ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 59786— 2021/ ISO/TS 16782: 2016

КЛИНИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Критерии приемлемости партий дегидратированных агара и бульона Мюллера-Хинтон, применяемых для оценки чувствительности к антибиотикам

(ISO/TS 16782:2016, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2021

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 ПОДГОТОВЛЕН Ассоциацией специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины» (Ассоциация «ФЛМ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии документа, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 380 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы ин витро»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 22 октября 2021 г. № 1262-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному документу ISO/TS 16782:2016 «Клинические лабораторные исследования. Критерии приемлемости партий дегидратированных агара и бульона Мюллера-Хинтон, применяемых для оценки чувствительности к антибиотикам» (ISO/TS 16782:2016 «Clinical laboratory testing — Criteria for acceptable lots of dehydrated Mueller-Hinton agar and broth for antimicrobial susceptibility testing», IDT).

Международный документ разработан Техническим комитетом ТК 212 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*» Международной организации по стандартизации (ИСО).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им национальные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

*Правила применения настоящего стандарта установлены в статье 26 Федерального закона от 29 июня 2015 г. № 162-ФЗ «О стандартизации в Российской Федерации». Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном (по состоянию на 1 января текущего года) информационном указателе «Национальные стандарты», а официальный текст изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ближайшем выпуске ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© ISO, 2016
© Оформление. ФГБУ «РСТ», 2021

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 2
4 Требования к бульону Мюллера-Хинтон 3
5 Требования к агару Мюллера-Хинтон 6
6 Исследование новых антимикробных препаратов с производственными партиями дегидратированного бульона или агара Мюллера-Хинтон 10
Приложение А (справочное) Среда Мюллера-Хинтон 11
Приложение В (справочное) Приготовление контрольных культур 13
Приложение С (справочное) Рекомендуемая форма для регистрации результатов тестирования производственных партий среды 15
Приложение D (справочное) Маркировка 18
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам 18
Библиография 19

Введение

Для оценки чувствительности микроорганизмов были рекомендованы различные среды, но исторически сложилось, что бульон Мюллера-Хинтон был выбран в качестве эталонной среды для определения минимальных подавляющих концентраций (МПК) методом последовательных микроразведений (см. ИСО 20776-1), а агар Мюллера-Хинтон наиболее широко используется для определения чувствительности быстрорастущих бактерий к антибиотикам диско-диффузионным методом.

Среда Мюллера-Хинтон обеспечивает удовлетворительный рост большинства неприхотливых патогенов (с обычными питательными потребностями), приемлемую воспроизводимость от партии к партии, низкий уровень ингибиторов сульфаниламидов, триметоприма и тетрациклина, а также при использовании этой среды в ходе исследований чувствительности к антимикробным препаратам в течение нескольких десятилетий было собрано большое количество данных.

Настоящий стандарт разработан с целью описания питательных сред и протокола, при помощи которых производители дегидратированных агара и бульона Мюллера-Хинтон могут определить приемлемые рабочие характеристики сред.

Результаты исследований должны соответствовать установленным предельным диапазонам контроля качества для каждой комбинации антимикробного препарата и контрольных штаммов. Каждая производственная партия проходит проверку, по крайней мере, при помощи данных комбинаций антимикробных препаратов и контрольных штаммов.

ISO/TS 16782 был разработан, в частности, на основе двух документов Института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute — CLSI): CLSI M6-A2 [1] (протоколы оценки дегидратированного агара Мюллера-Хинтон) и CLSI M32-P [2] (оценка партий дегидратированного бульона Мюллера-Хинтон для определения чувствительности к антимикробным препаратам) с разрешения CLSI. После опубликования ИСО 16782 документы CLSI M6-A2 [1] и M32-P [2] больше не будут доступны. Производители могут руководствоваться ИСО 16782 при оценке рабочих характеристик производственных партий агара и бульона Мюллера-Хинтон.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

КЛИНИЧЕСКИЕ ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Критерии приемлемости партий дегидратированных агара и бульона Мюллера-Хинтон, применяемых для оценки чувствительности к антибиотикам

Clinical laboratory testing.
Criteria for acceptable lots of dehydrated Mueller-Hinton agar and broth for antimicrobial susceptibility testing

Дата введения — 2022—04—01

1 Область применения

Настоящий стандарт описывает физические свойства дегидратированного агара Мюллера-Хинтон и дегидратированного бульона Мюллера-Хинтон и критерии, по которым производители могут оценить качество производственных партий агара Мюллера-Хинтон и бульона Мюллера-Хинтон. Производственные партии бульона Мюллера-Хинтон или агара Мюллера-Хинтон после оценки могут быть использованы всеми потребителями, включая производителей питательных сред для оценки чувствительности к антимикробным препаратам *in vitro*, в качестве среды для проведения исследований чувствительности к антимикробным препаратам.

Настоящий стандарт не распространяется на добавки (например, кровь или препараты крови), которые добавляют в питательную среду для поддержания роста прихотливых бактерий (со сложными питательными потребностями) [3]—[6]. Внесение добавок осуществляют после того, как из дегидратированной среды приготавливают конечный продукт в жидком виде, который настоящим стандартом не рассматривается. Агар Мюллера-Хинтон можно использовать для определения минимальных подавляющих концентраций (МПК) методом последовательных разведений в агаре [4], [6] или методом градиентной диффузии, настоящий стандарт включает только оценку рабочих характеристик агара Мюллера-Хинтон с использованием диско-диффузионного метода, как описано в нормативных документах Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI) [5] и Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) [3].

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты [для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения)]:

ISO 20776-1:2006*, Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices — Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases (Клинические лабораторные исследования и тест-системы для

* Действует ISO 20776-1:2019 «Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод микроразведений в бульоне для лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни». Однако для однозначного соблюдения требования настоящего стандарта, выраженного в датированной ссылке, рекомендуется использовать только указанное в этой ссылке издание.

Издание официальное

диагностики in vitro. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни)

CLSI M100, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Informational Supplement (Стандарты определения чувствительности к антимикробным препаратам; Информационное приложение)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **антимикробный препарат** (antimicrobial agent): Вещество биологического, полусинтетического или синтетического происхождения, которое ингибирует рост бактерий или убивает их и, таким образом, может быть использовано для лечения инфекций.

Примечание 1 — Дезинфицирующие средства, антисептики и консерванты не включены в данное определение.

[ИСО 20776-1:2006, 2.1]

3.2 **диск с антимикробным препаратом** (antimicrobial disc): Небольшой бумажный диск, содержащий известные количества антимикробных препаратов, используемый для определения чувствительности *in vitro*.

3.3 **концентрация** (concentration): Количество антимикробного препарата в определенном объеме жидкости.

Примечание 1 — Концентрацию выражают в мг/дм^3 (мг/л).

Примечание 2 — мг/дм^3 (мг/л) = мкг/см^3 (мкг/мл), но единицу измерения мкг/см^3 (мкг/мл) использовать не рекомендуется.

[ИСО 20776-1:2006, 2.2.2]

3.4 **исходный раствор** (stock solution): Раствор, используемый для дальнейших разведений.

[ИСО 20776-1:2006, 2.3]

3.5 **минимальная подавляющая концентрация;** МПК (minimum inhibitory concentration MIC): Самая низкая концентрация антимикробного препарата, которая в определенных условиях предотвращает видимый рост бактерий *in vitro* в течение определенного периода времени.

Примечание 1 — МПК выражается в мг/дм^3 (мг/л).

[ИСО 20776-1:2006, 2.4, модифицирован — слова «самая низкая концентрация, которая» были изменены на «самая низкая концентрация антимикробного препарата, которая»]

3.6 **референтный [контрольный] штамм** (reference strain): Каталогизируемые, охарактеризованные микроорганизмы с устойчивыми, определенными антибактериальными фенотипами и/или генотипами чувствительности.

Примечание — Референтные штаммы сохраняют как базовые культуры, из которых получают рабочие культуры. Они могут быть получены из признанных национальных коллекций культур и использованы для контроля качества.

[ИСО 20776-1:2006, 2.7, модифицирован — слова «охарактеризованные бактерии» были изменены на «охарактеризованные микроорганизмы», а «коллекции культур» в примечании 1 были изменены на «признанные национальные коллекции культур»]

3.7 **Метод определения чувствительности** (Susceptibility testing method)

3.7.1 **метод разведений в бульоне** (broth dilution): Процедура, при которой емкости заполняют соответствующими объемами среды, содержащей антимикробный препарат в постепенно возрастающих концентрациях (как правило, в два раза), и известным инокулюмом.

Примечание 1 — Целью данного метода является определение МПК.

[ИСО 20776-1:2006, 2.8.1, модифицирован — формулировка «раствор антимикробного препарата, используемого в постепенно возрастающих концентрациях (как правило, в два раза) и соответствующие объемы среды, содержащие» была изменена на «среды, содержащей антимикробный препарат в постепенно возрастающих концентрациях (как правило, в два раза), и»]

3.7.2 **микроразведение** (microdilution): Выполнение разведения среды в планшетах для микроразведения вместимостью 200 мм^3 (мкл) на лунку.

[ИСО 20776-1:2006, 2.8.2, модифицирован — слова «емкость ≤ 200 мм^3 (мкл) на лунку» изменены на «вместимость 200 мм^3 (мкл) на лунку»]

3.7.3 **диско-диффузионный метод** (disc diffusion): Процедура, при которой диски с антимикробным препаратом наносят на поверхность агаризованной среды, предварительно равномерно засеянную известным инокулюмом, с последующей инкубацией в определенных условиях, в результате чего формируется зона подавления роста микроорганизма, размер которой соответствует чувствительности/устойчивости микроорганизма к антимикробному препарату.

3.7.4 **диаметр зоны** (zone diameter): Диаметр (в мм) зоны подавления роста вокруг бумажного диска, содержащего антимикробный препарат в определенном количестве, используемого для диско-диффузионного метода.

3.8 **бульон** (broth): Жидкая питательная среда, используемая для выращивания бактерий.

3.9 **инокулюм** (inoculum): Количество жизнеспособных бактерий в суспензии в расчете на конечный объем.

Примечание 1 — Инокулюм выражается в колониеобразующих единицах на кубический сантиметр (миллилитр) [КОЕ/см^3 (КОЕ/мл)].

[ИСО 20776-1:2006, 2.10, модифицирован — слова «количество бактерий» была заменена на «количество жизнеспособных бактерий»]

3.10 **дегидратированный бульон Мюллера-Хинтон;** МХБ (dehydrated Mueller-Hinton broth dMHB): Высушенная бактериологическая среда, используемая для приготовления жидкой среды для определения чувствительности к антимикробным препаратам методом разведений в жидкой питательной среде.

3.11 **дегидратированный агар Мюллера-Хинтон;** МХА (dehydrated Mueller-Hinton agar dMHA): Высушенная бактериологическая среда, используемая для приготовления чашек с агаром для определения чувствительности к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом, методом градиентной диффузии и определения МПК методом разведений в агаре.

4 Требования к бульону Мюллера-Хинтон

4.1 Компоненты бульона Мюллера-Хинтон

Среда бульона Мюллера-Хинтон для оценки чувствительности к антибиотикам традиционно содержит следующие примерные количества компонентов на дм^3 (литр) очищенной воды (для соответствия критериям эффективности могут потребоваться корректировки) [7]:

- дегидратированный настой из 300 г говядины (то есть 2 г порошка экстракта говядины);
- кислотный гидролизат казеина — 17,5 г;
- крахмал — 1,5 г.

4.2 Физические и химические свойства

4.2.1 Дегидратированный порошок или гранулы

Цвет: от бежевого до светло-бежевого.

Однородный, сыпучий, гомогенный и не содержащий примесей.

4.2.2 Приготовление питательного бульона

После гидратирования pH, измеренный после автоклавирования, должен составлять 7,2—7,4 при температуре 25 °С.

Жидкость светло-соломенного цвета, прозрачная, без видимых осадков.

4.2.3 Обогащение среды бульона Мюллера-Хинтон катионами и их содержание

Среда бульон Мюллера-Хинтон должна содержать концентрации двухвалентных катионов металлов, необходимые для обеспечения роста микроорганизмов, дающего возможность исследователю определить значения МПК (например, аминогликозидов и хинолонов) для контрольных штаммов, в пределах диапазонов, указанных в ИСО 20776-1:2006 (таблица 4) (необходимо проверить контрольные диапазоны в последних версиях CLSI и EUCAST). При производстве новых партий среды может возникнуть необходимость проведения определения содержания катионов. Производственные партии

среды (бульон Мюллера-Хинтон), приготовленные из дегидратированного продукта, должны содержать не более 25 мг/дм^3 (мг/л) общего кальция и 12,5 мг/дм^3 (мг/л) общего магния. Производители могут отдать предпочтение в пользу производства партий среды с установленными концентрациями катионов или фактическими уровнями менее 20 мг/дм^3 (мг/л) Ca^{2+} и 10 мг/дм^3 (мг/л) Mg^{2+}. В последнем случае на маркировке указывают фактическое содержание катионов в партии бульона. При окончательном исследовании приготовленный бульон Мюллера-Хинтон должен содержать от 20 до 25 мг/дм^3 (мг/л) Ca^{2+} и от 10 до 12,5 мг/дм^3 (мг/л) Mg^{2+}.

Наряду с тем, что содержание марганца в следовых количествах необходимо для роста, концентрация ионов марганца не должна превышать 8 мг/дм^3 (мг/л), чтобы избежать ложных интерпретаций резистентности к глицилциклинам [8]. Результат должен быть валидирован по значению МПК тигециклина, соответствующему допустимому диапазону, при исследовании контрольного штамма *Escherichia coli* WDCM 00013.

Так как для роста микроорганизмов необходимы следовые количества цинка, концентрация цинка должна быть ниже 3 мг/дм^3 (мг/л), чтобы избежать ложных интерпретаций резистентности к имипенему [9] и, потенциально, к другим карбапенемам. Результат должен быть валидирован по значению МПК имипенема, соответствующему допустимому диапазону, при исследовании контрольного штамма *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00025.

Концентрации катионов кальция, магния, марганца и цинка следует определять с помощью масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой (ИСП МС) или пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии (ПААС) [10].

Так как иные ионы, влияющие на результаты определения чувствительности к другим антимикробным препаратам, не включены в настоящий стандарт, они должны учитываться производителями при определении чувствительности к антимикробным препаратам методом последовательных разведений в бульоне Мюллера-Хинтон. К задействованным антимикробным препаратам относятся даптомицин [11] и полимиксин [12]. При определении чувствительности к даптомицину бульон Мюллера-Хинтон должен быть дополнен Ca^{2+} до концентрации 50 мг/дм^3 (мг/л). Инструкции по приготовлению среды и определению чувствительности к антимикробным препаратам приведены в ИСО 20776-1.

4.2.4 Другие компоненты среды

Среда должна иметь массовую концентрацию тимидина менее 0,03 мг/дм^3 (мг/л), для обеспечения получения валидного результата МПК триметоприма-сульфаметоксазола ≤ 0,5/9,5 мг/дм^3 (мг/л) при исследовании контрольного штамма *Enterococcus faecalis* WDCM 00087 [13].

4.2.5 Специфические корректировки, выполняемые производителем

Для антимикробных препаратов, включенных в таблицу 1:

a) включение хлорида натрия (2 % массы к объему NaCl) до концентрации 20 г/дм^3 (г/л) в бульон необходимо для выявления устойчивости к метициллину у *Staphylococcus spp.* при исследовании с оксациллином;

b) при исследовании тигециклина методом микроразведений в бульоне для приготовления планшетов для определения МПК необходимо использовать среду, приготовленную в день использования. Среда должна быть приготовлена не ранее 12 ч до момента подготовки планшетов; тем не менее планшеты могут быть заморожены для последующего использования. Дополнительная информация приведена в ИСО 20776-1.

Производители могут выбрать для тестирования дополнительные антимикробные препараты и штаммы, а также среду Мюллера-Хинтон, обогащенную для роста прихотливых штаммов. Ожидаемые характеристики должны быть валидированы.

Для микроорганизмов, не включенных в таблицу 1 (например, для расширенного тестирования по усмотрению производителя):

c) исследование прихотливых микроорганизмов, таких как стрептококки и *Haemophilus spp.* требует добавления ростовых добавок (например, крови или компонентов крови). Если партию агара или бульона Мюллера-Хинтон, прошедшую валидацию в соответствии с критериями, приведенными в настоящем стандарте, используют для тестирования прихотливых микроорганизмов, то после добавления дополнительных компонентов полученные значения МПК или диаметры зон должны попадать в приемлемые диапазоны МПК, приведенные в ИСО 20776-1 для конкретной среды и тестируемого микроорганизма.

Влияние свойств среды на результаты определения чувствительности к отдельным антимикробным препаратам изложено в приложении А (таблицы А.1, А.2).

4.3 Протокол тестирования производственных партий дегидратированного бульона Мюллера-Хинтон

Процедуры подготовки исследований методом последовательных разведений приведены в ИСО 20776-1. Выполнение этих процедур следует осуществлять со следующими ограничениями (поправками), которые перечислены ниже.

a) Минимальная и максимальная концентрация каждого антимикробного препарата в каждом планшете должна выходить за пределы допустимого диапазона значений для контрольных штаммов, как минимум на два двукратных разведения с каждой стороны.

b) Для каждой из комбинаций «микроорганизм-антимикробный препарат», перечисленных в 4.4, необходимо провести тестирование одного микробного инокулюма как минимум трижды, в трех отдельных планшетах. Этот перечень комбинаций «микроорганизм-антимикробный препарат» представляет минимальные требования для тестирования и включает антибактериальные препараты, использование которых способно детектировать определенные проблемы со средой. Другие антимикробные препараты могут быть включены в исследование по усмотрению производителя и по мере необходимости для проверки стабильности среды. Среда должна соответствовать требованиям, предъявляемым к исследованию выбранных антимикробных препаратов.

c) Подробная информация о контрольных штаммах приведена в ИСО 20776-1, CLSI [6] или EUCAST [4]. Как минимум, за два дня до исследования размораживают все флаконы с необходимыми культурами контрольных штаммов (см. 4.4). Инокулируют каждую культуру на чашку Петри с неселективной питательной агаровой средой и инкубируют ее в течение 18—24 ч при температуре от 34 °С до 37 °С в обычной атмосфере согласно ИСО 20776-1. После инкубации проверяют чистоту культуры. За день до определения чувствительности к антибиотикам контрольные штаммы снова пересевают для получения свежих (суточных) колоний для приготовления инокулюма. Все микроорганизмы должны быть пересеяны как минимум дважды из замороженного состояния перед использованием для тестирования.

d) При использовании замороженных планшетов с антибиотиком, перед их использованием, планшеты следует полностью разморозить при комнатной температуре (обычно это занимает от 1 до 2 ч). Планшеты с антибиотиками должны использоваться в тот же день, когда они были размерожены.

e) Определение чувствительности к антибиотикам должно осуществляться в соответствии с ИСО 20776-1. Инокулюм каждого контрольного штамма должен быть подготовлен путем приготовления суспензии из одной колонии. Инокулированные планшеты с микроразведениями должны быть инкубированы в течение 16—20 ч (24 ч — для оксациллина и *Staphylococcus aureus*), результаты должны быть учтены в течение одного часа после извлечения планшетов из термостата.

f) Результаты оценки антибиотикочувствительности регистрируют и хранят в соответствии с порядком, используемым производителем в отношении внутреннего документооборота. Пример оценки результатов чувствительности к антибиотикам приведен в приложении С.

4.4 Интерпретация результатов

Допустимые диапазоны МПК представлены в таблице 1 (см. [14] и [15]).

Допустимые диапазоны периодически пересматриваются и обновляются. В этой связи необходимо использовать пограничные значения последних версий EUCAST [14]. Необходимо проверять таблицы на предмет возможных изменений. Альтернативные номера контрольных микроорганизмов из различных коллекций культур приведены в приложении В.

Таблица 1 — Диапазоны допустимых значений МПК, мг/дм^3 (мг/л), для контрольных штаммов

Референтный штамм	Антимикробный препарат	Допустимый диапазон, мг/дм^3 (мг/л)
Pseudomonas aeruginosa WDCM 00025	Ципрофлоксацин	0,25—1
	Гентамицин	0,5—2
	Имипенем	1—4
	Пиперациллин-тазобактам	1/4—8/4

Окончание таблицы 1

Референтный штамм	Антимикробный препарат	Допустимый диапазон, мг/дм^3 (мг/л)
Escherichia coli WDCM 00013	Ампициллин	2—8
	Цефотаксим	0,03—0,12
	Тигециклин	0,03—0,25
Staphylococcus aureus WDCM 00131	Клиндамицин	0,06—0,25
	Эритромицин	0,25—1
	Оксациллин	0,12—0,5
	Тетрациклин	0,12—1
	Ванкомицин	0,5—2
Enterococcus faecalis WDCM 00087	Ампициллин	0,5—2
	Триметоприм-сульфатомексазол	≤ 0,5/9,5[a]
	Ванкомицин	1—4
Staphylococcus aureus WDCM 00211	Оксациллин	4—32

[a] Контрольный диапазон в отношении триметоприма-сульфатомексазола еще не установлен CLSI или EUCAST. Результаты МПК для триметоприма-сульфатомексазола должны быть ≤ 0,5/9,5 мг/дм^3 (мг/л).

4.5 Оценка результатов

Если все критерии эффективности для всех комбинаций «микроорганизм-антимикробный препарат» находятся в допустимых диапазонах, перечисленных в 4.4, и все физические и химические характеристики отвечают требованиям к среде (см. 4.2), производитель может отметить это специальной маркировкой, пример которой приведен в приложении D. Производители должны стремиться достигать среднестатистических значений МПК в партии тестов, близких к среднему значению контрольных диапазонов. Данные контроля качества должны храниться в архиве, а результаты должны быть доступны по запросу.

5 Требования к агару Мюллера-Хинтон

5.1 Компоненты агара Мюллера-Хинтон

Агар Мюллера-Хинтон для определения чувствительности к антимикробным препаратам, как правило, содержит (может потребоваться корректировка для соответствия критериям эффективности) следующие компоненты на дм^3 (литр) очищенной воды [7]:

- обезвоженный настой из 300 г говядины (то есть 2 г порошка экстракта говядины);
- кислотный гидролизат казеина — 17,5 г;
- крахмал — 1,5 г;
- агар — 17 г.

5.2 Физико-химические характеристики

5.2.1 Обезвоженный порошок или гранулы

Цвет: от бежевого до светло-бежевого.

Однородный, сыпучий и не содержащий посторонних примесей порошок.

5.2.2 Готовая агаровая среда

pH, измеренный после автоклавирования и гелеобразования, должен составлять от 7,2 до 7,4 при температуре 25 °C.

Гелеобразная среда должна быть светло-соломенного цвета и слегка опалесцировать. Толщина среды в чашке Петри должна быть одинаковой и находиться в диапазоне от 3,5 до 5,0 мм [EUCAST указывает (4 ± 0,5) мм и CLSI примерно 4 мм [6] или от 4 до 5 мм (CLSI M6 [1])]. Чашки Петри разных

производителей могут различаться по диаметру (диаметр измеряется по внутреннему основанию дна чашки), и объем агара, необходимый для обеспечения заданной толщины, вычисляют по формуле

3,143 радиус чашки Петри (см) в квадрате · толщина среды (см).

Приемлемый диапазон толщины среды для круглых чашек Петри с внутренним диаметром 90, 100 и 150 мм достигается с помощью объемов среды — от 23 до 31 $см^3$ (мл), от 28 до 39 $см^3$ (мл) и от 62 до 88 $см^3$ (мл) соответственно. Для чашек Петри других размеров следует вычислять необходимый объем среды.

5.2.3 Добавка катионов и химический состав агара Мюллера-Хинтон

Агар должен содержать достаточную концентрацию катионов, чтобы обеспечить соответствующий рост и позволить исследователю определять диаметры зон подавления роста для контрольных штаммов в диапазонах, указанных в 5.4.

Концентрации Ca^{2+} и Mg^{2+} в среде должны обеспечивать получение значений диаметров зон подавления роста *Pseudomonas aeruginosa* вокруг дисков с аминогликозидами в пределах ожидаемого диапазона, о чем будет свидетельствовать значение диаметра зоны подавления роста *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00025 вокруг диска с гентамицином в пределах допустимого диапазона.

Незначительное количество марганца необходимо для роста микроорганизмов, однако его концентрация должна быть ниже 8 мг/$дм^3$ (мг/л), это необходимо для предотвращения получения результатов о ложной резистентности при оценке чувствительности к глицилциклинам [8]. Это должно быть определено (оптимизировано) путем оценки чувствительности в пределах допустимых диапазонов с использованием контрольного штамма *Escherichia coli* WDCM 00013 и антибиотика тигециклина.

Чтобы избежать ложных результатов при исследовании резистентности к карбапенемным антибиотикам, среда должна иметь концентрацию цинка ниже 3 мг/$дм^3$ (мг/л), что определяется путем измерения диаметра зоны при использовании контрольного штамма *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00025 и антибиотика имипенема в пределах допустимых диапазонов. Известно, что избыточная концентрация цинка влияет и на результаты оценки чувствительности не только к имипенему, но и к другим карбапенемам.

5.2.4 Другие компоненты среды

Среда должна иметь массовую концентрацию тимидина менее чем 0,03 мг/$дм^3$ (мг/л), что можно проверить с использованием контрольного штамма *Enterococcus faecalis* WDCM 00210 и триметоприма-сульфаметоксаза: при допустимой концентрации тимидина характерно образование четкого контура зоны подавления роста с диаметром ≥20 мм; альтернативно возможно использование контрольного штамма *Enterococcus faecalis* WDCM 00087 с оценкой соответствующего допустимого диаметра подавления роста.

Плотность геля требуется для воспроизводимых размеров зон подавления роста, которые должны соответствовать требованиям контроля качества.

5.2.5 Дополнительные добавки

Определение чувствительности прихотливых микроорганизмов, таких как стрептококки и *Haemophilus spp*., требует добавления ростовых добавок (например, крови или компонентов крови). Агар Мюллера-Хинтон или партии бульона, которые соответствуют всем критериям контроля качества, приведенным в настоящем стандарте, могут быть использованы для исследования прихотливых микроорганизмов. При этом, после добавления конкретных добавок в среду, необходимо проводить тестирование контрольных штаммов. Полученные значения МПК или диаметры зон подавления роста должны быть в границах допустимых значений, приведенных в [5] или [3] для соответствующих контрольных штаммов и тестируемой среды с добавкой.

В А.2 (приложение А) приведена информация о специфическом влиянии отдельных компонентов среды и условий тестирования на активность антимикробных препаратов. Микрорганизмы/антимикробные препараты, данные о которых не указаны в таблице А.2 (приложение А), могут быть исследованы производителем по своему усмотрению.

5.3 Процедура тестирования производственных партий дегидратированного агара Мюллера-Хинтон

Диско-диффузионный метод должен использоваться для оценки производственных партии МХА. Процедуры приготовления чашек, проведения и учета результатов теста, а также хранения штамма приведены в [5] и [3]. Эти процедуры должны соблюдаться с ограничениями, указанными ниже.

a) Для каждой комбинации «микроорганизм-антимикробный препарат», перечисленной в 5.4, проводят исследования как минимум одного инокулюма на трех отдельных чашках. Перечень комбинаций «микроорганизм-антимикробный препарат» представляет минимальные требования для исследования и включает препараты, которые могут обнаруживать определенные проблемы со средой. Исследование других антимикробных препаратов может проводиться по усмотрению производителя по мере необходимости для обеспечения стабильной работы среды. Среда должна соответствовать требованиям, предъявляемым к исследованию выбранных антимикробных препаратов.

b) За два дня до посева на испытуемые чашки размораживают пробирки с каждой необходимой контрольной культурой (см. ниже и приложение С). Проводят рассев каждой культуры на чашку с неселективной питательной агаровой средой и инкубируют ее в течение 18—24 ч при температуре (35 ± 2) °С (CLSI) или (35 ± 1) °С (EUCAST). После инкубации проверяют чистоту культуры. Все микроорганизмы должны быть пересеяны как минимум дважды после замороженного состояния перед определением чувствительности.

c) Посевной материал должен быть приготовлен из суспензии колоний контрольного штамма, описанного в последней версии CLSI или EUCAST.

d) Засевают по три чашки с каждой средой посевным материалом [см. перечисление c)] из каждой контрольной культуры. Нанесение суспензии посевного материала на чашки проводят в течение 15 мин после ее приготовления.

e) После инкубации при соответствующей температуре [то есть (35 ± 2) °С (CLSI) или (35 ± 1) °С (EUCAST)] и в течение соответствующего времени (то есть от 16 до 20 ч) извлекают чашки из термостата и учитывают результат в течение 1 ч. Для энтерококков и ванкомицина время инкубации увеличивают до 24 ч.

f) Результаты должны быть записаны и должны храниться в соответствии с утвержденными процедурами производителя для сохранения записей. Рекомендуемая форма для регистрации результатов приведена в приложении С.

5.4 Интерпретация результатов

В приложении В приведены альтернативные идентификационные номера для контрольных микроорганизмов одного и того же вида из разных коллекций культур.

Таблица 2 — Диапазоны допустимых значений диаметров зон подавления роста (в мм) для контрольных штаммов

Контрольный штамм	Нагрузка на диск, мкг	Антимикробный препарат	Приемлемый диапазон, мм
Staphylococcus aureus WDCM 00034[a]	20/10	Амоксициллин-клавуланат	28—36
	10/10	Амоксициллин-сульбактам	29—37
	30	Цефокситин	23—29
	5	Ципрофлоксацин	22—30
	15	Эритромицин	22—30
	10	Гентамицин	19—27
	30	Линезолид	25—32
	10 единиц	Пенициллин	26—37
	30	Тетрациклин	24—30

Продолжение таблицы 2

Контрольный штамм	Нагрузка на диск, мкг	Антимикробный препарат	Приемлемый диапазон, мм
Staphylococcus aureus WDCM 00131[a,b]	1 единица	Пенициллин (Бензилпенициллин)	12—18
	30	Цефокситин	24—30
	5	Ципрофлоксацин	21—27
	15	Эритромицин	23—29
	10	Гентамицин	19—25
	10	Линезолид	21—27
	30	Тетрациклин	23—31
Enterococcus faecalis WDCM 00087[c]	2	Ампициллин	15—21
	10	Имипенем	24—30
	10	Линезолид	19—25
	100	Нитрофурантоин	18—24
	5	Триметоприм	24—32
	1,25—23,75	Триметоприм-сульфаметоксазол	26—34
	5	Ванкомицин	10—16
Escherichia coli WDCM 00013	20/10	Амоксициллин-клавуланат	18—24
	10	Ампициллин	15—22
	30 или 5	Цефотаксим	29—35 или 25—31
	30	Хлорамфеникол	21—27
	5	Ципрофлоксацин	30—40
	10	Гентамицин	19—26
	250 или 300	Сульфизоксазол	15—23
	30	Тетрациклин	18—25
	15	Тигециклин	20—27
	1,25/23,75	Триметоприм-сульфаметоксазол	23—29
Pseudomonas aeruginosa WDCM 00025	30	Азтреонам	23—29
	10 или 30	Цефтазидим	21—27 или 22—29
	5	Ципрофлоксацин	25—33
	10	Гентамицин	17—23
	10	Имипенем	20—28
	100/10 или 30/6	Пиперациллин-тазобактам	25—33 или 23—29
	10	Тобрамицин	20—26
Enterococcus faecalis WDCM 00210	1,25/23,75	Триметоприм-сульфаметоксазол	[c]

Окончание таблицы 2

Контрольный штамм	Нагрузка на диск, мкг	Антимикробный препарат	Приемлемый диапазон, мм
Staphylococcus aureus WDCM 00211	30	Цефокситин	[d]
Staphylococcus aureus WDCM 00212	30	Цефокситин	14—20

[a] Для *S.aureus* WDCM 00034 используют диски с линезолидом по 30 мкг и с пенициллином по 10 единиц. Для *S.aureus* WDCM 00131 используют диски с линезолидом по 10 мкг и с пенициллином (бензилпенициллином) по 1 единице.

[b] Зоны подавления роста представлены в таблице EUCAST [3]. Необходимо проверить последнюю версию EUCAST http://www.eucast.org для обновленных параметров, поскольку они подлежат периодическим обновлениям. *S.aureus* WDCM 00131 — это штамм для контроля качества, альтернативный штамму *S.aureus* WDCM 00034. *S.aureus* WDCM 00034 необходимо использовать для диско-диффузионного метода для антимикробных препаратов при отсутствии рекомендованного приемлемого диапазона для WDCM 00131. Диск с цефокситином используется в качестве суррогатного теста для выявления метициллинорезистентности у золотистого стафилококка (MRSA) диско-диффузионным методом. Использование диска с оксациллином не рекомендуется. См. документ [5] или [3].

[c] Зона подавления роста для триметоприма-сульфаметоксазола должна составлять ≥20 мм.

[d] Зона подавления роста для цефокситина (CLSI [3]) должна составлять ≤21 мм.

5.5 Оценка результатов

Если все критерии эффективности для всех комбинаций «микроорганизм-антимикробный препарат» находятся в допустимых пределах (см. 5.4) и все физические и химические характеристики соблюдены (см. 5.2), производитель может добавить на маркировку информацию, приведенную в приложении D. Производители должны стремиться к достижению средних значений диаметров зон подавления роста, близких к средним значениям контрольных диапазонов зон задержки роста.

Данные должны храниться в архиве, а результаты должны быть доступны любому по запросу.

6 Исследование новых антимикробных препаратов с производственными партиями дегидратированного бульона или агара Мюллера-Хинтон

При изучении *in vitro* новых антимикробных препаратов, для разработки критериев качества этих препаратов необходимо использовать производственные партии МХБ или МХА, отвечающие критериям, указанным в настоящем стандарте. Исследование производственных партий МХБ или МХА с новыми антимикробными препаратами должно осуществляться в соответствии с процедурами, изложенными в настоящем стандарте. Для МХБ содержание ионов должно быть исследовано для определения влияния на новый антимикробный препарат специфических катионов или анионов, или концентрации ионов, находящихся в среде, которые отличаются от диапазонов, предложенных в настоящем стандарте. Должны быть идентифицированы другие компоненты среды, которые могут повлиять на результаты *in vitro* контроля качества исследований антибиотикочувствительности. При необходимости должны быть внесены корректировки для достижения стабильных воспроизводимых результатов исследований, и эта информация должна быть широко распространена среди других специалистов, участвующих в исследовании чувствительности к антибиотикам и контроле качества, включая подкомитет CLSI по исследованию чувствительности к антибиотикам и EUCAST. Эти действия относятся к ответственности компании, производящий новый препарат.

Приложение А
(справочное)

Среда Мюллера-Хинтон

А.1 Бульон

Таблица А.1 — Влияние свойств дегидратированного бульона Мюллера-Хинтон на определение чувствительности к антимикробным препаратам

Антимикробные препараты	Комментарии
Аминогликозиды	Предлагаемые концентрации кальция [от 20 до 25 мг/дм^3 (мг/л)] и магния [10—12,5 мг/дм^3 (мг/л)] основаны на исследованиях [16], [17], сравнивающих методы разведений в агаре и бульоне Мюллера-Хинтон в отношении клинических штаммов *P.aeruginosa*
Карбапенемы	Несмотря на необходимость следового количества цинка для роста микроорганизмов, концентрация цинка должна быть ниже 3 мг/дм^3 (мг/л), чтобы избежать ложных результатов устойчивости [9]. Эта зависимость была показана для имипенема и может применяться к другим карбапенемам
Даптомицин	В среду необходимо добавить Ca^{2+} до конечной концентрации 50 мг/дм^3 (мг/л)
Ингибиторы метаболизма фолата (сульфаниламиды и триметоприм)	Концентрация тимидина по массе должна быть меньше 0,03 мг/дм^3 (мг/л), что обеспечивает величину МПК менее 0,5/9,5 мг/дм^3 (мг/л), получаемую при исследовании чувствительности *Enterococcus faecalis* WDCM 00087 к триметоприму-сульфаметоксазолу
Фосфомицин	В качестве референтного метода следует использовать только разведение в агаре, поскольку разведение в бульоне ненадежно [4], [6]
Глицилциклины (например, тигециклин)	Следует использовать свежеприготовленную (<12 ч) исследуемую среду. Это может также относиться к другим антимикробным препаратам этого класса. Несмотря на необходимость следового количества марганца для роста микроорганизмов, его концентрация должна быть ниже 8 мг/дм^3 (мг/л), чтобы избежать результатов ложной устойчивости [8]. Это должно определяться значением МПК в пределах допустимого диапазона при исследовании *Escherichia coli* WDCM 00013 с тигециклином
Липогликопептиды (например, албаванцин и оритаванцин)	В бульон необходимо внести 0,002 % v/v полисорбата-80. Это может также относиться к другим антимикробным препаратам этого класса
Оксациллин	При исследовании с оксациллином для выявления у *Staphylococcus* spp. устойчивости к метициллину необходимо внесение в бульон NaCl в концентрации 20 г/дм^3 (г/л)
Хинолоны	Данные исследований активности хинолонов в моче человека позволяют предположить, что снижение активности хинолонов может происходить, когда концентрации магния составляют от 8 до 10 мм [от 100 до 150 мг/дм^3 (мг/л)] в среде Мюллера-Хинтон [18]. Другие данные указывают на то, что от 35 до 60 мг/дм^3 (мг/л) магния вызывают увеличение МПК для нескольких видов бактерий [19], [20]
Тетрациклины	Результаты исследования свидетельствуют о том, что увеличение содержания Ca^{2+} до 50 мг/дм^3 (мг/л) и Mg^{2+} до 25 мг/дм^3 (мг/л) приводит к увеличению МПК *E.coli*, *P.aeruginosa* и других видов *Pseudomonas* в 2—32 раза [12]
Все	Исследование прихотливых микроорганизмов, таких как стрептококки и *Haemophilus* spp., требует использования ростовых добавок (например, крови или компонентов крови) [4], [6]

А.2 Агар

Таблица А.2 — Влияние свойств дегидратированного агара Мюллера-Хинтон на определение чувствительности к антимикробным препаратам

Антимикробные препараты	Комментарии
Аминогликозиды	Концентрации Ca^{2+} и Mg^{2+} в среде должны обеспечивать получение значений диаметров зон подавления роста *Pseudomonas aeruginosa* вокруг дисков с аминогликозидами в пределах ожидаемого диапазона, о чем будет свидетельствовать значение диаметра зоны подавления роста *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00025 вокруг диска с гентамицином в пределах допустимого диапазона
Карбапенемы	Несмотря на необходимость следового количества цинка для роста микроорганизмов, концентрация цинка должна быть ниже 3 мг/дм^3 (мг/л), чтобы избежать ложных результатов устойчивости [9]. Эта зависимость была показана для имипенема и может применяться к другим карбапенемам
Даптомицин	Диско-диффузионный метод не применим
Ингибиторы метаболизма фолата (сульфаниламиды и триметоприм)	Концентрация тимидина по массе должна быть меньше 0,03 мг/дм^3 (мг/л), что проявляется четкой зоной подавления роста триметоприма-сульфаметоксазола более или равно 20 мм в отношении *E.faecalis* WDCM 00210 или диаметром зоны в пределах приемлемого диапазона для *E.faecalis* WDCM 00087
Фосфомицин	В качестве референтного метода следует использовать только разведения в агаре, поскольку метод разведений в бульоне не обеспечивает получения надежных результатов [4], [6]. В исследуемый агар необходимо вносить 25 мг/дм^3 (мг/л) глюкозо-6-фосфата
Глицилциклины (например, тигециклин)	Следует использовать свежеприготовленную (менее 12 ч) исследуемую среду. Это может также относиться к другим антимикробным препаратам этого класса. Несмотря на необходимость следового количества марганца для роста микроорганизмов, его концентрация должна быть ниже 8 мг/дм^3 (мг/л), чтобы избежать результатов ложной устойчивости [8]. Это должно определяться значениями в пределах допустимого диапазона при исследовании *Escherichia coli* WDCM 00013 с тигециклином
Хинолоны	Магний в концентрации от 35 до 60 мг/дм^3 (мг/л) вызывает уменьшение зоны подавления роста и увеличение МПК для нескольких видов бактерий [19], [20]
Тетрациклины	Среда должна содержать кальций и магний в концентрациях, обеспечивающих зоны подавления роста для *P.aeruginosa* и антимикробных препаратов класса аминогликозидов в пределах ожидаемого диапазона диаметра зоны подавления роста с гентамицином и *Pseudomonas aeruginosa* WDCM 00025 в приемлемом диапазоне [12]
Все	Исследование прихотливых микроорганизмов, таких как стрептококки и *Haemophilus* spp., требует использования ростовых добавок (например, крови или компонентов крови) [4], [6]

Приложение В
(справочное)

Приготовление контрольных культур

В.1 Стоковые культуры

Исходные культуры готовят из лиофилизированных культур, полученных из признанных коллекций культур. Культуры восстанавливаются в соответствии с процедурами, определенными коллекцией культур, и поддерживаются таким образом, чтобы свести к минимуму селекцию генетических вариантов. Для одного и того же микроорганизма из разных коллекций культур ниже приведены альтернативные номера (если они имеются). Ниже приведены культуры, необходимые для целей настоящего стандарта:

Staphylococcus aureus	WDCM[a] 00131; ATCC®[b] 29213; NCTC®[c] 12973; CIP[d] 103429; DSM[e] 2569; CCUG[f] 15915; CECT[g] 794
Staphylococcus aureus	WDCM[a] 00034; ATCC®[b] 25923; NCTC®[c] 12981; CIP[d] 76.25; DSM[e] 1104; CCUG[f] 17621; CECT[g] 435
Staphylococcus aureus	WDCM[a] 00211; ATCC®[b] 43300
или	
Staphylococcus aureus	WDCM[a] 00212; NCTC®[c] 12493
Escherichia coli	WDCM[a] 00013; ATCC®[b] 25922; NCTC®[c] 12241; CIP[d] 76.24; DSM[e] 1103; CCUG[f] 17620; CECT[g] 434
Pseudomonas aeruginosa	WDCM[a] 00025; ATCC®[b] 27853; NCTC®[c] 12903; CIP[d] 76.110; DSM[e] 1117; CCUG[f] 17619; CECT[g] 108
Enterococcus faecalis	WDCM[a] 00087; ATCC®[b] 29212; NCTC®[c] 12697; CIP[d] 103214; DSM[e] 2570; CCUG[f] 9997; CECT[g] 795
или	
Enterococcus faecalis	WDCM[a] 00210; ATCC®[b] 33186

[a] WDCM — Всемирный центр данных микроорганизмов, gost.e-ecolog.ru

[b] ATCC — торговая марка продукции, поставляемой Американской коллекцией типовых культур, gost.e-ecolog.ru формация представлена для удобства пользователей настоящим стандартом и не является подтверждением торгового названия со стороны ИСО. Как указано ниже, могут быть использованы эквивалентные продукты.

[c] NCTC — торговая марка продукции, поставляемой Национальной коллекцией типовых культур, коллекцией культур Службы общественного здравоохранения Англии, gost.e-ecolog.ru . Эта информация представлена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является подтверждением торгового названия со стороны ИСО. Как указано ниже, могут быть использованы эквивалентные продукты.

[d] CIP — Коллекция института Пастера, gost.e-ecolog.ru

[e] DSMZ — Немецкая коллекция штаммов микроорганизмов и клеточных культур, gost.e-ecolog.ru

[f] CCUG — Коллекция культур университета Гетеборга, www.ccug.se.

[g] CECT — Испанская коллекция типовых культур, gost.e-ecolog.ru

В.1.1 Приготовление начальной стоковой культуры

Каждый контрольный микроорганизм, перечисленный в разделе В.1, инокулируют на одну или несколько чашек с неселективным питательным агаром (в зависимости от количества замороженных пробирок, которое должно быть приготовлено). Посев на каждую чашку проводят стерильным тампоном или петлей штрихообразными движениями для получения изолированных колоний. Инкубируют чашки в течение 18—24 ч в соответствии с ИСО 20776-1 при температуре от 34 °С до 37 °С.

В.1.2 Приготовление замороженной стоковой культуры

После инкубации проверяют чистоту, собирают весь рост с каждого набора чашек и эмульгируют его в бульоне с гидролизатом соевого казеина [триптиказо-соевый бульон (TSB)], содержащем 15 % массы к объему глицерина для приготовления однородно плотной суспензии. Хранят флаконы при температуре минус 60 °С или ниже. При использовании этого метода культуры должны быть жизнеспособными в течение как минимум одного года. Могут

быть использованы другие методы приготовления исходных культур, если они обеспечивают достаточную жизнеспособность и стабильность. Периодически обновляют исходные культуры из свежих лиофилизированных культур, полученных из признанных коллекций культур.

Примечание — Чтобы приготовить TSB с глицерином, добавляют рекомендованное производителем количество порошка TSB или гранулы для приготовления одного литра, затем добавляют 500 $см^3$ (мл) деионизированной воды и 150 $см^3$ (мл) глицерина. Доводят общий объем до 1 $дм^3$ (л) деионизированной водой, нагревают до полного растворения, хорошо перемешивают и стерилизуют его при температуре 121 °С в течение 15 мин. Разливают суспензию в маленькие стерильные флаконы.

В.1.3 Приготовление тестового инокулюма

Приготовление тестового инокулюма приведено в 4.3.

Приложение С
(справочное)

Рекомендуемая форма для регистрации результатов тестирования производственных партий среды

С.1 Рекомендуемая форма для регистрации результатов тестирования производственных партий бульона Мюллера-Хинтон

Дата:

Номер партии:

Объем партии:

Описание цвета:

Прозрачность:

pH:

Антимикробный препарат	Допустимый диапазон, мг/дм^3 (мг/л)	МПК, мг/дм^3 (мг/л)		
		1	2	3
P.aeruginosa WDCM 00025				
Ципрофлоксацин	0,25—1			
Гентамицин	0,5—2			
Имипенем	1—4			
Пиперациллин-тазобактам	1/4—8/4			
E.coli WDCM 00013				
Ампициллин	2—8			
Цефотаксим	0,03—0,12			
Тигециклин	0,03—0,25			
S.aureus WDCM 00131				
Клиндамицин	0,06—0,25			
Эритромицин	0,25—1			
Оксациллин	0,12—0,5			
Тетрациклин	0,12—1			
Ванкомицин	0,5—2			
E.faecalis WDCM 00087				
Ампициллин	0,5—2			
Триметоприм-сульфаметоксазол	≤0,5/9,5			
Ванкомицин	1—4			
S.aureus WDCM 00211				
Оксациллин	4—32			

Диапазоны подлежат периодическому пересмотру. Необходимо проверить наличие обновлений в последней версии рекомендаций CLSI M100. CLSI, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087, USA [14] или в последней версии таблиц контроля качества EUCAST (gost.e-ecolog.ru).

С.2 Рекомендуемая форма для регистрации результатов тестирования производственных партий агара Мюллера-Хинтон

Дата:

Номер партии:

Объем партии:

Описание цвета:

Прозрачность:

Плотность геля:

pH:

Антимикробный препарат	Содержание в диске, мкг	Допустимый диапазон, мм	Диаметр зоны, ближайшее целое значение, мм		
			1	2	3
S.aureus WDCM 00034					
Амоксициллин-клавуланат	20/10	28—36			
Ампициллин-сульбактам	10/10	29—37			
Цефокситин	30	23—29			
Ципрофлоксацин	5	22—30			
Эритромицин	15	22—30			
Гентамицин	10	19—27			
Линезолид	30	25—32			
Пенициллин	10 единиц	26—37			
Терациклинг	30	24—30			
S.aureus WDCM 00131					
Пенициллин (бензилпенициллин)	1 единица	12—18			
Цефокситин	30	24—30			
Ципрофлоксацин	5	21—27			
Эритромицин	15	23—29			
Гентамицин	10	19—25			
Линезолид	10	21—27			
Тетрациклин	30	23—31			
E.faecalis WDCM 00087					
Ампициллин	2	15—21			
Имипенем	10	24—30			
Линезолид	10	19—25			
Нитрофурантоин	100	18—24			
Триметоприм	5	24—32			
Триметоприм-сульфаметоксазол	1,25—23,75	26—34			
Ванкомицин	5	10—16			

Антимикробный препарат	Содержание в диске, мкг	Допустимый диапазон, мм	Диаметр зоны, ближайшее целое значение, мм		
			1	2	3
E.coli WDCM 00013					
Амоксициллин-клавуланат	20/10	18—24			
Ампициллин	10	15—22			
Цефотаксим	30 или 5	29—35 25—31			
Хлоамфеникол	30	21—27			
Ципрофлоксацин	5	30—40			
Гентамицин	10	19—26			
Сульфизоксазол	250 или 300	15—23			
Тетрациклин	30	18—25			
Тигециклинг	15	20—27			
Триметоприм-сульфаметоксазол	1,25/23,75	23—29			
P.aeruginosa WDCM 00025					
Азтреонам	30	23—29			
Цефтазидим	10 или 30	21—27 22—29			
Ципрофлоксацин	5	25—33			
Гентамицин	10	17—23			
Имипенем	10	20—28			
Пиперациллин-тазобактам	100/10 или 30/6	25—33 23—29			
Томбрамицин	10	20—26			
E.faecalis WDCM 00210					
Триметоприм-сульфаметоксазол	1,25/23,75	≥20			
S.aureus WDCM 00211					
Цефокситин	30	≤21			
S.aureus WDCM 00212					
Цефокситин	30	14—29			

Диапазоны подлежат периодическому пересмотру. Необходимо проверить наличие обновлений в последней версии рекомендаций CLSI M100. CLSI, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087, USA [14] или в последней версии таблиц контроля качества EUCAST (gost.e-ecolog.ru).

Приложение D
(справочное)

Маркировка

D.1 Дегидратированный бульон Мюллера-Хинтон

Если все критерии эффективности для всех комбинаций микроорганизм-антимикробный препарат находятся в допустимых пределах и все физические и химические характеристики соответствуют требованиям, производитель может указать для этой производственной партии, что бульон Мюллера-Хинтон (номер партии) соответствует критериям, изложенным в ИСО 16782 для оценки чувствительности к антибиотикам. Для соответствующих настоящему стандарту партий дегидратированного бульона Мюллера-Хинтон он должен содержать не более 25 мг/дм^3 (мг/л) Ca^{2+}, 12,5 мг/дм^3 (мг/л) Mg^{2+} и должен содержать менее 3 мг/дм^3 (мг/л) Zn^{2+}. Пользователю должен быть предоставлен сертификат анализа, в котором указаны концентрации этих ионов в партии дегидратированной среды и указано, требуется ли дополнительный Ca^{2+} и/или Mg^{2+} для достижения концентраций, указанных в ИСО 20776-1.

D.2 Дегидратированный агар Мюллера-Хинтон

Если все критерии для всех комбинаций микроорганизм-антимикробный препарат находятся в допустимых пределах и все физические и химические характеристики соответствуют требованиям, производитель может указать для этой производственной партии, что агар Мюллера-Хинтон (номер партии) соответствует критериям эффективности, изложенным в ИСО 16782 для оценки чувствительности к антибиотикам. На этикетку изделия или в инструкцию по применению может быть добавлена следующая информация: «Исследование данной партии дегидратированного агара/бульона Мюллера-Хинтон проведено в соответствии с ИСО 16782 и соответствует критериям контроля качества, как указано в ИСО 16782».

Данные должны храниться в архиве, и результаты должны быть доступны любому по запросу.

D.3 Маркировка

На этикетку изделия или в инструкцию по применению может быть добавлена следующая информация: «Исследование данной партии дегидратированного агара/бульона Мюллера-Хинтон проведено в соответствии с ИСО 16782 и соответствует критериям контроля качества, как указано в ИСО 16782».

Данные должны храниться в архиве, и результаты должны быть доступны любому по запросу.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов национальным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ISO 20776-1:2006	IDT	ГОСТ Р ИСО 20776-1—2010 «Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни»
CLSI M100	—	*

* Соответствующий национальный стандарт отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного документа.

Примечание — В настоящей таблице использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандарта:

- IDT — идентичный стандарт.

Библиография

[1] NCCLS. Evaluation of Lots of Dehydrated Mueller-Hinton Broth for Antimicrobial Susceptibility Testing; Proposed Guideline. NCCLS document M32-P. Wayne, PA: NCCLS; 20011

[2] CLSI. Protocols for Evaluating Dehydrated Mueller-Hinton Agar; Approved Standard—Second edition. CLSI document M6-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 20061

[3] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. 2012. Disk diffusion method (for latest version, see gost.e-ecolog.ru)

[4] European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution, EUCAST Definitive Document E.Def 3.1. 2000, 9 pp. 509—515

[5] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition. CLSI document M02-A12. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015

[6] CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Tenth Edition. CLSI document M07-A10. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015

[7] Mueller J.H., & Hinton J. A protein-free medium for primary isolation of the gonococcus and meningococcus. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1941, 48 p. 330

[8] Veenemans J., Mouton J.W., Kluytmans J.A.J.W., Donnely R. Verhulst, C., van Keulen, PHJ. Effect of manganese in test media on in vitro susceptibility of Enterobacteriaceae and Acinetobacter baumannii to tigecycline. J. Clin. Microbiol. 2012, 50 pp. 3077—3079

[9] Daly J.S., Dodge R.A., Glew R.H., Soja D.T., DeLuca B.A., Hebert S. Effect of zinc concentration in Mueller-Hinton agar on susceptibility of Pseudomonas aeruginosa to imipenem. J. Clin. Microbiol. 1997, 35 pp. 1027—1029

[10] Morrison G.H. Critical Reviews in Analytical Chemistry. 1969; (14):28A. ©CRC Press, Boca Raton, Florida

[11] Fuchs P.C., Barry A.L., Brown S.D. Daptomycin susceptibility tests: interpretive criteria, quality control, and effect of calcium on in vitro tests. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 2000, 38 pp. 51—58

[12] Fass R.J., & Barnishan J. Effect of divalent cation concentrations on the antibiotic susceptibilities of non-fermenters other than Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob. Agents Chemother. 1979, 16 pp. 434—438

[13] Swenson J.M., & Thornsberry C. Susceptibility Tests for Sulfamethoxazole-Trimethoprim by a Broth Microdilution Procedure. Curr. Microbiol. 1978, 1 pp. 89—193

[14] CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2016

[15] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 6.0, 2016. http://gost.e-ecolog.ru

[16] Barry A.L., Miller G.H., Thornsberry C. Influence of cation supplements on activity of netilmicin against Pseudomonas aeruginosa in vitro and in vivo. Antimicrob. Agents Chemother. 1987, 31 pp. 1514—1518

[17] Barry A.L., Reller L.B., Miller G.H. Revision of standards for adjusting the cation content of Mueller-Hinton broth for testing susceptibility of Pseudomonas aeruginosa to aminoglycosides. J. Clin. Microbiol. 1992, 30 pp. 585—589

[18] Eliopoulos G.M., & Eliopoulos C.T. Quinolone antimicrobial agents: Activity in vitro. In Wolfson JS, Hooper DC, eds. Quinolone Antimicrobial Agents. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 1989:3:35-70

[19] Auckenthaler R., Michea-Hamzehpour M., Pechere J.C. In vitro activity of newer quinolones against aerobic bacteria. J. Antimicrob. Chemother. 1986, 17 () pp. 29—39

[20] Blaser J., Dudley M.N., Gilbert D., Zinner S.H. Influence of medium and method on the in vitro susceptibility of Pseudomonas aeruginosa and other bacteria to ciprofloxacin and enoxacin. Antimicrob. Agents Chemother. 1986, 29 pp. 927—929

УДК 579.61:006.354 ОКС 11.100.20

Ключевые слова: агар Мюллера-Хинтон, бульон Мюллера-Хинтон, клинические лабораторные исследования, чувствительность к антимикробным препаратам

Редактор *Л.В. Коретникова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *М.В. Лебедевой*

Сдано в набор 27.10.2021. Подписано в печать 15.11.2021. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,40.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «РСТ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru