ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р 70393— 2022

ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКИЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

Приготовление, производство, хранение и испытания питательных сред

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2022

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

1 РАЗРАБОТАН Ассоциацией специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины» (Ассоциация «ФЛМ»), Федеральным бюджетным учреждением науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (ФБУН ГНЦ ПМБ), Федеральным государственным бюджетным учреждением «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России)

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 13 октября 2022 г. № 1132-ст

4 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

© Оформление. ФГБУ «РСТ», 2022

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

Введение

Основные задачи микробиологических исследований, проводимых в микробиологических (бактериологических) лабораториях, связаны с выделением, идентификацией, культивированием, подсчетом, поддержанием и восстановлением жизнеспособности широкого спектра микроорганизмов. Во всех классических методах микробиологического исследования используют питательные среды. Питательные среды, предназначенные производителем для проведения диагностических исследований, в том числе для определения чувствительности к антимикробным препаратам, являются медицинскими изделиями. На территории Российской Федерации разрешается обращение медицинских изделий, прошедших государственную регистрацию в порядке, установленном Правительством Российской Федерации, и медицинских изделий, прошедших регистрацию в соответствии с международными договорами и актами, составляющими право Евразийского экономического союза [1] (статья 38).

Промышленно изготавливается большое количество коммерческих питательных сред. Лаборатории медицинских организаций также изготавливают питательные среды из зарегистрированных сухих питательных сред, относящихся к медицинским изделиям, и необходимых добавок, которые могут не относиться к медицинским изделиям. Результаты микробиологических исследований зависят от способности питательных сред обеспечивать получение достоверных и воспроизводимых результатов.

Применение той или иной питательной среды может зависеть как от особенностей анализируемой пробы (материала, чаще всего биологического материала, полученного от человека), так и от выявляемого микроорганизма. Соответствие питательных сред установленным требованиям является одним из условий надежности любой работы в области микробиологии. Перед проведением исследований необходимо проведение оценки соответствия питательной среды на предмет:

а) пригодности питательной среды для конкретной цели;

б) приемлемости каждой партии (серии) среды;

в) способности среды обеспечивать получение достоверных результатов.

Для возможности сравнения образцов питательных сред одного и того же типа, независимо от источника их получения, должны быть установлены требования в отношении перечня необходимых показателей качества и установлены методы контроля.

Методы контроля должны быть стандартизованы и доступны для всех микробиологических лабораторий.

Критерии приемлемости, установленные в настоящем стандарте, допускается использовать в микробиологических лабораториях для оценки ростовых свойств, селективности и/или элективности питательных сред.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКИЕ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ *IN VITRO*

Приготовление, производство, хранение и испытания питательных сред

IVD medical devices.
Preparation, manufacture, storage and testing of culture media

Дата введения — 2023—10—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает требования к питательным средам, предназначенным для микробиологического анализа. Стандарт распространяется на питательные среды, используемые в медицинской практике для культивирования, транспортирования, выделения, идентификации и определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Настоящий стандарт может быть использован при производстве, разработке и контроле качества питательных сред в санитарной и фармацевтической микробиологии.

Настоящий стандарт применим:

а) к изготовителям питательных сред;

б) лабораториям медицинских организаций, изготавливающим питательные среды для собственного использования;

в) коммерческим организациям, распространяющим питательные среды в форме сухих или готовых к применению сред;

г) испытательным лабораториям, проводящим оценку соответствия питательных сред;

д) потребителям питательных сред — медицинских изделий для диагностики *in vitro* (МИ ИВД).

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ ISO 6222 Качество воды. Подсчет культивируемых микроорганизмов. Подсчет колоний при посеве в питательную агаризованную среду

ГОСТ ISO 7218 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям

ГОСТ ISO 13485 Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования для целей регулирования

ГОСТ ISO 14971 Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям

ГОСТ Р 58144 Вода дистиллированная. Технические условия

ГОСТ Р 59786/ISO/TS 16782:2016 Клинические лабораторные исследования. Критерии приемлемости партий дегидратированных агара и бульона Мюллера-Хинтон, применяемых для оценки чувствительности к антибиотикам

ГОСТ Р ИСО 15189 Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности

ГОСТ Р ИСО 15223-1 Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Основные требования

Издание официальное

ГОСТ Р ИСО 18113-2—2015 Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения

ГОСТ Р ИСО 20776-2 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 2. Оценка функциональных характеристик изделий для испытания антимикробной чувствительности

ГОСТ Р ИСО 23640 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*

Примечание — При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет или по ежегодному информационному указателю «Национальные стандарты», который опубликован по состоянию на 1 января текущего года, и по выпускам ежемесячного информационного указателя «Национальные стандарты» за текущий год. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана недатированная ссылка, то рекомендуется использовать действующую версию этого стандарта с учетом всех внесенных в данную версию изменений. Если заменен ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, то рекомендуется использовать версию этого стандарта с указанным выше годом утверждения (принятия). Если после утверждения настоящего стандарта в ссылочный стандарт, на который дана датированная ссылка, внесено изменение, затрагивающее положение, на которое дана ссылка, то это положение рекомендуется применять без учета данного изменения. Если ссылочный стандарт отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, рекомендуется применять в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **добавка:** Ингредиент питательной среды, обладающий стимулирующим или ингибирующим влиянием на рост микроорганизмов.

3.2

изготовитель: Физическое или юридическое лицо, ответственное за разработку, производство, компоновку, упаковку и маркировку медицинского изделия.

Примечание — Изготовителями также являются те лица, которые выполняют по контракту функции стерилизации, установки, перемаркировки, переделки, переупаковки или разработки спецификаций, и первоначальные дистрибьюторы иностранных предприятий, выполняющие данные функции.

[Адаптировано из ГОСТ Р ИСО 18113-1—2015, пункт 3.36]

3.3 **коммерческие питательные среды:** Питательные среды, изготовленные промышленным способом и приобретенные у производителей или поставщиков питательных сред.

3.4

компонент: Часть завершенного, упакованного и маркированного медицинского изделия.

Примечание — Компонентами могут быть питательные среды, основы, добавки, растворы, калибраторы, предметы для учета результатов.

[Адаптировано из ГОСТ Р ИСО 18113-1—2015, пункт 3.12]

3.5

партия (серия) питательной среды: Полностью прослеживаемая партия материала, представляющая собой определенное количество полуфабриката или готового продукта, являющегося однородным по типу и качеству, соответствующего производственным требованиям (контролю процесса производства) и тестам контроля качества, произведенного в течение одного определенного периода/цикла производства и которому приписан один номер партии (серии).

[Адаптировано из ГОСТ Р ЕН 12322—2010, пункт 3.1]

3.6 **питательная среда:** Смесь веществ в жидком, полутвердом или твердом состоянии, в которую входят природные и/или синтетические ингредиенты, предназначенные для поддержания, размножения (с ингибированием роста определенных микроорганизмов или без него), идентификации,

сохранения жизнеспособности микроорганизмов и определения их чувствительности к антимикробным препаратам.

Примечание — При использовании с дополнительными словами данный термин часто сокращают до слова «среда» (например, «обогатительная среда»).

3.7 **(профессиональный) пользователь:** Специалист испытательной/клинической/бактериологической лаборатории, имеющий компетенцию для проведения испытания питательных сред или микробиологических исследований.

3.8 **приготовление питательных сред:** Подготовка коммерческих питательных сред к использованию в соответствии с инструкцией изготовителя медицинского изделия.

Пример — Подготовка пользователем коммерческих, зарегистрированных в качестве медицинского изделия, обезвоженных питательных сред к применению.

Примечание — Для приготовления питательных сред лабораториям рекомендуется соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15189.

4 Обеспечение качества питательных сред

4.1 Требования к изготовителям питательных сред

Производство питательных сред для применения в клинических и микробиологических лабораториях для диагностических исследований должно соответствовать требованиям ГОСТ ISO 13485.

Лаборатории, изготавливающие питательные среды для собственного использования из компонентов по собственной или рекомендованной рецептуре, или из питательных сред, не являющихся медицинскими изделиями, должны соответствовать требованиям ГОСТ Р ИСО 15189 и обеспечивать контроль в соответствии с требованиями, предъявляемыми к изготовителям.

4.2 Информация, предоставляемая изготовителем коммерческих сред

4.2.1 Идентификация коммерческих сред

В соответствии с ГОСТ Р ИСО 18113-2—2015 (подраздел 4.2) каждый компонент питательной среды должен быть идентифицирован одинаковыми наименованием, буквенным обозначением, номером, символом, цветом окраски или графическим знаком на всех этикетках и в инструкции по применению.

При использовании символов применяют требования ГОСТ Р ИСО 15223-1.

4.2.2 Содержание этикетки внешней упаковки

В соответствии с ГОСТ Р ИСО 18113-2 изготовитель предоставляет следующую информацию об изделии:

- наименование и адрес изготовителя;
- наименование питательной среды (с указанием номера технических условий, при наличии), отдельных ингредиентов, всех добавок;
- код партии (серии);
- способ подготовки к использованию (при необходимости);
- стерильность (для стерильных готовых сред);
- номер регистрационного удостоверения;
- содержимое.

Примечание — Должны быть указаны количество, масса, назначение;

- значение pH готовой среды (для сухих сред);
- информацию об условиях хранения и дату истечения срока годности;
- срок годности;
- предупреждения и предостережения.

Дополнительно приводят сведения, касающиеся безопасности и/или рисков (при необходимости), требований к утилизации.

4.2.3 Содержание этикетки внутренней упаковки

Если внутренняя упаковка является также и внешней, применяют требования, указанные в 4.2.2.

Если размер этикетки внутренней упаковки недостаточен для того, чтобы поместить всю информацию, указанную ниже, информация может быть приведена с использованием штрихкодирования.

Достаточно привести следующую информацию:

- наименование изготовителя или точную торговую марку или логотип;
- наименование среды или компонента;
- код партии (серии);
- содержимое.

Пример — Количество; масса;

- применение для диагностики *in vitro*.

Пример — «Применение для диагностики «in vitro» или графический символ «Изделие медицинское для диагностики in vitro»;

- условия хранения до вскрытия упаковки, необходимые для поддержания стабильности (по возможности);
- иные условия, которые влияют на обращение или хранение, если они отличаются от приведенных на внешней упаковке (по возможности).

Пример — Хрупкость;

- срок годности;
- предупреждения и предостережения.

Если компонент рассматривают как опасный, внутренняя упаковка должна быть маркирована словесным предупреждением или соответствующим(и) символом(ами) опасности.

Примеры — Химические, радиоактивные и биологические опасности.

4.2.4 Содержание инструкций по применению

Инструкция по применению должна содержать следующую информацию:

- наименование и адрес изготовителя;
- наименование изделия (питательной среды и компонентов).

Если наименование не позволяет однозначно идентифицировать изделие, должны быть предоставлены дополнительные способы идентификации.

Примеры — Номер в каталоге, товарный номер;

- предполагаемое применение должно быть описано с соответствующими деталями, включая идентифицируемые микроорганизмы, получаемые от пациентов, если это требуется, назначение (транспортные, селективные и т. д.);
- должны быть описаны преимущества и ограничения применительно к предполагаемому использованию, если это необходимо;
- принцип метода исследования и его подробное описание;
- перечислено любое специальное оборудование, необходимое для выполнения исследования и безопасного применения изделия, но не предоставляемое изготовителем;
- должна быть предоставлена информация относительно функциональных характеристик медицинского изделия для диагностики *in vitro* и средств проверки их соответствия заданным параметрам.

Примечание — Пользователи ответственны за определение надлежащих методик контроля для своей лаборатории и за их соответствие применяемым правилам для лабораторий.

Примеры — Идентификация приемлемых контрольных материалов, частота исследования контрольных материалов;

- подготовка питательной среды к использованию.

Примечание — Должны быть описаны все этапы, необходимые для подготовки среды к использованию;

- интерпретация результатов;
- хранение и срок годности после первого вскрытия упаковки.

Должны быть приведены условия хранения и срок годности после первого вскрытия внутренней упаковки, если они отличаются от условий хранения и срока годности, указанных на внешней маркировке.

Должны быть приведены условия хранения приготовленной питательной среды;

- если хранение, применение или утилизация, включая возможное неправильное применение, сочетаются с опасностью, должна быть приведена информация, которая позволяет пользователю снизить риск. В этом случае применяют требования ГОСТ ISO 14971, имеющие отношение к информации по безопасности.

Примеры — Химическая или биологическая опасность.

4.2.5 Функциональные характеристики питательной среды

Функциональные характеристики питательной среды должны быть представлены изготовителем в документе о качестве (например, заключение о качестве, паспорт/сертификат качества, сертификат анализа) и включать результаты исследования физико-химических и микробиологических свойств в соответствии с назначением и требованиями технической и эксплуатационной документации на питательную среду.

4.3 Процедура приемки готовой продукции

Для каждой партии (серии) продукции (питательной среды или компонентов) должна быть проведена проверка:

- идентификации продукции;
- целостности упаковки;
- даты истечения срока годности продукции;
- сопроводительной документации (например, инструкция по применению, паспорт качества);
- количества образцов продукции, отобранных для обеспечения контроля качества в течение срока годности.

4.4 Хранение

Медицинские изделия хранят в соответствии с требованиями изготовителя, указанными в эксплуатационной документации.

4.5 Приготовление питательных сред в лаборатории

4.5.1 Общие положения

Работы необходимо проводить в соответствии с [2] и эксплуатационной документацией производителя.

Приготовление питательных сред является одним из основных этапов, влияющих на качество и достоверность микробиологического исследования, и ему должно быть уделено особое внимание.

Работы необходимо проводить с осторожностью для операций с сухими средами, отдельными ингредиентами питательных сред или добавками, содержащими токсичные вещества, такие как желчные соли, азид натрия, антибиотики и прочие селективные агенты.

При приготовлении питательных сред необходимо документировать все входные данные, такие как код, номер партии, масса/объем, pH, дату приготовления, условия стерилизации, сведения об изготовителе и поставщике.

При приготовлении сред из отдельных ингредиентов строго следуют рецептуре и последовательности приготовления. Записывают все необходимые входные данные (см. выше), а также полную идентификацию всех используемых ингредиентов (код, номер партии и дату окончания срока годности).

4.5.2 Оценка качества и управление качеством питательных сред и добавок

Питательные среды и различные селективные и ростовые добавки поставляют в форме сухих порошков или гранул, в готовом к применению виде (в жидком, полужидком или твердом виде) в герметично закрытых контейнерах, в чашках Петри или других емкостях.

При вскрытии нового контейнера осуществляют:

- проверку герметичности и целостности упаковки;
- запись даты первого вскрытия;
- визуальную оценку содержимого вскрытых контейнеров.

Любую сухую среду, которая абсорбировала влагу или демонстрирует очевидные изменения внешнего вида (изменение сыпучести порошка, изменение гомогенности, комкование, изменение цвета и т. д.), использовать не допускается.

При вскрытии емкости с питательной средой указывают соответствующую дату и допустимый срок хранения, если он отличается от срока годности среды.

Любую среду в готовом к применению виде со следами нарушения целостности (трещин) на упаковке, с признаками микробного роста (наличие колоний, газообразования, изменения цвета, мутности и др.) использовать не допускается.

4.5.3 Требование к воде, используемой для приготовления питательных сред

При приготовлении питательных сред используют только воду, которая подвергалась предварительной очистке — дистиллированную, деминерализованную, деионизированную, обработанную путем обратного осмоса либо эквивалентного качества, не содержащую веществ, которые могут ингибировать или иным способом повлиять на рост микроорганизмов в условиях испытания (например, следы хлора, аммиака или ионов металлов).

Очищенную воду хранят в герметично упакованных емкостях из инертного материала (нейтральное стекло, полиэтилен и т. п.), который не содержит ингибирующих веществ.

Микробное загрязнение не должно превышать 10^3 колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл ($см^3$), но предпочтительнее — менее 10^2 КОЕ/мл. Микробное загрязнение следует регулярно контролировать в соответствии с ГОСТ ISO 6222.

Примечание — Вода, которая была пропущена через ионообменник (деминерализованная), может содержать весьма значительное количество микроорганизмов. Таким образом, не рекомендуется использовать данный процесс без проверки воды на микробное загрязнение. Для поиска наилучшего способа минимизации микробного загрязнения следует проконсультироваться с производителем. Деминерализованная вода с высоким уровнем загрязнения, даже стерилизованная путем фильтрации, все еще может содержать вещества, подавляющие рост определенных микроорганизмов.

Электропроводность воды, используемой в лаборатории, должна быть не более 25 мкСм/см (что эквивалентно сопротивлению 0,4 МОм·см), но предпочтительно использовать воду с электропроводностью ниже 5,1 мкСм/см (по ГОСТ Р 58144 при температуре 25 °С), если не требуется иное. Электропроводность воды следует проверять перед использованием.

4.5.4 Процессы взвешивания и растворения

Соблюдая необходимые меры предосторожности, аккуратно взвешивают требуемое количество сухой среды или ингредиентов и постепенно смешивают с необходимым количеством воды, избегая образования комков.

Требуемое количество сухой среды для приготовления 1 $дм^3$ (л) указано на этикетке изделия. Для приготовления необходимого объема среды, отличающегося от 1 $дм^3$ (л) и составляющего не менее 0,1 $дм^3$ (л), требуемое количество среды вычисляют пропорционально рекомендованному производителем.

Влажность в помещении, где проводят взвешивание, не должна превышать 60 % [2].

Если необходимо, для растворения сухих сред или отдельных ингредиентов используют периодическое или постоянное перемешивание с последующим нагреванием, при этом следует избегать перегрева. Средам, содержащим агар, перед нагреванием необходимо дать несколько минут на набухание, и затем их при необходимости фильтруют и стерилизуют.

4.5.5 Измерение и регулирование pH МИ ИВД

pH измеряют с помощью pH-метра и корректируют перед стерилизацией, если необходимо, так, чтобы после стерилизации и охлаждения до температуры 25 °С среда имела требуемое значение pH ±0,2 ед. pH, если иные указания отсутствуют. Дополнительная информация об измерениях pH приведена в ГОСТ ISO 7218 и [3].

4.5.6 Стерилизация МИ ИВД

Среду перед стерилизацией разливают по соответствующим емкостям, при этом оставляют достаточное свободное пространство над средой во избежание выкипания среды в процессе охлаждения после тепловой обработки при автоклавировании либо перелива среды после внесения добавок.

Стерилизацию питательных сред и добавок, как правило, проводят насыщенным водяным паром под давлением. Для сред, содержащих термолабильные компоненты, или для термолабильных компонентов используют стерилизующую фильтрацию или кипячение [3].

После стерилизации агаризованные среды охлаждают до температуры 45 °С — 50 °С и разливают в асептических условиях в чашки Петри так, чтобы получить слой необходимой толщины, но не менее 3 мм. При хранении чашек, или при инкубировании более 72 ч, или при температуре инкубирования выше 40 °С может потребоваться больший объем питательной среды до толщины слоя 4—5 мм. После

розлива чашки Петри со средой закрывают крышками и размещают на горизонтальной поверхности для застывания.

При приготовлении кровяных сред или сред с добавками других термолабильных компонентов (сыворотка, антибиотики, ростовые добавки и др.) последние вносят в стерильные среды при температуре 45 °С — 50 °С (или при условиях, заявленных производителем), перемешивают и разливают в чашки Петри.

Среды, готовые к применению и разлитые в стеклянные емкости, расплавляют, поместив их на кипящую водяную баню или в автоклав в режиме текучего пара, как это установлено в ГОСТ ISO 7218, строго следуя инструкции.

Готовые чашки с агаризованной средой следует хранить и использовать в соответствии с инструкциями изготовителя.

4.6 Хранение и срок годности приготовленных сред

4.6.1 Коммерческие питательные среды

Информация об условиях хранения сред приведена в инструкциях по применению, а сроки годности указаны на этикетках МИ ИВД.

4.6.2 Среды, приготовленные в лаборатории

4.6.2.1 Общие положения

Все среды маркируют для обеспечения прослеживаемости.

Инструкции производителя МИ ИВД устанавливают определенные условия и сроки хранения, однако качество МИ ИВД должно быть проверено в конкретных условиях лаборатории.

Среды хранят в условиях, в которых обеспечивают минимальные изменения их состава, в частности в условиях защиты от солнечного света, ультрафиолетового освещения и высыхания. Если их не используют незамедлительно или используют иным образом в соответствии с инструкцией изготовителя, среды хранят в холодильнике при температуре (5 ± 3) °С.

Рекомендуется среды, к которым добавлены лабильные добавки, использовать в день приготовления, если в инструкции изготовителя не указано иное или результаты проверки срока годности в лаборатории не показывают более длительную сохранность. Агаризованные среды, содержащие химически активные и/или лабильные вещества, следует хранить в емкости, в которой осуществляют их плавление.

Перед применением питательные среды рекомендуется выдерживать до установления равновесия их температуры с температурой окружающей среды.

4.6.2.2 Оценка срока годности среды

Дату истечения срока годности для хранимых сред устанавливают путем проверки состояния среды после определенного периода времени хранения на основании ее физико-химических и микробиологических показателей (см. 6.2 и 7.2).

4.7 Утилизация сред

Неиспользованные питательные среды необходимо утилизировать безопасным способом в соответствии с действующими санитарными требованиями для изделий соответствующего класса опасности.

5 Контрольные штаммы

5.1 Общие положения

Набор тест-штаммов для оценки качества питательных сред должен содержать микроорганизмы со стабильными характеристиками, которые являются показательными для данного вида и которые демонстрируют надежность оптимальных эксплуатационных характеристик конкретной приготовленной среды.

5.2 Выбор тест-штаммов

Тест-штаммы должны быть рекомендованы, например клиническими рекомендациями, методическими или практическими рекомендациями, нормативными документами, и быть легко доступны при их получении из коллекций эталонных культур.

Набор контрольных штаммов должен включать в себя референтные штаммы микроорганизмов, полученные из государственных или референтных коллекций микроорганизмов.

Примеры

1 Государственная коллекция патогенных микроорганизмов (ГКПМ) [Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России (ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России)].

2 Государственная коллекция патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболенск) [Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора)].

Набор контрольных штаммов может включать в себя хорошо охарактеризованные положительные (чувствительные, хорошо растущие), слабо положительные (слабо чувствительные, плохо растущие) или отрицательные (нечувствительные, подавленные или заторможенные) микроорганизмы. Контрольные штаммы могут быть выбраны в соответствии с задачами исследования или рекомендациями изготовителя. Вместе с тем допускается использовать штаммы, выделенные в лаборатории, если они демонстрируют требуемые характеристики.

5.3 Подготовка тест-штаммов для проведения испытаний/исследований, включая хранение, восстановление культур после хранения, контроль тест-штаммов на отсутствие диссоциации, приготовление рабочей культуры и посев должны быть осуществлены в соответствии с требованиями [2].

6 Методы контроля питательных сред

6.1 Общие положения

Контроль питательных сред осуществляют для всех видов питательных сред независимо от размера партии. Изготовитель обязан испытывать каждую серию сухой или готовой к применению питательной среды на соответствие всем установленным требованиям.

Потребитель проводит оценку соответствия качества установленным требованиям всех используемых питательных сред. Испытанию подлежит каждая серия сухой или готовой к применению коммерческой питательной среды, а также каждая партия среды, изготовленная в лаборатории для собственного использования. Серию коммерческой сухой питательной среды оценивают на соответствие внешнего вида (физического состояния, цвета) и значения pH. Если процедура приготовления из сухих коммерческих сред валидирована, возможна проверка специфических свойств выборочно или однократно для вновь полученной серии. При введении в состав сред биологических жидкостей (кровь, сыворотка крови) или других добавок контроль осуществляют для каждой процедуры приготовления (варки в лаборатории) питательной среды.

Потребитель, использующий коммерческие готовые питательные среды или среды, изготовленные в лаборатории для собственного использования, осуществляет проверку качества на соответствие внешнего вида, прозрачности, цветности, pH (для коммерческих сред при наличии указания в инструкции по применению), стерильности специфическим свойствам (ростовые, дифференцирующие, ингибирующие или др.) и иным значимым показателям. Оценку специфических свойств питательных сред для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (АМП) проводят для каждой новой серии с набором АМП или дисков, их содержащих.

Примечание — Серия/партия промышленно-изготовленной готовой к применению питательной среды, зарегистрированной в качестве медицинского изделия для диагностики *in vitro*, может быть признана пригодной для использования на основании проверки сопроводительной документации, подтверждающей качество произведенной серии/партии МИ ИВД.

6.2 Определение физико-химических показателей

6.2.1 Оценке качества по физико-химическим показателям должны подвергаться:

- сухие (обезвоженные) питательные среды;
- среды, изготовленные в лаборатории для собственного использования;
- компоненты питательной среды.

Каждая партия (серия) готовой питательной среды должна иметь физико-химические характеристики, соответствующие установленным в инструкции изготовителя МИ ИВД.

6.2.2 Определение внешнего вида МИ ИВД

Внешний вид (физическое состояние, цветность, прозрачность для сред, готовых к применению, гигроскопичность для сухих сред) определяют визуально [2].

Пример — Сухой порошок желтого цвета; гель темно-коричневого цвета.

6.2.3 Определение прозрачности и цветности МИ ИВД

Прозрачность и цветность готовых сред, разлитых во флаконы, пробирки, определяют визуально в проходящем свете. Агаризованные среды, разлитые во флаконы или пробирки, предварительно расплавляют в кипящей водяной бане и разливают в чашки Петри слоем от 4 до 5 мм.

6.2.4 Определение растворимости МИ ИВД

Сухая питательная среда/компоненты в количестве, необходимом для приготовления партии питательной среды, должны растворяться при перемешивании и, если необходимо, при кипячении в течение 2—3 мин. Сухая питательная среда/компоненты считаются растворившимися, если в растворе при визуальном наблюдении в проходящем свете не обнаруживают частицы вещества.

Для сухих сред, образующих при растворении мутные растворы, соответствующее указание должно быть приведено в инструкции по применению.

6.2.5 Определение pH МИ ИВД

Определение pH сухих сред/компонентов проводят потенциометрическим методом в соответствии с требованиями [3] после растворения или экстрагирования (при анализе сред, содержащих агар).

Навеску массой 2 г растворяют или суспендируют в 100 мл очищенной воды, настаивают при перемешивании в течение 1 ч при температуре 18 °С — 25 °С и затем фильтруют через бумажный фильтр.

Определение pH готовых агаризованных сред проводят потенциометрическим методом с использованием комбинированного прокалывающего микроэлектрода, предназначенного для измерения pH в полутвердых веществах или с помощью электрода с плоским кончиком. Измерение проводят путем погружения электрода на глубину от 0,5 до 1,0 см в гель, предварительно разлитый по 15—20 мл в мерные стаканчики объемом 20 мл с последующим застудневанием в течение 1 ч. Возможно также определение pH в расплавленной и охлажденной до температуры 40 °С — 50 °С среде или экстракте, приготовленном добавлением 100 мл очищенной воды (pH 7,0—7,2) к 2 г измельченного геля среды, настаивании в течение 1 ч при температуре 18 °С — 25 °С с периодическим перемешиванием стеклянной палочкой и последующим фильтрованием через бумажный фильтр.

6.2.6 Определение потери в массе при высушивании проводят методом высушивания по [3].

6.2.7 Определение содержания аминного азота проводят методом формольного титрования по [3].

6.2.8 Определение содержания хлоридов проводят аргентометрическим методом по [3].

6.2.9 Определение прочности геля агаровых сред осуществляют методом определения массы нагрузки, необходимой для разрушения структуры образца, на приборе Валента по [3].

6.2.10 Определение температуры застудневания геля агаризованных сред проводят визуально с использованием термометра в соответствии с требованиями [2].

6.2.11 Определение температуры и продолжительности плавления геля агаризованных сред

Определение проводят визуально с использованием термометра в соответствии с требованиями [2]. Продолжительность плавления среды во флаконах не должна превышать 1 ч.

6.2.12 Определение срока годности

Определение срока годности при хранении питательных сред, включая условия транспортирования, подходящие для обеспечения сохранения характеристик продукта, проводят методом выемки проб и последующего анализа качества по физико-химическим и микробиологическим показателям в соответствии с требованиями [2] и ГОСТ Р ИСО 23640. Для сухих сред также используют метод «ускоренного старения» [2].

6.2.13 Определение стабильности

Установление стабильности питательных сред при использовании после первого открытия первичной упаковки проводят по ГОСТ Р ИСО 23640.

7 Общие требования для микробиологических испытаний

7.1 Общие положения

Для проведения оценки качества серии/партии готовой питательной среды определяют параметры роста при помощи количественных или качественных методов.

Готовую среду инокулируют объемом рабочего разведения тест-штамма целевого микроорганизма (для которого предназначена питательная среда) и нецелевого микроорганизма и визуально (или под малым увеличением микроскопа) изучают характер его роста. Рост микроорганизмов оценивают с помощью количественных (для плотных сред), полуколичественных или качественных методов.

Для оценки результатов качественным методом определяют наличие и характер роста каждого из тест-штаммов. Рост целевых тест-штаммов должен быть типичным по цвету, размеру и морфологии колоний; рост нецелевых тест-штаммов должен частично или полностью подавляться. Оценка результатов в данном случае может быть выполнена с помощью шкалы роста, например, от 0 до 3 плюсов (+).

Примечание — При оценке плотной среды цифра «0» соответствует отсутствию роста, «1+» — очень слабому росту (менее 10 колоний), «2+» — наличию роста (раздельно расположенные колонии), «3+» — очень выраженному росту (сливающиеся колонии). При оценке жидкой среды или полужидкой среды цифра «0» характеризует отсутствие мутности, «1+» — незначительную мутность и «2+» — значительную мутность.

Для оценки результатов количественным методом при интерпретации ингибирующих, накопительных или задерживающих рост микроорганизмов свойств среды подсчитывают количество выросших колоний на тестируемой и контрольной (среде без селективных добавок) средах и определяют ингибирующие, дифференцирующие, нейтрализующие и/или иные соответствующие назначению среды свойства. Требования к специфической активности зарегистрированных в установленном порядке бактериологических питательных сред и добавок перечислены в [2] (приложение 2). При выполнении работ с микроорганизмами соблюдают требования безопасности в соответствии с [3].

7.2 Микробиологические показатели, характеризирующие специфическую активность и качество питательных сред:

- чувствительность среды и стабильность основных биологических свойств микроорганизмов;
- скорость роста микроорганизмов;
- дифференцирующие свойства;
- ингибирующие свойства (или селективность);
- эффективность;
- стерильность;
- чистота розлива;
- сохранение жизнеспособности микроорганизмов в транспортных средах;
- чувствительность контрольных штаммов микроорганизмов к антимикробным препаратам.

Перечень показателей и их характеристики, необходимые для контроля основных групп питательных сред, приведен в [3] (приложение 1).

7.2.1 Определение чувствительности среды и стабильности основных биологических свойств микроорганизмов

Чувствительность среды определяют как максимальное разведение тест-штамма, обеспечивающее визуально обнаруживаемый рост искомого микроорганизма в течение определенного времени и при определенной температуре на всех засеянных чашках/пробирках с питательной средой (в соответствии с инструкцией изготовителя).

7.2.2 Определение скорости роста микроорганизмов

Скорость роста в часах определяют по минимальному времени инкубации посевов, за которое при соответствующем разведении (не менее 100 жизнеспособных клеток) обеспечивается отчетливый видимый невооруженным глазом рост культуры (помутнение, наличие пленки, осадка, роста по уклону и др.) во всех засеянных пробирках с жидкими (полужидкими) питательными средами или формирование типичных, легко дифференцируемых колоний на чашках/пробирках с плотной средой.

7.2.3 Определение дифференцирующих свойств

Дифференцирующие свойства среды — выраженность отличительных признаков различных микроорганизмов и естественных ассоциантов по структурным особенностям колоний, их окраске, изменению цвета и другим признакам. Дифференцирующие свойства определяют для питательных сред, предназначенных для идентификации, выделения по следующим тестам:

а) выраженность дифференцирующего признака — структура колоний, цвет колоний, изменение цвета среды под колониями, ореол вокруг них, диаметр последнего, появление диффузного изменения цвета среды;

б) четкость дифференциации колоний группы патогенных микроорганизмов от непатогенных, входящих в тот же систематический таксон, и от естественных микробов-ассоциантов при посеве смесей.

7.2.4 Определение ингибирующих свойств

Ингибирующие свойства определяют для селективных сред как степень подавляющего воздействия на рост и/или проявление типичных свойств нецелевого микроорганизма.

При испытании суспензию нецелевого микроорганизма, содержащую от 10^4 до 10^6 КОЕ/мл, инокулируют на слой среды в чашке Петри или в пробирку со средой.

Ингибирующие свойства выражают как минимальное разведение, при посеве из которого полностью отсутствует рост и/или проявление типичных свойств нецелевого микроорганизма на испытуемой среде при его наличии на среде выращивания (неселективной среде).

Показатель ингибиции определяют как величину отношения среднего числа сформировавшихся колоний нецелевого микроорганизма на неселективной среде (среде выращивания) к среднему числу колоний на испытуемой селективной среде с учетом разведения.

7.2.5 Определение эффективности

Среды, предназначенные для накопления микроорганизмов (накопительные питательные среды), оценивают по их эффективности и/или показателю эффективности.

Эффективность среды — выход микробных клеток (в миллиардах) с 1 мл питательной среды (в миллиардах на миллилитр).

Показатель эффективности — прирост числа микроорганизмов относительно засеянного.

Оценку качества накопительных питательных сред по показателю эффективности проводят путем определения концентрации микробных клеток в среде после соответствующей инкубации.

Прирост числа микроорганизмов в накопительной питательной среде в процессе инкубации посевов Э, %, в течение соответствующего времени t вычисляют по формуле

$$Э = \frac{n_t \cdot K}{n_0}, \quad (1)$$

где n_t — среднее число колоний на чашках после инкубации культуры в жидкой (полужидкой) накопительной среде;

n_0 — среднее число колоний при «нулевом посеве»;

K — степень разведения.

7.2.6 Определение стерильности

Определение стерильности готовой среды проводят визуально путем просмотра от 3 % до 5 % МИ ИВД каждой партии после инкубации в термостате при температуре 37 °С в течение 2—14 сут или в условиях инкубирования, рекомендуемых для каждой среды.

7.2.7 Определение чистоты розлива

Среды, приготавливаемые из сухих сред или отдельных ингредиентов и/или разливаемые в лаборатории в чашки Петри (пробирки), контролируют на чистоту розлива. В зависимости от объема розлива необходимо проверять 1—2 чашки/пробирки или 1 % чашек/пробирок в начале и столько же в конце процесса розлива среды. Чашки/пробирки следует инкубировать не менее 18 ч при температуре 37 °С или в условиях инкубирования, рекомендуемых для каждой среды.

7.3 Определение сохранения жизнеспособности и стабильности основных биологических свойств микроорганизмов в транспортных средах и системах

7.3.1 Определение проводят одним из следующих методов:

- методом посева тампоном (полуколичественный метод);
- методом элюирования (элюции) тампона (количественный метод).

7.3.2 Полуколичественный метод посева тампоном

Для проведения исследования используют панель тест-штаммов* микроорганизмов, которая включает аэробные и факультативно-анаэробные бактерии, облигатные анаэробные бактерии и требовательные бактерии.

Для контроля качества рекомендуется отбирать тест-штаммы, принадлежащие к каждой из перечисленных групп (аэробные и факультативно-анаэробные, облигатные анаэробные и требовательные бактерии).

Все образцы транспортных сред тестируют параллельно с одним и тем же исходным посевным материалом для каждого используемого микроорганизма.

7.3.2.1 Приготовление рабочих культур

Лиофилизированные тест-штаммы восстанавливают и выращивают на соответствующих неселективных средах в необходимых условиях, определенных инструкциями коллекций микроорганизмов. Выросшие штаммы можно хранить в соответствующей криозащитной среде при температуре не выше минус 50 °С (предпочтительно при температуре ниже минус 70 °С) и использовать для тестирования.

Примечание — Время от подготовки суспензии микроорганизмов до инокулирования в транспортную среду не должно превышать 20 мин для аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов и 10 мин для облигатных анаэробов.

При необходимости суспензии тест-штаммов в криозащитной среде размораживают и высевают на соответствующие питательные среды для приготовления рабочих культур. В качестве альтернативы для тестирования можно использовать субкультуру, не допуская более пяти пересевов.

7.3.2.2 Приготовление инокулята и инокуляция в транспортные среды

Из изолированных колоний тестируемых микроорганизмов готовят суспензии в стерильном 0,85 %-ном растворе хлорида натрия с pH 6,8—7,2, используя стандартный образец мутности бактериальных взвесей**.

Рекомендуемая плотность суспензии соответствует приблизительно 1×10^9 клеток/мл.

Примечание — Концентрацию исходного инокулята проверяют путем десятикратных серийных разведений до 10^{-2}, и по 0,1 мл из каждого разведения в двух повторах засевают на чашки Петри с соответствующей неселективной средой и инкубируют. Допустимые пределы инокулята должны находиться в диапазоне от 1×10^8 до 1×10^9 КОЕ/мл.

Используя метод серийных десятикратных разведений, исходную суспензию микроорганизмов разводят в стерильном 0,85 %-ном растворе хлорида натрия с pH 6,8—7,2 до разведений 10^{-3}—10^{-5}, что соответствует концентрации 10^6—10^4 клеток/мл.

Примечание — Для исследований чрезмерного роста проводят дополнительное разведение 10^{-6} для аэробных бацилл. Исследования чрезмерного роста при хранении в транспортных средах проводят при температуре от 2 °С до 8 °С.

Пример — Для исследования чрезмерного роста используют P. aeruginosa B-7901 ГКПМ-Оболенск.

Полученные суспензии тест-штаммов разливают по 0,1 мл (при использовании стандартных тампонов из крученого волокна или флокированных тампонов) в пробирки или в лунки микротитрационных планшетов.

Примечание — Для тампонов из поролона и мини-тампонов в пробирки или лунки разливают необходимые объемы в соответствии с таблицей 1.

---

* Например, P. aeruginosa B-7901 ГКПМ-Оболенск (аналог ATCC BAA-427), S. pyogenes ATCC 19615, S. pneumoniae B-7398 ГКПМ-Оболенск (аналог ATCC 6305), H. influenzae B-7901 ГКПМ-Оболенск (аналог ATCC 10211), B. fragilis ATCC 25285, P. anaerobius ATCC 27337, F. nucleatum ATCC 25588, P. acnes ATCC 6919, P. melaninogenica ATCC 25845, N. gonorrhoeae B-7913 ГКПМ-Оболенск (аналог ATCC 43069), N. meningitidis B-6621 ГКПМ-Оболенск (аналог ATCC 13077). ATCC — Американская коллекция типовых культур.

** Например, стандартный образец мутности бактериальных взвесей 10 МЕ (ОСО 42-25-59-85 П).

Таблица 1 — Корректирование инокулята в зависимости от типа тампона

Изделие	Объем
Стандартные тампоны из крученого волокна	100 мкл на один тампон
Флокированные тампоны	100 мкл на один тампон
Поролоновые тампоны	50 мкл на один тампон
Мини-тампоны	20 мкл на один тампон

Тампоны помещают в инокулят до полного впитывания жидкости (на 10 с), после чего их переносят в пробирки с транспортной средой так, чтобы тампон не доходил до дна пробирки 1,5—2,0 см и не касался ее стенок.

Для каждой комбинации тест-штамм/тампон требуется как минимум шесть пробирок с транспортной средой (три для определения инокулята с нулевым временем и три для определения инокулята после хранения). Также могут быть испытаны три образца для других условий хранения, например 24 ч.

Каждый из трех тампонов помещают в транспортную среду на 5—15 мин (нулевое время), на 24 ч (если необходимо), три тампона — на 48 ч. Пробирки с транспортной средой плотно закрывают и оставляют при соответствующей температуре (например, 2 °С — 8 °С или 20 °С — 25 °С) на установленный срок.

7.3.2.3 Посев на чашки и учет результатов

После соответствующего времени хранения для каждого разведения микроорганизмов тампоны извлекают из транспортной среды и проводят посев вращательными движениями тампона по всей поверхности соответствующих питательных сред (как бы прокатывая тампон), поворачивая чашку примерно на 60° каждый раз, чтобы обеспечить равномерное распределение инокулята.

Посевы инкубируют в условиях, соответствующих инструкции изготовителя, и затем проводят визуальный подсчет КОЕ. Для статистически достоверного результата в качестве итогового количества колоний рекомендуется использовать среднее значение КОЕ на трех чашках Петри (трех тампонах). Необходимо учитывать одно и то же разведение для нулевого времени и 24 или 48 ч хранения. Для получения достоверных результатов используют чашки Петри, засеянные тампонами с нулевым временем хранения, количество КОЕ на которых не должно превышать 250.

Для исследования чрезмерного роста, чтобы получаемые результаты были достоверными, на чашках, засеянных тампонами с нулевым временем хранения, среднее значение КОЕ должно находиться в пределах от 5 до 50.

7.3.2.4 Критерии приемлемости

Исследование жизнеспособности методом посева тампоном считается приемлемым, если после хранения в транспортной среде остается не менее 5 КОЕ в том же разведении, из которого при нулевом посеве вырастает около 250 колоний (уменьшение КОЕ примерно в 50 раз).

В случае чрезмерного роста результаты исследования считаются приемлемыми при увеличении КОЕ не более, чем на 1 десятичный логарифм (1 lg), при подсчете на чашке Петри, засеянной после хранения из того же разведения, что и при нулевом посеве.

Пример — Если 15 КОЕ выросло на чашке Петри с нулевым временем хранения, тогда значение не более 150 КОЕ после хранения приемлемо для данной конкретной комбинации тест-штамм/тампон.

7.3.3 Количественный метод элюирования (элюции) тампона

7.3.3.1 Приготовление инокулята

Исходную суспензию тест-штамма микроорганизма, приготовленную по 7.3.2.2, разводят в 10 раз в стерильном 0,85 %-ном растворе хлорида натрия с pH 6,8—7,2 до концентрации примерно 1×10^8 КОЕ/мл. Дальнейшие разведения инокулята проводят в зависимости от используемого типа тампона в соответствии с таблицей 2.

Таблица 2 — Корректирование инокулята для количественного метода в зависимости от типа тампона

Наименование изделия	Степень разведения суспензии с концентрацией 1 × 10^8 КОЕ/мл	Объем
Стандартные тампоны из крученого волокна	1:10	100 мкл на один тампон
Флокированные тампоны	1:10	100 мкл на один тампон
Поролоновые тампоны	1:5	50 мкл на один тампон
Мини-тампоны	1:2	20 мкл на один тампон

Пример — При работе со стандартным или флокированным тампонами суспензию 1 × 10^8 КОЕ/мл разводят в 10 раз в стерильном 0,85 %-ном растворе хлорида натрия до концентрации примерно 1 × 10^7 КОЕ/мл.

7.3.3.2 Инокуляция тампонов и транспортных сред

Приготовленную суспензию разливают в пробирки или в лунки микротитрационных планшетов по 0,1 мл (при работе со стандартным или флокированным тампонами). При работе с другими типами тампонов суспензию разливают в соответствии с таблицей 2.

Для каждой комбинации тест-штамм/тампон требуется как минимум шесть пробирок (три для исследования инокулята с нулевым временем и три для исследования инокулята после хранения). Также могут быть испытаны три образца для промежуточных условий хранения, например 24 ч.

Тампоны помещают в инокулят до полного впитывания жидкости (на 10 с). После этого каждый тампон переносят в пробирки с транспортной средой так, чтобы тампон не доходил до дна пробирки 1,5—2,0 см и не касался ее стенок. Оставляют на хранение в течение 5—15 мин (нулевое время), 24 ч (если используется) и 48 ч.

Концентрация инокулята, внесенного тампоном в транспортную среду, составляет приблизительно 1 × 10^6 КОЕ.

7.3.3.3 Определение концентрации тест-штаммов после хранения в транспортных средах

По окончании времени экспозиции тампоны извлекают из транспортной среды и в зависимости от типа тампона и тестируемой транспортной среды выполняют следующие манипуляции для количественного подсчета КОЕ:

- стандартные тампоны из крученого волокна, хранившиеся в агаризованных транспортных средах, помещают в пробирку, содержащую 1 мл 0,85 %-ного физиологического раствора (pH от 6,8 до 7,2), содержимое которой энергично перемешивают тампоном или с помощью вихревой мешалки, не удаляя тампон как минимум 10—15 с. Данную пробирку принимают за первое разведение (1-е разведение).

Примечание — Поскольку при перемешивании (встряхивании) может образовываться аэрозоль, перед встряхиванием пробирку необходимо закрыть крышкой;

- для тампонов с флокированным или поролоновым наконечником, хранившихся в жидкой транспортной среде, не требуется данной процедуры разбавления. Пробирка с жидкой транспортной средой является первым разведением (1-е разведение);

- с помощью пипетки переносят 0,1 мл содержимого из пробирок 1-го разведения в пробирку с 0,9 мл 0,85 %-ного хлорида натрия (pH от 6,8 до 7,2). Далее проводят три десятикратных разведения в 0,85 %-ном растворе хлорида натрия.

Примечание — При извлечении тампонов из физиологического раствора или жидкой транспортной среды аккуратно открывают пробирку, чтобы избежать попадания аэрозолей, тщательно отжимают тампон вращением о стенки пробирки, удаляют его и обеззараживают.

По 0,1 мл суспензии из всех полученных разведений высевают на чашки Петри с соответствующей питательной средой для каждого используемого тест-штамма. По окончании инкубации подсчитывают количество выросших колоний и усредняют КОЕ. Для получения достоверных результатов необходимо учитывать чашки Петри, засеянные после нулевого времени хранения, в которых выросло от 25 до 250 КОЕ.

7.3.3.4 Критерии приемлемости для количественного метода элюирования тампоном

а) Образцы, хранившиеся при контролируемой комнатной температуре (от 20 °С до 25 °С)

Результат считается приемлемым при снижении КОЕ в течение времени хранения (от нулевого до 24 или 48 ч) не более чем на 3 lg [(1 × 10^3) ± 10 %].

Пример — Если в чашке Петри с нулевым временем хранения присутствует 1×10^6 КОЕ, то значение от $(1 \times 10^3) \pm 10^2$ КОЕ до $(1 \times 10^6) \pm 10^5$ КОЕ после инкубации в течение определенного периода времени является приемлемым для данного конкретного микроорганизма и устройства.

Интенсивный рост некоторых микроорганизмов, особенно грамотрицательных, в транспортных средах, транспортируемых или хранящихся при контролируемой комнатной температуре, продолжает оставаться серьезной проблемой, поэтому контроль качества транспортных сред обычно не проводят при температуре хранения от 20 °С до 25 °С.

б) Образцы, хранившиеся при низкой температуре от 2 °С до 8 °С

Контроль качества для образцов, хранившихся при низкой температуре, включает оценку чрезмерного бактериального роста, определяемого как увеличение КОЕ не более чем на один логарифм в процессе хранения.

Поэтому считается приемлемым для образцов, выдерживаемых при низкой температуре, увеличение КОЕ не более чем на один логарифм и снижение КОЕ не более чем на 3 lg [(1×10^3) + 10 %] между нулевым моментом времени и после указанного периода хранения.

Каждая серия транспортной среды должна соответствовать критериям приемлемости для каждого тестируемого микроорганизма. Если с одним микроорганизмом транспортная среда не прошла контроль качества, в то время как другие результаты являются приемлемыми, то транспортная среда подлежит повторному тестированию с данным тест-штаммом. Если повторные результаты будут приемлемы, то партия транспортной среды считается приемлемой.

7.4 Определение чувствительности контрольных штаммов микроорганизмов к антимикробным препаратам

Данный показатель определяют для сред специального назначения, используемых для определения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (АМП) диско-диффузионным методом или методом микроразведений в бульоне.

Пример — Агар Мюллера-Хинтон, бульон Мюллера-Хинтон.

Данный показатель определяют, как способность среды обеспечивать получение значений диаметров зон подавления роста контрольных штаммов вокруг дисков с АМП или значений минимальных подавляющих концентраций АМП (МПК), находящихся в пределах допустимых диапазонов.

Требования к качеству питательных сред, их приготовлению, подготовке контрольных штаммов микроорганизмов, а также методика проведения исследования приведены в ГОСТ Р 59786, ГОСТ Р ИСО 20776-2.

7.5 Оценка эксплуатационных характеристик и интерпретация результатов

Партия питательной среды демонстрирует удовлетворительные эксплуатационные характеристики, если все используемые тест-микроорганизмы проявляют свои свойства в соответствии с описанием их характеристик в инструкциях коллекций микроорганизмов, из которого были получены соответствующие тест-штаммы. Партия считается приемлемой, если физико-химические и микробиологические показатели качества соответствуют критериям, установленным производителем в технической и эксплуатационной документации для МИ ИВД.

Примечание — При оценке роста соответствующие тест-штаммы должны достигать роста за определенный промежуток времени с типичной морфологией и размером колоний и/или ожидаемым числом колоний.

Библиография

[1] Федеральный закон от 21 ноября 2011 г. № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации»

[2] МУК 4.2.2316–08 Методические указания. Методы контроля бактериологических питательных сред

[3] СанПиН 3.3686–21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней

УДК 61:006.354 ОКС 11.100

Ключевые слова: питательная среда, приготовление питательных сред, производство питательных сред, хранение питательных сред, определение показателей качества, качество питательных сред, микробиологический анализ

Редактор *Н.В. Таланова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Ю. Митрофанова*
Компьютерная верстка *М.В. Малеевой*

Сдано в набор 17.10.2022. Подписано в печать 28.10.2022. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,32. Уч.-изд. л. 2,12.

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