



**МИНИСТЕРСТВО
ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Руководства по клинической лабораторной диагностике

**Внутрилабораторный контроль качества питательных сред
для клинических микробиологических исследований**

ID: **КЛД6**

URL:

Профессиональные ассоциации:

- **Федерация лабораторной медицины**

Разработчики:

В.В. Меньшиков¹, Р.С. Козлов², М.С. Поляк³, В.С. Михайлова¹, Л.О. Иноземцева⁶,
Б.Ф. Шуляк⁷, О.У. Стецюк², О.И. Кречикова², А.П. Шепелин⁵, С.М. Суханова⁴.

¹ГБОУ ВПО «Первый московский государственный медицинский университет имени И.М.Сеченова» Минздрава Российской Федерации

²НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава Российской Федерации

³НИЦ фармакотерапии, Санкт-Петербург

⁴ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава Российской Федерации;

⁵ФБУН Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора Оболенск

⁶ЗАО «Даниес»

⁷ООО ГЕМ, Москва

Ключевые слова: стандартизация, стандартизованная технология, внутрилабораторный контроль качества, питательные среды, клиническая бактериология

Настоящая стандартизованная технология устанавливает единые требования к выполнению внутрилабораторного контроля качества наиболее распространенных питательных сред с целью определения их пригодности для проведения бактериологических исследований в клинко-диагностических лабораториях (КДЛ), выполняющих бактериологические исследования, и в бактериологических лабораториях медицинских учреждений.

Одобрены на V научно-практической междисциплинарной конференции "Актуальные вопросы диагностики и лечения заболеваний микробной этиологии" в г. Железноводске 5-6 декабря 2013 года.

Утверждены Профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 25 декабря 2013 года. Представлены от Ассоциации специалистов и организаций лабораторной службы «Федерация лабораторной медицины».

Оглавление

1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ.....	4
2. ТРЕБОВАНИЯ К ОБЕСПЕЧЕНИЮ ВЫПОЛНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ИССЛЕДОВАНИЯ .	5
3. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТОК ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД	6
4. Документация.....	12
ПРИЛОЖЕНИЯ	13
ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Материально-техническое оснащение, необходимое для выполнения стандартной технологии.....	13
ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Порядок отбора проб, подлежащих контролю питательных сред	14
ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Подготовка тест-штамма для контроля.	14
ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Минимальные требования к проверке качества отечественных питательных сред с помощью контрольных тест-штаммов* микроорганизмов.....	15
ПРИЛОЖЕНИЕ 5. Минимальные требования к проверке качества питательных сред с помощью контрольных штаммов микроорганизмов.....	29
ПРИЛОЖЕНИЕ 6. Расширенные требования к качеству основных питательных сред.....	32
ПРИЛОЖЕНИЕ 7. Освобождённые и неосвобождённые питательные среды.....	37
ПРИЛОЖЕНИЕ 8. Выполнение стандартной технологии с помощью калиброванной бактериологической петли.	39
ПРИЛОЖЕНИЕ 9. Приготовление инокулюма для контроля качества питательных сред.	40
БИБЛИОГРАФИЯ	42

1. ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

1.1 Введение

Питательные и транспортные среды являются важнейшим элементом медицинского микробиологического исследования. Они разнообразны по целевому назначению и компонентному составу. Их используют для транспортировки, выделения, культивирования, идентификации и дифференциации микроорганизмов. Микробиологические среды отвечают своему назначению только в случаях соответствия их стандартам качества.

Питательные среды производят специализированные отечественные и зарубежные предприятия. На рынок они поставляются в сухом виде или в форме готовых питательных сред, разлитых во флаконы, пробирки, чашки Петри.

Промышленное производство питательных сред осуществляется в соответствии с нормативно-правовыми актами, регулирующими производство, контроль качества, порядок государственной регистрации и лицензирования производства, а также порядок сертификации готовых питательных сред и их компонентов [1,2,6]. Медицинские учреждения должны использовать в работе для целей лабораторной диагностики питательные среды, имеющие сертификат и регистрационное удостоверение [8]. Однако это не исключает необходимость проведения в определённых случаях (см. ниже) внутрилабораторного контроля качества питательных сред.

В клинично-диагностических лабораториях (КДЛ), выполняющих бактериологические исследования, и в бактериологических лабораториях медицинских учреждений часть питательных сред может быть приготовлена непосредственно из коммерческих ингредиентов, качество которых зависит от качества основных компонентов, правильности состава, соблюдения технологии приготовления, условий упаковки и хранения [9]. Существуют определённые сложности обеспечения стандартизации приготовления питательных сред в лабораториях, которые могут влиять на воспроизводимость результатов микробиологических исследований. Такие среды требуют проведения внутрилабораторного контроля с целью оценки их соответствия требуемому качеству. Настоящая стандартизованная технология устанавливает единые условия выполнения соответствующих анализов.

1.2 Цель выполнения технологии

Стандартизованную технологию «Внутрилабораторный контроль качества питательных сред для бактериологических исследований» выполняют для установления соответствия используемых в лабораториях питательных сред стандартам качества и определения их пригодности для проведения бактериологических исследований. Стандартизованная технология состоит из отдельных оперативных процедур, включающих приготовление контрольных штаммов микроорганизмов, методику контроля качества и анализа качества питательных сред, позволяющих сделать заключение о пригодности испытуемых сред для проведения бактериологических исследований.

1.3 Область применения

Настоящая технология распространяется на клинично-диагностические лаборатории (КДЛ), выполняющие бактериологические исследования, и на бактериологические лаборатории медицинских учреждений, выполняющие микробиологические исследования с использованием готовых (коммерческих) питательных сред, и лаборатории, использующие питательные среды собственного приготовления путём регидратации коммерческих стандартизованных основ с добавлением отдельных компонентов.

1.4 Показания для применения стандартизированной технологии

Внутрилабораторному контролю качества подлежат:

- питательные среды, приготовленные в лаборатории путём регидратации и стерилизации стандартизированных основ с добавлением одного или нескольких комплексных стандартизированных компонентов или отдельных реагентов (крови, ростовых, селективных добавок и других составляющих);
- среды, сконструированные в лаборатории из многочисленных ингредиентов (например: дифференциально-диагностические среды для выявления специфических ферментов или других признаков – например, токсигенности коринебактерий);
- питательные среды, имеющие особое значение для микробиологической диагностики, внутренний контроль качества которых регламентирован соответствующими нормативными документами (например, для выделения и идентификации *Corynebacterium diphtheriae*, *Neisseria meningitidis*, *Vibrio cholerae*);
- питательные среды для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам подлежат внутреннему контролю качества (вместе с дисками с антибиотиками) в соответствии с действующими нормативными документами по данному виду исследований [7];
- сертифицированные питательные среды, в процессе применения которых отмечаются отклонения от заявленных свойств (недостаточный или атипичный рост микроорганизмов, изменение их свойств или другие особенности; отсутствие подавления роста сопутствующей микрофлоры и т.п.)

Внутрилабораторный контроль качества не проводится для:

- питательных сред, условия транспортировки и состояние упаковки которых дают основание предположить возможность ухудшения их качества; изменение физико-химических показателей при визуальном осмотре – комкование, увлажнение, изменение цвета и проч. (такие среды законодательно подлежат рекламации по соответствующему регламенту без дополнительных испытаний);
- новых серий коммерческих питательных сред, поступивших в лабораторию, если в процессе их применения не возникает сомнений в их качестве. В противном случае возможно проведение проверки по упрощённой схеме (например, проверка типичности морфологических признаков).

Примечание:

- Для готовых питательных сред, требующих только регидратации и стерилизации, или сред, готовых к употреблению, а также питательных, селективных добавок или отдельных ингредиентов при отсутствии особых обстоятельств контроль качества ограничивается проверкой наличия сертификата качества, соответствия упаковки, а также внешних физико-химических признаков, заявленным в сертификате [8].

2. ТРЕБОВАНИЯ К ОБЕСПЕЧЕНИЮ ВЫПОЛНЕНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Требования к специалистам и вспомогательному персоналу

Компетентность персонала, участвующего в выполнении технологии, должна соответствовать требованиям к образованию, знаниям, и умениям специалистов согласно ГОСТ Р ИСО 15189 [3]. В выполнении данной технологии принимают участие:

- врач-бактериолог;
- биолог (специальность по бактериологии);
- специалист со средним медицинским образованием (медицинский технолог, медицинский лабораторный техник, фельдшер – лаборант, лаборант)

2. Требования к образованию специалистов:

Знания и умения специалистов должны соответствовать образовательным стандартам.

Врач клинической лабораторной диагностики или биолог должен иметь диплом о высшем профессиональном образовании, диплом о последипломном образовании по специальности «бактериология», сертификат специалиста только для врача бактериолога. Врач обязан в установленном порядке повышать квалификацию в форме циклов тематического усовершенствования и сертификационных курсов.

Специалисты со средним образованием должны иметь соответствующую квалификацию по диплому, сертификат специалиста, а также проходить в установленном порядке повышение квалификации.

2.2 Требования к обеспечению безопасности труда медицинского персонала

Требования по безопасности труда при выполнении технологии соответствуют общим правилам безопасности при работе в клиничко-диагностической лаборатории согласно ГОСТ Р 52905 – 2007. В лаборатории должны соблюдаться правила биологической безопасности, правила сбора и удаления отходов, правила работы с электроприборами и реактивами, пожарной безопасности.[4]

2.3 Материальные ресурсы, необходимые для выполнения технологии

Материальные ресурсы, необходимые для выполнения внутрилабораторного контроля качества питательных сред, определяются номенклатурой исследований, включенных в лицензию на медицинскую деятельность (Приложение 1).

3. ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ПОТОК ВНУТРИЛАБОРАТОРНОГО КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

Технология выполнения исследования включает следующие последовательные этапы:

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

3.1 Первичный анализ информации о питательной среде и ее характеристиках

При поступлении в лабораторию коммерческих питательных сред регистрируют: наименование и количество полученной среды; производителя и поставщика среды; серию, срок годности и состояние упаковки.

Изготовителем или поставщиком среды должны быть указаны следующие специфические микробиологические характеристики:

- тип продукта (сухая среда, основа среды, готовая к употреблению среда);
- критерии оценки функциональных характеристик питательной среды;
- используемые контрольные штаммы;
- ожидаемые результаты общего и микробиологического тестирования;
- значение рН (если необходимо);
- информация об условиях хранения и сроке годности.

3.2 Отбор образцов питательных сред для контроля

Если экономически нецелесообразно тратить время и средства на проверку маленьких партий питательных сред, их выбраковывают без проведения контрольных испытаний.

При объеме партии питательной среды менее 150 единиц (пробирок, чашек Петри или флаконов) пробы сред отбирают однократно в количестве не менее 2-5 единиц (в зависимости от величины партии). При получении на любом этапе испытаний неудовлетворительного результата проверки хотя бы одного отобранного образца, партию среды считают непригодной для работы.

При объеме партии питательной среды свыше 150 единиц рекомендуется отбирать для контроля от 8 до 50 пробирок/чашек Петри/флаконов (в зависимости от объема партии). Если от 2 до 5 или большее количество отобранных образцов (в зависимости от объема партии) не выдержат испытаний на любом из этапов контроля качества, то среду выбраковывают. При меньшем числе неудовлетворительных результатов проводят повторный отбор и контроль качества такого же количества образцов, как и в первый раз. Такую партию сред признают пригодной только тогда, когда суммарное количество образцов, выдержавших обе проверки, меньше уровня, допустимого для второго этапа контроля (Приложение 2).

3.3 Визуальная инспекция питательной среды

Визуальная инспекция сухих сред предусматривает проверку целостности и герметичности упаковки, гомогенности продукта по консистенции (отсутствие комков, инородных включений и пр.), соответствия цвета среды информации, содержащейся в паспорте, инструкции производителя.

Приготовленная в соответствии с инструкцией и разлитая по чашкам Петри питательная среда должна быть достаточно плотной, прозрачной или равномерно матовой, не иметь посторонних включений, комков и других визуальных недостатков. Цвет среды зависит от наличия в ней индикаторов или компонентов, придающих среде цвет или оттенок (например, кровь, яичный желток, сыворотка и т.п.).

Визуальная проверка самостоятельно приготовленных и готовых коммерческих сред позволяет выявить следующие дефекты:

- нарушение упаковки готовых сред;
- ошибки в маркировке питательных сред на пробирках, чашках Петри или флаконах и их упаковке;
- истекший срок годности готовых сред;

- трещины или другие повреждения чашек Петри, пробирок, флаконов со средой;
- низкая плотность агаризованной среды;
- высыхание среды;
- отслоение плотной среды от поверхности чашек Петри или пробирок;
- наличие кристаллов на поверхности или в глубине среды и другие признаки ее замораживания или расплавления;
- неравномерная заливка плотной среды в чашке;
- недостаточное количество среды в чашке Петри (толщина слоя <3 мм) или пробирке (объем менее 3-5 мл);
- гемолиз кровяных сред;
- изменение цвета среды по сравнению с регламентированным (может быть вызвано отклонениями рН среды или ростом контаминантов);
- отсутствие гладкой поверхности среды (за счет пузырей и пр.);
- наличие обильного конденсата;
- очевидную контаминацию микроорганизмами;
- наличие в среде инородных включений или преципитатов.

3.4 Проверка питательной среды на стерильность

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

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

Проверку на стерильность коммерческих готовых сред в лабораториях ограничивают визуальной инспекцией отобранных из каждой партии чашек Петри, пробирок или флаконов на предмет отсутствия признаков роста микроорганизмов. В случае подозрения на контаминацию отобранные чашки Петри, пробирки или флаконы с готовыми питательными средами инкубируют в аэробной атмосфере при 35°C в течение 72 ч. (см. раздел 3.2).

3.5 Процедуры обращения с контрольными штаммами микроорганизмов

3.5.1 Понятия и определения

Референтный штамм (референс-штамм, эталонный штамм): микроорганизм, определенный, по меньшей мере, до рода и вида, включенный в государственный каталог и описанный в соответствии с его характеристиками.

Референтный образец: партия емкостей, содержащих культуры, полученные путем одного посева из референтного штамма или множество емкостей из одной и той же партии референтного штамма от поставщика.

Субкультуры референтного образца: субкультуры референтного образца, хранящиеся в коллекции лаборатории в лиофилизированном состоянии или в условиях глубокой заморозки (в жидком азоте или при температуре -70°C) или на среде хранения.

Рабочая культура: культуры, подготовленные для проведения внутрилабораторного контроля качества и подлежащие однократному использованию.

Контрольный штамм: микроорганизм, применяемый для оценки отдельных методик микробиологических исследований, микробиологических характеристик питательных сред и других видов работ, требующих стандартизации исследования. Контрольный штамм из референтного образца, полученного из национальной коллекции, либо из субкультуры референтного образца, хранящейся в рабочей коллекции с обязательным одним пассажем для восстановления типичных признаков.

3.5.2 Источники контрольных штаммов микроорганизмов

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

- Национальный центр государственной коллекции возбудителей бактериальной инфекции III - IV групп патогенности (Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А.Тарасевича*)[5];
 - Всероссийская коллекция промышленных микроорганизмов ВКПМ;
 - Всероссийская коллекция непатогенных микроорганизмов ИБФМБ;
 - Американская коллекция типовых культур (АТСС),
- а также штаммы других национальных и международных коллекций

3.5.3 Хранение контрольных штаммов микроорганизмов

Контрольные штаммы хранят в лиофилизированном состоянии, в замороженном виде, в среде с криопротектором или на среде хранения в условиях и на протяжении сроков, приведенных в таблице 1.

3.5.4 Поддержание культур контрольных штаммов микроорганизмов

Для контрольных штаммов микроорганизмов, регулярно используемых для контроля качества, при наличии низкотемпературной морозильной камеры (до -70 °С) из референтного образца готовят субкультуры референтного образца в необходимом для работы количестве (50-100 и более пробирок), которые затем хранят в коллекции лаборатории в условиях глубокой заморозки (при температуре -70°С) и используют для приготовления рабочих культур контрольных штаммов.

Таблица 1. Хранение контрольных штаммов микроорганизмов

Контрольные штаммы	Условия хранения	Вид хранящейся культуры	Продолжительность хранения
Все микроорганизмы	Регламентируются производителем	Лиофилизированные культуры	До окончания срока годности
Быстро растущие нетребовательные бактерии	2-8 °С	Субкультуры референтного образца	Не более 6 мес
	≤-20 °С	Суспензия с криопротектором	<12 мес
	≤-50 °С	Суспензия с криопротектором	Неограниченно
Облигатно-анаэробные бактерии Нетребовательные бактерии	≤-20 °С	Суспензия с криопротектором	<12 мес
	≤-50 °С	Суспензия с криопротектором	Неограниченно

* В настоящее время ФГБУ Научный центр экспертизы средств медицинского применения Минздрава РФ.

При отсутствии низкотемпературной морозильной камеры из референтного образца, получаемого из государственных или национальных коллекций, готовят субкультуры референтного образца в необходимом для работы количестве. Приготовленные субкультуры хранят при температуре ≤ -20 °С не более 12 месяцев в бульоне с криопротектором или при температуре 2-8 °С не более 6 месяцев в полужидком агаре. Субкультуры референтного образца допустимо использовать многократно при отсутствии контаминации.

3.5.5 Восстановление контрольных штаммов микроорганизмов

Для получения **рабочих** культур делают высев из субкультуры референтного образца. Со среды хранения штамм рассеивают на плотные неселективные питательные среды, обеспечивающие питательные потребности соответствующих микроорганизмов (1 пассаж). Посевы инкубируют в подходящих для роста условиях. При отсутствии роста на плотной среде культуру засевают на соответствующую жидкую питательную среду. После инкубирования делают высев на плотную питательную среду (1 пассаж). Так как микроорганизмы после 1 пассажа обладают пониженной жизнеспособностью, рекомендуется в качестве рабочих культур использовать культуры 2 или 3 пассажа. (Приложение 3).

3.5.6 Проверка культур контрольных штаммов

Выросшую на питательном агаре культуру контрольного штамма визуально проверяют на чистоту роста и отсутствие диссоциации или просматривая под стереоскопическим микроскопом (лупой) в «проходящем свете». При выявлении контаминации или диссоциации следует уничтожить использованную пробирку с субкультурой референтного образца.

3.6 Технология оценки качества питательных сред с помощью контрольных штаммов

3.6.1 Методы оценки качества питательных сред

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

- качественного
- полуколичественного
- количественного

Выбор метода контроля определяется видами питательных сред и целями контроля (чувствительность, специфичность, селективность и т.д.). Перечень необходимых контрольных штаммов указывается в сертификате на данную коммерческую среду либо указан в приложении к настоящей стандартизованной технологии на основные питательные среды. (Приложение 4,5,6,7,8).

Качественный метод (посев штрихом) используют как ускоренный метод оценки морфологических характеристик роста микроорганизма на исследуемой питательной среде или дифференцирующих свойств питательной среды (для дифференциально-диагностических сред). Для контроля качества дифференциально-диагностических сред необходимо использовать как контрольные штаммы микроорганизмов, дающие положительный результат, так и штаммы, дающие отрицательный результат теста на данной среде. (Приложение 4,5,6).

Полуколичественный или количественный метод используют для оценки чувствительности или селективности питательных сред.[10,11,12] На испытываемую среду наносят инокулят контрольного штамма (или нескольких контрольных штаммов), указанного в приложении 6, в определенном количестве.

3.6.2 Микробиологические критерии качества питательной среды

При использовании контрольных штаммов по их росту на испытуемой питательной среде можно оценить следующие микробиологические критерии качества питательной среды:

- типичность морфологических, культуральных характеристик микроорганизма;
- скорость роста;
- чувствительность (продуктивность) среды;
- селективность (для селективных сред);
- специфичность – выраженность отличительных признаков различных микроорганизмов для дифференциально-диагностических сред;
- величина зон задержки роста вокруг дисков с антибиотиками для контроля сред и качества дисков с антибиотиками для диско-диффузионного метода определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

Чувствительность среды – определяют по наибольшему разведению, обеспечивающему формирование колоний или визуально определяемый рост во всех засеянных пробирках.

Время появления роста (скорость роста в часах) – определяют по минимальному времени инкубации посевов, через который обнаруживается отчетливый, видимый невооруженным глазом рост культуры (помутнение, пленка, осадок – в бульоне, типичные колонии на чашках). Появление роста культуры регистрируют через 12, 18, 24, 48 ч инкубации.

Культуральные свойства – характер роста на среде. На плотной среде – форма и размер колоний, края колоний, цвет, консистенция, наличие и тип гемолиза, склонность к роению и т.д.

Дифференцирующие свойства питательной среды – выраженность дифференцирующего признака оценивается по структуре, цвету колоний, цвету среды вокруг колоний тестируемого штамма в сравнении со штаммом, не обладающим данными свойствами.

Показатель ингибиции – оценивается величиной отношения среднего количества колоний, выросших на селективной среде, к среднему количеству колоний на контрольной среде.

3.6.3 Процедура подготовки инокулюма контрольного штамма

При использовании качественного метода контроля процедура инокуляции питательной среды должна соответствовать таковой, используемой в рутинной лабораторной практике (одна колония, вертушки 3-5 колоний или петля культуры и т.д.).

При использовании полуколичественного или количественного метода готовят рабочие разведения контрольного штамма на 0,9% физиологическом растворе. Исходную взвесь готовят с концентрацией 10^8 – 10^9 КОЕ/мл, используя соответствующие стандарты мутности или нефелометры. Десятикратными разведениями доводят концентрацию микроорганизмов до необходимой для контроля. Последнее рабочее разведение должно содержать в 0,1 мл требуемое для контроля минимальное количество микроорганизмов (Приложение 8,9).

Для количественных испытаний чашечных сред используют инокулят требуемых микроорганизмов с концентрацией 10^2 КОЕ. Для полуколичественных или качественных испытаний **плотных** питательных сред необходим инокулят, содержащий 10^3 – 10^4 КОЕ. Для контроля

чувствительности (продуктивности) **жидких** сред используют инокулят, содержащий 10 - 100 КОЕ (Приложение 8,9).

Для испытаний на селективность в чашку или пробирку со средой инокулируют суспензию нецелевых микроорганизмов (микроорганизмов, подавление или замедление роста которых требуется для обеспечения оптимального роста целевых микроорганизмов), содержащую от 10^4 до 10^6 КОЕ. Параллельно осуществляется контроль приготовленного инокулюма путем высева на соответствующую плотную неселективную питательную среду.

3.6.4 Интерпретация результатов оценки качества питательной среды

При использовании качественного метода контроля питательных сред оценивается скорость роста, величина колоний, морфология колоний и наличие других признаков, свойственных для контрольного штамма, например, гемолиз, пигмент и т.д. (см. Приложение 4,5).

При оценке качества неселективных питательных сред полуколичественным или количественным методом чувствительность (продуктивность) питательной среды должна составлять не менее 70%. На селективных средах чувствительность среды для целевого микроорганизма должна быть не менее 50-70% (в зависимости от вида среды), а рост нецелевых микроорганизмов должен частично или полностью подавляться (Приложение 6).

3.7 Заключение о соответствии питательной среды заявленным характеристикам

Результаты испытаний считают удовлетворительными, если:

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

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

4. Документация

Для регистрации исследований питательных сред в лаборатории вводится журнал "Внутрилабораторный контроль качества питательных сред". При приготовлении любого вида питательных сред в журнале должна регистрироваться следующая информация:

- Порядковый номер
- Дата приготовления среды
- Название среды

- Номер серии, изготовитель
- Количество емкостей (пробирок, чашек и т.п.)
- Стерильность
- Рост
- Ростовые свойства
- Ингибирующие свойства
- Селективные свойства
- Биохимические свойства
- Заключение о пригодности
- Подпись (ФИО сотрудника лаборатории).

ПРИЛОЖЕНИЯ

ПРИЛОЖЕНИЕ 1. Материально-техническое оснащение, необходимое для выполнения стандартной технологии

Аппаратура

- Микроскоп бинокулярный с иммерсионной системой и встроенным осветителем
- Термостат (анаэрозат)
- Автоклав
- Сухожаровой шкаф
- Ламинарный бокс II класса биологической безопасности, оснащенный HEPA-фильтром
- Дистиллятор
- Аппарат для приготовления питательных сред (средоварка)
- Ультрафиолетовая лампа
- Стерильные пробирки пластиковые с пластиковыми, силиконовыми, целлюлозными пробками или стеклянные
- Чашки Петри пластиковые
- Калиброванные бактериальные петли и шпатели одноразовые
- Штативы для лабораторных емкостей и предметных стекол, заливки агаризованных сред
- Предметные стекла
- Устройство для фиксации и окрашивания мазков
- Стерильные серологические пипетки
- Автоматические дозаторы с одноразовыми наконечниками;
- Низкотемпературный холодильник

Реактивы

- Питательные среды сухие и готовые и добавки к ним
- Дистиллированная вода
- Физиологический раствор
- Набор красителей для окрашивания мазков: фуксин (сафранин), метиленовый синий, набор для окраски по Граму (генцианвиолет, фуксин (сафранин), обесцвечивающий раствор, раствор Люголя)
- Иммерсионное масло
- Контрольные штаммы микроорганизмов
- Стандарты мутности (отраслевой производства ФГУН ГИСК им.Л.А.Тарасевич и МакФарланда)/Денситометр

Другие расходные материалы

- Маркеры по стеклу
- Перчатки резиновые
- Контейнеры для сброса отходов
- Фильтровальная бумага
- Емкости с дезинфицирующим раствором
- Пакеты для автоклавирования

Контрольные штаммы микроорганизмов

Эталонные (референтные) штаммы национальных и международных коллекций.

ПРИЛОЖЕНИЕ 2. Порядок отбора проб, подлежащих контролю питательных сред

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

Обозначения. УР – удовлетворительный результат; НР – неудовлетворительный результат

ПРИЛОЖЕНИЕ 3. Подготовка тест-штамма для контроля.

1. Восстановление культур аэробов.

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

1-ый пассаж:

- Лيوфилизированная культура. Ампулу с лиофилизированной культурой вскрывают согласно инструкции, вносят в нее 0,4-0,6 мл питательного бульона или физ. раствора, перемешивают до получения однородной микробной взвеси и высевают на жидкую и плотную питательную среду.

- Культура со среды хранения. Культуру бактериологической петлей переносят в пробирку с питательным бульоном, перемешивают до получения однородной микробной взвеси, встряхивают, а затем делают высеv на питательный агар. Посевной материал распределяют шпателем по среде для получения отдельных колоний.

- Замороженная культура. Стерильным пинцетом или иглой достают 1 бусину с культурой из пробирки CRYOBANK, извлеченной из морозильника. Бусину опускают в пробирку с питательным бульоном или на поверхность плотной питательной среды и инкубируют при соответствующих условиях. Бусину утилизируют в соответствии с общепринятыми правилами. Пробирку с оставшимися бусинами возвращают в морозильник.

Посевы инкубируют при 35-37°C в течение 18-20 ч.

Выросшую на питательном агаре культуру проверяют на чистоту роста и отсутствие диссоциации. Далее проводят изучение культуральных, морфологических и биохимических

свойств. При обнаружении более 25% полиморфных колоний, культура не может быть использована для контроля.

2-ой пассаж:

Отдельную типичную колонию культуры 1-го пассажа переносят в пробирку с питательным бульоном, перемешивают и пересевают в 2-3 пробирки с бульоном и на питательный агар. Выросшую на питательном агаре культуру проверяют на соответствие культуральных, морфологических и биохимических свойств.

Восстановленную таким образом культуру используют для проведения внутрилабораторного контроля питательных сред или для других нужд.

2. Восстановление культур анаэробов.

1-ый пассаж:

Лиофилизированную или замороженную (на полистироловых или стеклянных бусах) культуру, а также из среды хранения переносят в пробирку с питательным бульоном для анаэробов и перемешивают до получения однородной микробной взвеси. Посевы инкубируют при 35-37°C в течение 18-20 ч в анаэробных условиях до отчетливого видимого роста культуры в виде диффузного помутнения.

2-ой пассаж:

Отдельную типичную колонию культуры 1-го пассажа переносят в пробирку с питательным бульоном, перемешивают и пересевают в 2-3 пробирки с бульоном и на питательный агар. Посевы инкубируют в анаэробных условиях при 35-37°C в течение 18-20 ч. Выросшую на питательном агаре культуру проверяют на соответствие культуральных, морфологических и биохимических свойств.

Восстановленную таким образом культуру используют для проведения внутрилабораторного контроля питательных сред или для других нужд

ПРИЛОЖЕНИЕ 4. Минимальные требования к проверке качества отечественных питательных сред с помощью контрольных тест-штаммов* микроорганизмов.

N п/п	Питательные среды (регистрационный номер)	Атмосфера, время и температура культивирования	Контрольные тест-штаммы*	Наблюдаемый эффект
1	2	3	4	5
1.	Питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-бульон) ФСР 2007/00002.	Аэробные 24-48 ч. (37±1)°C	Shigella flexneri 1a 8516 Salmonella typhi H901 ГДР/ГИСК Corynebacterium xerosis 1911 Staphylococcus aureus Wood-46 Pseudomonas aeruginosa 27/99 Escherichia coli 3912/41(055:K59)	Образование индола (розовое окрашивание индикаторной бумаги) Образование сероводорода (почернение индикаторной бумаги) Диффузное помутнение среды Диффузное помутнение среды Диффузное помутнение среды Диффузное помутнение среды

2.	Питательный агар для культивирования микроорганизмов сухой (ГРМ-агар) ФСР 2007/00001	Аэробные 18-20 ч. (37±1) °С (для <i>S. marcescens</i> 1 при (22±2) °С)	<i>Shigella flexneri</i> 1a 8516	Бесцветные прозрачные круглые колонии диаметром 1,5±0,5 мм в S форме
			<i>Shigella sonnei</i> «S form»	Бесцветные прозрачные круглые колонии диаметром 1,5±0,5 мм в S форме
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27/29	Сплошной рост с образованием сине-зеленого пигмента
			<i>Serratia marcescens</i> 1	Сплошной рост с образованием красного пигмента
3.	Питательная среда для выделения сальмонелл и шигелл сухая (SS-агар) ФСР 2007/00838	Аэробные 18-20 ч (37±1) °С	<i>Salmonella typhi</i> H901 ГДР/ГИСК	Рост бесцветных колоний в S-форме диаметром 1,0-2,0 мм
			<i>Salmonella paratyphi</i> A-225	Рост бесцветных колоний в S-форме диаметром 1,0-2,0 мм
			<i>Shigella flexneri</i> 1a 8516	Рост бесцветных или слегка розовых колоний в S-форме диаметром 1,0-2,0 мм
			<i>Shigella sonnei</i> «S form»	Рост бесцветных или слегка розовых колоний в S-форме диаметром 1,0-2,0 мм
			<i>Escherichia coli</i> 3912/41 (055:K59)	Колонии окрашены в малиновый цвет. Диаметр колоний не менее 1,5-2,5 мм
			<i>Proteus vulgaris</i> HX 19 222	Рост бесцветных колоний диаметром 2,0-4,0 мм. Роение частично подавлено
			<i>Proteus mirabilis</i> 3177	Рост бурых колоний диаметром 2,0-4,0 мм с темным центром. Роение подавлено полностью
			<i>Staphylococcus aureus</i> Wood-46	Рост подавлен полностью
4.	Питательная среда для выделения шигелл и сальмонелл сухая (АГАР ПЛОСКИРЕВА-ГРМ) ФСР 2008/03938	Аэробные 18-20 ч (37±1) °С	<i>Shigella flexneri</i> 1a 8516	Колонии бесцветные, нежные, гладкие, круглые диаметром 1,0-2,0 мм
			<i>Salmonella typhi</i> H-901 ГДР/ГИСК	Колонии бесцветные, нежные, гладкие, круглые диаметром 1,0-2,0 мм
			<i>Salmonella paratyphi</i> A-225	Колонии бесцветные, нежные, гладкие, круглые диаметром 1,0-2,0 мм
			<i>Shigella sonnei</i> «S form»	Колонии бесцветные или слегка розового цвета, нежные, гладкие, круглые диаметром 1,0-2,0 мм
			<i>Escherichia coli</i> 3912/41 (O55:K59)	Колонии малинового цвета, круглые, выпуклые, гладкие диаметром 1,5-2,5 мм
5.	Питательная среда для выделения и идентификации патогенных	Аэробные 24-48 ч (37±1) °С	<i>Shigella flexneri</i> 1a 8516	Колонии круглые, блестящие, бледно-розовые или цвета среды, диаметром 1,0-1,5 мм
			<i>Salmonella typhimurium</i> 79	Колонии круглые, блестящие, бесцветные с черным центром

	энтеробактерий (XLD-агар) ФСП 2010/09165			или без него, диаметром 1,0-3,0 мм
			Salmonella enteritidis 11272	Колонии круглые, блестящие, бесцветные с черным центром или без него, диаметром 1,0-3,0 мм
			Escherichia coli 3912/41(O55:K59)	Колонии круглые, непрозрачные, желтые, с желтой зоной вокруг, диаметром 1,5-3,0 мм
			Proteus mirabilis 3177	Колонии круглые, прозрачные, желтого цвета с темным центром, диаметром 1,0-2,5 мм
			Staphylococcus aureus Wood-46	Отсутствие роста
6.	Питательный бульон для накопления сальмонелл по Раппапорту-Вассиладису сухой (RVS-Бульон) ФСП 2010/09163	Аэробные (24±3) ч (41,5±1) °С	Salmonella enteritidis 11272	Диффузное помутнение
			Salmonella typhimurium 79	Диффузное помутнение
			Escherichia coli ATCC 25922	Отсутствие роста
7.	Питательная среда с эозин-метиленовым синим сухая (СРЕДА ЛЕВИНА-ГРМ) ФСП 2008/03063	Аэробные 24-48 ч. (37±1)°С	Shigella flexneri 1a 8516	Наличие бесцветных или слабо-розовых, прозрачных, круглых колоний диаметром 1,0-1,5 мм
			Escherichia coli 168/59 (O111:K58)	Наличие круглых темно-фиолетовых колоний с зеленым металлическим блеском (или без него) диаметром 1,5-2,0 мм
			Staphylococcus aureus 209-P (ATCC 6538-P)	Наличие бесцветных или светло-фиолетовых круглых колоний с темным центром до 1 мм
8.	Питательная среда для выделения энтеробактерий сухая (АГАР ЭНДО-ГРМ) ФСП 2007/00375	Аэробные 18-20 ч. (37±1)°С	Shigella sonnei «S form»	Рост бесцветных или слегка розовых колоний со слабо выраженным центром, круглые, прозрачные, диаметром 1,5-2,5 мм
			Shigella dysenteriae I 1362	Рост бесцветных, круглых, прозрачных колоний диаметром 1,0-1,5 мм

			Escherichia coli 3912/41(055:K59)	Рост круглых колоний малинового цвета с металлическим блеском диаметром 2,0-3,0 мм
			Escherichia coli 168/59 (O111:K58)	Рост круглых колоний малинового цвета диаметром 1,5-2,5 мм с нечетким металлическим блеском
			Staphylococcus aureus Wood-46	Полное отсутствие роста
9.	Питательная среда для выделения сальмонелл сухая (ВИСМУТ-СУЛЬФИТ-ГРМ агар) ФСР 2008/03237	Аэробные 24-48 ч. (37±1)°С	Salmonella typhi Н 901 ГДР/ГИСК	Наличие круглых, черных колоний, с блестящей зоной вокруг них, диаметром 1,0-3,0 мм; среда под колониями окрашивается в черный цвет
Salmonella typhimurium 79			Наличие круглых, черных колоний, с блестящей зоной вокруг них, диаметром 1,0-3,0 мм; среда под колониями окрашивается в черный цвет	
Salmonella london 3496			Наличие круглых, черных колоний, с блестящей зоной вокруг них, диаметром 1,0-3,0 мм; среда под колониями окрашивается в черный цвет	
Salmonella paratyphi A 225			Наличие круглых, зеленых, с темным центром колоний диаметром 1,0-2,5 мм	
Salmonella gallinarum 665			Наличие круглых, темно-зеленых колоний диаметром 0,8-1,2 мм	
Salmonella typhi «bismut»			Наличие полиморфных, черных с металлическим блеском колоний или без него, диаметром 1,0-2,0 мм; среда под колониями окрашивается в черный цвет	
Escherichia coli 3941/12 (055:K59)			Наличие круглых, зеленовато-коричневых колоний, диаметром 0,5-1,5 мм	
Proteus vulgaris НХ 19 222			Наличие круглых, светло-зеленого цвета колоний диаметром 1,0-2,0 мм	
Staphylococcus aureus Wood 46			Рост подавлен полностью	
			Klebsiella rhinoscleromatis К3 NCTC 5046	Рост подавлен полностью
10.	Питательная среда для	Аэробные 24-48 ч.	Escherichia coli 675	Помутнение среды с образованием газа в поплавке

	обнаружения бактерий группы кишечной палочки сухая (СРЕДА КЕССЛЕРА-ГРМ) ФСР 2007/00971	(37±1)°C (для E.coli дополнительно 43±1°C)	Klebsiella pneumoniae 418	Помутнение среды с образованием газа в поплавке
			Citrobacter freundii 101/57	Помутнение среды с образованием газа в поплавке
			Enterobacter aerogenes 10006	Помутнение среды и слабое газообразование в поплавке
			Pseudomonas aeruginosa 27/99	Слабое помутнение среды без газообразования
			Proteus vulgaris НХ 19 222	Отсутствие роста
			Staphylococcus aureus Wood-46	Отсутствие роста
11.	Питательная среда для выделения и дифференциации E. coli 157:H7 сухая (СОРБИТОЛ E. COLI O157:H7 агар) ФСР 2007/00970	Аэробные 18-20 ч. (37±1)°C	Escherichia coli 4 (O157:H7)	Круглые, полупрозрачные, бесцветные или светло-розовые, диаметром 1,5-2,5 мм
			Escherichia coli 3912/41 (055: K59)	Круглые, малинового цвета со слабо выраженным металлическим блеском или без него, диаметром 1,5-2,5 мм
			Salmonella typhimurium 79	Круглые, малинового цвета, с металлическим блеском, диаметром 1,0-2,0 мм
			Shigella flexneri 1 a 8516	Круглые, полупрозрачные, бесцветные или светло-розовые, диаметром 1,0-1,5 мм
			Staphylococcus aureus Wood-46	Полное отсутствие роста
12.	Питательная среда для обнаружения и выделения E. coli, колиформных бактерий и кишечных патогенов сухая (АГАР МАККОНКИ-ГРМ) ФСР 2009/05628.	Аэробные 18-20 ч. (37±1)°C	Escherichia coli ATCC 25922	Колонии круглые, гладкие от розового до красного цвета, диаметром 1,5-3,0 мм
			Escherichia coli 3912/41 (055:K59)	Колонии круглые, гладкие от розового до красного цвета, диаметром 1,5-3,0 мм
			Shigella flexneri 1a 8516	Колонии бесцветные или бледно-розовые, круглые, гладкие, диаметром 1,0-2,0 мм
			Salmonella typhimurium 79	Колонии бесцветные, круглые, гладкие, диаметром 1,5-3,0 мм
			Proteus mirabilis 3177	Колонии бесцветные, круглые, гладкие, диаметром 2,0-4,0 мм
			Enterococc faecalis 775	Колонии мелкие, розово-красные, диаметром до 1,0 мм
			Staphylococcus aureus 209 P	Рост подавлен
13.	Питательная среда для предварительного теста на	Аэробные 18-20 ч. (37±1)°C	Salmonella typhimurium 79	Без изменения цвета среды
			Escherichia coli ATCC 25922	Изменение цвета среды в желтый, газ

	присутствие <i>E. coli</i> и колиформных бактерий сухая (БУЛЬОН МАККОНКИ-ГРМ) ФСР 2009/05627		<i>Escherichia coli</i> 3912/41 (O55:K59)	Изменение цвета среды в желтый, газ
			<i>Klebsiella pneumoniae</i> 418	Изменение цвета среды в желтый, газ
			<i>Enterobacter aerogenes</i> 10006	Изменение цвета среды в сиренево-желтый, газ
			<i>Shigella flexneri</i> 1 a 8516	Без изменения цвета среды
			<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P	Рост подавлен
14.	Питательная среда для выделения и идентификации энтеробактерий сухая (SDS-БУЛЬОН) ФСР 2007/00969	Аэробные 24-48 ч. (37±1)°C	<i>Escherichia coli</i> 675	Помутнение и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			<i>Enterobacter aerogenes</i> 10006	Помутнение и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			<i>Klebsiella pneumoniae</i> 3534/51	Помутнение и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			<i>Serratia marcescens</i> 1	Помутнение и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			<i>Citrobacter freundii</i> 101/57	Помутнение и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			<i>Escherichia coli</i> Ewing (O124K72) 227	Помутнение без изменения цвета среды
			<i>Shigella flexneri</i> 1a 8516	Помутнение без изменения цвета среды
			<i>Staphylococcus aureus</i> Wood-46	Полное отсутствие роста
			<i>Proteus vulgaris</i> HX 19 222	Полное отсутствие роста
15.	Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Агар КЛИГЛЕРА-ГРМ) ФСР 2007/00968	Аэробные 24-48 ч. (37±1)°C	<i>Salmonella typhi</i> «bismuth»	Скошенная часть малинового цвета, столбик желтого цвета. Слабое почернение по уколу.
			<i>Salmonella paratyphi</i> B 8006	Скошенная часть малинового цвета, столбик чёрного цвета. Газообразование.
			<i>Shigella sonnei</i> «S form»	Скошенная часть малинового цвета, столбик желтого цвета.
			<i>Escherichia coli</i> 3912/41 (O55:K59)	Скошенная часть и столбик жёлтого цвета. Газообразование.
			<i>Providencia alcalifaciens</i> 1068-50	Скошенная часть малинового цвета, столбик желтого цвета. Слабое газообразование.
			<i>Proteus mirabilis</i> Сиднеев	Скошенная часть малинового цвета, столбик чёрного цвета. Газообразование.
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 613-60	Скошенная часть и столбик малинового цвета.
16.	Питательная среда для идентификации энтеробактерий	Аэробные 18-20 ч. (37±1)°C	<i>Shigella flexneri</i> 1a 8516	Каждая среда Гисса-ГРМ позволяет идентифицировать штаммы энтеробактерий по тесту ферментации одного из углеводов или маннита,
			<i>Escherichia coli</i> 3912/41 (O55:K59)	

	сухая (СРЕДЫ ГИССА-ГРМ) (с лактозой, глюкозой, сахарозой, мальтозой или маннитом). ФСР 2008/03494		Shigella dysenteriae I 1362	содержащегося в этой среде. В случае положительной реакции происходит образование кислоты с изменением цвета среды с сине-зеленого на желто-зеленый или желтый, образование газа сопровождается появлением «пузырьков» в глубине среды или на ее поверхности. Отрицательная реакция характеризуется отсутствием изменений цвета среды.
			Proteus vulgaris HX 19 222	
			Klebsiella pneumoniae 3534/51	
			Salmonella typhi 65	
			Staphylococcus aureus «Виотко»	
17.	Питательная среда для первичной идентификации энтеробактерий сухая (СРЕДА РЕССЕЛЯ-ГРМ) ФСР 2008/02818	Аэробные 18-20 ч. (37±1)°C	Shigella flexneri I a 8516	Изменение цвета столбика среды в желтый и посинение ее скошенной части
			Salmonella paratyphi A-225	Изменение цвета столбика среды в желтый с образованием газа и посинением скошенной части среды
			Alcaligenes faecalis 415	Изменение цвета всей среды в синий или посинение ее скошенной части
			Escherichia coli 055 K 59 № 339	Изменение цвета всей среды в желтый с образованием газа в столбике
18.	Питательная среда для идентификации энтеробактерий сухая (Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной) ФСР 2011/10006	Аэробные 18-20 ч. (37±1)°C	Yersinia enterocolitica 287 II	Столбик среды и скошенная часть ярко-малинового цвета
			Yersinia pseudotuberculosis III	Столбик среды и скошенная часть ярко-малинового цвета
			Shigella sonnei «S form»	Столбик среды желтого цвета, скошенная часть красно-малинового цвета
			Escherichia coli 3912/41(055:K59)	Столбик и скошенная часть среды желтого цвета, наличие в столбике пузырьков газа
			Citrobacter freundii 101/57	Столбик и скошенная часть среды желтого цвета, почернение среды в столбике, наличие в столбике пузырьков газа
			Proteus vulgaris HX 19 222	Почернение среды в столбике, скошенная часть ярко-малинового цвета
19.	Питательная среда для обнаружения E. coli и колиформных	Аэробные 24-48 ч (37±1) °C и 18-24 ч	Escherichia coli 3912/41 (O55:K59)	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Escherichia coli Ewing (O124K72) 227	Помутнение без изменения цвета среды

	бактерий по признаку ферментации лактозы сухая (СРЕДА ЭЙКМАНА с лактозой) ФСП 2008/03666	(43±1) °С (для эшерихий).	Escherichia coli ATCC 25922	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Escherichia coli 4 (O157:H7)	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Enterobacter aerogenes 10006	Помутнение, слабое газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Pseudomonas aeruginosa 27/99	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в сине-зеленый
			Proteus vulgaris HX 19 222	Помутнение без изменения цвета среды
20.	Питательная среда для обнаружения E. coli и колиформных бактерий по признаку ферментации глюкозы сухая (СРЕДА ЭЙКМАНА с глюкозой) ФСП 2008/03665	Аэробные 24-48 ч (37±1) °С и 18-24 ч (43±1) °С (для эшерихий)	Escherichia coli 3912/41 (O55:K59)	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Escherichia coli Ewing (O124K72) 227	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Escherichia coli ATCC 25922	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Escherichia coli 4 (O157:H7)	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Enterobacter aerogenes 10006	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
			Pseudomonas aeruginosa 27/99	Помутнение, изменение цвета среды из зеленого в сине-зеленый
			Proteus vulgaris HX 19 222	Помутнение, газообразование и изменение цвета среды из зеленого в желтый
21.	Питательная среда для выделения возбудителей кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза сухая (ИЕРСИНИЯ-АГАР) ФСП 2007/00900	Аэробные 24-48ч (28±1) °С	Yersinia enterocolitica 287-II	Рост круглых, гладких, блестящих, сине-зеленых колоний диаметром не менее 1,5 мм
			Yersinia pseudotuberculosis III	Рост матовых, шероховатых, зеленовато-синих колоний с фестончатыми краями и темным выпуклым центром диаметром не менее 1,0 мм
			Escherichia coli 3912/41 (O55:K59)	Рост ярко-желтых сочных выпуклых колоний диаметром не менее 2,0 мм

			Shigella flexneri 1a 8516	Рост желтых плоских колоний диаметром не менее 1,0 мм
			Staphilococcus aureus Wood-46	Роста нет
22.	Питательная среда для выделения коринебактерий (КОРИНЕБАКАГ АР) ФСР 2007/00003	Аэробные 48ч (37±1) °С	Corynebacterium diphtheriae gravis 665	Темно-серые, шероховатые, со складчатой поверхностью и неровными (изрезанными) краями - тип «маргаритки» диаметром 2,0-3,5 мм
			Corynebacterium diphtheriae mitis 6765	Темно-серые, круглые, гладкие, блестящие, с ровными краями диаметром 1,5-3,0 мм
			Corynebacterium xerosis 1911	Серовато-черные, круглые, выпуклые, блестящие диаметром 1,2-2,0 мм
			Corynebacterium ulcerans 675	Серовато-черные, круглые, выпуклые, блестящие диаметром 0,5-1,5 мм
			Staphylococcus aureus Wood-46	Отсутствие роста
			Streptococcus pyogenes Dick I	Отсутствие роста
23.	Питательная среда для определения токсигенности дифтерийных микробов сухая (КОРИНЕТОКСА ГАР) ФСР 2007/00370	Аэробные 24-48ч (37±1) °С	Corynebacterium diphtheriae gravis 665	1. Через 22-24 ч при просмотре посева под лупой в проходящем свете на темном фоне наблюдаются линии преципитации 2. Через 44-48 ч линии преципитации становятся компактнее и видны невооруженным глазом
			Corynebacterium diphtheriae mitis 6765	
			Corynebacterium diphtheriae intermedius 619	
			Corynebacterium diphtheriae gravis nontoxigenic 4895	Линии преципитации после инкубации не наблюдаются
			Corynebacterium diphtheriae mitis nontoxigenic 3689	
			Corynebacterium diphtheriae intermedius nontoxigenic 7227	
24.	Питательная среда для идентификации коринебактерий по тесту расщепления цистина сухая (СРЕДА ПИЗУ) ФСР 2008/03064	Аэробные 18-20ч (37±1) °С	Corynebacterium diphtheriae mitis nontoxigenic 203 АГ	Почернение среды по ходу укола и образование «облачка» черно- коричневого цвета в глубине столбика
			Corynebacterium diphtheriae gravis 75	
			Corynebacterium xerosis 1911	Без изменения цвета среды (возможно появление темного пятна на поверхности среды)

			<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i> «Соколов»	Без изменения цвета среды
25.	Питательная среда для выделения стафилококков сухая (СТАФИЛОКОК К-АГАР) ФСР 2011/10007	Аэробные 48 ч. (37±1) °С	<i>Staphylococcus aureus</i> «Виотко»	Светло-желтые, непрозрачные, выпуклые, круглые с ровными краями блестящие диаметром 2,0-4,0 мм
			<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 14990	Белые, непрозрачные, выпуклые, круглые с ровными краями, диаметром 1,5-3,5 мм
			<i>Staphylococcus saprophyticus</i> CCM 883	Белые, непрозрачные, выпуклые, круглые с ровными краями, диаметром 1,5-3,5 мм
			<i>Escherichia coli</i> 168/59(O111:K58)	Отсутствие роста
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 273	Отсутствие роста
			<i>Proteus vulgaris</i> НХ 19 222	В случае роста - отсутствие «роения»
26.	ПЕПТОН основной сухой ФСР 2009/05472	Аэробные 6 ч (37±1) °С	<i>Vibrio cholerae</i> не O1 P-9741	Формирование типичных колоний на щелочном агаре после высева из основного пептона
			<i>Vibrio cholerae</i> O1 P-1 (145)	Формирование типичных колоний на щелочном агаре после высева из основного пептона
			<i>Vibrio cholerae</i> O1 M-878 (890)	Формирование типичных колоний на щелочном агаре после высева из основного пептона
27.	Питательная среда для выделения и культивирования холерного вибриона сухая (ЩЕЛОЧНОЙ АГАР) ФСР 2009/05473	Аэробные 12 ч (37±1) °С	<i>Vibrio cholerae</i> не O1 P-9741	Гладкие, полупрозрачные с голубоватым оттенком в проходящем свете колонии диаметром не менее 1,0 мм
			<i>Vibrio cholerae</i> O1 P-1 (145)	Гладкие, полупрозрачные с голубоватым оттенком в проходящем свете колонии диаметром не менее 1,0 мм
			<i>Vibrio cholerae</i> O1 M-878 (890)	Гладкие, полупрозрачные с голубоватым оттенком в проходящем свете колонии диаметром не менее 1,0 мм
28.	Питательная среда для выделения и	Аэробные 18 ч (37±1) °С	<i>Vibrio cholerae</i> не O1 P-9741	Наличие роста в виде круглых, гладких колоний желтого цвета диаметром не менее 1,0 мм

	культивирования возбудителя холеры и других энтеропатогенных вибрионов сухая (TCBS-агар) ФСР		<i>Vibrio cholerae cholerae</i> 01 группы P-1 (145)	Наличие роста в виде круглых, гладких колоний желтого цвета диаметром не менее 1,0 мм
			<i>Vibrio cholerae eltor</i> 01 группы M 878 (890)	Наличие роста в виде круглых, гладких колоний желтого цвета диаметром не менее 1,0 мм
			<i>Escherichia coli</i> 3912/41 (O55:K59)	Рост подавлен
			<i>Proteus vulgaris</i> HX 19 222	Рост подавлен
29.	Питательная среда для контроля стерильности сухая (ТИОГЛИКОЛЕВАЯ СРЕДА) ФСР 2008/03235	Анаэробные 48 ч 34-35 °С	<i>Alcaligenes faecalis</i> 415	Помутнение верхней части столбика среды
			<i>Clostridium novyi</i> 198	Шарообразные колонии или диффузное помутнение среды с выраженной прозрачной зоной в верхней части столбика среды
30.	Питательная среда для количественного определения микробной загрязненности (Среда № 1 ГРМ) ФСР 2011/11415	Аэробные (21±3) ч (33±2)°С.	<i>Bacillus cereus</i> NCTC 8035	Плоские, мелкобугристые, слегка вогнутые, матовые колонии, с волнистыми краями, диаметром 2,0-5,0 мм
			<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209-P	Круглые, слегка выпуклые колонии, с ровными краями, диаметром 1,5-2,0 мм
			<i>Enterobacter cloacae</i> ГИСК А-186	Круглые колонии в S-форме, диаметром 1,5-2,0 мм
31.	Питательная среда для идентификации стафилококков (СРЕДА № 10 ГРМ) ФСР 2007/00374	Аэробные (45±3) ч. (33±2)°С	<i>Staphylococcus aureus</i> FDA 209-P (ATCC 6538-P)	Золотисто-желтые колонии, окруженные желтыми зонами
			<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Отсутствие роста
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ГИСК 453	Отсутствие роста
32.	Питательная среда для культивирования и выделения бифидобактерий сухая (БИФИДУМ-СРЕДА) ФСР 2008/03236	Анаэробные 24-72 ч (37±1) °С	<i>Bifidobacterium bifidum</i> 1	Колонии типа «комет», «гвоздиков», «тяжей», «шариков» различной степени четкости, с расположенные по всему объему столбику среды и прозрачной зоной в верхней его части
			<i>Bifidobacterium adolescentis</i> ATCC 15705	
			<i>Bifidobacterium breve</i> ATCC 15701	
			<i>Bifidobacterium infantis</i> ATCC 15702	
			<i>Bifidobacterium longum</i> ATCC 15708	
			<i>Escherichia coli</i> 3912/41(O55:K59)	Диффузное помутнение столбика среды с газообразованием в виде пены на поверхности
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27/99	Диффузное помутнение верхней части столбика среды с

				последующим распространением мутности вниз по среде	
33.	Питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам сухая (СРЕДА ТИПА АГВ) ФСР 2012/13687	Аэробные 18-20 ч. (36±1) °С	Escherichia coli ATCC 25922	Четкие зоны ингибиции	
			Staphylococcus aureus ATCC 25923	Четкие зоны ингибиции	
			Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Четкие зоны ингибиции	
34.	Питательная среда для выявления клостридий по сульфитредуцирующему признаку сухая (СУЛЬФИТНЫЙ АГАР) ФСР 2009/05626	Анаэробные 24 ч. (37±1) °С		Модификации 1,2	Модификация 3
			Clostridium perfringens 13124	Колонии черного цвета по всему объему столбика среды	Колонии R-формы черного или белого цвета с черным центром и частичное почернение среды
			Escherichia coli 25922	Колонии белого цвета на поверхности и в столбике среды	Колонии S-формы, белого цвета
			Pseudomonas aeruginosa 27/99	Колонии белого цвета на поверхности среды	Колонии R-формы, белого цвета
35.	Питательный бульон для выделения листерий (ПБЛ) ФСР 2010/09161.	Аэробные 48 ч 30°С	Listeria monocytogenes 766	Помутнение среды, при встряхивании наблюдаются муаровые волны	
			Listeria ivanovi	Помутнение среды, при встряхивании наблюдаются муаровые волны	
			Escherichia coli ATCC 25922	Рост подавлен	
			Proteus vulgaris НХ 19 222	Рост подавлен	
			Staphylococcus aureus Wood-46	Рост подавлен	
36.	Питательный агар для выделения листерий (ПАЛ) ФСР 2010/09162	Аэробные 48 ч 37 °С	Listeria monocytogenes 76	Наличие мелких, круглых, серо-желтого цвета колоний, диаметром 0,4-1,2 мм с образованием вокруг колоний черной зоны	

			<i>Listeria ivanovi</i>	Наличие мелких, круглых, серо-желтого цвета колоний, диаметром 0,2-1,0 мм с образованием вокруг колоний черной зоны
			<i>Esherichia coli</i> ATCC 25922	Рост подавлен
			<i>Proteus vulgaris</i> HX 19 222	Рост подавлен
			<i>Staphylococcus aureus</i> Wood-46»	Рост подавлен
37.	Питательная среда для выделения и культивирования дрожжеподобных и плесневых грибов (САБУРО МАЛЬТОЗА АГАР) ТУ ФСР 2009/05625	Аэробные 44-48 ч 25-30 °С.	<i>Candida albicans</i> NCTC 885-653	Гладкие, выпуклые колонии белого цвета в виде полусферы с ровным краем, диаметром 2,0-3,0 мм
			<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P (FDA 209-P)	Отсутствие роста в присутствии теллурита калия
			<i>Enterobacter cloacae</i> ГИСК А-186	Отсутствие роста в присутствии теллурита калия
38.	Набор питательных сред для ускоренного определения лекарственной чувствительности и первичной идентификации микобактерий туберкулеза (ТБ тест-набор) ФСР 2007/01366	Аэробные 8-12 суток (37±1) °С	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	Появление красной или интенсивной розовой, или фиолетовой окраски во флаконах №1 без препаратов и во флаконе №3 с ТКГ
39.	Набор питательных сред для ускоренного определения чувствительности микобактерий туберкулеза к пипразинамиду (PZA-тест) ФСР 2011/10830	Аэробные 8-21 суток (37±1) °С	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Ra	Появление красной или интенсивной розовой, или фиолетовой окраски во флаконах №1 без PZA
40.	Питательная среда для выделения энтерококков сухая (ЭНТЕРОКОККА	Аэробные 24-48 ч. (37±1) °С	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Колонии круглые гладкие бордового цвета с металлическим блеском
			<i>Enterococcus faecium</i> ATCC 19434	Колонии гладкие круглые светло-розового цвета или с темным центром и светлым ободком

	ГАР) ФСР 2011/10008		Escherichia coli ATCC 25922	Отсутствие роста
			Staphylococcus aureus ATCC 25923	Отсутствие роста
41.	Питательная среда для выделения и культивирования лактобацилл сухая (ЛАКТОБАКАГА Р) ФСР 2010/09164	Анаэробны е 44-48 ч (37±1) °С	Lactobacillus plantarum 8P-A3	Белые, блестящие колонии с ровными краями
			Lactobacillus brevis ATCC 367	
			Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus ATCC 11842	
			Pseudomonas aeruginosa 27/99	Отсутствие роста
			Escherichia coli 0551 3912/41 (055:K59)	
42.	Питательная среда для культивирования и выделения гемофильной палочки, готовая к применению (Гемофилус агар) ФСР 2011/11118	Анаэробны е 24-48 ч. 37 °С.	Haemophilus influenzae 423	Рост в виде слизистых круглых полупрозрачных сероватого цвета колоний диаметром до 2 мм
			Haemophilus influenzae ATCC 9006	Рост в виде слизистых круглых полупрозрачных сероватого цвета колоний диаметром до 2 мм
			Streptococcus pyogenes Dick-1	Нет роста
			Neisseria meningitidis A 208	Нет роста
43.	Хромогенная питательная среда для обнаружения колиформных бактерий и E.coli, сухая (ХРОМАГАР) РЗН 2013/709	Аэробные 18-20 ч (37±1) °С	Escherichia coli Ewing (O124K72) 227	Колонии круглые, гладкие, блестящие, синего цвета с фиолетовым ореолом или без него, диаметром от 1,0 до 2,5 мм
			Escherichia coli ATCC 25922	Колонии круглые, гладкие, блестящие, синего цвета с фиолетовым ореолом или без него, диаметром от 1,0 до 2,5 мм
			Citrobacter freundii 101/57	Колонии круглые, гладкие, блестящие, розового цвета, диаметром от 1,5 до 2,5 мм;
			Salmonella enteritidis 11272	Колонии круглые, гладкие, блестящие, бесцветные, диаметром от 1,0 до 2,0 мм.
			Enterococcus faecalis 775	Рост подавлен
44.	Питательный агар для обнаружения и учёта E.coli и колиформных бактерий, сухой (ЛАКТОЗНЫЙ	Аэробные 18-20 ч (37±1) °С	Escherichia coli 3912/41(055:K59),	Колонии круглые, слизистые, желто-оранжевого цвета с желтой зоной, диаметром 2,0-3,0 мм
			Escherichia coli ATCC 25922	Колонии круглые, слизистые, желто-оранжевого цвета с

ТТХ АГАР С ТЕРГИТОЛОМ) РЗН 2013/710		желтой зоной, диаметром 2,0-3,0 мм
	<i>Klebsiella pneumoniae</i> 418	Колонии круглые, слизистые, оранжевого цвета, диаметром 2,5-4,0 мм;
	<i>Shigella sonnei</i> «S-form»,	Колонии круглые, красно-коричневого цвета с синей зоной, диаметром 1,5-2,5 мм.
	<i>Salmonella typhimurium</i> 79	Колонии красно-коричневого цвета с неровным краем и с синей зоной, диаметром 2,0-3,5 мм.
	<i>Staphylococcus aureus</i> Wood-46	Рост подавлен

* **Примечание.** Используются контрольные тест-штаммы из Национального центра государственной коллекции возбудителей бактериальной инфекции 3-4 групп патогенности Государственное НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л.А. Тарасевича (см. сноску на странице 7).

ПРИЛОЖЕНИЕ 5. Минимальные требования к проверке качества питательных сред с помощью контрольных штаммов микроорганизмов

Питательные среды	Атмосфера, время и t (°C) инкубации посевов	Контрольные штаммы (АТСС №№)	Ожидаемый результат
Агар для облигатно-анаэробных с дефибрированной или лизированной кровью барана	Анаэробная, 24-48 ч, 35°C	<i>B. fragilis</i> (25285) <i>C. perfringens</i> (13124) <i>F. nucleatum</i> (25586) <i>P. anaerobius</i> (27337) <i>P. melaninogenica</i> (25845)	Рост Рост, бета-гемолиз Рост Рост Рост
Кровяной агар	Аэробная или CO ₂ , 18-24 ч, 35°C	<i>S. pyogenes</i> (19615) <i>S. pneumoniae</i> (6305) <i>S. aureus</i> (25923) <i>E. coli</i> (25922)	Рост, бета-гемолиз Рост, альфа-гемолиз Рост Рост
Триптиказо-соевый агар с кровью барана (для САМР-теста)	Аэробная, 18-24 ч, 35 °C	<i>S. aureus</i> (33862/25923) <i>S. agalactiae</i> (12386) <i>S. pyogenes</i> (19615)	Рост Положительная реакция теста Отрицательная реакция теста
Колумбийский СНА агар с кровью барана	Аэробная или CO ₂ , 24-48 ч, 35°C	<i>S. pyogenes</i> (19615) <i>S. pneumoniae</i> (6305) <i>S. aureus</i> (25923) <i>P. mirabilis</i> (12453)	Рост, бета-гемолиз Рост, альфа-гемолиз Рост Ингибирование (частичное)
Кровяные среды на основе сердечно-мозговой вытяжки, триптиказо-соевого бульона и сред с тиолом.	Аэробная, 5 дней, 35°C Аэробная, 5 дней, 35 °C	<i>B. fragilis</i> (25285) <i>S. pneumoniae</i> (6305)	Рост Рост

Кампилобактериозный агар	Пониженное содержание O ₂ , с CO ₂ , 48 ч, 42°C	<i>C. jejuni</i> (33291) <i>E. coli</i> (25922)	Рост Ингибирование роста (частичное)
Шоколадный агар	CO ₂ , 24 и 48 ч, 35°C	<i>N. gonorrhoeae</i> (43069) <i>H. influenzae</i> (10211)	Рост Рост
Агар с цефсулодином, иргазаном и новобиоцином (CIN)	Аэробная, 24-48 ч, 25°C	<i>Y. enterocolitica</i> (9610) <i>E. coli</i> (25922) <i>P. aeruginosa</i> (27853) <i>E. faecalis</i> (29212)	Рост; красный центр прозрачные края («бычий глаз») Ингибирование роста (от частичного до полного) Ингибирование роста (от частичного до полного) Ингибирование роста (от частичного до полного)
Бролацин агар (CLED)	Аэробная, 24-48 ч, 35°C	<i>E. coli</i> (25922) <i>P. vulgaris</i> (8427) <i>S. aureus</i> (25923)	Рост, колонии с желтым центром Рост, голубоватые распространяющиеся колонии Ингибирование (частичное), однотипные, темно-желтые
Забуференный угольный агар с дрожжевым экстрактом (BCYE) (CYE/BCYE)	Аэробная, 48-72 ч, 35 °C	<i>L. pneumophila</i> (33152) <i>L. bozemanii</i> (33217) <i>L. micdadei</i> (33204)	Рост: желто-зеленые флуоресцирующие в УФ-свете Рост: бледно-голубые, флуоресцирующие в УФ-свете Рост
Накопительный бульон для энтеробактерий [GN], селенитовый бульон	Аэробная, 18-24 ч, 35°C	<i>S. typhimurium</i> (14028) <i>S. sonnei</i> (9290) <i>E. coli</i> (25922)	Рост пересевов Рост пересевов (может ингибироваться в селенитовой среде) Ингибирование пересевов с селенитового бульона (от частичного до полного) Рост в пересеве с GN бульона
Среда с эозином и метиленовым синим (агар Левина, агар ЕМВ)	Аэробная, 18-24 ч, 35°C	<i>S. typhimurium</i> (14028) <i>E. coli</i> (25922) <i>E. faecalis</i> (29212)	Рост, колонии от бесцветных до янтарного цвета Рост, голубовато-черные колонии с зеленоватым металлическим блеском Ингибирование (частичное)
Гектоен энтерик агар	Аэробная, 18-24 ч, 35°C	<i>S. typhimurium</i> (14028) <i>S. flexneri</i> (12022) <i>E. faecalis</i> (29212) <i>E. coli</i> (25922)	Рост: зеленовато-голубые колонии с черным центром Рост, колоний зелено-синие колонии Ингибирование (частичное); желтые колонии Ингибирование роста (от частичного до

			полного); колонии желтые – оранжевые
Агар МакКонки	Аэробная, 18-24 ч, 35°C	<i>E. coli</i> (25922) <i>P. mirabilis</i> (12453) <i>S. typhimurium</i> (14028) <i>E. faecalis</i> (29212)	Рост, розовые колонии Рост, бесцветные, частичное ингибирование роста протей Рост, бесцветные колонии Ингибирование (частичное)
Манитол солевой агар	Аэробная, 24 и 48 ч., 35°C	<i>S. aureus</i> (25923) <i>S. epidermidis</i> (12228) <i>P. mirabilis</i> (12453)	Рост, 2-суточные колонии с желтыми зонами Рост, 2-суточные колонии с красными зонами. Ингибирование (частичное)
Агар РС (<i>Burkholderia cepacia</i>)	Аэробная, 48-72 ч., 30°C	<i>B. cepacia</i> (25416) <i>E. coli</i> (25922) <i>P. aeruginosa</i> (27853) <i>S. aureus</i> (25923)	Рост: колонии с красной зоной Ингибирование роста (от частичного до полного) Ингибирование роста (от частичного до полного) Ингибирование роста (от частичного до полного)
Агар для сальмонелл и шигелл (SS)	Аэробная, 24 ч., 35 °C	<i>S. typhimurium</i> (14028) <i>S. flexneri</i> (12022) <i>E. faecalis</i> (29212) <i>E. coli</i> (25922)	Рост, колонии бесцветные или без черного центра Рост, бесцветные колонии Полное ингибирование роста Ингибирование роста (от частичного до полного), колонии от розовых до розово-красных с преципитатом
Селективные среды для патогенных <i>Нейссерий</i>	CO ₂ , 24-48 ч., 37°C	<i>N. gonorrhoeae</i> (43069) <i>N. meningitidis</i> (13090) <i>P. mirabilis</i> (43071) <i>E. coli</i> (25922) <i>N. sicca</i> (9913) <i>C. albicans</i> (60193) <i>S. epidermidis</i> (12228)	Рост Рост Частичное ингибирование роста на средах с триметопримом Частичное ингибирование Частичное ингибирование Частичное ингибирование
Селективная среда для энтерококков, с азидом натрия	Аэробная, 24-48 ч, 35 °C	<i>E. faecalis</i> (29212) <i>S. pyogenes</i> (19615) <i>E. coli</i> (25922)	Рост, почернение вокруг колоний Ингибирование роста (от частичного до полного) Частичное ингибирование, бесцветные колонии на желчно-эскулиновом агаре
Селективная среда для энтерококков, без азид натрия	Аэробная, 24-48 ч, 35 °C	<i>E. faecalis</i> (29212) <i>S. pyogenes</i> (19615)	Рост, почернение вокруг колоний Ингибирование роста (от частичного до полного)

Тиогликолевая среда с индикатором или без индикатора	Аэробная, 48 ч (герметичная пробка/крышка), 35°C	<i>B. fragilis</i> (25285) <i>S. aureus</i> (25923)	Рост Рост
Тиогликолевый бульон, обогащен витамином К и гемином	Аэробная, 48 ч (при закрытой крышке), 35°C	<i>P. anaerobius</i> (27337) <i>B. vulgatus</i> (8482) <i>C. perfringens</i> (13124)	Рост Рост Рост
Бульон с сердечно мозговой вытяжкой	Аэробная, 18-24 ч, 35°C	<i>E. coli</i> (25922) <i>S. aureus</i> (25923)	Рост
Триптозо-соевый бульон	Аэробная, 18-24 ч, 35°C	<i>E. coli</i> (25922) <i>S. aureus</i> (25923)	Рост
Ксилозо-лизин дезоксихолатный (XLD) агар	Аэробная, 24 ч, 35°C	<i>S. typhimurium</i> (14028) <i>S. flexneri</i> (12022) <i>E. faecalis</i> (29212) <i>E. coli</i> (25922)	Рост – красные колонии с черным центром Рост: красные колонии Частичное ингибирование роста Ингибирование роста (от частичного до полного); колонии желто-красные
Шоколадный агар	CO ₂ , 24-48 ч, 35°C	<i>N. gonorrhoeae</i> (43069) <i>H. influenzae</i> (10211)	Рост Рост
Агар для кампилобактерий	Микроаэрофильная, капнофильная атмосфера, 24-48 ч, 42°C	<i>C. jejuni</i> (33291) <i>E. coli</i> (25922)	Рост Ингибирование (частичное)
Селективные среды для <i>N. gonorrhoeae</i> ^b	CO ₂ , 24-48 ч, 35°C	<i>N. gonorrhoeae</i> (43069 или 43070) <i>P. mirabilis</i> (43071) <i>S. epidermidis</i> (12228) <i>C. albicans</i> (10231)	Рост Частичное ингибирование на среде с триметопримом Частичное ингибирование Частичное ингибирование
Специальные среды для изоляции <i>B. cepacia</i>	Аэробная, 48-72 ч, 35°C	<i>B. cepacia</i> (25416) <i>P. aeruginosa</i> (27853)	Рост: колонии с красной зоной Рост
Специальные среды для выделения <i>B. pertussis</i>	CO ₂ , 48-72 ч, 35°C	<i>B. pertussis</i> (12742) ,	Рост

ПРИЛОЖЕНИЕ 6. Расширенные требования к качеству основных питательных сред

Питательная среда	Контрольные штаммы	Время и температура инкубации	Инокулюм	Рост	Примечание
Агар Байрда-Паркера	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	48 ч, 35±2°C	10-100 КОЕ (продуктивность*) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>E.coli</i> ATCC 8739 !			Подавляется	Селективность
	<i>S.aureus</i> ATCC 25923			Продуктивность >50%	Черные колонии, лецитиназа (+)
	<i>S.aureus</i> ATCC 6538			Продуктивность >50%	Черные колонии, лецитиназа (+)
	<i>S.epidermidis</i> ATCC 12228			Продуктивность >50%	Черные колонии, лецитиназа (+)

Кровяной агар	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	24-48 ч, 35±2°C	10-100 КОЕ (продуктивност ь)	Продуктивность >70%	β-гемолиз
	<i>S.aureus</i> ATCC 6538			Продуктивность >70%	β-гемолиз
	<i>E.faecalis</i> ATCC 19433			Продуктивность >70%	γ-гемолиз
	<i>E.coli</i> ATCC 8739			Продуктивность >70%	γ-гемолиз
	<i>S.pyogenes</i> ATCC 19615 !			Продуктивность >70%	β-гемолиз
	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619			Продуктивность >70%	α-гемолиз
Основа бульона Болтона	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 29428 !	44-48 ч 41,5±0,5°C	10-100 КОЕ (продуктивност ь) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Выраженный	–
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Подавляется	Селективность
	<i>S.aureus</i> ATCC 25923			Подавляется	Селективность
Агар с бриллиантов ым зеленым	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	24-48 ч 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивност ь) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>E.coli</i> ATCC ATCC 25922			Подавляется частично	Желто-зеленые колонии, на фоне желтой среды
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028 !			Продуктивность >70%	Розовые (красные) колонии
Сердечно- мозговой агар	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	24-48 ч 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивност ь)	Продуктивность >70%	–
	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212			Продуктивность >70%	–
	<i>E.coli</i> ATCC 8739			Продуктивность >70%	–
	<i>S.pneumoniae</i> ATCC 49619			Продуктивность >70%	–
Цетримидный агар	<i>E.coli</i> ATCC 8739	24 ч 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивност ь) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>S.aureus</i> ATCC 6538			Подавляется	Селективность
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 9027			Продуктивность >50%	Желто-зеленые или зеленые колонии
Бролацин агар (CLED)	<i>E.coli</i> ATCC 25922	24 часа, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивност ь)	Продуктивность >70%	Желтые матовые колонии
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Продуктивность >70%	Голубые колонии
	<i>S.aureus</i> ATCC 25923			Продуктивность >70%	Желтые матовые колонии
	<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6380			Продуктивность >70%	Голубые колонии без роения
Селективный агар для <i>C.perfringens</i>	<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ в анаэробных условиях	Рост	Черные колонии. H ₂ S(+)
Основа колумбийского агара	<i>S.aureus</i> ATCC 6538	24 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ	Продуктивность >70%	–
	<i>E.coli</i> ATCC 8739			Продуктивность >70%	–

	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Продуктивность >70%	–
Агар Эндо	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>E.coli</i> ATCC 8739			Продуктивность >50%	Розово-красные колонии с зеленоватым металлическим блеском
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Продуктивность >50%	Бесцветные колонии без характерного блеска
Гектоен Энтерит агар	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Светло-розовые мелкие колонии
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Подавляется	Селективность
	<i>P.mirabilis</i> ATCC 43071			Продуктивность >50%	Черные колонии, зелено-голубая среда
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Продуктивность >50%	Черные колонии, зелено-голубая среда
	<i>S.sonnei</i> ATCC 25923			Продуктивность >50%	Зеленые (голубые) колонии
Железо-сульфитный агар	<i>E.coli</i> ATCC 25922	24-48 ч, 55±1,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность)	Продуктивность* <50%	Отсутствие почернения
	<i>C.perfringens</i> ATCC 13124			Продуктивность >50%	Почернение среды
Агар Клиглера	<i>S.sonnei</i> ATCC 25931	18-24 ч, 35±2,0°C	Посев на скошенный агар и укол в столбик среды	Рост	Скос: N; Столбик: Кислота (+), Газ (-), H ₂ S (-), среда желтая
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Рост	Скос: Кислота (+); Столбик: Кислота (+), Газ (+), H ₂ S (-), среда желтая
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Рост	Скос: N, почернение; Столбик: Кислота (+), Газ (+), H ₂ S (+)
Агар ВСУЕ для легионелл	<i>L.pneumophila</i> ATCC 33152	3-10 дн, 35±2,0°C	150-300 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Рост	Серо-зеленые колонии
	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228			Подавляется	Селективность
Лецитиновый бульон	<i>S.aureus</i> ATCC 6538	24 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ	Рост	–
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Рост	–
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Рост	–
	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212			Рост	–

Бульон обогащения для листерий	<i>E.coli</i> ATCC 25922	48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>S.aureus</i> ATCC 6538			Подавляется	Селективность
	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19112			Рост	–
МакКонки агар (MacConkey Agar)	<i>S.aureus</i> ATCC 6538	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212			Подавляется	Селективность
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Продуктивность >50%	Темно-фиолетовые колонии с зоной преципитации
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Продуктивность >50%	Бесцветные колонии без зоны преципитации
Маннитол-солевой агар	<i>E.coli</i> ATCC 25922	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>S.aureus</i> ATCC 6538			Продуктивность >50%	Колонии белые, вокруг колоний среда желтая (маннит +)
	<i>S.epidermidis</i> ATCC 12228			Продуктивность >50%	Колонии бледно-розовые, вокруг колоний среда красная (маннит –)
Агар MRS (MRS Agar)	<i>E.coli</i> ATCC 25922	48 ч – 3 дня, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Частичное подавление	Инкубирование при 5% CO ₂
	<i>Lactobacillus acidophilus</i> ATCC 4536			Продуктивность > 50%	Инкубирование при 5% CO ₂
Агар / бульон Мюллера-Хинтона	<i>S.aureus</i> ATCC 6538	18-24 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность)	Рост	–
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Рост	–
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853			Рост	–
	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212			Рост	–
Питательный агар / бульон	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность)	Продуктивность > 70%	–
	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212			Продуктивность > 70%	–
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Продуктивность > 70%	–
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Продуктивность > 70%	–
	<i>Y.enterocolitica</i> ATCC 9610			Продуктивность > 70%	–
Основа агара Oxford для листерий	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Подавляется	Селективность
	<i>L.monocytogenes</i> ATCC 19115			Продуктивность > 50%	Эскулин (+), почернение среды
Палкам агар для листерий	<i>S.aureus</i> ATCC 25923	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность)	Подавляется	Селективность

	<i>E.coli</i> ATCC 25922		ь) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавляется	Селективность
	<i>L.monocytogenes</i> ATCC 19115 !			Продуктивность > 50%	Эскулин (+), почернение среды
Агар /бульон Престона для кампилобактерий	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 29428	18-24 ч, 42±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Рост	В микроаэрофильных условиях
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922			Подавляется	В микроаэрофильных условиях
Бульон Раппопорта-Вассилиадиса	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	24 часа, 41±0,5°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Полное подавление	Восстановление на TSA
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Частичное подавление	Восстановление на TSA
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Рост	Восстановление на XLD
Агар для сальмонелл и шигелл (SS агар)	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Частичное подавление	48 ч (скудный рост)
	<i>E.coli</i> ATCC 25922			Полное подавление	Селективность
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Продуктивность > 50%	Бесцветные колонии с черным центром H ₂ S (+)
	<i>S.flexneri</i> ATCC 12022			Продуктивность > 50%	Бесцветные колонии с прозрачным центром H ₂ S (-)
Селенитовый бульон	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	24 ч, 35±2,0°C	Инокуляция из смешанной культуры	Полное подавление	Восстановление на TSA
	<i>E.coli</i> ATCC 8739 !			Полное подавление	Восстановление на TSA
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Хороший рост	Восстановление на XLD
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853			Подавление или скудный рост	Восстановление на XLD
Цитратный агар Симмонса	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 27853	24-48 ч, 35±2,0°C	Инокуляция чистой культуры на поверхность агара	Рост	Синяя среда
	<i>E.aerogenes</i> ATCC 13048			Рост	Синяя среда
	<i>E.coli</i> ATCC 25922 !			Подавление роста	Зеленая среда
	<i>S.flexneri</i> ATCC 12022			Подавление роста	Зеленая среда
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Рост	Синяя среда
Тиогликолевый бульон	<i>S.aureus</i> ATCC 6538	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность)	Рост	–
	<i>B.subtilis</i> ATCC 6633			Рост	–
	<i>P.aeruginosa</i> ATCC 9027			Рост	–
	<i>E.coli</i> ATCC 8739			Рост	–
	<i>C.sporogenes</i> ATCC 19404			Рост	Анаэробные условия
	<i>C.albicans</i> ATCC 10231			Рост	48 ч

Триптон-соевый агар / бульон	<i>S.aureus</i> ATCC 6538	24-48 ч, до 6 дней, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность б)	Продуктивность >70%	–
	<i>E.coli</i> ATCC 8739			Продуктивность >70%	–
Ксилоза-лизин-дезоксихолат агар (XLD)	<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	24-48 ч, 35±2,0°C	10-100 КОЕ (продуктивность) / 1000-10000 КОЕ (селективность)	Подавление	Селективность
	<i>E.coli</i> ATCC 8739			Частичное подавление	Селективность
	<i>P.mirabilis</i> ATCC 43071			Продуктивность >50%	Бесцветные колонии с черным центром H ₂ S (+)
	<i>S.typhimurium</i> ATCC 14028			Продуктивность >50%	Бесцветные колонии с черным центром H ₂ S (+)
	<i>S.flexneri</i> ATCC 12022			Продуктивность >50%	Бесцветные колонии с прозрачным центром H ₂ S (-)

* **Примечание.** Продуктивность - количество клеток, давших видимый рост, выраженный в %.

ПРИЛОЖЕНИЕ 7. Освобожденные и неосвобожденные питательные среды.

Стабильность качественных характеристик разных питательных сред неодинакова. Данные американских лабораторий по этому вопросу, обобщенные в Национальном стандарте NCCLS по контролю качества коммерческих готовых питательных сред M22-A3 [13], стали основой для деления питательных сред на 2 категории — освобожденные и неосвобожденные. Процедура их контроля различается:

- *Освобожденные питательные среды* - коммерческие среды, предназначенные для поддержания соответствующих ростовых свойств с минимальными отклонениями и требующие минимального контроля качества (проверки сертификата качества, соответствия упаковки, а также заявленных в сертификате характеристик, определяемых визуально). Отнесение сред к освобожденным не исключает возможности проведения дополнительных тестов контроля качества (вплоть до осуществления всего комплекса проверок, предназначенного для неосвобожденных сред). Особенно тщательно следует проверять среды для привередливых микроорганизмов (анаэробов, бордетелл, буркхолдерий, кампилобактерий, легионелл, геликобактерий, нейссерий).
- *Неосвобожденные питательные среды* – коммерческие среды, часто дающие отклонения свойств от регламентированных, а также все среды, приготовленные самим потребителем. Неосвобожденные среды требуют проведения лабораториями наиболее полного контроля качества, включающего в зависимости от их назначения подтверждение удовлетворительных ростовых, селективных и/или дифференциальных свойств с помощью контрольных штаммов микроорганизмов.

Основной перечень освобожденных и неосвобожденных питательных сред

Питательные среды	Освобожденная	Неосвобожденная*
Среды общего назначения	Кровяной агар Шоколадный агар Тиогликолевый бульон Уреазный агар	Питательный бульон
Кровяные среды	Бульон на сердечно-мозговой вытяжке Двухфазная среда для гемокультур Бульона с тиолом Триптиказо-соевый бульон Пептонный бульон	

Среды для грамположительных бактерий	Колумбийский CNA агар Селективный агар для энтерококков с азидом натрия и без него LIM бульон Маннитол-солевой агар Фенил-этилспиртовой агар Селективный агар для стрептококков группы А Кровяной агар с сульфаметоксазолом/триметопримом Бульон для фекальных энтерококков (стрептококков)	Бульон Тода-Хевитта Дезоксихолятный бульон Бульон транс-вагинальный Шоколадный агар с перидоксалем
Среды для грамотрицательных бактерий	Агар с цефсулодином, иргазаном, новобиоцином Цитратный агар Бролацин агар (CLED) Агар Левина Бульоны для грамотрицательных бактерий Гектоен агар Агар МакКонки Агар для сальмонелл и шигелл Селенитовый бульон Тиосульфат - цитратный желчно-солевой сахарный агар Трехсахарный агар с железом Триптиказо-соевый кровяной агар с ампициллином	Агар МакКонки с сорбитолом Шоколадный агар с бацитрацином
Среды для <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Ксилозо-лизин-декарбоксилазный агар Агар Тейера-Мартина модифицированный Гонококковый агар	Агар Мартина-Левиса модифицированный Шоколадный агар с IsoVitaleX® Агар Нью Йорк сити ^c
Среды для <i>Bordetella pertussis</i>		Агар Реган-Лов Агар Борде-Жангу
Среды для легионелл	Селективный агар для легионелл	Селективный агар для легионелл с глицином, полимиксином В, ванкомицином и красителями
Среды для буркхолдерий	Агар для <i>B.ceracia</i>	Оксидативно-ферментативный лактозный агар с полимиксином В и бацитрацином
Среды для кампилобактерий	Угольный селективный агар с цефалеперазоном, ванкомицином и циклогексимидом	Кампилобактериозный агар с кровью, цефалеперазоном, ванкомицином и амфотерицином В (среда Блазера)
Среды для облигатно-анаэробных бактерий	Кровяной агар для анаэробов Агар для анаэробов с фенилэтилалкоголем Агар с желчью и эскулином для бактериоидов Агар для бруцелл	Агар CDC для анаэробов с 5% бараньей крови и фенилэтилалкоголем

	Агар для бруцелл с геминим и витамином К Агар для бруцелл с кровью, канамицином и ванкомицином Агар для гемолитических анаэробов с кровью, канамицином и ванкомицином Агар для анаэробов с 5% лизированной бараньей крови, канамицином и ванкомицином Желточный агар модифицированный Агар с лизированной кровью и канамицином	
Среды для микобактерий	Двухфазная среда во флаконах для быстрого теста на кислотоустойчивость Бульон Миддлбрука 7Н9 Среда Ловенштейна-Йенсена Агар Миддлбрука Бульон во флаконах для автоматического теста на кислотоустойчивость	Агар Миддлбрука 7Н10 Агар Миддлбрука 7Н11 Агар Митчинсона Среда Петраньяни
Среды для грибов	Агар из кукурузного крахмала Ингибирующий агар для грибов Ингибирующий агар для грибов с гентамицином Агар из соевого пептона с циклогексимидом и хлорамфениколом без индикатора Картофельно-декстрозный агар Агар на сердечно-мозговой вытяжке с 5% бараньей крови/ хлорамфениколом и гентамицином Агар Сабуро с глюкозой Агар Сабуро с глюкозой, хлорамфениколом и гентамицином	Агар из кукурузного крахмала с твином Агар на сердечно-мозговой вытяжке с 5% бараньей кровью, хлорамфениколом и хлоргексидином Висмут-сульфитный агар с глюкозой, глицином и дрожжевым экстрактом Агар на сердечно-мозговой вытяжке с 5% бараньей крови, пенициллином и стрептомицином Среда для дерматофитов

*Примечание. К числу неосвобожденных сред также относятся хромогенные и флюорогенные питательные среды.

ПРИЛОЖЕНИЕ 8. Выполнение стандартной технологии с помощью калиброванной бактериологической петли.

При проверке ростовых качеств плотных неселективных сред из стандартизированной взвеси контрольного штамма готовят рабочее разведение (1:100) на стерильном физиологическом растворе. Высевают одноразовой бактериологической петлей штриховым способом 10 мкл разведения на проверяемую среду в чашке Петри (посевная доза - 10^3 - 10^4 КОЕ/чашку).

Для контроля ростовых качеств плотных скошенных сред в пробирках высевают 10 мкл/пробирку стандартизированного разведения контрольного штамма.

При тестировании ростовых качеств жидких сред в пробирках разводят стандартизированное разведение контрольного штамма 1:10000 и вносят 10 мкл полученной взвеси в пробирку со средой (посевная доза 100 КОЕ/пробирку).

Для контроля ингибирующих свойств селективных сред чашки Петри с последними засевают штриховым способом калиброванными одноразовыми бактериологическими петлями 1 мкл стандартизированных разведений каждого контрольного штамма (посевная доза каждого - 10^4 – 10^5 КОЕ/чашку).

Контроль качества питательных сред контрольными штаммами дрожжей принципиально не отличается от аналогичных процедур, проводимых с контрольными штаммами бактерий. Колонии плесеней частично переносят на проверяемые питательные среды. При работе с культурами дерматофитов рекомендуется пользоваться следующей методикой. Переносят бактериологической петлей несколько колоний во флакон со стерильным физиологическим раствором, содержащим 0,2% бычьего сывороточного альбумина, 0,002% твина-80 и 8-12 стерильных стеклянных бус. После 10-минутного энергичного встряхивания и 3-часового отстаивания надосадочную жидкость переносят в стерильный флакон и доводят титр бактерий в нем до стандартизированного (соответствует 0,5 ед. по стандарту МакФарланда).

Оценку дифференцирующих свойств идентификационных питательных сред проводят описанным выше для селективных сред методом. При отсутствии формирования колоний хотя бы одним из контрольных штаммов процедуру повторяют, высевая стандартизированные взвеси таких штаммов в дозе, превышающую в 10 раз первоначальную.

Результаты испытаний считают удовлетворительными, если:

- неселективные среды обеспечивают рост использованных контрольных штаммов, а те формируют в течение регламентированного срока (быстро растущие бактерии - за 24-48 ч, дрожжи – за 72 ч, плесени – за 3-5 дн, медленно растущие – за 1-3 нед и более) колонии характерной морфологии и достаточного размера;
- селективная среда частично или полностью ингибируют рост одних и поддерживает рост других контрольных штаммов в соответствии с ожидаемыми результатами, а растущие на ней микроорганизмы формируют колонии определенной величины с типичной морфологией в течение регламентированного выше срока (см. предыдущий пункт) колонии характерной морфологии и достаточного размера;
- идентификационные среды обеспечивают дифференциацию использованных контрольных штаммов микроорганизмов (по структуре, цвету колоний, цвету среды вокруг колоний или другим признакам).

ПРИЛОЖЕНИЕ 9. Приготовление инокулюма для контроля качества питательных сред.

Из рабочей культуры, подготовленной из субкультуры референтного образца микроорганизма, хранящегося в коллекции лаборатории, готовят рабочие разведения путём десятикратных разведений исходного инокулюма.

Исходный инокулюм готовят по имеющемуся в лаборатории стандарту мутности или по спектрофотометру (нефелометру) с концентрацией 10^8 или 10^9 КОЕ/мл

Характеристика стандартов мутности.

1. Отраслевой стандарт мутности согласно ОСО-42-28-85П производства ФГУН ГИСК им.Л.А.Тарасевича.

Мутность стандарта, равная 10 единицам, эквивалентна концентрации клеток в 1мл: $0,93 \times 10^9$ КОЕ/мл микробов кишечной палочки (микроорганизмов по размерам, соответствующим размерам кишечной палочки), $1,7 \times 10^9$ КОЕ /мл для *Brucella spp.*, 5×10^9 КОЕ /мл для *Franciella spp.*

2. Стандарт МакФарланда (McFarland).

Коммерческие стандарты МакФарланда содержат латексные частицы, суспендированные в специальном буферном растворе в количестве, обеспечивающем прохождение волны света длиной 600-650 nm

Стандарт МакФарланда	Количество микробных клеток при плотности инокулюма ($\times 10^8$ клеток)
0,5	1,5
1,0	3,0
2,0	6,0
3,0	9,0
4,0	12,0

Приготовление соответствующего разведения.

По имеющемуся в лаборатории стандарту мутности готовят исходное разведение контрольного штамма и далее десятикратными разведениями готовят соответствующий инокулюм по схеме таблицы 1.

№ пробирики	Кол-во физ. р-ра	Объем вносимой суспензии	Кол-во микробных	Кол-во микробных
-------------	------------------	--------------------------	------------------	------------------

			клеток в 1мл взвеси	клеток в 0,1 мл взвеси
1	4,5 мл	0,5 мл из исходной взвеси 10^8 КОЕ/мл	10^7	1 000 000
2	4,5 мл	0,5мл из пробирки 1	10^6	100 000
3	4,5 мл	0,5мл из пробирки 2	10^5	10 000
4	4,5 мл	0,5мл из пробирки 3	10^4	1000
5	4,5 мл	0,5мл из пробирки 4	10^3	100
6	4,5 мл	0,5мл из пробирки 5	10^2	10

Примечание:

1. Исходная взвесь микроорганизмов приготовлена по стандарту МакФарланд 0,5.
2. В случае использования стандарта по ОСО-42-28-85П исходная взвесь готовится с концентрацией микроорганизмов 10^9 КОЕ/мл и в схему разведений вводится дополнительное разведение до концентрации 10^8 КОЕ/мл. Затем микробная взвесь титруется по изложенной схеме.
3. В лаборатории могут использоваться другие объемы для титрования. Например, 0,9мл физ.р-ра и 0,1мл вносимой суспензии. Титрование в таких объемах требует работы с дозирующими пипетками соответствующих объёмов.
4. Точность приготовленного инокулюма зависит от точности титрования. На каждое разведение следует менять наконечник пипетки или пипетку.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. ГОСТ Р ЕН 12322-2010 Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Питательные среды для микробиологии. Критерии функциональных характеристик питательных сред.
2. ISO/TS 11133-2:2003. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководство по подготовке и приготовлению культуральных сред. Часть 2. Практическое руководство по тестированию эффективности культуральных сред.
3. ГОСТ Р ИСО 15189-2009 Лаборатории медицинские. Частные требования к качеству и компетентности.
4. ГОСТ Р 52905-2007 (ИСО 15190:2003). Лаборатории медицинские. Требования безопасности.
5. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и защиты человека от 17.03.2008 № 88. Приложение №4.
6. МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред: Методические указания. -М: ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора, 2008, 67 с.
7. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, 2004.
8. Шепелин А.П., Дятлов И.А. Современное состояние и тенденции в нормативно-правовом регулировании производства, реализации и применения питательных сред. Аналитические материалы. – Протвино: А-ПРИНТ ЗАО, 2012, 48 с.
9. Поляк М.С. Сухаревич В.И., Сухаревич М.Э. Питательные среды для медицинской и санитарной микробиологии С-Пб, 2008. С.351.
10. Михайлова В.С., Гавристова И.А., Блинкова А.П. Правила внутрилабораторного контроля качества питательных сред. Клиническая лабораторная аналитика том IV. Частные аналитические технологии в клинической лаборатории клинической микробиологии. Москва, АгатМед 2003, 232-254 с.
11. Михайлова В.С., Поляк М.С., Суханова С.М. О роли внутрилабораторного контроля качества в стандартизации питательных сред для микробиологических исследований в клинко-диагностических лабораториях. Проблемы стандартизации в здравоохранении, 5-6, стр.8-15, 2009.
12. Михайлова В.С., Зубков М.Н. Культивирование бактерий. Методики клинических лабораторных исследований. Том III. Клиническая микробиология. –М.:Лабора, 2009.
13. NCCLS National consensus standard. Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media; Approved Standard M22-A3, v., 24, 3d Ed. (Replaces M22-A2), 2004.