



Работа со штаммами м/о на фармацевтическом предприятии

Основные сложности приготовления суспензии. Контроль качества питательных сред и важность точной посевной дозы м/о.

Михеева Влада, специалист по продукции bioMérieux

15.12.2021

AGENDA

- I. Точность – залог репрезентативного результата
- II. Приготовление суспензии
- III. Готовые системы – достижение стабильности
- IV. Восстановление микроорганизмов
- V. Причины снижения качества питательных сред
- VI. Микробиологический мониторинг помещений классов А / В

I. ТОЧНОСТЬ – ЗАЛОГ РЕПРЕЗЕНТАТИВНОГО РЕЗУЛЬТАТА



ТОЧНОСТЬ В МИКРОБИОЛОГИИ



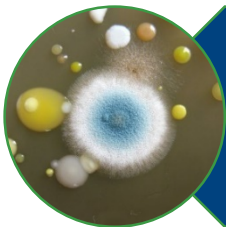
Ростовые свойства



Пробы, отобранные в чистой зоне (низкий уровень допустимого количества КОЕ)



Низкие лимиты концентрации м/о при верификации методики



Сложные исследовательские работы

ПОДСЧЁТ МИКРООРГАНИЗМОВ

ОФС.1.7.2.0008.15 Определение концентрации микробных клеток

Прямой подсчёт

- ★ Счётная камера
- Мембранная фильтрация (м/ф)

Непрямое определение концентрации

- ★ Турбидиметрия и нефелометрия
- ★ Визуальное
- Кондуктометрия

Определение жизнеспособных клеток

- М/ф
- Чашечный метод
- Окраска селективными красителями

Гарантирует высокую точность?

II. ПРИГОТОВЛЕНИЕ СУСПЕНЗИИ



ПРИГОТОВЛЕНИЕ СУСПЕНЗИИ. СРАВНЕНИЕ



Требования к проведению работ с классическими штаммами:

- Высококвалифицированный персонал;
- Временные ресурсы;
- Расходные материалы высокого качества;
- Большой объём документации.

ПРИГОТОВЛЕНИЕ СУСПЕНЗИИ. СРАВНЕНИЕ



Требования к проведению работ с классическими штаммами:

- Высококвалифицированный персонал;
- Временные ресурсы;
- Расходные материалы высокого качества;
- Большой объём документации.

III. ГОТОВЫЕ СИСТЕМЫ – ДОСТИЖЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ



ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

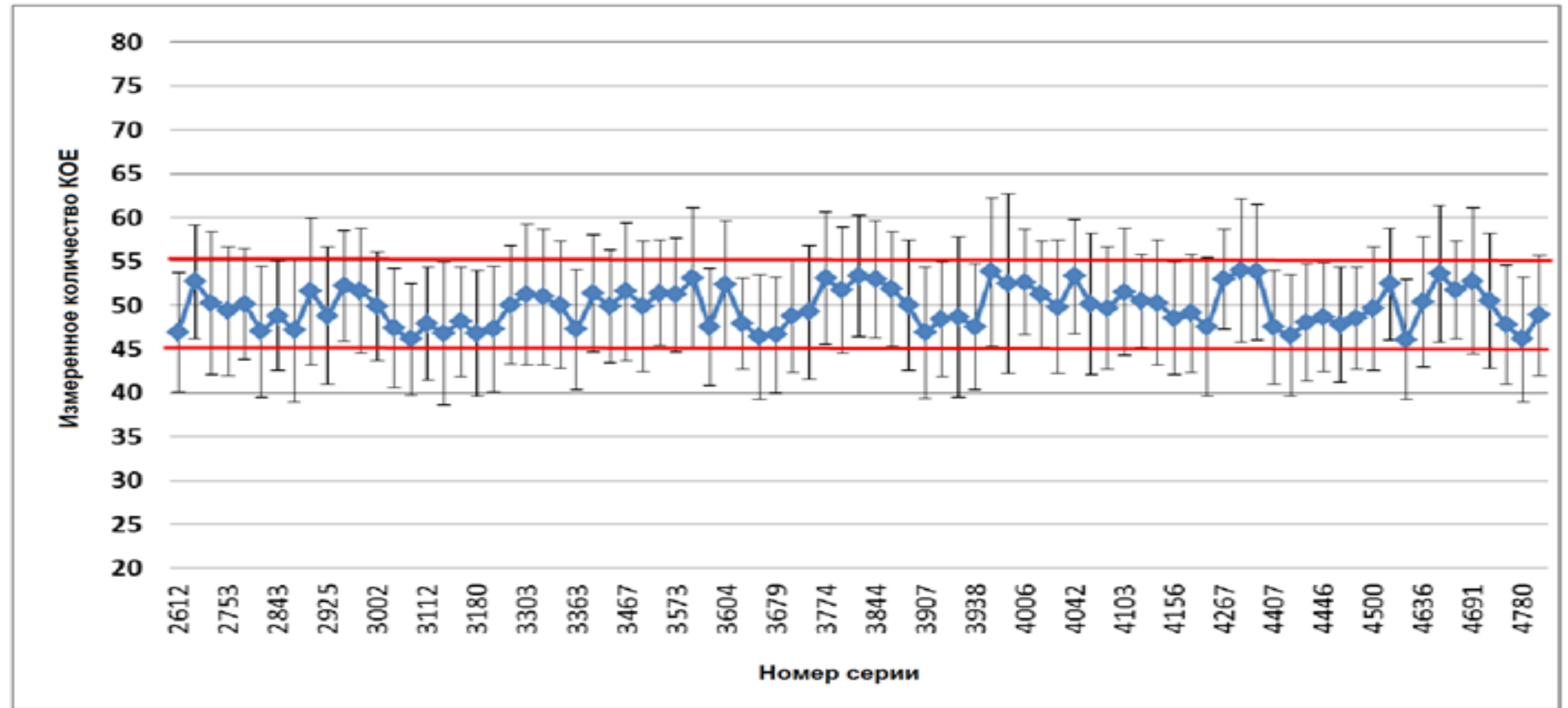
Выбраны BIOBALL MultiShot 550 – единица содержит точное количество = 550 КОЕ

Среднее и стандартное отклонение каждой серии определяется по **минимум 50** подсчетам

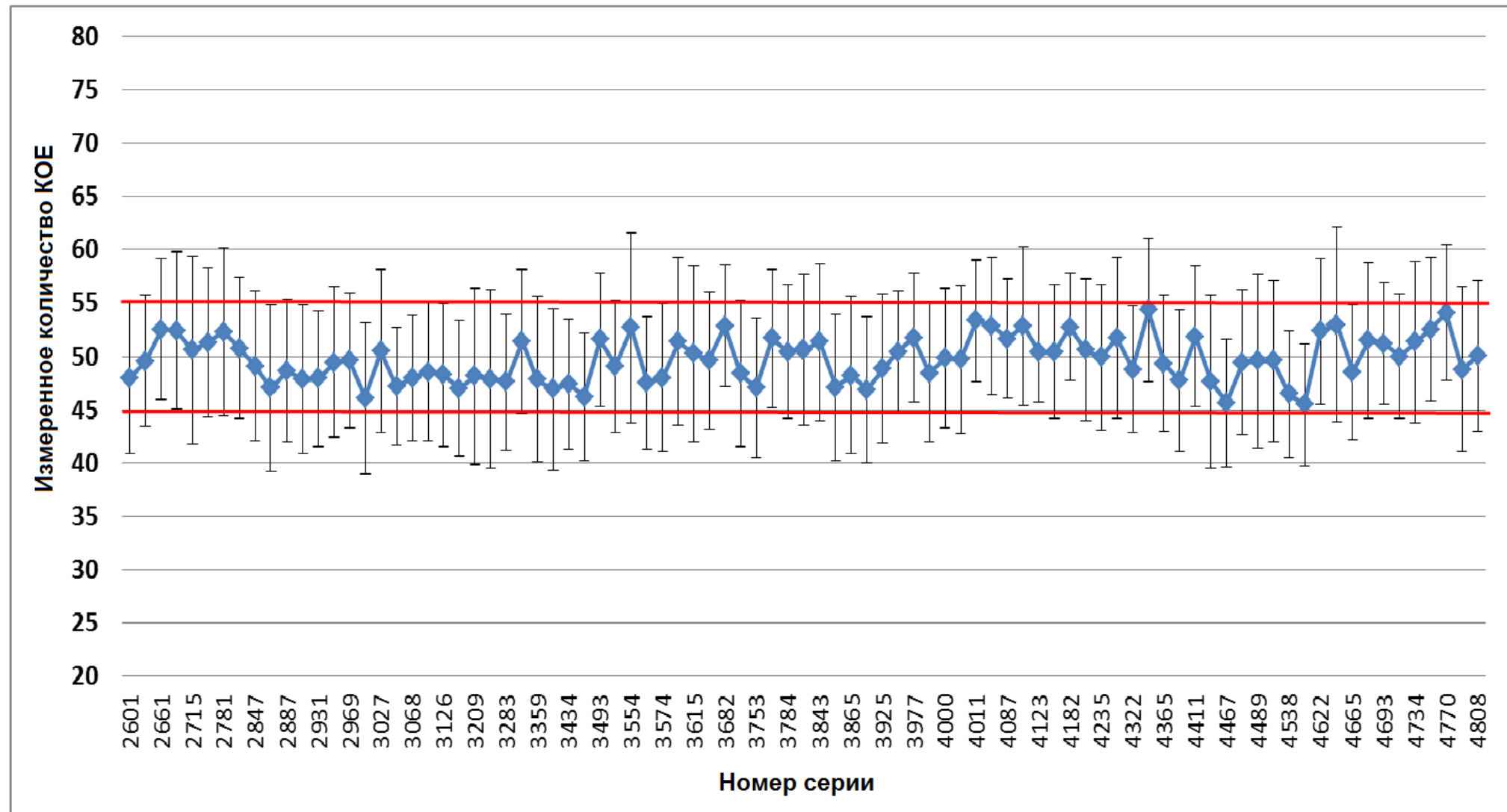
Целевое стандартное отклонение составляет $\leq 10\%$ от среднего значения продукта

Микроорганизм	Тип приготовленной клеточной культуры	Количество выпущенных серий (2014–2018)
Aspergillus brasiliensis	Споры	83
Bacillus subtilis	Споры	87
Burkholderia cepacia	Клетки	18
Candida albicans	Клетки	90
Pseudomonas aeruginosa	Клетки	98
Staphylococcus aureus	Клетки	96

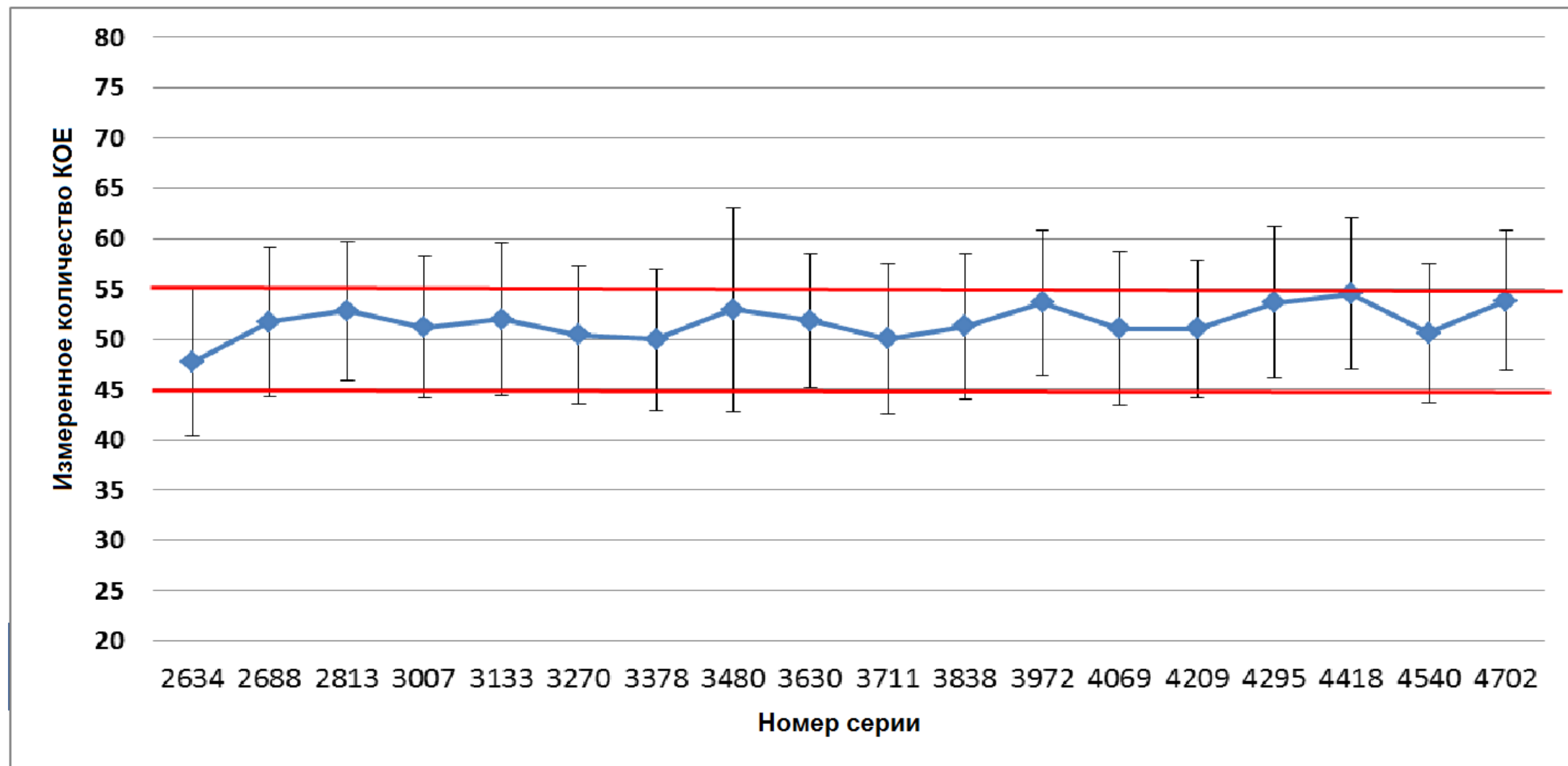
РЕЗУЛЬТАТЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА: ASP. BRASILIENSIS



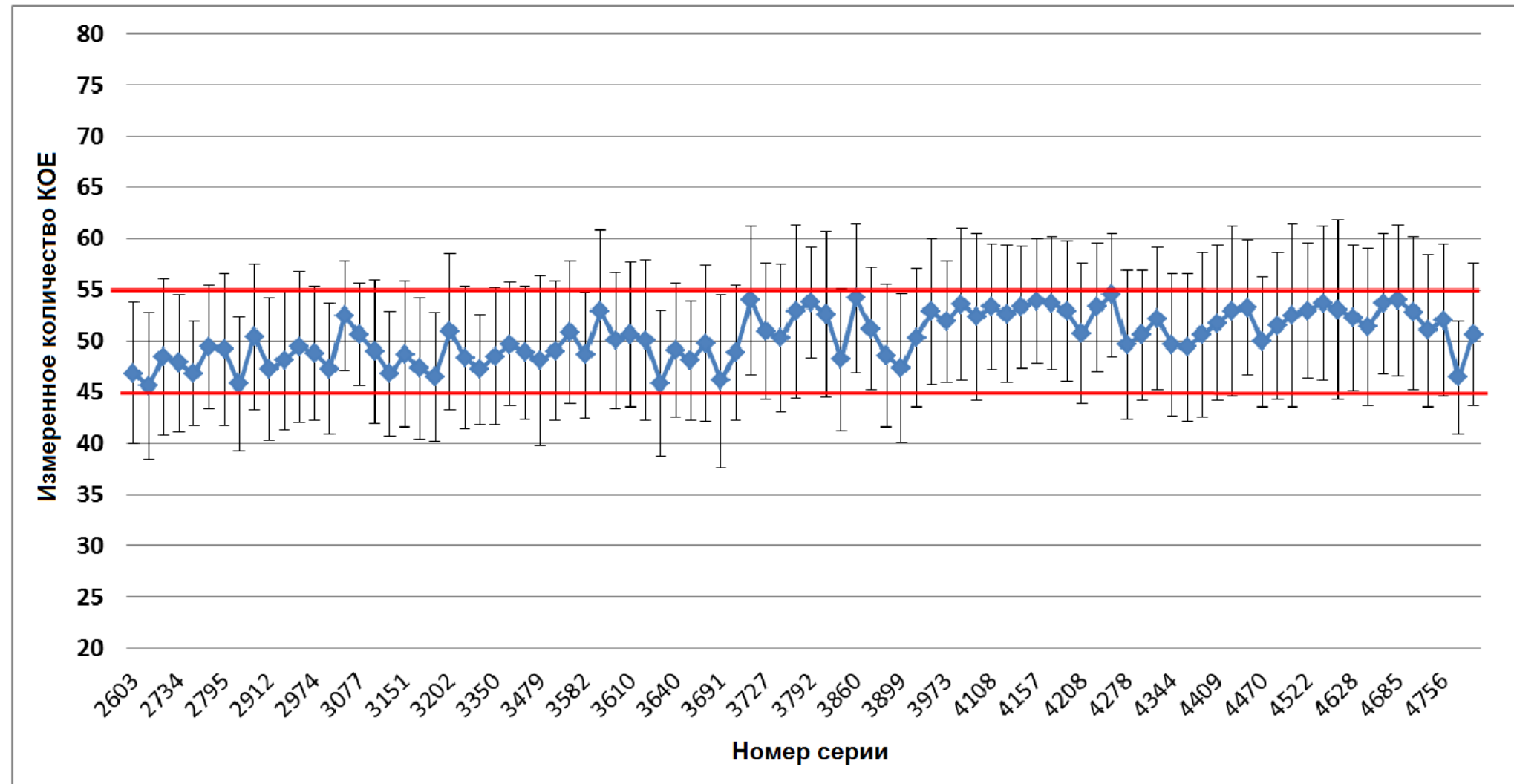
РЕЗУЛЬТАТЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА: BACILLUS SUBTILIS



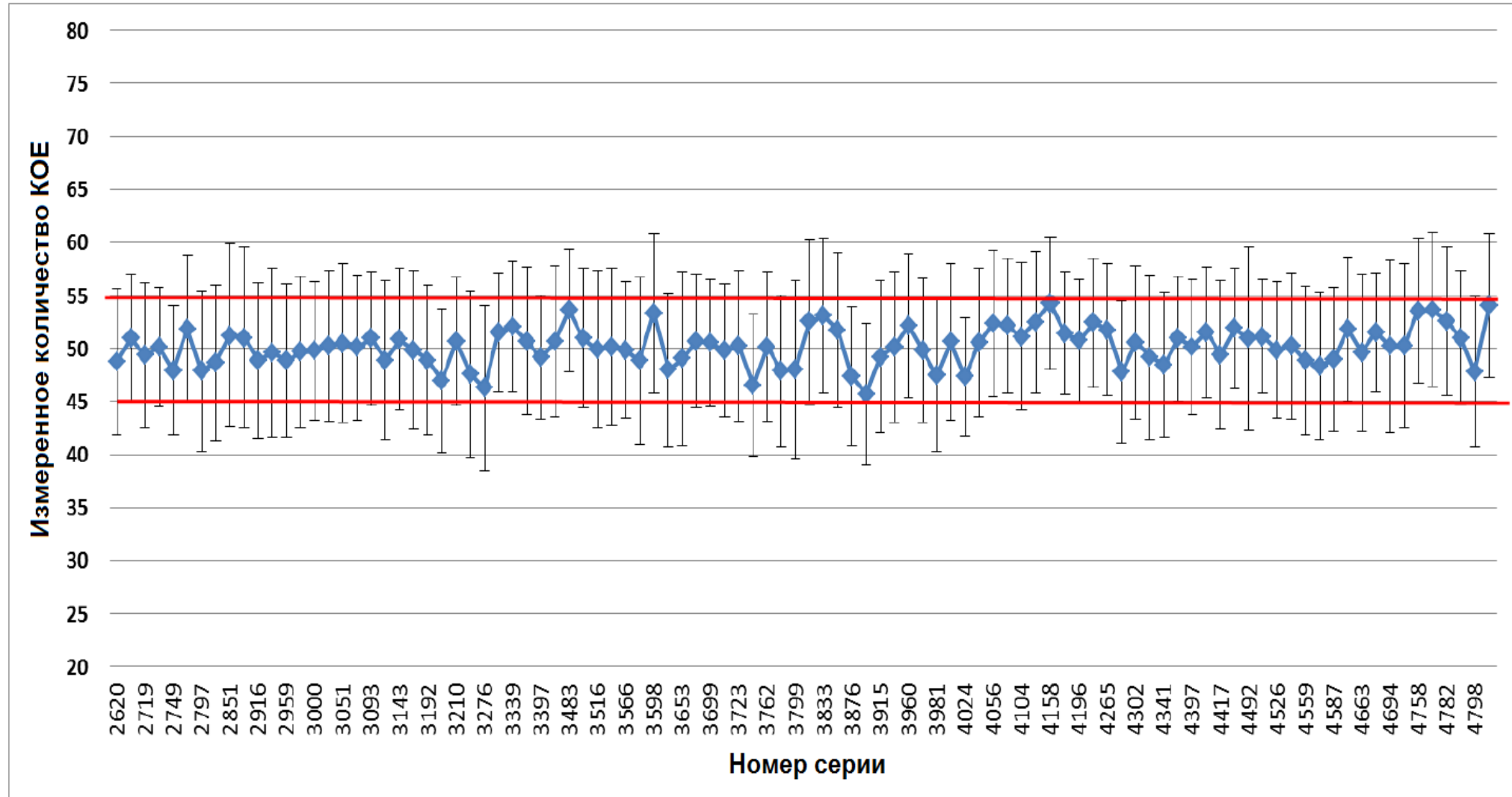
РЕЗУЛЬТАТЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА: BURKHOLDERIA CEPACIA



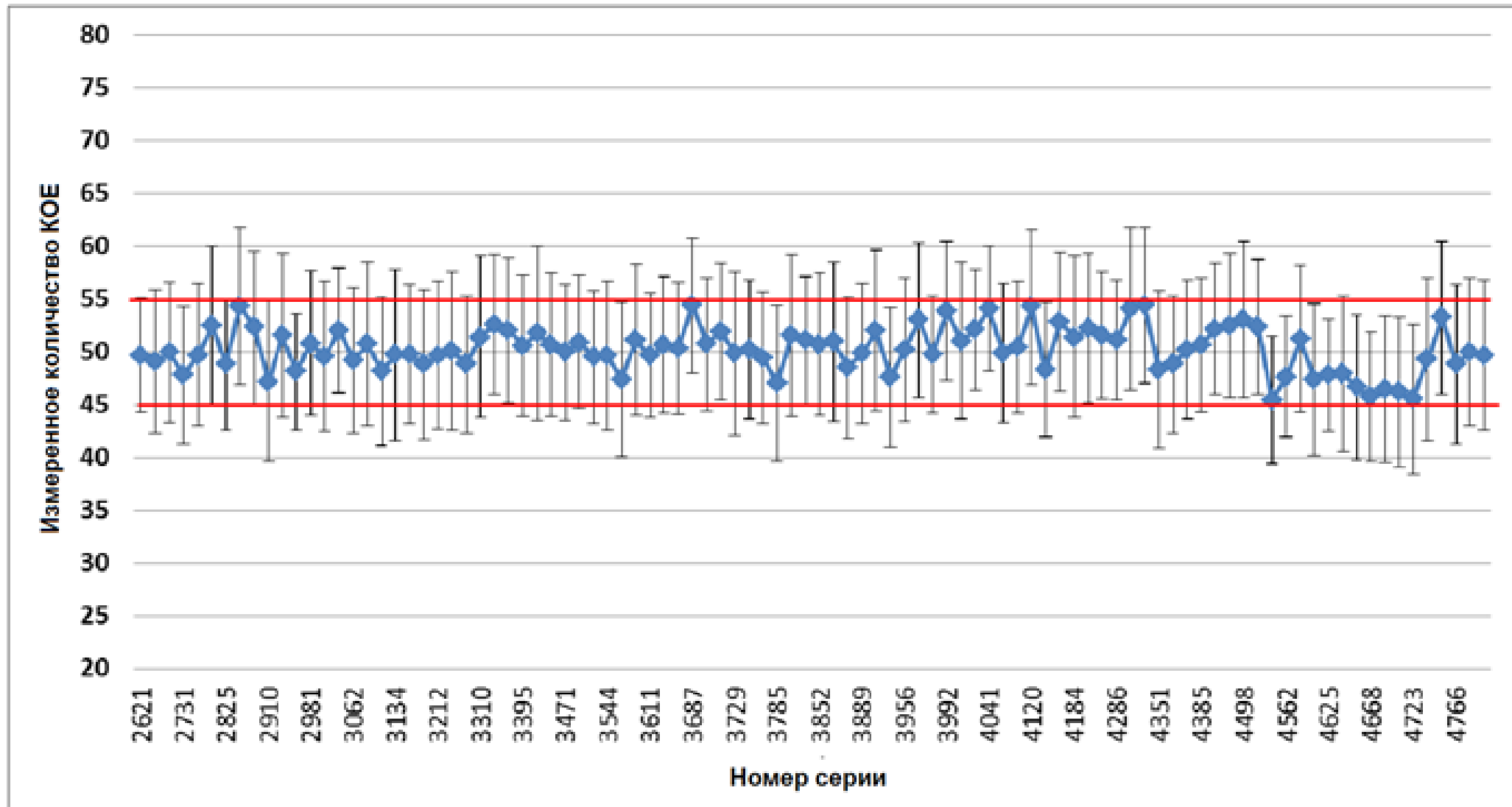
РЕЗУЛЬТАТЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА: CANDIDA ALBICANS



РЕЗУЛЬТАТЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА: PS. AERUGINOSA



РЕЗУЛЬТАТЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА: ST. AUREUS



СЕРТИФИКАТ КАЧЕСТВА



Certified Reference Material Data

This certificate is designed in accordance with ISO Guide 31:2015

Organism*: *Pseudomonas aeruginosa*
Designation: NCTC 12924
Reference: 56007 10 Vials
56017 20 Vials
Date of Manufacture: 18 June 2018
Expiry Date: 17 June 2020

The Organism and Designation of the Certified Reference Material is traceable to NCTC (National Collection of Type Cultures)

Culture Information

No. of Passages: 4
QC Media: Nutrient agar
Plate Incubation Time (hrs): 14 - 24
Plate Incubation Temp °C: 37 Aerobic

Note: Number of passages are indicated from the original strain assuming original strain is zero.

BIOBALL™ Certificate of Analysis

Lot Number: **BXXXX**

Quantification Data

(Method Ref: BB-019)

cfu Count per BIOBALL™

Mean CFU (i) SD (ii)

552.9

33.2

Expanded Uncertainty (iii)

76.0

Quantification Data

cfu Count per 100µl aliquot*

*QC data using BioBall Re-Hydration Fluid (ref 56021)

Mean cfu

SD

50.3

7.7

95% Prediction Interval (iv)

Lower Limit

Upper Limit

34.6

65.9

The Mean CFU quantification (i) and associated SD (ii) are traceable to natural number counts of visible colonies on agar media.

СТАБИЛЬНОСТЬ СЕРИИ

Выбраны BIOBALL MultiShot 550 – единица содержит точное количество = 550 КОЕ
Стабильность изучалась в течение 25 месяцев

Точки контроля 13 и 25 месяцев

Стандартное отклонение в пределах 10% от исходного количества КОЕ

Микроорганизм	Исходное среднее значение КОЕ	Среднее значение КОЕ спустя 13 месяцев	Среднее значение КОЕ спустя 25 месяцев	n
Aspergillus brasiliensis	49,9	46,2	48,1	3
Bacillus subtilis	47,0	46,3	47,4	3
Burkholderia cepacia	51,2	49,3	49,3	9
Candida albicans	49,0	44,8	46,3	8
Pseudomonas aeruginosa	49,6	45,9	46,9	6
Staphylococcus aureus	50,8	50,3	50,6	4

**КАКИЕ СЛОЖНОСТИ ВОЗНИКАЮТ
ПРИ ПРИГОТОВЛЕНИИ СУСПЕНЗИИ
ОПРЕДЕЛЁННОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ?**



IV. ВОССТАНОВЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМОВ





ОСНОВНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ВОССТАНОВЛЕНИЯ М/О

Некорректная
работа с м/о

Окружающая
среда и условия

Питательные
среды

Остаточное
содержание
дезинфицирующих
средств

ВЛИЯНИЕ КАЧЕСТВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД НА ВОССТАНОВЛЕНИЕ М/О

Сухие среды

1. Неправильно приготовленная питательная среда

- Качество компонентов;
- Соотношение компонентов;
- Перегрев;

2. Нарушение стерилизации

3. Норма pH не соблюдена до стерилизации и после

4. Неправильные условия хранения

Готовые среды

Неправильные условия хранения



Снижение качества сред
Аттестованная среда низкого качества



Некорректный результат ростовых свойств



Точность концентрации м/о не соблюдена
Высокая вариабельность концентрации м/о

V. ПРИЧИНЫ СНИЖЕНИЯ КАЧЕСТВА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД



НЕКОРРЕКТНОЕ ПРОВЕДЕНИЕ РОСТОВЫХ СВОЙСТВ

0,7

0,7

0,7

0,7

0,7



Отклонение не выявлено

Отклонения в рамках
мониторинга и анализов
не выявлены

=

Некачественный
продукт

Влияние на здоровье и
жизнь пациента

**ЕСТЬ ЛИ ВОЗМОЖНОСТЬ ВОЗНИКНОВЕНИЯ
ДАННОЙ ПРОБЛЕМЫ? КАКИЕ МЕРЫ, ПО
ВАШЕМУ МНЕНИЮ, МОГУТ СНИЗИТЬ ШАНС
ВОЗНИКНОВЕНИЯ ДАННОГО ЯВЛЕНИЯ?**



VI. МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПОМЕЩЕНИЙ КЛАССОВ А / В



МОНИТОРИНГ ПОМЕЩЕНИЙ ВЫСОКОГО КЛАССА ЧИСТОТЫ



Рекомендуемые предельные значения микробной контаминации

Степень чистоты	Образец воздуха КОЕ/м ³	Седиментация КОЕ/чашка (4 часа)	Контактные чашки / Смыв КОЕ/чашка	Отпечаток 5 пальцев в перчатке КОЕ/перчатка
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5

Что необходимо для соответствия?

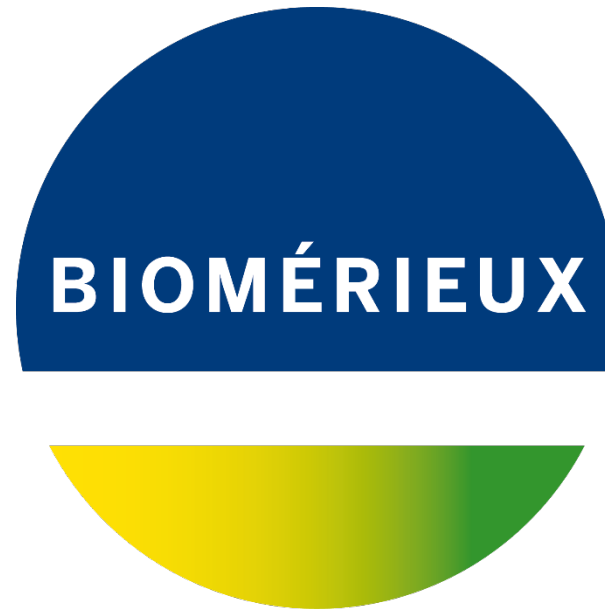
- Высокое качество среды и коэффициента прорастания
- Контроль тенденции в результатах анализов ростовых свойств
- Выбор стандартного образца или сертифицированного эталонного материала с наименьшим стандартным отклонением

ISO 17034:2016



КАК ДОСТИЧЬ ДОСТОВЕРНОГО РЕЗУЛЬТАТА?

- ! Питательные среды высокого качества, высокий коэффициент пророста
- ! Отслеживать тренды
- ! Снизить риски человеческого фактора
- ! Укоротить цепь действий
- ! Точная концентрация м/о в дозе
- ! Высокая жизнеспособность м/о
- ! Использование сертифицированных систем



PIONEERING DIAGNOSTICS