



BD

Helping all people
live healthy lives

Стандартизация в микробиологических лабораториях с небольшими потоками и внутрилабораторный контроль качества



Аделина Гаязова
Специалист по продукции

BD Diagnostic
Diagnostic Systems

BD Стандартизация в микробиологии

Существуют микробиологические лаборатории, в которых полностью автоматизированны и стандартизованны все этапы исследования. Но как поступать лабораториям с небольшими потоками, которым не доступна автоматизация?!



Стандартизация должна быть на каждом этапе бактериологического исследования:

- Взятие и транспортировка биоматериала
- Первичный посев (только на среды прошедшие КК)
- Инкубация
- Идентификация
- Постановка чувствительности

Взятие и транспортировка биоматериала

Требования к исследуемым образцам:

- Тип биоматериала выбирается лечащим врачом на основе симптомов и стандартов диагностики.
- Образцы биоматериала берут до назначения антимикробной терапии, соблюдая правила асептики.
- Образцы должны быть доставлены в лабораторию с соблюдением температурного режима.
- **BD CultureSwab™** гелевые среды Эймса, Стюарта и Кэри-Блэра поддерживают жизнеспособность аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов до 48 часов.

Обязательна выбраковка проб взятых или доставленных с нарушениями



Первичный посев

После контроля поступившего в лабораторию биоматериала необходимо осуществить первичный посев материала только на питательные среды, прошедшие контроль качества.

Контроль качества питательных сред выполняется регулярно с использованием музейных штаммов микроорганизмов и регламентируется нормативными документами



МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред, 2008 г

Клинические рекомендации Внутрिलाбораторный контроль качества питательных сред, 2013г

МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, 2004г

Клинические рекомендации Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, 2014г

СП 1.2.036-95 Порядок учета, хранения, передачи и транспортирования микроорганизмов I - IV групп патогенности, 1995г

СП 1.3.2322-08 Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней, 2008г

Величина партии (ед.)	Кол-во отбираемых проб для контроля	
	первично	повторно
Однократный отбор проб		
5-15	2	
16-25	3	
26-90	5	
91-150	5	
Двукратный отбор проб		
151-280	8	8
281-500	13	13
501-1200	20	20
1201-3200	32	32
3201-10000	50	50

Объем партии менее 150 единиц:

При получении на любом этапе испытаний неудовлетворительного результата проверки хотя бы одного отобранного образца, партию среды считают непригодной для работы.

Объем партии свыше 150 единиц:

Если от 2 до 5 или большее количество отобранных образцов (в зависимости от объема партии) не выдержат испытаний на любом из этапов контроля качества, то среду выбраковывают.

При меньшем числе неудовлетворительных результатов проводят повторный отбор и контроль качества такого же количества образцов, как и в первый раз.



Среды и рекомендованные для них штаммы

Набор тест-штаммов, необходимый для контроля качества каждой питательной среды, определяется ее назначением, т.е. должен состоять как правило, из нескольких штаммов, моделирующих натурные условия применения среды.

МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред, 2008 г



Среды и рекомендованные для них штаммы

МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред, 2008 г

В основном, представлены штаммы российских коллекций для тестирования сред. И входят отдельные штаммы АТСС.

Клинические рекомендации Внутрелабораторный контроль качества питательных сред, 2013г

Рекомендованные штаммы для тестирования сред, как российских коллекций, так и большой перечень АТСС штаммов.

Клинические рекомендации Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, 2014г

Для контроля определения чувствительности рекомендованы **только штаммы международных коллекций.**



Внутрилабораторному контролю качества подлежат:

- питательные среды, приготовленные в лаборатории путём регидратации и стерилизации стандартизированных основ с добавлением одного или нескольких комплексных стандартизированных компонентов или отдельных реагентов;
- среды, сконструированные в лаборатории из многочисленных ингредиентов (например: для выявления токсигенности коринебактерий);
- питательные среды, имеющие особое значение для микробиологической диагностики, внутренний контроль качества которых регламентирован соответствующими нормативными документами (например, для выделения и идентификации *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria meningitidis*, *Vibrio cholerae*);
- питательные среды для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам подлежат внутреннему контролю качества (вместе с дисками с антибиотиками) в соответствии с действующими нормативными документами по данному виду исследований ;
- сертифицированные питательные среды, в процессе применения которых отмечаются отклонения от заявленных свойств (недостаточный или атипичный рост микроорганизмов, изменение их свойств или другие особенности; отсутствие подавления роста сопутствующей микрофлоры и т.п.)

Внутрилабораторный контроль качества не проводится для:

новых серий коммерческих питательных сред, поступивших в лабораторию, если в процессе их применения не возникает сомнений в их качестве. В противном случае возможно проведение проверки по упрощённой схеме (например, проверка типичности морфологических признаков).

Примечание:

Для готовых питательных сред, требующих только регидратации и стерилизации, или сред, готовых к употреблению, а также питательных, селективных добавок или отдельных ингредиентов при отсутствии особых обстоятельств контроль качества ограничивается проверкой наличия сертификата качества, соответствия упаковки, а также внешних физико-химических признаков, заявленным в сертификате .

Примечание: В наших реалиях отсутствует возможность контроля условий транспортировки. Поэтому наилучшей практикой является проведение КК для каждой новой партии.



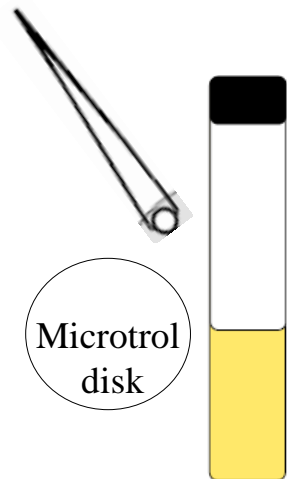
BBL™ и Difco™ широкий спектр сред:

- Общего назначения
- Селективные для отдельных групп микроорганизмов
- Специального назначения
- Питательные и селективные добавки

Восстановление культур из лиофилизированного или замороженного состояния, а также из среды хранения проводят с использованием **жидкой и плотной питательных сред**. В первых посевах микробы обладают пониженной жизнеспособностью, в связи с чем **рекомендуется использовать культуру после 2-3 пассажей через питательную среду**.

Восстановление культур из лиофилизованных контрольных штаммов микроорганизмов BD Microtrol™

1^{ый} день



2^{ой} день



Постановка КК





Контрольные штаммы BD Microtrol™

Диски Microtrol содержат лиофилизированные микроорганизмы первого поколения от оригинальных штаммов ATCC, NCTC.



- Американская коллекция штаммов (ATCC и NCTC)
- 50 видов микроорганизмов
- Простота использования и хранения (-20°C или +4°C)
- Гарантированная стабильность препарата
- Хранятся в лиофилизированном виде, нанесены на диски (10 или 25 шт)
- Возможна прямая инокуляция (без необходимости субкультивирования) на поверхность агара или в бульон

Всегда свежая культура!

Системы создания специальных атмосферных условий (анаэробных, микроаэрофильных, с повышенным содержанием CO₂)



Идентификация проводится только с использованием чистой культуры микроорганизмов.



BD Crystal™



Классический «пестрый ряд»



Система идентификации микроорганизмов BD Crystal™



ШАГ 1: приготовление бактериальной суспензии

ШАГ 2: заполнение панелей

ШАГ 3: инкубирование в термостате

Шаг 4: визуальное считывание панелей с помощью устройства **BD Crystal™ Panel Viewer**

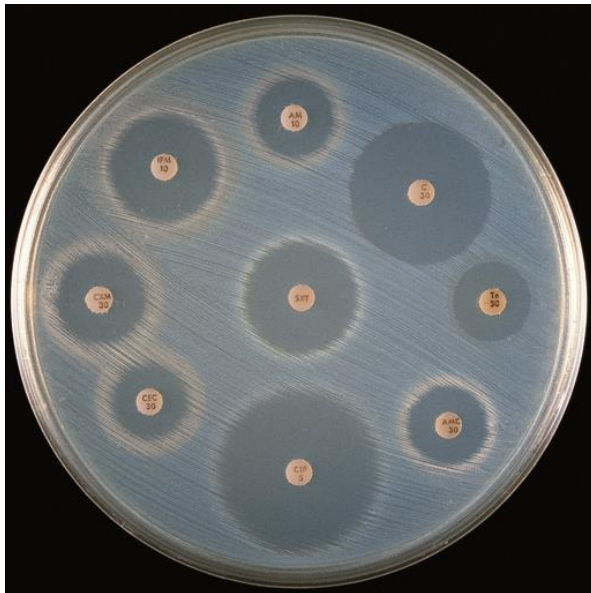


Панель	МакФарланд	Инкубация	Темп
CRYSTAL ЭНФ	0.5	18 - 24 ч	35 - 37 °C
CRYSTAL Гр +	0.5	18 - 24 ч	35 - 37 °C
CRYSTAL Н/Г	3	4 ч	35 - 37 °C
CRYSTAL АНА	4	4 ч	35 - 37 °C

Определение чувствительности микроорганизмов к АМП

Мутность суспензии микроорганизмов должна изменяться с использованием нефелометра

Нельзя определять мутность на глаз!





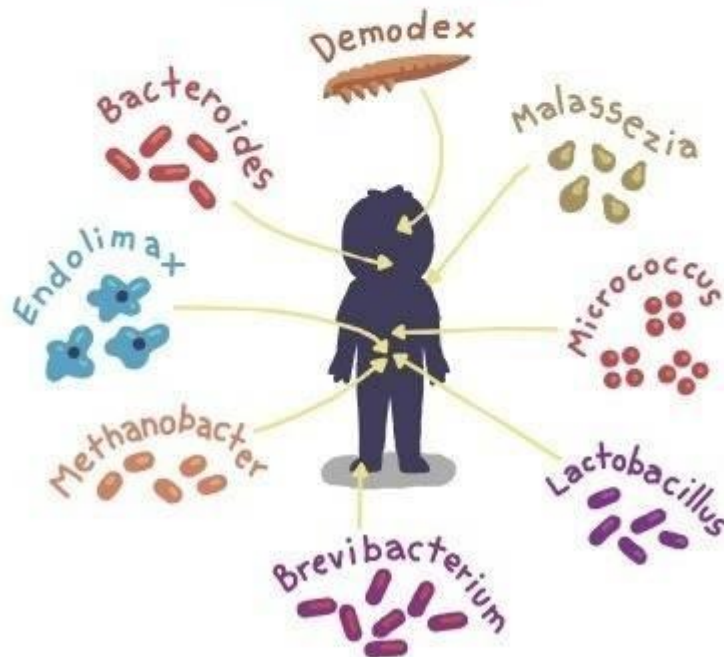
Контроль качества определения чувствительности

- Ежедневный контроль качества определения чувствительности необходимо проводить до получения удовлетворительных результатов: допустимым является отклонение от целевых значений не более одного из 20 результатов исследований. При получении стабильных результатов контроля качества, частота контрольных исследований может быть сокращена до **одного раза в неделю**.
- **Результаты каждого исследования контрольного штамма следует сравнивать с результатами последних 20 исследований этого же контрольного штамма** для своевременного выявления тенденции увеличения или уменьшения зон подавления роста по сравнению с целевыми значениями. Результаты двух или более из 20 тестов, выходящие за рамки целевых значений, требуют проведения мероприятий для выяснения причин получения неправильных результатов.
- В то же время, если при проведении контрольных исследований в подобном режиме (1 раз в неделю), результаты окажутся за пределами целевых значений, необходимо вернуться к ежедневному контролю качества для выяснения причин получения нестабильных результатов.
- В дополнение к этому, контрольные исследования необходимо проводить при использовании **новых партий реагентов, особенно каждой новой партии МХА**. Изменения состава среды может привести к получению неправильных результатов; так для аминогликозидов критично содержание двухвалентных катионов, для тигециклина – содержание магния, для триметоприма-сульфометаксозола – содержание тимицина, для эритромицина – значение pH.

Одиночество не даёт покоя?



Запомни:
ты не одинок.



ТЫ НИКОГДА НЕ БУДЕШЬ ОДИНОК.

Вопросы?