



**К вопросу о внутрилабораторном
контроле качества питательных сред для
клинических микробиологических
исследований**

Панюков Ю.В.

Центральная фабрика готовых сред

Клинические рекомендации

«Внутрилабораторный контроль качества питательных сред для клинических микробиологических исследований»

- Утверждены Профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 25 декабря 2013 года;
- Размещены в Федеральной электронной медицинской библиотеке решением президиума Федерации лабораторной медицины от 7 ноября 2014 года;
- Устанавливают единые требования к выполнению внутрилабораторного контроля качества питательных сред с целью определения их пригодности для проведения бактериологических исследований в лабораториях.

Внутрилабораторному контролю качества подлежат:

- питательные среды, приготовленные в лаборатории путём регидратации и стерилизации стандартизированных основ;
- среды, сконструированные в лаборатории из многочисленных ингредиентов;
- питательные среды, имеющие особое значение для микробиологической диагностики;
- питательные среды для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам;
- сертифицированные питательные среды, в процессе применения которых отмечаются отклонения от заявленных свойств.

Технология выполнения исследования включает следующие последовательные этапы:

1. первичный анализ информации о питательной среде и ее внешних характеристиках;
2. отбор образцов питательных сред для контроля;
3. визуальная инспекция питательной среды;
4. проверка питательной среды на стерильность;
5. процедуры обращения с контрольными штаммами микроорганизмов;
6. подготовка инокулюма и посев контрольных штаммов на питательную среду;
7. интерпретация результатов и заключение о качестве питательной среды.

1. Первичный анализ информации о питательной среде и ее внешних характеристиках

При поступлении в лабораторию коммерческих питательных сред регистрируют:

- наименование и количество полученной среды;
- производителя и поставщика среды;
- серию, срок годности и состояние упаковки.

2. Отбор образцов питательных сред для контроля

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Порядок отбора проб, подлежащих контролю питательных сред

Величина партии (ед.)	Кол-во отбираемых проб		Число проб, не выдержавших испытания			
			Результат контроля первично отобранных проб		Результат контроля повторно отобранных проб	
	первично	повторно	УР	НР	УР	НР
Однократный отбор проб						
5-15	2		0	1		
16-25	3		0	1		
26-90	5		0	1		
91-150	5		0	1		
Двукратный отбор проб						
151-280	8	8	0	2	1	2
281-500	13	13	0	2	1	2
501-1200	20	20	0	3	3	4
1201-3200	32	32	1	4	4	5
3201-10000	50	50	2	5	6	7

Обозначения. УР – удовлетворительный результат; НР – неудовлетворительный результат

3. Визуальная инспекция питательной среды

- визуальная инспекция сухих сред предусматривает проверку целостности и герметичности упаковки, гомогенности продукта по консистенции, соответствия цвета среды информации, содержащейся в паспорте, инструкции производителя.
- приготовленная в соответствии с инструкцией и разлитая по чашкам Петри питательная среда должна быть достаточно плотной, прозрачной или равномерно матовой, не иметь посторонних включений, комков и других визуальных недостатков.

4. Проверка питательной среды на стерильность

Самостоятельно приготовленные неселективные питательные среды проверяют на отсутствие контаминации микроорганизмами путем инкубирования в следующих условиях:

- в аэробной атмосфере при 35 °С в течение 72 часов (все среды);
- в анаэробной атмосфере при 35 °С в течение 72 часов (среды, предназначенные для работы с облигатно-анаэробными бактериями).

5. Процедуры обращения с контрольными штаммами микроорганизмов

Эталонные (референтные) штаммы можно получить из следующих национальных и международных коллекций:

- Национальный центр государственной коллекции возбудителей бактериальной инфекции III - IV групп патогенности (ГНИИСК им. Л.А. Тарасевича);
- Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов ВКПМ;
- Всероссийская коллекция непатогенных микроорганизмов ИБФМБ;
- Американская коллекция типовых культур (АТСС),
- Штаммы других национальных и международных коллекций.

5. Процедуры обращения с контрольными штаммами микроорганизмов

- Контрольные штаммы хранят в лиофилизированном состоянии, в замороженном виде, в среде с криопротектором или на среде хранения;
- Из референтного образца готовят субкультуры референтного образца, которые затем хранят в коллекции лаборатории и используют для приготовления рабочих культур контрольных штаммов;
- Для получения рабочих культур делают высев из субкультуры референтного образца;
- Выросшую на питательном агаре культуру контрольного штамма визуально проверяют на чистоту роста и отсутствие диссоциации.

6. Технология оценки качества питательных сред с помощью контрольных штаммов

Оценку качества испытываемой среды по микробиологическим критериям проводят с помощью одного из методов:

- качественного;
- полуколичественного;
- количественного.

Выбор метода контроля определяется видами питательных сред и целями контроля. Перечень необходимых контрольных штаммов указывается в сертификате на коммерческую среду, а также указан в Клинических рекомендациях.

6. Технология оценки качества питательных сред с помощью контрольных штаммов

При использовании контрольных штаммов по их росту можно оценить следующие критерии качества:

- типичность морфологических, культуральных характеристик микроорганизма;
- скорость роста;
- чувствительность (продуктивность) среды;
- селективность (для селективных сред);
- специфичность;
- величина зон задержки роста вокруг дисков с антибиотиками.

6. Технология оценки качества питательных сред с помощью контрольных штаммов

- При использовании качественного метода контроля питательных сред оценивается скорость роста, величина колоний, морфология колоний и наличие других признаков, свойственных для контрольного штамма;
- При оценке качества неселективных питательных сред полуколичественным или количественным методом чувствительность (продуктивность) питательной среды должна составлять не менее 70%;
- На селективных средах чувствительность среды для целевого микроорганизма должна быть не менее 50-70% (в зависимости от вида среды), а рост нецелевых микроорганизмов должен частично или полностью подавляться.

7. Результаты испытаний считают удовлетворительными, если:

- неселективные среды обеспечивают рост использованных контрольных штаммов, а те формируют в течение регламентированного срока колонии характерной морфологии и достаточного размера;
- селективная среда частично или полностью ингибирует рост одних и поддерживает рост других контрольных штаммов в соответствии с ожидаемыми результатами, а растущие на ней микроорганизмы формируют колонии определенной величины с типичной морфологией в течение регламентированного срока;
- дифференциально-диагностические среды обеспечивают дифференциацию использованных контрольных штаммов микроорганизмов.

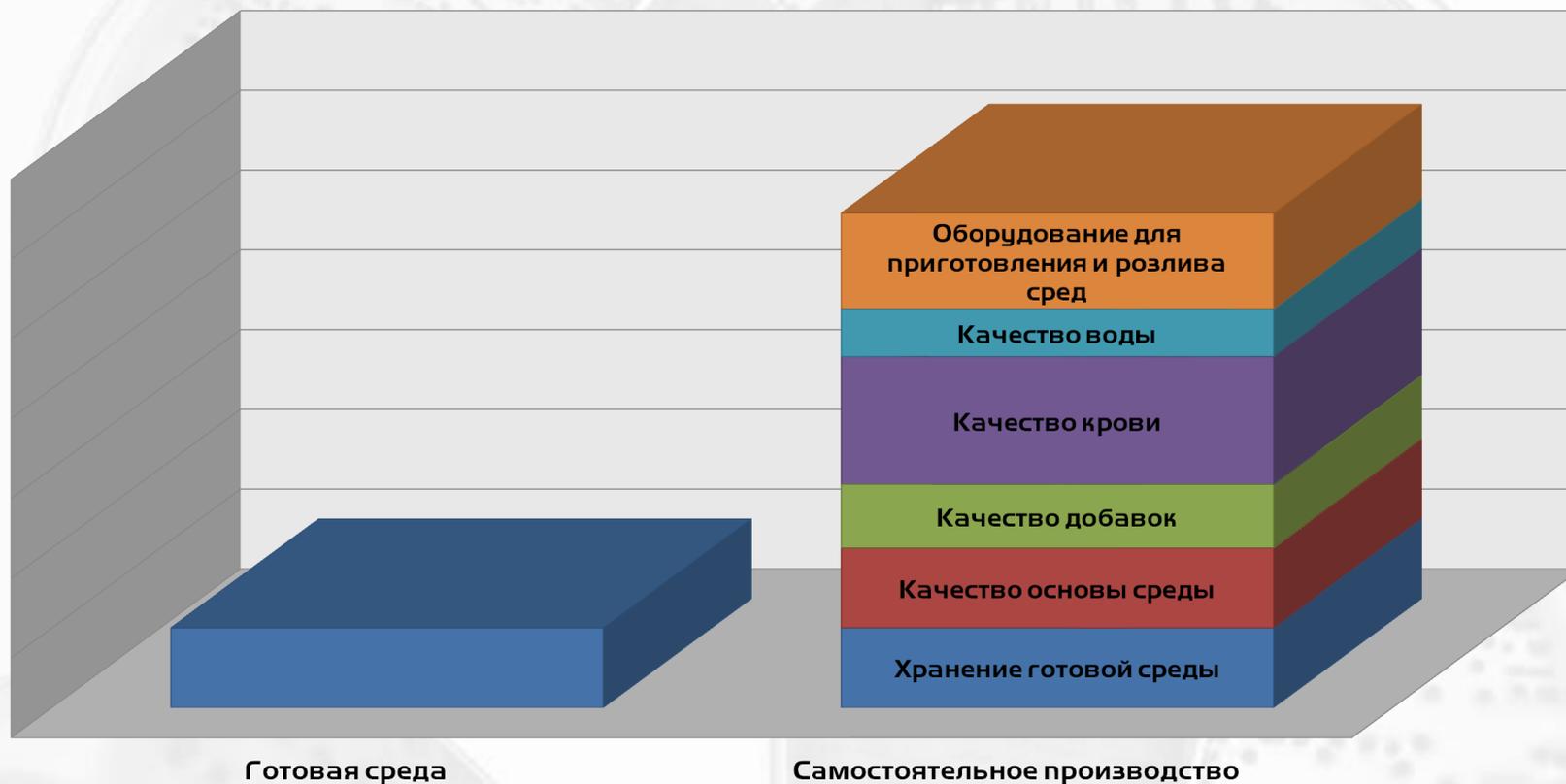
Если результаты исследований с контрольными штаммами некорректны, питательная среда считается непригодной для проведения клинических исследований на практике.

- Для **сред, готовых к употреблению**, при отсутствии особых обстоятельств **контроль качества ограничивается проверкой наличия сертификата качества**, соответствия упаковки, а также внешних физико-химических признаков, заявленным в сертификате;
- **Проверку на стерильность** коммерческих **готовых сред** в лабораториях **ограничивают визуальной инспекцией** отобранных из каждой партии чашек Петри, пробирок или флаконов на предмет отсутствия признаков роста микроорганизмов.

Трудности и проблемы самостоятельного приготовления питательных сред в лаборатории:

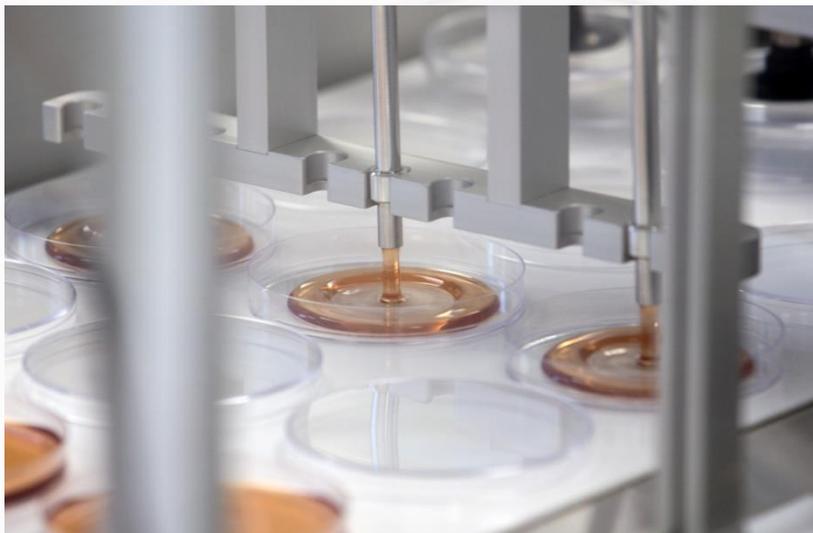
- нехватка крови животных должного качества;
- контроль качества требует значительного количества средств и времени для покупки и поддержания контрольных штаммов;
- отсутствие или недостаток сотрудников с должной квалификацией для приготовления сред;
- низкая экономическая эффективность связана с большими затратами времени, средств, дорогостоящим оборудованием;
- вопрос выбора качественных сухих сред, добавок и расходных материалов;
- необходимость получения специальным образом очищенной и подготовленной воды;
- трудоемкий контроль на всех этапах приготовления;
- выбраковка продукции из-за влияния человеческого фактора и ограниченных возможностей оборудования.

Вклад лаборатории в качество питательных сред



- **ЦФГС – это первое и единственное в России высокотехнологичное промышленное производство готовых микробиологических сред**
- Открытие фабрики состоялось 12 ноября 2013 года при поддержке Министерства здравоохранения РФ, Департамента науки, промышленной политики и предпринимательства г. Москвы, Министерства промышленности и торговли РФ



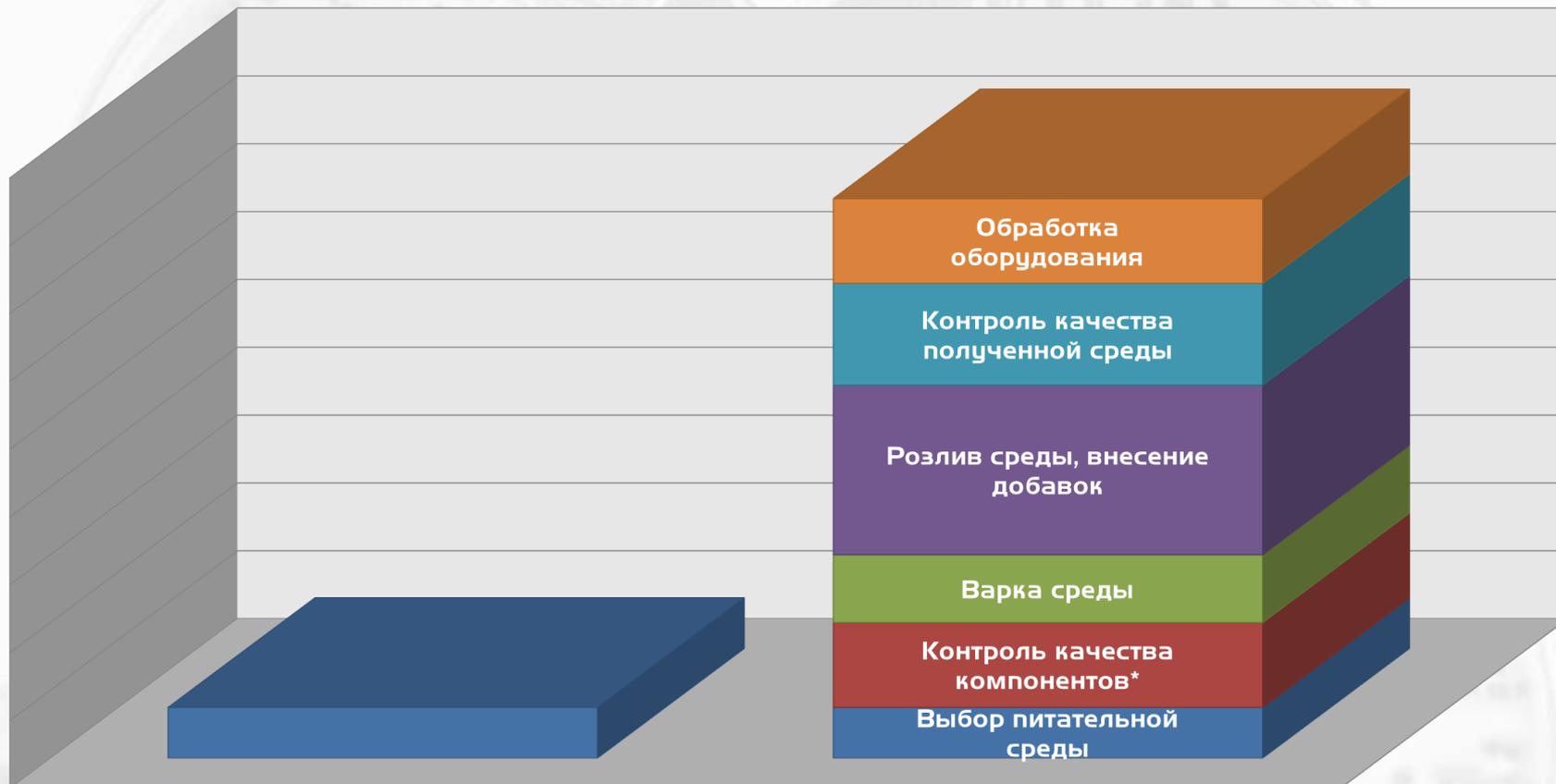


- **Кровь животных, прошедшая контроль** на стерильность, контролируемая по уровню обогащения кислородом и гематокриту, соответствующая целому ряду международных стандартов;
- **Качественная подготовка воды** посредством многоступенчатой фильтрации;
- **Многостадийный производственный контроль** качества на всех этапах;
- Производство на специализированной линии в «чистых помещениях» с **контролируемым классом чистоты 10 000**, розлив питательных сред в зоне с классом чистоты 100 (асептический розлив).

- Контрольная лаборатория при фабрике лицензирована для работы с микроорганизмами;
- **Микробиологический контроль** качества готовых сред референтными штаммами: АТСС (Американская коллекция типовых культур), NCTC (Национальная коллекция типовых культур Великобритании), Государственная коллекция патогенных микроорганизмов ГНИИСК им. Л.А. Тарасевича;
- **Среды проверяются** в соответствии с ГОСТ Р ЕН 12322-2010, МУК 4.2.2316-08, NCCLS M22- A3.

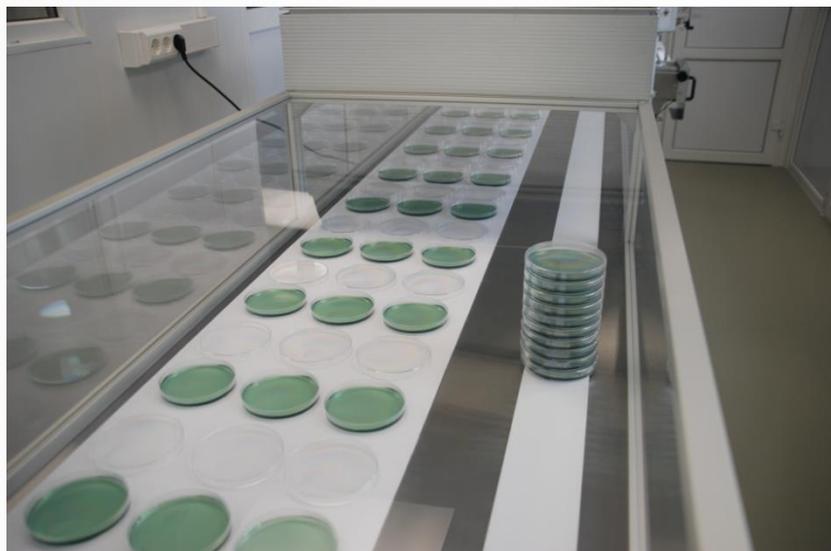


Затраты времени лаборатории



При использовании сред ЦФГС

При самостоятельном производстве



Универсальные среды:

- Триптиказо-соевый кровяной агар;
- Триптиказо-соевый агар.

Для уропатогенов:

- CLED (Бролацин) агар.

Для грибов:

- Агар Сабуро с декстрозой (глюкозой);
- Агар Сабуро с декстрозой (глюкозой) и хлорамфениколом;
- Агар Сабуро с декстрозой, хлорамфениколом и циклогексимидом;
- Агар Сабуро с декстрозой, Твином-80 и лецитином.

Для кампилобактерий:

- Кампилобактериозный кровяной агар.

Для определения антибиотикочувствительности:

- Агар Мюллера Хинтона.

Для стафилококков

- Солевой агар с маннитом;
- Агар Байрда-Паркера.

Для гемофил:

- Гемофилезный тестовый агар.

Для прихотливых микроорганизмов:

- Шоколадный агар с ростовыми добавками;
- Колумбийский кровяной агар;
- Колумбийский кровяной SNA агар.

Для энтеробактерий:

- Селективный агар для сальмонелл и шигелл (агар SS, среда Плоскирева);
- Агар МакКонки;
- Агар МакКонки с сорбитом;
- Агар Эндо;
- Ксилозо-лизин-дезоксихолятный агар (XLD);
- Агар Левина;
- m-Энтерококковый (азидный) агар;
- Триптиказо-соевый агар с Твином 80 и лецитином.



Технологическая схема производства

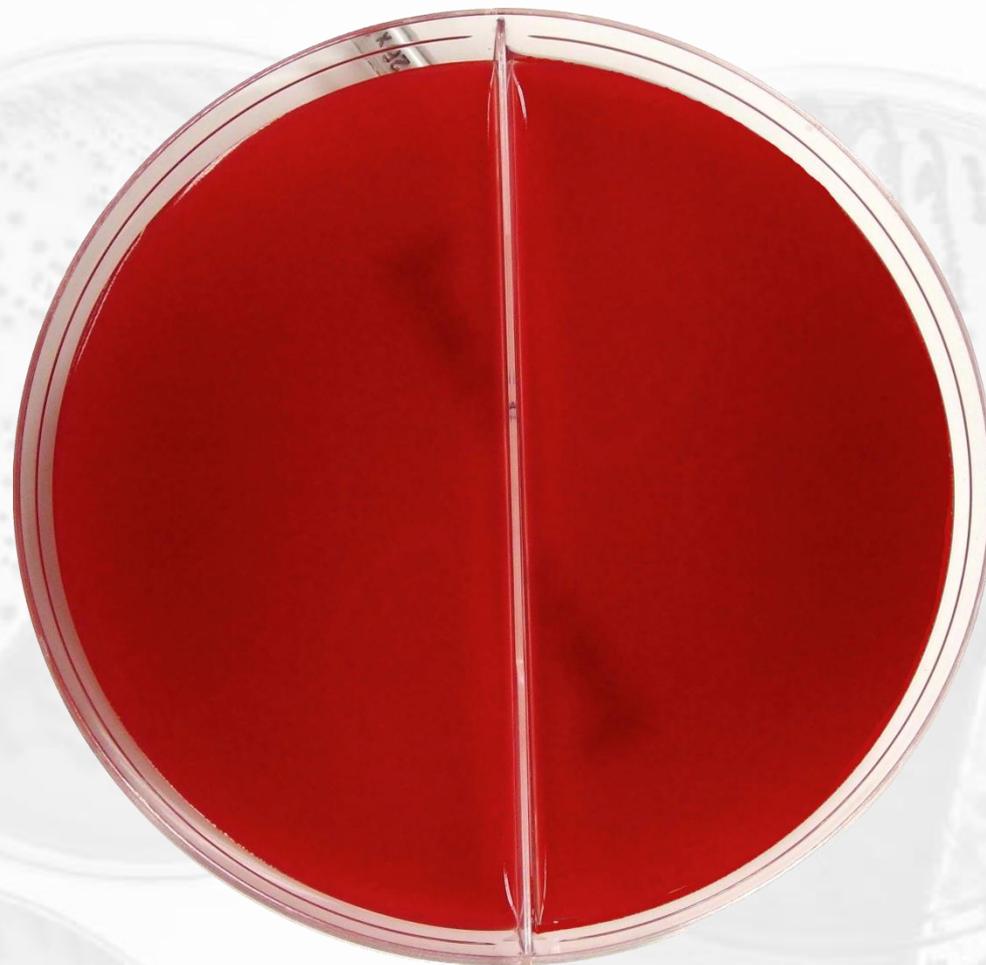
1. Входной контроль компонентов и добавок (→ изолятор брака);
2. Входной контроль упаковочных материалов (→ изолятор брака);
 - 3а. Подготовка воздуха с применением специальной системы очистки воздуха;
 - 3б. Подготовка воды с применением специальной системы водоподготовки;
 - 4а. Контроль качества воздуха;
 - 4а. Контроль качества воды;
5. Подготовка компонентов и добавок (→ утилизация отходов);
6. Приготовление сред на трех аппаратах для приготовления сред;
7. Стерилизация комплекта розлива;

Технологическая схема производства

8. Асептический розлив в три сета общей производительностью 2000 чашек Петри в час (макс. 2400 в час), маркировка, визуальный контроль (→ утилизация отходов);
 9. Контроль качества:
 - 24-часовой карантин в комнате с контролируемым классом чистоты 10000,
 - визуальный контроль,
 - контроль физико-химических свойств,
 - контроль стерильности,
 - микробиологический контроль с использованием контрольных штаммов (→ утилизация отходов);
 10. Групповая упаковка в стерильные пластиковые пакеты, маркировка, визуальный контроль (→ утилизация отходов);
 11. Транспортная упаковка и маркировка, визуальный контроль;
- Готовая продукция.**

ЦЕНТРАЛЬНАЯ ФАБРИКА ГОТОВЫХ СРЕД:

- 23 наименования готовых питательных сред;
- Российское высокотехнологичное импортозамещающее производство;
- Подтвержденное качество;
- Экономическая выгода использования;
- Официальный дистрибьютор – ООО «ГЕМ» (г. Москва) более 25 лет на рынке товаров для лабораторий.



Спасибо за внимание!