [8].

Для обеспечения МСИ, касающихся испытаний продукции (отобранных проб с объектов окружающей среды) в лабораторных условиях, в Российской Федерации разработан и внедрен целый ряд стандартов и рекомендаций. Однако в настоящее время значительное количество исследований проводится ИЛ (ИЛЦ) непосредственно на объектах окружающей среды путем прямых измерений исследуемых показателей: на рабочих местах, на территории, в том числе для контроля соблюдения режима санитарно-защитных зон, социально-гигиенического мониторинга, в жилых и общественных зданиях. Эти исследования проводятся с целью государственного санитарно-эпидемиологического надзора, оценки условий труда и производственного контроля. При этом отмечается тенденция к

увеличению таких исследований, в первую очередь за счет проведения прямых измерений показателей физических и химических факторов. Этому способствует внедрение современных средств измерений (СИ).

Наиболее распространенная система проведения МСИ предполагает получение образцов контроля у провайдера МСИ, которому затем направляются результаты испытаний, и который определяет правильность выполнения исследований.

Однако для проведения МСИ по показателям, определяемым прямыми измерениями, существующая практика предоставления провайдером МСИ образцов для испытаний неэффективна вследствие:

- отсутствия образцов контроля, которые обеспечивали бы необходимые точностные параметры, стабильность показателей и информативность результатов, которые можно было бы предоставлять участникам МСИ для самостоятельных измерений;

- значительного влияния на результаты измерений факторов окружающей среды и других условий измерений, которые следует учитывать.

Поэтому со стороны провайдеров МСИ предложения по прямым измерениям физических факторов практически отсутствуют.

На результаты прямых измерений на объектах окружающей среды решающее влияние оказывает соблюдение процедуры измерений с учетом всех условий, влияющих на их результат, а также умение пользоваться СИ. Важным показателем квалификации специалистов, проводящих измерения на объектах, является уме-

ние правильно обрабатывать полученные в результате измерений данные, а также умение правильно оформить отчетные документы – технические записи и протокол измерений. Именно по ним зачастую судят о качестве исследований в ИЛ (ИЛЦ).

Таким образом, потребность в таких МСИ имеется и будет возрастать, в то время как подходы к их проведению не разработаны. В настоящей работе впервые проведены исследования с целью обоснования подходов к проведению МСИ для методов исследования, использующих прямые измерения, и с учетом анализа состояния этой проблемы в Российской Федерации [3–5].

Цель исследования – экспериментальное обоснование подходов к организации и проведению МСИ для исследований, использующих прямые измерения.

Материалы и методы. Схема проведения МСИ при использовании методов прямых измерений может выглядеть следующим образом. Организатор (координатор) МСИ приглашает для участия в раунде МСИ испытательные лаборатории. МСИ могут проводиться на объекте с хорошо изученными характеристиками параметров, которые предполагается измерять, либо на базе координатора, где имитируются соответствующие условия окружающей среды по измеряемым показателям с использованием специальных устройств (стендов). Ввиду невозможности обеспечения МСИ контрольными образцами в общепринятом понимании, сравнение результатов измерений участников МСИ проводится с результатами измерений, проводимых референтной лабораторией, привлекаемой к участию в МСИ (последовательная программа МСИ в соответствии с ГОСТ ISO/IEC 17043–2013: п. А.2, подпункт а). В качестве референтной лаборатории должна привлекаться лаборатория с высококвалифицированными специалистами, которые смогут провести планируемые измерения с гарантией получения правильных результатов. В процессе измерений должны оцениваться не только их результаты, но и правильность выполнения процедуры измерений, включая подготовку к ним, правильность оформления отчетных документов: технических записей, протоколов измерений. Оценку результатов МСИ по всем трем группам показателей должна проводить экспертная группа, создаваемая координатором МСИ (рис. 1).



Рис. 1. Структура организации МСИ по исследованиям на объектах окружающей среды

Для проведения МСИ должна быть подготовлена и заранее направлена участникам программа, описывающая порядок их проведения, требования к участникам и их подготовке к МСИ. В процессе МСИ экспертная группа специалистов, сформированная координатором в соответствии с программой МСИ, наблюдает за выполнением измерений участниками, производит сравнение результатов проведенных ими измерений с результатами, полученными референтной лабораторией, и оценивает качество оформления отчетных документов. Все результаты оценки вносятся в заранее подготовленный чек-лист (анкету), а затем на этой основе оформляется протокол результатов МСИ и далее свидетельство об участии в МСИ.

Такая схема проведения МСИ во многом соответствует порядку, описанному в ГОСТ ISO/IEC 17043–2013 [8]. Оценку сходимости результатов измерений лабораторий – участников МСИ с результатами референтной лаборатории возможно проводить, используя показатель En (п. В.3.1.3 ГОСТ ISO IEC 17043–2013). Если $|En| \leq 1$, то результаты измерений приемлемы. Если $|En| \geq 1$, то результаты измерений не приемлемы (п. В.4.1.1 ГОСТ ISO IEC 17043–2013).

В связи с отсутствием в России опыта организации и нормирования таких МСИ ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России совместно с ФГБУЗ «Головной центр гигиены и эпидемиологии» ФМБА России и ООО «ПКФ Цифровые приборы» организовало проведение экспериментального раунда МСИ с измерением физических факторов и измерением прямыми методами содержания в воздухе окиси углерода. К участию в МСИ были привлечены ФГБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» ФМБА России Московского региона.

Результаты исследования. Предварительно были разработаны специальные программы по проведению МСИ по измерению 4 физических факторов на рабочих местах: шума, локальной вибрации, магнитных полей промышленной частоты, освещенности и коэффициента пульсаций освещения и содержания окиси углерода в воздухе рабочей зоны.

Программы были утверждены Главным врачом ФГБУЗ «Головной центр гигиены и эпидемиологии» ФМБА России и направлены участникам МСИ. ФГБУЗ ГЦГиЭ ФМБА России был определен координатором этого раунда МСИ.

Референтной лабораторией по измерению параметров физических факторов определена ИЛ ООО «ПКФ Цифровые приборы», а по измерению содержания окиси углерода – ИЛ ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России. МСИ проводились на базе ООО «ПКФ Цифровые приборы» на территории технопарка «Калибр» и на базе ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России.

Участниками МСИ являлись пять ФГБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии» ФМБА России Московского региона. Для экспериментального раунда МСИ такое количество участников можно считать достаточным.

Экспертная группа, осуществлявшая оценку проведения измерений участниками МСИ, состояла из 3 человек – представителей ФГБУЗ ГЦГиЭ ФМБА

России, ООО «ПКФ Цифровые приборы», и ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России.

В назначенный день участники МСИ прибыли на место проведения МСИ, где были проинструктированы о порядке их проведения. При этом значительное внимание было уделено обеспечению последовательного доступа участников к объектам измерений и предотвращению контактов между ними. Для проведения МСИ были выделены отдельные помещения для проведения измерений и для обработки их результатов и подготовки отчетных материалов.

Для измерений были использованы стенды-имитаторы источников физических факторов на рабочих местах, разработанные и изготовленные ООО «ПКФ Цифровые приборы», и стенд для измерений содержания окиси углерода, разработанный ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России.

Для измерения шума – установка, содержащая генератор розового шума с усилителем мощности сигнала и всенаправленным громкоговорителем. В комплект установки входил контрольный шумомер 1-го класса.

Для измерения локальной вибрации – установка на основе ручного механизированного инструмента – плоскошлифовальной машины (тип AEG 419280). Место установки датчика виброускорения определено в соответствии с ГОСТ Р ИСО 28927–3–2012. Объектом работы инструмента являлась массивная металлическая плита.

Для измерения магнитных полей промышленной частоты (50 Гц) – установка с кольцами Гельмгольца, имитирующая условия облучения человека магнитными полями промышленной частоты (50 Гц) на рабочем месте, обладающая необходимыми метрологическими характеристиками и обеспечивающая проведение измерений в фиксированной точке.

Для измерения освещенности и коэффициента пульсаций – имитация рабочего места в виде рабочего места (стола) с комбинированным освещением.

Для измерений содержания СО в воздухе стандартная смесь СО в N₂ с концентрацией 497,8 ppm с $\pm 10\%$ точностью, предварительно приготовленная в баллоне – канистре (RESTEK Silico Can 5l), под давлением 2,76 бар из канистры подавалась в тедларовый мешок для отбора газов емкостью 3 л при атмосферном давлении, к которому подключался газоанализатор. В процессе измерения стандартная смесь все время добавлялась в мешок.

Процедура измерений участником МСИ проводилась в соответствии с нормативными документами на методы измерений (НД), приведенными в программе МСИ, и руководством по эксплуатации средств измерений.

Перед началом измерений каждого участника МСИ на каком-либо стенде референтной лабораторией совместно со специалистами экспертной группы проводился контроль состояния стенда. Далее проводились измерения участником МСИ. В процессе проведения измерений участником МСИ специалисты экспертной группы наблюдали за соблюдением процедуры измерений с целью последующей ее оценки, при этом заполнялся чек-лист для данного вида измерений. Кроме этого оценивалась готовность участника МСИ к проведению измерений: наличие необходимого оснащения, заго-

товленных шаблонов технических записей. По этим вопросам результаты наблюдений также вносили в чек-лист.

Дополнительная информация по условиям и порядку измерений в случае необходимости предоставлялась участнику МСИ специалистами экспертной группы.

Шаблон технических записей заполнялся участником МСИ на месте проведения измерений от руки. По окончании измерений участник МСИ покидал помещение, где проводились измерения. Параметры измеряемых показателей контролировались референтной лабораторией.

Оформление протокола измерений осуществлялось сразу после завершения измерений в отдельном помещении путем заполнения от руки заранее подготовленного шаблона протокола. Для обеспечения обработки результатов измерений имелись рабочие места, оборудованные ПЭВМ.

По окончании заполнения протокола сам протокол и технические записи передавались в экспертную группу для анализа. Участник МСИ покидал зону МСИ. Контакт с другими участниками МСИ не допускался.

Записи участников МСИ обрабатывались экспертной группой. При этом в чек-лист вносились данные по оценке результатов измерений и данные по оценке качества сделанных записей.

Анализ результатов измерений и подготовка заключения по результатам МСИ проводилась комиссией, определенной координатором МСИ, включавшей представителей координатора МСИ, экспертной группы и референтной лаборатории.

Оценка процедуры проведения измерений, включая готовность к их проведению, проводилась экспертным методом на основании наблюдений специалистов экспертной группы за проведением измерений. Оценка правильности измерений с точки зрения соблюдения процедуры проводилась на основании НД, указанных в программе МСИ.

Оценка результатов измерений проводилась путем сравнения результатов, полученных референтной лабораторией, с результатами, полученными участником МСИ на основании показателя *En* (п. В.3.1.3 ГОСТ ISO IEC 17043–2013).

В качестве примера приведены результаты обработки данных измерений содержания СО (табл. 1).

Оценка качества оформления записей (технических записей и протокола измерений) проводилась экспертным методом путем анализа их специалистами экспертной группы. Оценка правильности измерений с точки зрения соблюдения процедуры проводилась на основании НД, указанных в программе МСИ.

Результат экспертной оценки считался неприемлемым, если обнаруживались недостатки, исключающие признание результата измерений. При наличии менее значимых недостатков результат экспертной оценки считался приемлемым, однако такие недостатки также отражались в протоколе оценки результатов МСИ.

Результаты анализа участия в МСИ оформлялись протоколом комиссии, определенной координатором МСИ, в отношении каждого участника. Протокол оформлялся на основании данных чек-листа и включал результаты оценки и их обоснование, а также выводы.

Таблица 1. Результаты обработки данных по измерению содержания СО (имитация воздуха рабочей зоны) в мг/м³

Участник №	x	U_{lab}	X	U_{ref}	En	Оценка
1	14,60	2,90	12,00	0,69	0,87	Удовлетворительно: $En < 1$
2	11,25	4,21	12	0,69	-0,18	Удовлетворительно: $En < 1$
3	11,5	2,3	12	0,69	-0,21	Удовлетворительно: $En < 1$

x – результат участника

U_{lab} – диапазон неопределенности измерений участника

X – результат референтной лаборатории

U_{ref} – диапазон неопределенности измерений референтной лаборатории

En – критерий оценки: $(x - X) / \sqrt{(U_{lab}^2 + U_{ref}^2)}$

По результатам МСИ участникам направлены свидетельства об участии в МСИ и выписка из протокола комиссии, содержащая оценку результатов МСИ по направлениям:

- соблюдение процедуры измерений (включая готовность к их проведению);
- результаты измерений;
- качество записей.

При оценке соблюдения процедуры измерений, включая готовность к их проведению, был выявлен ряд недостатков.

Часть участников невнимательно ознакомилась с программой МСИ и не в полной мере подготовилась к проведению измерений. В ряде случаев у участников отсутствовали шаблоны технических записей и протоколов измерений; вспомогательные средства измерений (температуры воздуха, расстояний, высот, штативы). Перед измерениями не проводился сбор дополнительных сведений, необходимых для проведения измерений и оформления протокола измерений, в частности, при измерении параметров освещения, вибрации, шума не регистрировались параметры источника измеряемого фактора, другие параметры, указанные в НД. Перед измерениями некоторые участники не выполняли вспомогательные измерения (температуры окружающей среды, расстояний, высот).

При проведении измерений не всегда соблюдалась процедура измерений. При измерении шума не всегда участники МСИ фиксировали микрофон шумомера на заданной высоте от поверхности пола помещения; закрепляли микрофон на штативе; соблюдали расстояние от микрофона до оператора и выполняли последовательные измерения уровня звука. При измерении локальной вибрации не всегда соблюдалась необходимая ориентация датчика виброускорения, и не всегда выполнялось необходимое число измерений, предписанных методикой измерений. При измерении магнитных полей промышленной частоты датчик СИ не всегда фиксировали на нужной высоте для проведения измерений. При измерении освещенности на рабочем месте не всегда проводили измерение в нескольких точках рабочей поверхности и не всегда учитывали возможное затенение датчика при измерении.

При обработке результатов измерений в большинстве случаев не производили расчета неопределенности измерений, и для того чтобы выполнить сравнение результатов с результатами, полученными референтной лабораторией, экспертной группе приходилось выполнять эту работу. Это признано возможным лишь с учетом экспериментального статуса раунда МСИ, а вообще, такая ситуация недопустима.

В результате оценки результатов измерений выявлено определенное их число, не уклады-

вающееся в требования соответствия правильности измерений, когда показатель $|En| \leq 1$, то есть результаты таких измерений признавались неудовлетворительными.

При оценке результатов оформления записей (технических записей, протоколов измерений) был выявлен ряд типичных недостатков.

Технические записи в большинстве случаев по содержанию не соответствовали требованиям НД на методы исследований, а у ряда участников отсутствовали совсем. Те данные, которые не фиксировались на стадии измерений, не были внесены в протокол, прежде всего это данные вспомогательных измерений и дополнительные сведения об объекте измерений. В большинстве случаев в записях отсутствовали результаты оценки неопределенности измерений. В связи с изложенным качеством оформления технических записей и протоколов измерений, оформленных по результатам МСИ, в большинстве случаев было неудовлетворительным.

Как показали результаты проведенных МСИ с измерением физических факторов, их участники недостаточно внимательно ознакомилась с программой их проведения. Как следствие этого, они недостаточно четко подготовились к проведению измерений. В оснащении участников не хватало оборудования, шаблонов для оформления технических записей и протоколов измерений, которые согласно программе МСИ должны быть у каждого из них. К причинам недостаточной подготовленности можно также отнести слабое знание НД на методы исследований. Следствием недостаточного знания этих НД являлось нарушение процедуры измерений при проведении МСИ.

Ввиду недостаточного знания основ метрологии, критериев аккредитации испытательных лабораторий и директивных документов Роспотребнадзора (писем по измерению физических факторов) имели место такие нарушения процедуры измерений, как отсутствие измерений температуры воздуха, отсутствие последовательных измерений и оценки неопределенности измерений.

По-видимому, в значительной мере следствием нарушения процедуры измерений можно объяснить их неправильные результаты. В целом неправильные результаты имели место в 50 % измерений. По сравнению с другими видами МСИ, например, при проведении количественного химического анализа, этот процент можно считать значительным.

Технические записи и протоколы измерений были оформлены неудовлетворительно в большинстве случаев. Это тоже можно объяснить в первую очередь недостаточным знанием НД на методы исследования. Как и следовало ожидать, качество оформления технических записей и протоколов измерений отражает уровень квалификации персонала, и он в целом

оказался недостаточно высоким для измерения физических факторов.

При измерении содержания окиси углерода в воздухе все вышеперечисленные показатели были в основном удовлетворительными.

Как показывают полученные результаты, в соответствии с поставленной целью были впервые в Российской Федерации разработаны и апробированы подходы к проведению МСИ для исследований физических и химических факторов, использующих методы прямых измерений. Продemonстрирована информативность оценки квалификации лабораторий с помощью разработанного метода проведения МСИ. Результаты МСИ использованы участниками для повышения качества исследований в ИЛ (ИЛЦ). При этом соблюдены принципы проведения МСИ:

- добровольность,
- открытость,
- компетентность,
- независимость,
- отсутствие дискриминации и принятия субъективных решений,
- конфиденциальность.

Предложенная методология МСИ позволяет комплексно оценить квалификацию участников на всех этапах проведения измерений: от подготовки к измерениям до оформления записей измерений.

Проведение МСИ по описанной схеме является достаточно трудоемким, так как требует участия референтной лаборатории и экспертной группы. Вместе с тем качество оценки квалификации ИЛ (ИЛЦ) выше. У участников МСИ отсутствует возможность обмениваться информацией по результатам измерений, как это может иметь место при рассылке образцов для контроля при ограниченном числе их вариантов.

МСИ можно проводить как в условиях моделирования объектов окружающей среды (предпочтительно), так и на натуральных объектах при условии обеспечения достаточной стабильности параметров измеряемого показателя.

Наличие провайдера, аккредитованного на организацию и проведение МСИ, согласно разъяснениям Росаккредитации не обязательно. Это также соответствует положениям политики Р9 ILAC [11].

В 2017 г. практика проведения МСИ по описанной схеме получила развитие. МСИ регулярно проводятся для исследований ряда физических и химических факторов ООО «ПКФ Цифровые приборы», ООО «Профстандарт», ФГУП НТЦ РХБГ ФМБА России. В том числе имеется успешная практика проведения МСИ с выездом в другие регионы. Получены положительные отзывы участников МСИ об организации испытаний.

Немалым подспорьем внедрения МСИ по описанной схеме может быть разработка методических рекомендаций по их проведению.

Выводы. В соответствии с поставленной целью впервые в Российской Федерации на основе экспериментальных данных разработаны подходы к проведению МСИ для исследований физических и химических факторов, использующих методы прямых измерений.

Продemonстрирована информативность результатов оценки квалификации лабораторий с помощью разработанной методики МСИ.

Уровень квалификации участников при положительной оценке в целом выявил у них некоторые недостатки.

Целесообразно дальнейшее внедрение разработанных подходов в практику МСИ.

ЛИТЕРАТУРА (п. 11 см. References)

1. Зыкова Г.В., Семёнов С.Ю., Склепова Е.А. и др. Проверка квалификации испытательных лабораторий, выполняющих анализ полихлорированных дибензо-п-диоксинов и дибензофуранов в пищевой продукции и объектах окружающей среды, посредством межлабораторных сравнительных испытаний // IX Всероссийская конференция по анализу объектов окружающей среды «Экоаналитика-2014», 22–28 июня 2014 г.: тезисы докладов. Калининград: БГАРФ, 2014. С. 93.
2. Зыкова Г.В., Семёнов С.Ю., Фандеева Е.А. и др. Реализация опытной программы проверки квалификации химико-аналитических лабораторий по анализу полихлорированных дибензо-п-диоксинов дибензофуранов в пищевой продукции и объектах окружающей среды посредством межлабораторных сравнительных испытаний // Химическая и биологическая безопасность: Специальный выпуск, посвященный федеральной целевой программе «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2014 годы)». М.: Кириллица, 2012 г. С. 99–101.
3. Карташова А.В. МСИ. Работа над ошибками // Контроль качества продукции. № 10. 2015. С. 28–32.
4. Мигин С.В. Провайдеры проверки квалификации – курс на импортозамещение услуг // Контроль качества продукции. № 10. 2015. С. 23–25.
5. Никитина О.В. Профессиональное сообщество об МСИ // Контроль качества продукции. № 10. 2015. С. 26–27.
6. Об утверждении Критериев аккредитации, перечня документов, подтверждающих соответствие заявителя, аккредитованного лица критериям аккредитации, и перечня документов в области стандартизации, соблюдение требований которых заявителями, аккредитованными лицами обеспечивает их соответствие критериям аккредитации: Приказ Минэкономразвития России от 30 мая 2014 г. № 326/ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://base.garant.ru/70712358/> (дата обращения: 05.12.2016).
7. Общие требования к компетентности испытательных и калибровочных лабораторий: ГОСТ ИСО/МЭК 17025–2009. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://gostrf.com/normdata/1/4293801/4293801404.pdf> (дата обращения: 05.12.2016).
8. Оценка соответствия. Основные требования к проведению проверки квалификации: ГОСТ ISO/IEC 17043–2013. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200108187> (дата обращения: 05.12.2016).
9. Политика Росаккредитации в отношении проверки квалификации путем проведения МСИ (утв. руководителем Федеральной службы по аккредитации 28.10.2016 № 03.1–9.0099). [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://oookompetentnost.ru/upload/iblock/aad/aad35ccf9be34b3ceeb77ef526449f3f.pdf> (дата обращения: 05.12.2016).
10. Стерликов А.В. Анализ процесса аккредитации испытательных лабораторий и органов инспекции учреждений Федерального медико-биологического агентства // Актуальные проблемы медико-санитарного обеспечения деятельности объектов морской техники, предприятий с вредными и (или) опасными производственными факторами, а также экологического благополучия территорий, обслуживаемых Федеральным медико-биологическим агентством: Материалы IV Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 50-летию ФГУП «Научно-исследовательский институт промышленной и морской медицины» ФМБА России (28–29 июня 2017 г., Санкт-Петербург, Россия). СПб, 2017. С. 302–303.

REFERENCES

1. Zykova G.V., Semjonov S.Ju., Skljueva E.A. et al. Proverka kvalifikatsii ispytatel'nykh laboratorij, vypolnjajushchikh analiz polihlorirovannykh dibenzo-p-dioksinov i dibenzofuranov v pishhevoj produkcii i objektah okruzhajushhej sredy, posredstvom mezhlaboratornykh sravnitel'nykh ispytaniy [Examination of the proficiency of testing laboratories performing analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in food products and environmental objects through inter-laboratory comparative tests]. IX Vserossijskaja konferentsija po analizu objektov okruzhajushhej sredy «Ekoanalitika-2014»: 22–28 iunija 2014 g.: tezisy dokladov. Kaliningrad: BGARF, 2014, p. 93. (In Russ.)
2. Zykova G.V., Semjonov S.Ju., Fandeeva E.A. et al. Realizatsija opytnoj programmy proverki kvalifikatsii khimiko-analiticheskikh laboratorij po analizu polihlorirovannykh dibenzo-p-dioksinov i dibenzofuranov v pishhevoj produkcii i objektah okruzhajushhej sredy posredstvom mezhlaboratornykh sravnitel'nykh ispytaniy [Implementation of the pilot programme of proficiency testing of chemical analytical laboratories for the analysis of polychlorinated dibenzo-p-dioxane dibenzofurans in food products and environmental objects by means of inter-laboratory comparative testing]. Khimicheskaja i biologicheskaja bezopasnost': Special'nyj vypusk, posvjashhennyj Federal'noj tselevoj programme «Natsional'naja sistema khimicheskoy i biologicheskoy bezopasnosti Rossijskoj Federatsii (2009–2014 gody)». Moscow: Kirillica Publ., 2012, pp. 99–101. (In Russ.)
3. Kartashova A.V. MSI. Rabota nad oshibkami [ICT. Correction of mistakes]. Kontrol' kachestva produkcii, no. 10, 2015, pp. 28–32. (In Russ.)
4. Migin S.V. Provajdery proverki kvalifikatsii – kurs na importozameshenie uslug [Providers of qualification testing – course on import substitution of services]. Kontrol' kachestva produkcii, no. 10, 2015, pp. 23–25. (In Russ.)
5. Nikitina O. V. Professional'noe soobshhestvo ob MSI [Professional community about the ICT]. Kontrol' kachestva produkcii, no. 10, 2015, pp. 26–27. (In Russ.)
6. Ob utverzhdenii Kriteriev akkreditatsii, perechnja dokumentov, podtverzhajushchikh sootvetstvie zjavitelja, akkreditovannogo litsa kriterijam akkreditatsii, i perechnja dokumentov v oblasti standartizatsii, sbljudenie trebovanij kotorykh zjaviteljami, akkreditovannymi litsami obespechivaet ih sootvetstvie kriterijam akkreditatsii: Prikaz Minekonomrazvitiya Rossii ot 30 maja 2014 g. № 326 [Approval of accreditation Criteria, the list of the documents confirming compliance of the applicant, the accredited person to accreditation criteria, and the list of documents in the field of standardization which observance by applicants, accredited persons provides their compliance to accreditation criteria: Order of the Ministry of Economic Development of the Russian Federation, 30.05.2014, no. 326]. Available at: <http://base.garant.ru/70712358/> (accessed 05.12.2016). (In Russ.)

7. Obshhie trebovaniya k kompetentnosti ispytel'nykh i kalibrovочnykh laboratorij: GOST ISO/MEK 17025–2009 [General requirements for the competence of testing and calibration laboratories: GOST ISO/IEC 17025–2009]. Available at: <http://gostrf.com/normadata/1/4293801/4293801404.pdf> (accessed 05.12.2016). (In Russ.)
8. Otsenka sootvetstviya. Osnovnye trebovaniya k provedeniyu proverki kvalifikatsii: GOST ISO/IEC 17043–2013 [Conformity assessment. Basic requirements for the qualification test: GOST ISO/IEC 17043–2013]. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200108187> (accessed 05.12.2016). (In Russ.)
9. Politika Rosakkreditatsii v otnoshenii proverki kvalifikatsii putem provedeniya MSI : Utv. rukovoditelem Federal'noj sluzhby po akkreditatsii 28.10.2016. № 03.1-9.0099 [Policy of the Federal service for accreditation in respect of the qualification test by holding the ICT (approved by the Head of the Federal Service for Accreditation 28.10.2016, no. 03.1-9.0099)]. Available at: <http://oookompetentnost.ru/upload/iblock/aad/aad35ccf9be34b3ceeb77ef526449f3f.pdf> (accessed 05.12.2016). (In Russ.)
10. Sterlikov A.V. Analiz protsesssa akkreditatsii ispytel'nykh laboratorij i organov inspektzii uchrezhdenij federal'nogo mediko-biologicheskogo agentstva [Analysis of the process of accreditation of testing laboratories and inspection agencies of the Federal medical-biological Agency]. Aktual'nye problemy mediko-sanitarnogo obespecheniya dejatel'nosti objektov morskoy tekhniki, predpriyatij s vrednymi i (ili) opasnymi proizvodstvennymi faktorami, a takzhe ekologicheskogo blagopoluchija territorij, obsluzhivaemykh Federal'nym mediko-biologicheskim agentstvom: Materialy IV Vserossiyskoj nauchno-prakticheskoy konferentsii posvyashhennoj 50-letiyu Federal'nogo gosudarstvennogo unitarnogo predpriyatija nauchno-issledovatel'skogo instituta promyshlennoj i morskoy mediciny Federal'nogo mediko-biologicheskogo agentstva (28–29 iyunja 2017 g Sankt-Peterburg, Rossiya). Saint Petersburg, 2017, pp. 302–303. (In Russ.)
11. ILAC Policy for Participation in Proficiency Testing Activities ILAC P9:06/2014. Available at: <http://gac.gov.ge/files/ILAC.pdf> (accessed 05.12.2016).

Контактная информация:

Стерликов Александр Васильевич, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией ФГУП «Научно-технический центр радиационно-химической безопасности и гигиены» ФМБА России
тел.: +7 (903) 231-91-88, e-mail: asterlikov@mail.ru

Contact information:

Sterlikov Alexander, Candidate of Medical Sciences, Head of laboratory of the Scientific and Technical Center of Radiation-Chemical Safety and Hygiene of the Federal Medical-Biological Agency of Russia
phone: +7 (903) 231-91-88, e-mail: asterlikov@mail.ru

© Рыковская О.А., Полеева М.В., Чемисова О.С., Трухачев А.Л., 2018

УДК 579.843:57.083.18:576.3

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ИДЕНТИФИКАЦИИ *V. PARAHAEMOLYTICUS* С ПОМОЩЬЮ ПЦР В РЕЖИМЕ РЕАЛЬНОГО ВРЕМЕНИ

О.А. Рыковская, М.В. Полеева, О.С. Чемисова, А.Л. Трухачев

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора,
ул. Максима Горького, 117/40, г. Ростов-на-Дону, 344002, Россия

Бактерии V. parahaemolyticus – галофильные микроорганизмы, которые могут быть причиной возникновения острого кишечного заболевания у людей, протекающего по типу пищевой токсикоинфекции. Успех лечебно-профилактических и санитарно-эпидемиологических мероприятий, направленных на предотвращение распространения «галофилов» во многом зависит от своевременной точной идентификации штаммов вибрионов, выделяемых от больных, из морепродуктов и при мониторинге объектов окружающей среды. В данной работе представлен способ идентификации штаммов вида *V. parahaemolyticus* методом ПЦР в режиме реального времени (Real-Time PCR), который включает выделение хромосомной ДНК из исследуемого материала, постановку ПЦР со сконструированными нами праймерами, специфичными к участку гена коллагеназы *vppC*, и зондом, позволяющим детектировать амплифицированный фрагмент и проводить учет полученных результатов в режиме реального времени.

Ключевые слова: парегемолитические вибрионы; металлопротеаза (коллагеназа); ПЦР в режиме реального времени.

O.A. Rykovskaya, M.V. Poleeva, O.S. Chemisova, A.L. Trukhachev **□ DEVELOPMENT OF A METHOD FOR IDENTIFYING OF *V. PARAHAEMOLYTICUS* BY REAL-TIME PCR**
□ Rostov-on-Don Research Institute for Plaque Control of Rospotrebnadzor, 117/40, Maxim Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russia.

Bacteria of the species V. parahaemolyticus are halophilic microorganisms that may be causing acute enteric disease in humans, occurring according to the type of foodborne illness. The success of the treatment-and-prophylactic and sanitary-epidemiological measures aimed at the prevention of the proliferation of «halophiles» largely depends on timely and accurate identification of strains of *Vibrio* secreted from patients, seafood, as well as in monitoring of environmental objects. This paper presents a method of identifying strains of the species *V. parahaemolyticus* by PCR in «real time» (Real-Time PCR), which enables the selection of chromosomal DNA from the test material, the PCR with the designed by us primers specific to the portion of a gene collagenase *vppC* and the probe, allowing to detect amplification the fragment and to incorporate the results in real-time.

Key words: *Vibrio parahaemolyticus*; metalloprotease (collagenase); Real-time PCR.

В последние годы все большее внимание уделяется случаям пищевых инфекций среди людей, вызываемых галофильными вибрионами. Наиболее частым этиологическим агентом диарейных заболеваний, связанных с галофильными микроорганизмами, являются штаммы *V. parahaemolyticus*. Средой обитания представителей вида *V. parahaemolyticus* является морская вода, а основным фактором передачи человеку служат инфицированные ими гидробионты. Опасность заражения *V. parahaemolyticus* существует везде, где население использует в питании продукты моря и контактирует с морской водой. Поэтому для практического здравоохранения важно быстро и достоверно определить возбудителя в исследуемом материале.

В настоящее время существует большое количество микробиологических методов детекции, основанных на культивировании, выделении чистых культур и биохимической идентификации этих вибрионов [1]. Сложность идентификации и дифференциации парегемолитических от других близкородственных видов вибрионов традиционными методами обусловлена их большим фенотипическим сходством, вариабельностью признаков и, как следствие, небольшой относительной диагностической ценностью отдельных таксономических тестов. Для быстрой идентификации *V. parahaemolyticus* успешно применяется метод MALDI-ToF масс-спектрометрии; однако, не все лаборатории оснащены необходимым оборудованием [5].