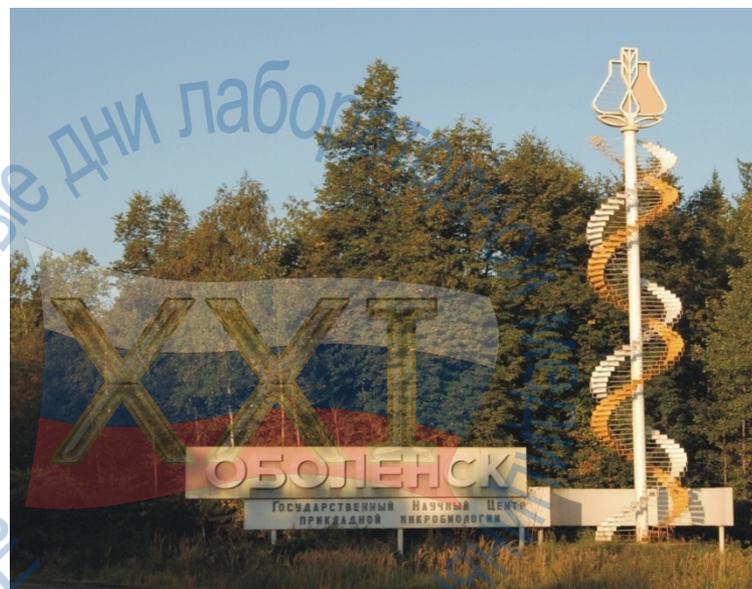


# Пути повышения качества микробиологических исследований

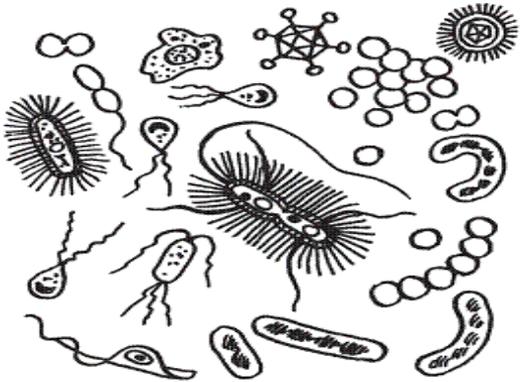


Домотенко Л.В., к.х.н.  
Зав. лаб. ФБУН ГНЦ ПМБ

Москва

20 сентября 2017 г.

РОССИИ



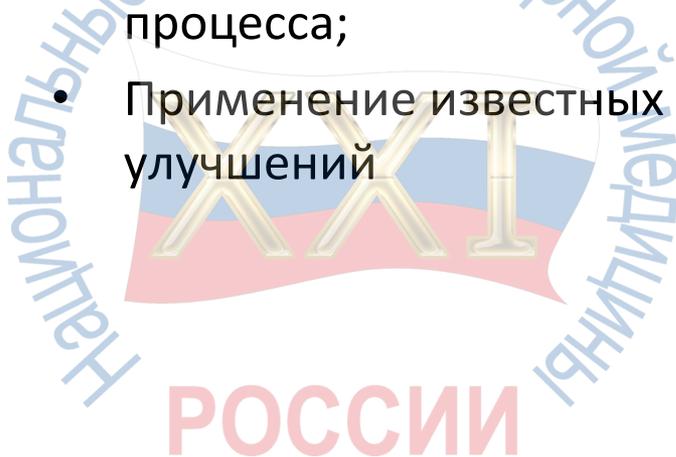
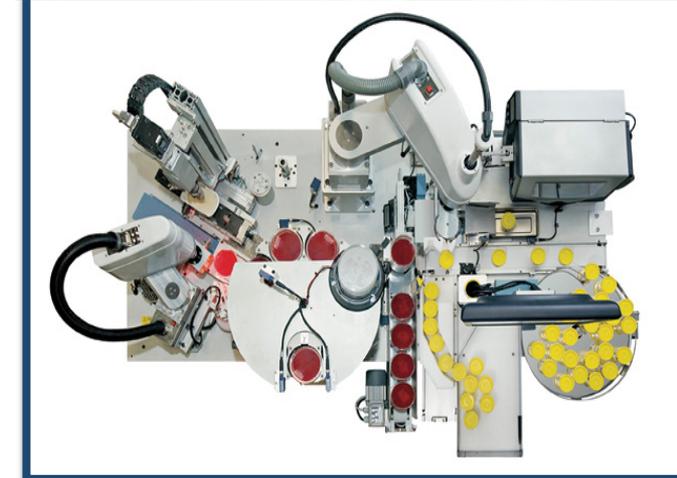
# Основные проблемы современной микробиологии

- Высокий уровень инфекционных болезней,
- «Возвращающиеся и вновь возникающие инфекции»,
- Рост инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи,
- Глобализация проблемы антибиотикорезистентности,
- Биологическое загрязнение объектов окружающей среды



# Новые подходы в организации современной микробиологической диагностики

- Информатизация и централизация лабораторных исследований, позволяющая значительно повысить эффективность исследований, сократить затраты и повысить качество предоставляемых услуг;
- Внедрение высокотехнологичных современных лабораторных технологий,
- Поиск индикаторов качества лабораторного процесса;
- Применение известных технологий управления и улучшений



# Система менеджмента качества (СМК)

Скоординированные действия,  
направляющие и  
контролирующие деятельность  
организации на всех этапах



Требования к хорошо функционирующей системе менеджмента (управления) качеством сформулированы в стандартах качества



# Основные стандарты



МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ  
(MTC)  
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION  
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
СТАНДАРТ

ГОСТ ИСО/МЭК  
17025—  
2009

## ОБЩИЕ ТРЕБОВАНИЯ К КОМПЕТЕНТНОСТИ ИСПЫТАТЕЛЬНЫХ И КАЛИБРОВОЧНЫХ ЛАБОРАТОРИЙ

ISO/IEC 17025:2005  
General requirements for the competence of testing and calibration laboratories  
(IDT)

Издание официальное

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО  
15189—  
2015

## ЛАБОРАТОРИИ МЕДИЦИНСКИЕ

Частные требования  
к качеству и компетентности

ISO 15189:2012  
Medical laboratories — Requirements for quality and competence  
(IDT)

Издание официальное





- 5.3.2. 3. Каждая новая партия реагентов и расходных материалов, **которые влияют на результат исследования**, и к которым относятся *питательные среды*, должны быть **верифицированы** в отношении функциональных характеристик перед использованием для исследований
- Верификации подвергаются расходные материалы, которые используются на всех этапах исследования



# Проблемы преаналитического этапа

- Наиболее уязвимые моменты этого этапа - сбор и транспортировка клинического образца в лабораторию
- Лаборатории клинической микробиологии чаще всего получают образцы инфицированного материала на тампонах в транспортных системах, от качества которых зависит успех выделения культуры



# Отечественные стандарты

Федеральная служба в сфере защиты прав потребителей  
и благополучия человека

4.2. МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ. БИОЛОГИЧЕСКИ  
И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ

Техника сбора и транспортирования  
биоматериалов в микробиологической  
лаборатории

Методические указания  
МУ 4.2.2039—05

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р  
53079.4—  
2008

Технологии лабораторные клинические  
ОБЕСПЕЧЕНИЕ КАЧЕСТВА  
КЛИНИЧЕСКИХ ЛАБОРАТОРНЫХ  
ИССЛЕДОВАНИЙ

Часть 4

Правила ведения преаналитичес

Издание официальное

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ  
СТАНДАРТ  
РОССИЙСКОЙ  
ФЕДЕРАЦИИ

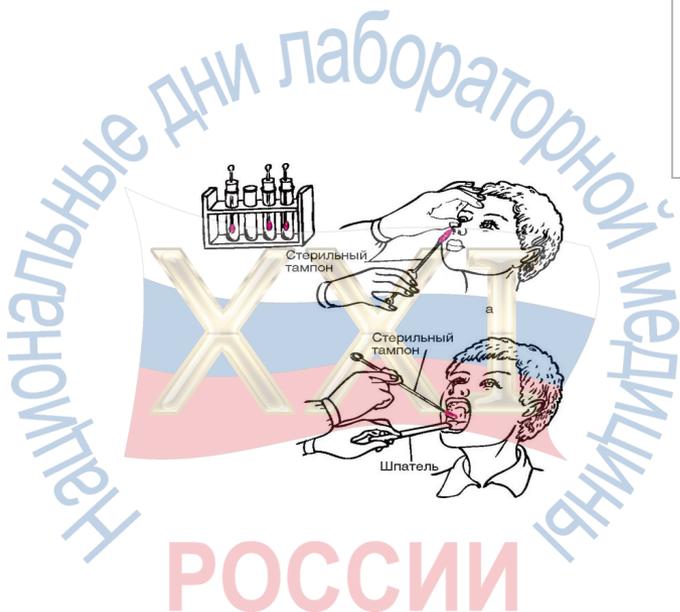
ГОСТ Р ИСО  
15189—  
2015

ЛАБОРАТОРИИ МЕДИЦИНСКИЕ

Частные требования  
к качеству и компетентности

ISO 15189:2012  
Medical laboratories — Requirements for quality and competence  
(IDT)

Издание официальное



# МУК 4.2.2316-08

## «Методы контроля бактериологических питательных сред»

### 7.11. Определение показателей сохранения жизнеспособности и стабильности основных биологических свойств микроорганизмов в транспортных средах

#### Ход определения¶

По 1°мл·микробной·взвеси·тест-штаммов·соответствующих·видов·из·разведений·(обычно· $10^{-5}$ ·и· $10^{-6}$ )·высевают·на·4·пробирки·с·транспортной·средой·Из·2·пробирок·сразу·после·посева,·тщательно·перемешав·содержимое,·производят·высев·по·0,1·мл·взвеси·на·чашки·Петри·со·средой·выращивания·(«нулевой»·посев)·Посевы·на·чашках·инкубируют·в·условиях,·необходимых·для·роста·тест-штаммов·Посевы·в·пробирках·выдерживают·при·температуре· $18—24^{\circ}\text{C}$ ·в·течение·24·ч,·а·затем·из·них·производят·высев,·который·инкубируют·при·тех·же·условиях,·что·и·«нулевой»·посев·¶

Среднее·количество·колоний,·выросших·на·среде·выращивания·при·«нулевом»·посеве·и·после·24·ч·выдерживания·в·транспортной·среде,·не·должно·различаться·более·чем·в·10·раз·¶

#### Тест-штаммы:

*S. aureus* ATCC 25923,  
*E. coli* ATCC 25922,  
*H. influenzae* ATCC 49247,  
*S. pneumoniae* ATCC 49619  
*C. albicans* ATCC 24433

#### Критерии качества:

Отсутствие размножения.

Число колоний после 24 ч хранения  
**не различается более чем на порядок.**

Типичный рост микроорганизмов при высеve на питательные агары

# Оценка качества транспортных систем

NCBI Resources How To Sign in to NCBI

PubMed.gov US National Library of Medicine National Institutes of Health

PubMed evaluation of swabs transport media Search

Create RSS Create alert Advanced Help

Article types: Clinical Trial, Review, Customize ...

Text availability: Abstract, Free full text, Full text

PubMed Commons: Reader comments, Trending articles

Publication dates: 5 years, 10 years, Custom range...

Species: Humans, Other Animals

Clear all Show additional filters

Format: Summary Sort by: Most Recent

Send to Filters: Manage Filters

**Search results**

Items: 1 to 20 of 49

<< First < Prev Page 1 of 3 Next > Last >>

★ Did you mean: [evaluation of swab transport medium](#) (67 items)

[\[Evaluation of a new device for sample collection, transport and detection of Group B Streptococcus in pregnant women\].](#)  
Tenorio-Abreu A, Gómez-Fernández JA, Arroyo-Pedrero L, Rodríguez-Molins E.  
Rev Esp Quimioter. 2016 Dec;29(6):328-331. Spanish.  
PMID: 27701615 Free Article  
[Similar articles](#)

[A pilot study to compare dry cervical sample collection with standard practice of wet cervical samples for human papillomavirus testing.](#)  
Sultana F, Gertig DM, Wrede CD, English DR, Simpson JA, Drennan KT, Brotherton JM, Phillips G, Heley S, Castle PE, Saville M.  
J Clin Virol. 2015 Aug;69:210-3. doi: 10.1016/j.jcv.2015.06.080.  
PMID: 26209409  
[Similar articles](#)

[Liquid based microbiological transport systems: conformity assessment of two commercial devices.](#)  
Avolio M, Camporese A.  
J Microbiol Methods. 2015 Aug;115:42-4. doi: 10.1016/j.mimet.2015.05.004.

Titles with your search terms

Evaluation of Copan swabs with liquid transport media for use i [J Clin Microbiol. 2003]

Evaluation of bacteriological swabs and transport media in the reco [J Clin Pathol. 1979]

See more...

Find related data

Database: Select

Find items

Search details

("evaluation studies"[Publication Type] OR "evaluation studies as topic"[MeSH Terms] OR "evaluation" [All Fields]) AND swabs[All Fields] AND ("biological transport"[MeSH

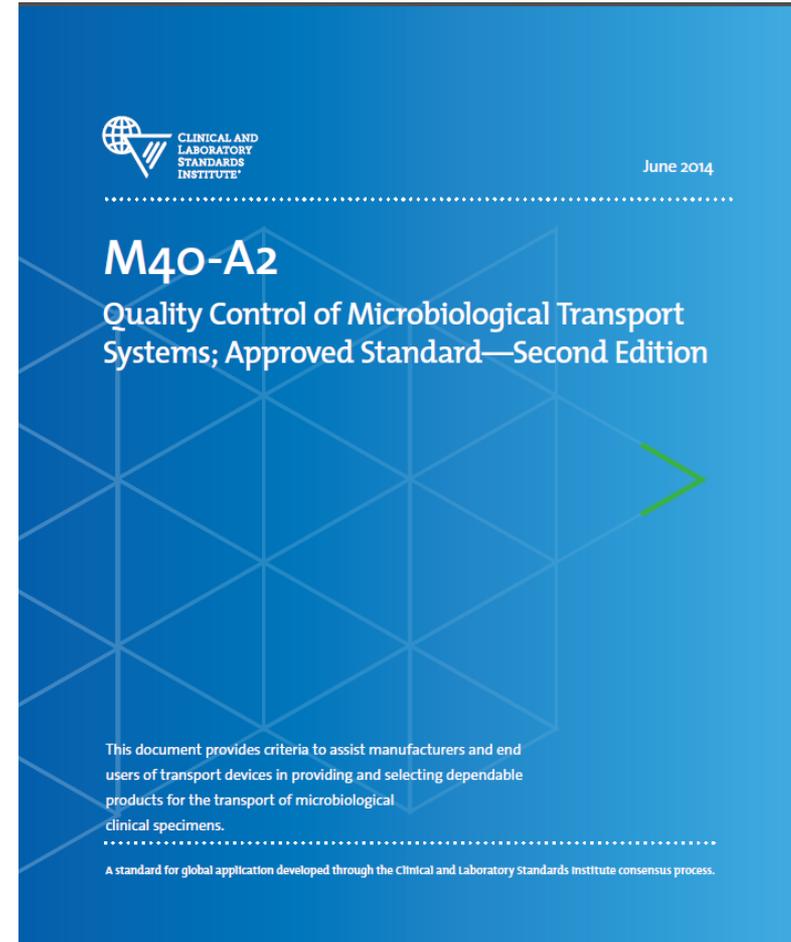
Search See more...

# Стандарт CLSI M40-A2

## Контроль качества микробиологических транспортных систем

2003 – первая редакция M40-A  
2014 – вторая редакция M40-A2

Предназначен для  
производителей ТС и для  
лабораторий, использующих ТС



# Условия проведения контроля качества

## Тест-штаммы :

- *P. aeruginosa* ATCC® ВАА-427
- *S. pyogenes* ATCC® 19615
- *S. pneumoniae* ATCC® 6305
- *H. influenzae* ATCC® 10211
- *N. gonorrhoeae* ATCC® 43069
- *B. fragilis* ATCC® 25285
- *P. anaerobius* ATCC® 27337
- *F. nucleatum* ATCC® 25588
- *P. acnes* ATCC® 6919
- *P. melaninogenica* ATCC® 25845

## Методы:

- Метод посева тампоном (Roll-plate method) – полуколичественный
- Метод элюирования тампона (Swab Elution method) – количественный

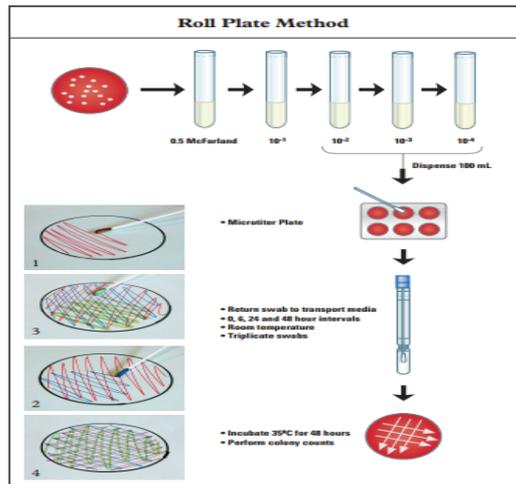
## Температура :

- Комнатная (20-25) °С
- (2-8) °С

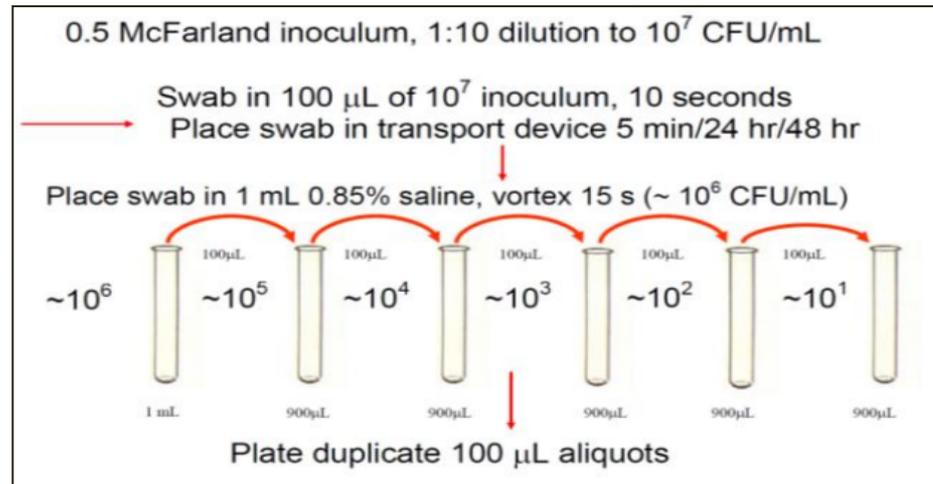
## Сроки хранения:

- 0, 24, 48 ч

# Методы контроля ТС



Метод посева тампоном (Roll-plate method): качественный



Метод элюирования тампонов (Swab elution method): количественный

- Производители ТС должны использовать оба метода
- Лаборатории могут использовать оба или один любой в соответствии с существующими традициями

- В РФ – пока практически никто не контролирует качество ТС
- Требовать сертификат или декларацию соответствия требованиям стандарта **CLSI M40-A2**



**Выбор питательных сред –  
важная составляющая аналитического  
этапа**



# Выбор питательных сред на аналитическом этапе

**Основные нормативные документы по контролю качества питательных сред:**



## **МУК 4.2.2316-08**

Методические указания по контролю качества питательных сред

## **ГОСТ Р EN 12322-2010**

Изделия медицинские для диагностики in vitro. Питательные среды для микробиологии. Критерии функциональных характеристик питательных сред

**Клинические рекомендации (2014)** Внутрилабораторный контроль качества питательных сред для клинических микробиологических исследований (содержит ряд положений, взятых из стандарта CLSI M22-A3 *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*)

## **ГОСТ ISO 11133-2016**

Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред (введен с 01.07.2017)

# Основные положения стандартов по ПС

Предназначены для работников организаций, осуществляющих:

1. изготовление и контроль качества бактериологических питательных сред и (или) их основ при серийном промышленном выпуске;
2. конструирование новых питательных сред;
3. изготовление сред из отдельных компонентов по прописям, а также могут быть использованы при экспертизе НД
4. при проведении внутрилабораторного контроля качества коммерческих питательных сред.



# Типовая схема контроля качества

Типовая схема контроля качества питательных сред производителем в соответствии с нормативными документами предусматривает определение следующих показателей качества:

- Физических свойств
  - Внешний вид
  - Растворимость
  - рН
  - Прочность геля
  - Температура плавления
  - Температура застудневания
- Микробиологических свойств:
  - ростовые свойства (чувствительность, скорость роста)
  - селективные свойства
  - морфология колоний
  - отсутствие микробной контаминации



*Микробиологические свойства сред проверяют с помощью набора контрольных штаммов*

# Основные положения стандартов по ПС - 2

Использование единых критериев функциональных характеристик должны привести к производству изготовителями "стандартизованных" продуктов и уменьшить необходимость выполнения в лабораториях тестирования коммерческих питательных сред.

Клиническими рекомендациями (2014) регламентировано минимальное количество микробиологических анализов для контроля:

- Промышленно изготовленных готовых к применению питательных сред (в чашках Петри, пробирках)
- Сред, изготовленных из коммерческих сухих питательных сред

# Основные положения стандартов по ПС - 3

## ГОСТ ISO 11133-2016:

### 6.3.3 Питательные среды и реактивы, готовые к использованию

Изготовители имеющих на рынке готовых к использованию питательных сред, особенно те, которые имеют сертификацию по ISO 9000 [3], должны иметь действующую программу обеспечения качества и могут выдавать сертификат качества на поставляемые ими питательные среды. В этом случае пользователю не требуется проводить большой объем исследований на приобретенных средах, необходимо только убедиться в том, что поддерживаются условия хранения в соответствии с рекомендациями изготовителя. Для сред, готовых к использованию, в которые вводятся добавки, рекомендуется проведение, по меньшей мере, испытания качественных характеристик.

XXXI

РОССИИ



- Лаборатория должна иметь документированную процедуру для выбора и закупок внешних услуг, оборудования, реагентов и расходных материалов, которые влияют на качество ее услуг (см. также 5.3).

Лаборатория должна выбирать и проверять поставщиков, основываясь на их способности предоставлять внешние услуги, оборудование, реагенты и расходные материалы в соответствии с требованиями лаборатории.

# Выбор поставщиков и производителей питательных сред – важная составляющая успеха

Проверенные поставщики сырья

Система контроля качества  
сертифицирована по  
ISO 9001 и ISO 13485



**ФБУН ГИЦПМБ**



Научные и  
производственные  
кадры

Государственная  
коллекция м/о  
«ГКПМ-Оболенск»

# Коллекционная деятельность



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА

Федеральное бюджетное учреждение науки  
«ГОСУДАРСТВЕННЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР ПРИКЛАДНОЙ  
МИКРОБИОЛОГИИ И БИОТЕХНОЛОГИИ» (ФБУН ГНЦ ПМБ)  
**ГОСУДАРСТВЕННАЯ КОЛЛЕКЦИЯ ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ  
И КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР «ГКПМ – ОБОЛЕНСК»**

142279, Россия, Московская область, Серпуховской район, пос. Оболенск  
Тел.: (4967) 36-00-03, факс: (4967) 36-00-10, E-mail: info@obolensk.org, www.obolensk.org

**ПАСПОРТ ШТАММА МИКРООРГАНИЗМА,  
ВЫДАВАЕМОГО ИЗ КОЛЛЕКЦИИ**

- 1. Номер штамма в «ГКПМ – ОБОЛЕНСК»:** В-7845
- 2. Название штамма:** Clostridium novyi (oedematiens) 198, серотип С
- 3. Группа патогенности:** ПБА IV группы
- 4. Морфологические признаки:** крупная неподвижная спорообразующая грамположительная полиморфная палочка с закругленными концами диаметром 0,8-1,4 мкм, длиной 1,6-2,5 мкм, нередко располагается в виде цепочек из 2-5 клеток. Кapsулы не образует. Споры овальные, располагаются субтерминально.  
На жидких средах растет в виде легкого помутнения, дает большой осадок. При росте в тиогликолевой среде через 24 часа инкубации наблюдается образование отдельных шарообразных колоний; через 48 часов - диффузное помутнение в 2/3 нижней части столбика среды с выраженной прозрачной зоной в верхней части столбика.
- 5. Биохимические особенности:** разжижает желатину; казеин не гидролизует. Наблюдается умеренная ферментация глюкозы с образованием газа; не образует маннозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, фруктозу, салицин. Нитраты не восстанавливает. Обладает гемолитической активностью, лецитиназной – не обладает. Продуцирует небольшое количество гамма-токсина; непатогенен для морских свинок и мышей.
- 6. Условия культивирования:** среда Тарощи, Тиогликолевая среда, 37° С, 24-48 часов, строгий анаэроб.
- 7. Восстановление жизнеспособности культуры:** все манипуляции с высушенным штаммом проводить стерильно над подносом или лотком с марлевой салфеткой, пропианной дезинфицирующим раствором. Флакон обработать 70% спиртом. Открыть алюминиевый колпачок. Обернуть резиновую пробку флакона салфеткой, смоченной дезинфицирующим раствором, и аккуратно открыть флакон. Стерильной пастеровской пипеткой ввести во флакон 1,0 мл предварительно регенерированной среды Тарощи, тщательно перемешать и полученную гомогенную суспензию перенести в две пробирки с той же средой. Посевной материал вносить на дно пробирки, избегая образования пузырьков воздуха. Посевы инкубировать в течение 48 часов при температуре 37° С. Регенерация питательной среды осуществляется перед посевом путем выдерживания пробирок со средой в кипящей водяной бане в течение 10-15 минут и последующего быстрого охлаждения в холодной воде.  
Для получения споровой культуры по 1 мл микробной взвеси, полученной через 48 часов инкубирования на среде Тарощи, высевать в пробирки с 10 мл предварительно регенерированного состава, г/л: панкреатический гидролизат казеина неглубокой глюкоза – 2,0; натрия хлорид – 5,0; агар микробиологический – 0,3-0,5 г на 1 пробирку с 10 мл среды; pH среды после автотермизации в течение 48 часов при температуре 37° С. Споры



Биохимическую идентификацию проводят с помощью тест-систем Lachema, bioMérieux и др. Видовую принадлежность определяют с помощью MALDI biotyper ( Bruker)

РОССИИ

# Производство питательных сред в ФБУН ГНЦПМБ



# Рост *E.coli* 3912/41 (055:K59) на питательной среде Эндо



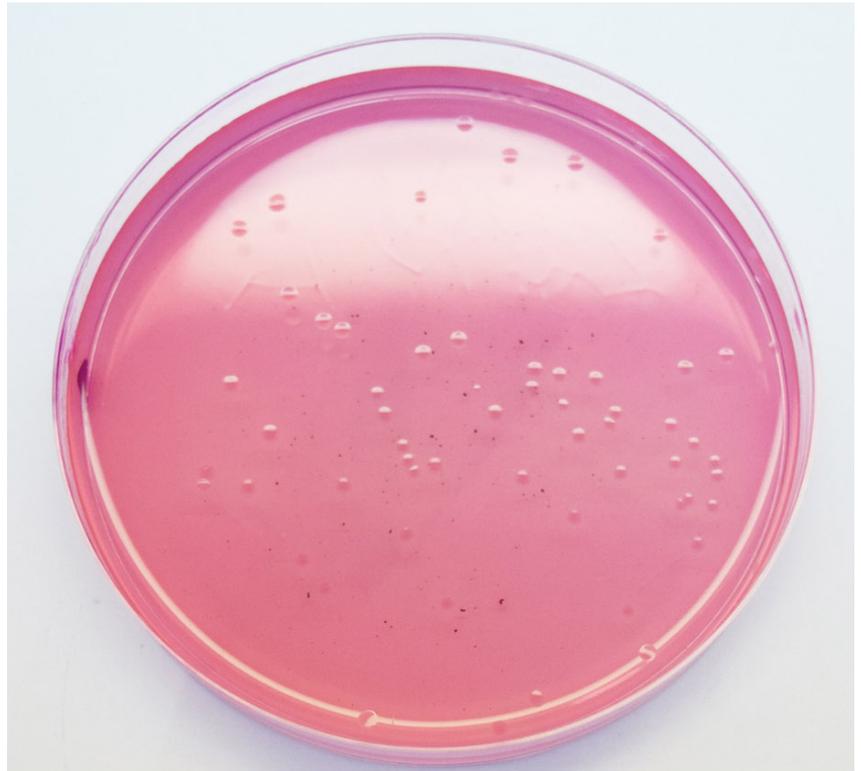
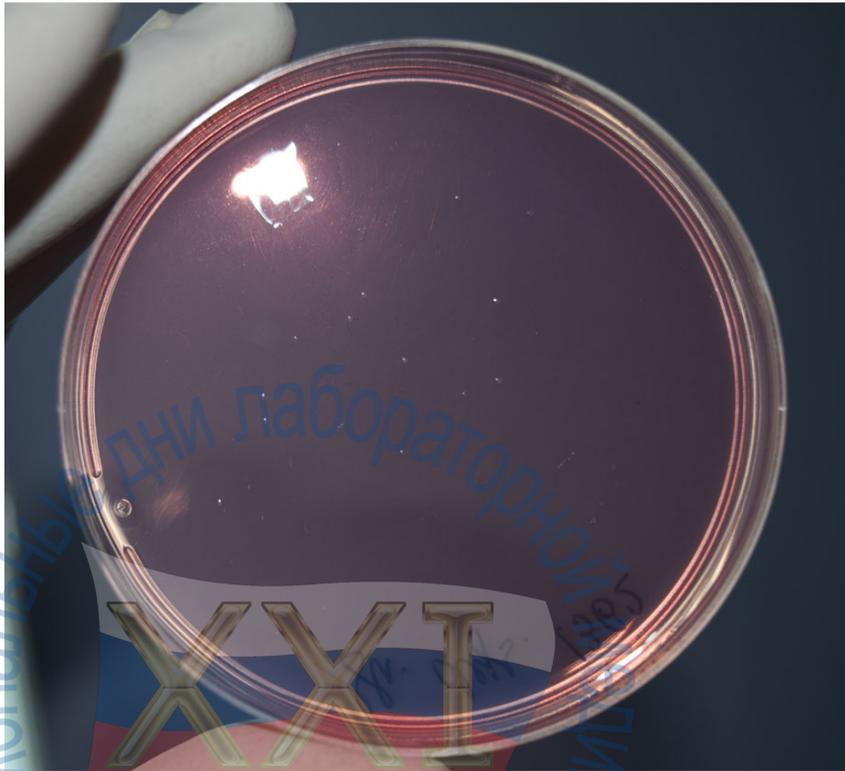
ФБУН ГНЦ ПМБ

XXI

РОССИИ

Национальный центр  
для лабораторной медицины  
РОССИИ

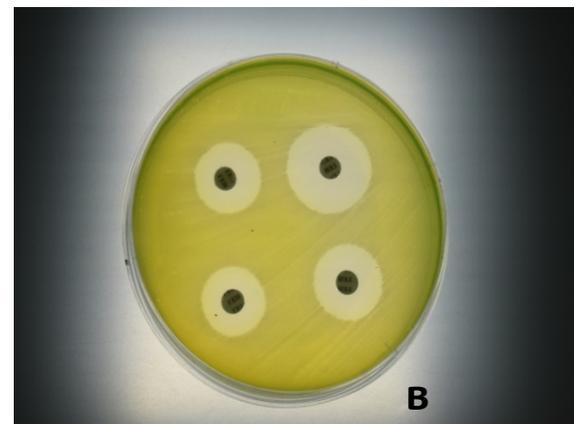
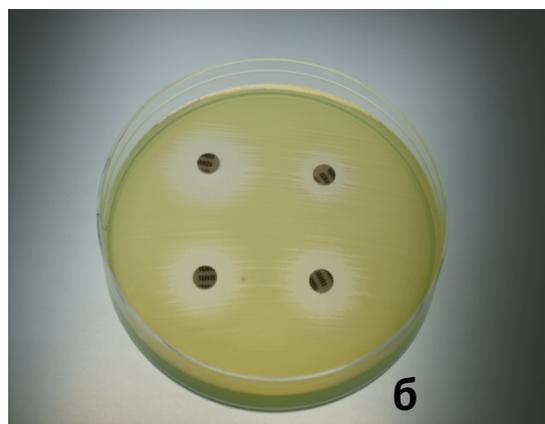
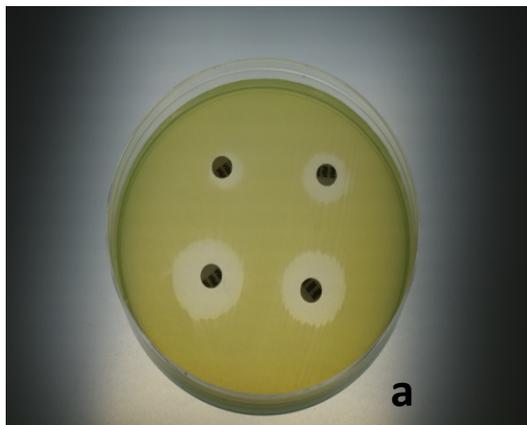
# Рост *Sh.dysenteriae* 1362 на питательной среде Эндо



ФБУН ГНЦ ПМБ

РОССИИ

# Влияние качества дисков с АБП на определение антибиотикочувствительности клинического штамма *P. aeruginosa* 780



Имипенем, 10 мкг

- 1) 8 мм
- 2) 12 мм
- 3) 24 мм
- 4) 20 мм

Ч  $\geq$  20      У < 17

Ципрофлоксацин, 5 мкг

- 1) 26 мм
- 2) 8 мм
- 3) 17 мм
- 4) 16 мм

Ч  $\geq$  25      У < 22

Гентамицин, 10 мкг

- 1) 14 мм
- 2) 25 мм
- 3) 13 мм
- 4) 16 мм

Ч  $\geq$  15      У < 15

# EUCAST о качестве дисков

**Table 1. Evaluation of disks from nine manufacturers vs. EUCAST QC targets and ranges\*\*.**

**1 = First Study, 2 = Follow-up Study**

Antimicrobial disk	Bio-Rad		Liofilchem		BD		Abtek		SirScan		Oxoid		HiMedia		Bioanalyse		Mast	
	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2	1	2
Benzylpenicillin 1 unit					L				H	H			NA	NA	H	H		
Amoxicillin-clav. 30 µg	H	H*					L						H	H		L		
Piperacillin-tazo. 36 µg							L	L	H				NA	NA				
Oxacillin 1 µg			L		L				L				H	H	L			
Mecillinam 10 µg							L		H				H		H			
Cefotaxime 5 µg							NA		L				NA	NA				
Cefoxitin 30 µg	H*	H*	H	H*			NA	L					L*	L*		L		
Ceftazidime 10 µg							L	L					L	H				
Meropenem 10 µg	H		H*				L	L			H		H					
Ciprofloxacin 5 µg	L				L		L	L					H	H*		L	L	
Norfloxacin 10 µg							L		L				H*	H				
Pefloxacin 5 µg			L	L	L		NA	NA	NA				H					
Gentamicin 10 µg					H		L		NA				H	H				
Tobramycin 10 µg	NA	NA	H										H*	H*				
Erythromycin 15 µg			L		L		L		L				H	H	L*	L		
Tetracycline 30 µg			L	L*	L*		L		L*					L	L			L

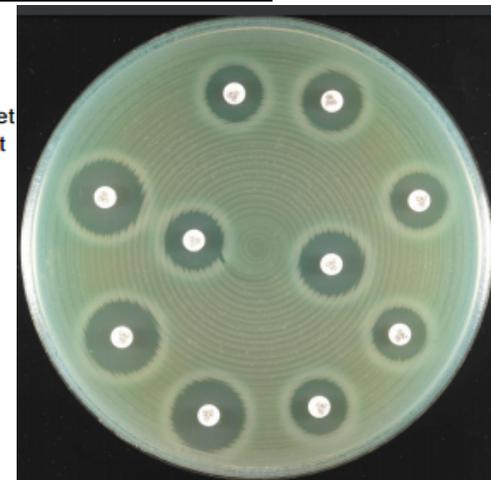
\*\*Data from the first study has been reanalyzed due to changes in QC criteria between 2015 and 2016. These data, including information on disk lot numbers, are published on [www.eucast.org](http://www.eucast.org).

- Mean value within ± 1 mm of the target value
- Mean value >1 mm but within ± 2 mm of the target value
- Mean value >2 mm from target value but still within the QC range
- Mean value out of the QC range

- NA = Not Available
- H = High, mean value > 1 mm above target
- L = Low, mean value > 1 mm below target
- \* One or more readings out of QC range

MH Agar from Oxoid and BD (BBL)

Based on these results, EUCAST has published a warning on [www.eucast.org](http://www.eucast.org) and an editorial in CMI (Clin Microbiol Infect. 2016 Mar;22(3):211-212. doi: 10.1016/j.cmi.2015.11.008. Epub 2015 Nov 28).



# Заключение

- Стандартность и стабильно высокое качество питательных сред – важное условие получения достоверных результатов исследований и обеспечения микробиологической безопасности.
- Лабораториям необходимо проводить верификацию каждой новой серии ПС
- Объем контрольных исследований зависит от надежности поставщика и производителя ПС
  - ФБУН ГНЦПМБ производит питательные среды в полном соответствии с методами, изложенными в нормативных документах
  - Система контроля качества сертифицирована по ISO 9001 и ISO 13485
  - Предоставляет тщательно проверенную качественную продукцию, надежный сервис и возможности технической экспертизы своим дистрибьюторам и потребителям.

