
**Клинические лабораторные
испытания и испытательные системы
для диагностики *in vitro*. Испытания
инфекционных агентов на
чувствительность и оценивание
функционирования приборов для
испытаний на антимикробную
чувствительность.**

Часть 1.

**Эталонный метод испытания
действия *in vitro* антимикробных
агентов против быстрорастущих
аэробных бактерий, участвующих в
инфекционных заболеваниях**

*Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems —
Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of
performance of antimicrobial susceptibility test devices —*

Part 1:

*Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents
against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases*

Ответственность за подготовку русской версии несёт GOST R
(Российская Федерация) в соответствии со статьёй 18.1 Устава ISO



Ссылочный номер
ISO 20776-1:2006(R)

Отказ от ответственности при работе в PDF

Настоящий файл PDF может содержать интегрированные шрифты. В соответствии с условиями лицензирования, принятыми фирмой Adobe, этот файл можно распечатать или смотреть на экране, но его нельзя изменить, пока не будет получена лицензия на интегрированные шрифты и они не будут установлены на компьютере, на котором ведется редактирование. В случае загрузки настоящего файла заинтересованные стороны принимают на себя ответственность за соблюдение лицензионных условий фирмы Adobe. Центральный секретариат ISO не несет никакой ответственности в этом отношении.

Adobe - торговый знак фирмы Adobe Systems Incorporated.

Подробности, относящиеся к программным продуктам, использованные для создания настоящего файла PDF, можно найти в рубрике General Info файла; параметры создания PDF были оптимизированы для печати. Были приняты во внимание все меры предосторожности с тем, чтобы обеспечить пригодность настоящего файла для использования комитетами-членами ISO. В редких случаях возникновения проблемы, связанной со сказанным выше, просьба проинформировать Центральный секретариат по адресу, приведенному ниже.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 20776-1:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6a0880df-60cd-427e-831c-d3f7dfb77942/iso-20776-1-2006>



ДОКУМЕНТ ЗАЩИЩЕН АВТОРСКИМ ПРАВОМ

© ISO 2006

Все права сохраняются. Если не указано иное, никакую часть настоящей публикации нельзя копировать или использовать в какой-либо форме или каким-либо электронным или механическим способом, включая фотокопии и микрофильмы, без предварительного письменного согласия ISO, которое должно быть получено после запроса о разрешении, направленного по адресу, приведенному ниже, или в комитет-член ISO в стране запрашивающей стороны.

ISO copyright office
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20
Tel. + 41 22 749 01 11
Fax + 41 22 749 09 47
E-mail copyright@iso.org
Web www.iso.org

Опубликовано в Швейцарии

Содержание

Страница

Предисловие	iv
Введение	v
1 Область применения	1
2 Термины и определения	1
3 Процедуры испытаний	4
3.1 Общие положения	4
3.2 Среда	4
3.3 Антимикробные агенты	4
3.4 Подготовка материала затравки	11
3.5 Внесение материала затравки в подносы микрорастворения	12
3.6 Культивирование на подносах микрорастворения	12
3.7 Рассмотрение результатов	12
3.8 Особенности ситуации при испытаниях, при которых MIC может дать ненадежные результаты	12
4 Проверка качества	14
Приложение А (нормативное) Требования к питательной среде Миллера-Хинтона (Mueller-Hinton)	20
Библиография	22

ISO 20776-1:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6a0880df-60cd-427e-831c-d3f7dfb77942/iso-20776-1-2006>

Предисловие

Международная организация по стандартизации (ISO) является всемирной федерацией национальных организаций по стандартизации (комитетов-членов ISO). Разработка международных стандартов обычно осуществляется техническими комитетами ISO. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой был создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные правительственные и неправительственные организации, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работах. Что касается стандартизации в области электротехники, то ISO работает в тесном сотрудничестве с Международной электротехнической комиссией (IEC).

Проекты международных стандартов разрабатываются в соответствии с правилами Директив ISO/IEC, Часть 2.

Основная задача технических комитетов заключается в подготовке международных стандартов. Проекты международных стандартов, принятые техническими комитетами, рассылаются комитетам-членам на голосование. Их опубликование в качестве международных стандартов требует одобрения не менее 75 % комитетов-членов, принимающих участие в голосовании.

Следует иметь в виду, что некоторые элементы настоящего международного стандарта могут быть объектом патентных прав. ISO не может нести ответственность за идентификацию какого-либо одного или всех патентных прав.

ISO 20776-1 был подготовлен Европейским комитетом по стандартизации (CEN) Техническим комитетом CEN/TC 140, *In vitro диагностические медицинские устройства*, в сотрудничестве с Техническим комитетом ISO/TC 212, *Клинические лабораторные испытания и испытательные системы для диагностики in vitro*, в соответствии с Соглашением по техническому сотрудничеству между ISO и CEN (Венское Соглашение).

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6a0880df-60cd-427e-831c-d3f7dfb77942/iso-20776-1:2006>

ISO 20776 состоит из следующих частей под общим заголовком *Клинические лабораторные испытания и испытательные системы для диагностики in vitro. Испытания инфекционных агентов на чувствительность и оценивание функционирования приборов для испытаний на антимикробную чувствительность*:

- *Часть 1. Эталонный метод испытания действия in vitro антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, участвующих в инфекционных заболеваниях*
- *Часть 2. Оценка функционирования приборов для испытаний на антимикробную чувствительность*

Введение

Испытания на чувствительность *in vitro* выполняются на микроорганизмах, подозреваемых в вызывании болезни, особенно если организм, как полагают, принадлежит к разновидности, демонстрирующей сопротивление часто используемым антибактериальным агентам. Испытания также важны при наблюдении сопротивляемости, эпидемиологических исследованиях чувствительности и при сравнениях новых и существующих агентов.

Процедуры растворения используются при определении минимальных запрещающих концентраций (minimum inhibitory concentration, MIC) антимикробных агентов и являются эталонным методом испытания на антимикробную чувствительность. Методы MIC используются при наблюдении сопротивляемости, сравнительного испытания новых агентов, установлении чувствительности организмов, которые показывают сомнительные результаты при обычных испытаниях, для испытаний на организмах, когда обычные испытания могут быть ненадежными и когда количественный результат требуется для клинического руководства. В испытаниях при растворении, микроорганизмы проверяются на способность воспроизводить видимый рост на ряду агаровых пластин (агаровое растворение) или в питательной среде (растворение в питательной среде) содержащих последовательные растворения антимикробного агента.

Самая низкая концентрация антимикробного агента (в мг/л), в определенных условиях *in vitro*, предотвращающая появление видимого роста микроорганизма в пределах определенного промежутка времени, известна как MIC. MIC является справочным параметром для клинициста при определении чувствительности организма к антимикробному агенту и помощником в выборе обработки. Тщательный контроль и стандартизация требуются для внутри- и межлабораторной воспроизводимости результатов, поскольку результаты могут значительно зависеть от используемого метода. Общепринято, что испытания на MIC воспроизводимы в пределах одного удваивающегося растворения истинного момента окончания процесса (т. е. \pm одна ячейка или кювета в удваивающемся ряду растворения).

Растворение в питательной среде - метод, при котором в контейнеры, содержащие одинаковые объемы питательной среды с растворами антимикробного агента, увеличивающими концентрации в прогрессии (обычно геометрической), вводят материал затравки с известным числом микроорганизмов.

Микрорастворение в питательной среде обозначает выполнение испытания растворения в питательной среде в подносах микрорастворения.

Метод, описанный в данной части ISO 20776, предназначен для испытания чистых культур аэробных бактерий, которые легко выращиваются ночной инкубацией на агаре и хорошо растут в питательной среде Миллера-Хинтона (Mueller-Hinton), которая может быть добавлена. Метод микрорастворения в питательной среде, описанный в данной части ISO 20776 по существу тот же самый, что и используемый во многих странах, включая Францию^[1], Германию^[2], Швецию^[3], Великобританию^[4], и Соединенные Штаты^[5]. Метод также по существу совпадает с методом микрорастворения в питательной среде, изданным Европейским Комитетом по Испытаниям Антимикробной Чувствительности (EUCAST)^[6]. Все эти методы основаны на методах, описанных Эриксоном (Ericsson) и Шеррисом (Sherris)^[7].

Клинические лабораторные испытания и испытательные системы для диагностики *in vitro*. Испытания инфекционных агентов на чувствительность и оценка функционирования приборов для испытаний на антимикробную чувствительность.

Часть 1.

Эталонный метод испытания действия *in vitro* антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, участвующих в инфекционных заболеваниях

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ — применение данной части ISO 20776 может подразумевать использование опасных материалов, операций и оборудования. Данная часть ISO 20776 не ставит целью рассмотрение всех проблем безопасности, связанных с ее использованием. Установка соответствующей техники безопасности и охраны здоровья и определение применимости регулирующих ограничений по использованию входят в обязанности пользователя данной части ISO 20776.

ISO 20776-1:2006

1 Область применения

Данная часть ISO 20776 описывает один эталонный метод микрорастворения в питательной среде для определения MIC. MIC отражает деятельность препарата при описанных испытательных условиях, и может интерпретироваться в клинических управляющих целях с учетом других факторов таких как фармакология препарата или бактериальные механизмы сопротивления. Это позволяет классифицировать бактерии на "чувствительные" (susceptible, S), "нейтральные" (intermediate, I), или "стойкие" (resistant, R). Кроме того, распределения MIC могут использоваться для определения некультивированного или культивированного типов популяций бактерий. Хотя клиническая интерпретация ценности MIC находится вне области рассмотрения данной части ISO 20776, требуются модификации основного метода для определенной комбинации антимикробный агент – бактерия для облегчения клинической интерпретации. Эти модификации включены в отдельную таблицу. Желательно сравнить другие испытания на чувствительность (например, обычные методы или диагностические испытательные устройства) с данным эталонным методом для подтверждения сопоставимости и надежности результатов.

2 Термины и определения

В рамках данного документа приняты следующие термины и определения.

2.1

антимикробный агент antimicrobial agent

вещество биологического, полусинтетического или синтетического происхождения, которое ингибирует рост или убивает бактерии, и которое за счет этого потенциально может использоваться при лечении инфекций

ПРИМЕЧАНИЕ Дезинфицирующие средства, антисептики и консерванты не включены в данное определение.

2.2 Свойства антимикробных агентов

2.2.1

потенциал

potency

антимикробно активная фракция испытуемого вещества, определенная в биопробе по отношению к эталонному порошку того же самого вещества

ПРИМЕЧАНИЕ Потенциал выражается как массовая доля фракции в миллиграммах на грамм (мг/г), или как доля активности в Международных Единицах (IU) на грамм, или как объемная или массовая доля в процентах, или как концентрация количества вещества (массовая доля) в молях на литрах компонентов в испытательном веществе.

2.2.2

концентрация

concentration

количество антимикробного агента в определенном объеме жидкости

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Концентрация выражается в мг/л.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 мг/л = мкг/мл, но использовать единицу мкг/мл не рекомендуется.

2.3

исходный раствор

stock solution

начальный раствор, используемый для дальнейших растворов

2.4

минимальная запрещающая концентрация

minimum inhibitory concentration

MIC

самая низкая концентрация, которая при определенных условиях *in vitro* предотвращает видимый рост бактерий в пределах определенного промежутка времени

ПРИМЕЧАНИЕ MIC выражается в мг/л.

2.5

контрольная точка

breakpoint

BP

определенные значения параметров, таких как MIC, на основе которых бактерии могут быть разделены на клинические категории: "чувствительные", "нейтральные" и "стойкие"

ПРИМЕЧАНИЕ Для текущих интерпретирующих контрольных точек, можно отсылаться к последним публикациям организаций, использующих данный эталонный метод (например, CLSI и EUCAST).

2.5.1

чувствительный

susceptible

S

бактериальный штамм, ингибируемый *in vitro* концентрацией антимикробного агента, связанной с высокой вероятностью успешного терапевтического воздействия

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Бактериальный штамм определяется как чувствительный с использованием соответствующих контрольных точек в определенной фенотипичной испытательной системе.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Эти контрольных точки могут быть изменены при изменении условий (например, изменения в обычно используемых дозировках препарата, появление новых механизмов сопротивления).

2.5.2**нейтральный
intermediate****I**

бактериальный штамм, ингибируемый *in vitro* концентрацией антимикробного агента, связанной с неопределенным терапевтическим эффектом

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Бактериальный штамм определяется как нейтральный с использованием соответствующих контрольных точек в определенной фенотипичной испытательной системе.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Данный класс чувствительности подразумевает, что инфекцию вследствие изолированности можно соответствующим образом рассматривать в местах локализации на теле, где лекарственные средства физиологически сконцентрированы или когда может быть использована высокая концентрация препарата.

ПРИМЕЧАНИЕ 3 Данный класс также определяет "буферную зону", которая предотвращает появление серьезных несоответствий в интерпретациях, вызываемых незначительными, неконтролируемыми, техническими факторами.

ПРИМЕЧАНИЕ 4 Эти контрольных точки могут быть изменены при изменении условий (например, изменения в обычно используемых дозировках препарата, появление новых механизмов сопротивления).

2.5.3**стойкий
resistant****R**

бактериальный штамм, ингибируемый *in vitro* концентрацией антимикробного агента, связанной с высокой вероятностью неудачного терапевтического воздействия

ПРИМЕЧАНИЕ 1 Бактериальный штамм определяется как стойкий с использованием соответствующих контрольных точек в определенной фенотипичной испытательной системе.

ПРИМЕЧАНИЕ 2 Эти контрольных точки могут быть изменены при изменении условий (например, изменения в обычно используемых дозировках препарата, появление новых механизмов сопротивления).

2.6**некультивированный тип
wild type**

отсутствие приобретенных механизмов сопротивления антимикробному агенту для данного штамма

2.7**контрольный штамм
reference strain**

каталогизируемые, характеризованные бактерии с устойчивыми, определенными фенотипами и/или генотипами антимикробной чувствительности

ПРИМЕЧАНИЕ Контрольные штаммы сохраняются как исходные штаммы, из которых были получены рабочие культуры. Они доступны в собрании штаммов и используются для контроля качества.

2.8 Методика испытаний на чувствительность**2.8.1****растворение в питательной среде
broth dilution**

техника, при которой контейнеры заполняются соответствующими объемами раствора антимикробного агента с использованием увеличивающихся концентрации (обычно с двойным приращением) антимикробного агента и соответствующих объемов питательной среды с определенным материалом затравки

ПРИМЕЧАНИЕ Целью данного метода является определение MIC.

2.8.2

микрорастворение microdilution

растворение в питательной среде в подносах микрорастворения с вместимостью ≤ 200 мкл на ячейку

2.9

питательная среда broth

жидкая среда, используемая для in vitro роста бактерий

2.10

материал затравки inoculum

число бактерий в суспензии, вычисленное относительно конечного объема

ПРИМЕЧАНИЕ Материал затравки выражается в колониеобразующих единицах (colony-forming units) на миллилитр (CFU/ml).

2.11

эффект материала затравки inoculum effect

изменения в MIC, связанные с изменениями в затравке

3 Процедуры испытаний

3.1 Общие положения

Испытания выполняются в подносах микрорастворения. Метод основан на подготовке рабочих растворов антимикробного агента, либо в объемах 50 мкл на ячейку (с дополнением материала затравки также в объеме 50 мкл), либо в объеме 100 мкл на ячейку (с дополнением максимум 5 мкл материала затравки).

3.2 Среда

Должна использоваться питательная среда Mueller-Hinton (см. Приложение А для уточнения деталей).

3.3 Антимикробные агенты

3.3.1 Общие положения

Антимикробные агенты должны быть получены непосредственно от изготовителя или из надежных коммерческих источников; не приемлемы фармацевтические препараты для клинического использования. Антимикробные агенты должны снабжаться номером партии, потенциалом, сроком годности и описанием рекомендованных условий хранения. Вещества должны храниться в хорошо закрытых контейнерах в темноте, при температуре от 4 °C до 8 °C, с влагопоглотителем, если иное не рекомендовано изготовителем. Влагопоглощающие агенты должны быть разделены в равных количествах, одно из которых будет использоваться в соответствующей процедуре испытаний.

Перед открытием позвольте контейнерам согреться до комнатной температуры для предотвращения конденсации.

3.3.2 Подготовка растворов хранения

Для взвешивания антимикробных агентов необходимо использовать калиброванные лабораторные весы. Для расчета количества вещества антимикробного агента или объема разжижителя, необходимого для стандартного раствора, необходимо учитывать уровень потенциала порошка при помощи следующей формулы:

$$m = \frac{V \times \rho}{P} \quad (1)$$

$$V = \frac{m \times P}{\rho} \quad (2)$$

где

ρ концентрация раствора хранения, в мг/л;

m масса антимикробного агента (порошка), в г;

P потенциал антимикробного агента (порошка), в мг/г;

V объемом растворителя, в л.

Концентрации растворов хранения должны быть 1 000 мг/л или больше, хотя ограничивающим фактором является растворимость некоторых агентов. Фактические концентрации растворов хранения зависят от метода подготовки рабочих растворов (последовательные растворения). Агенты должны быть растворены и разведены в стерильной дистиллированной воде, если иное не предусмотрено изготовителем. Некоторые агенты требуют альтернативных растворителей (см. Таблицу 1). Стерилизация растворов не всегда необходима. Если такая необходимость существует, стерилизация должна быть проведена мембранной фильтрацией, и образцы до и после стерилизации должны пройти испытание и сравнение последующих результатов для гарантии отсутствия адсорбции.

Если информация о стабильности растворов хранения при указанных условиях хранения не доступна, они должны готовиться свежие растворы к каждой группе испытаний.

ISO 20776-1:2006

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/6a0880df-60cd-427e-831c-d3f7dfb77942/iso-20776-1-2006>

Таблица 1 — Примеры растворителей и разжижителей для растворов хранения выбранных антимикробных агентов

Антимикробный агент	Растворитель	Разжижитель
Амикацин (amikacin)	Вода	
Амоксициллин (amoxicillin)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0
Ампициллин (ampicillin)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 8,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0
Ацитромицин (azithromycin)	Этанол с объемной долей 95 % или безводная уксусная кислота ^a	Вода
Ацлоциллин (azlocillin)	Вода	
Ацтреонам (aztreonam)	Насыщенный раствор бикарбоната натрия	Вода
Карбенициллин (carbenicillin)	Вода	
Цефаклор (cefaclor)	Вода	
Цефамандоль (cefamandole)	Вода	
Цефазолин (cefazolin)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0
Цефдинир (cefdirin)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0	Вода
Цефдиторен (cefditoren)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0	Вода
Цефепим (cefepime)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0
Цефетамет (cefetamet)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0	Вода
Цефиксимин (cefixime)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 7,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 7,0
Цефметазол (cefmetazole)	Вода	
Цефоницд (cefonicid)	Вода	
Цефоперазон (cefoperazone)	Вода	
Цефотаксим (cefotaxime)	Вода	
Цефотетан (cefotetan)	Сульфоксид этана	Вода
Цефокситин (cefoxitin)	Вода	
Цефподоксимин (cefprozime)	Раствор бикарбоната натрия с массовой концентрацией 0,1 %	Вода
Цефпрозил (cefprozil)	Вода	
Цефтазидим (ceftazidime)	Насыщенный раствор бикарбоната натрия	Вода
Цефтибутен (ceftibuten)	Объем 1/10 сульфоксида этана	Вода
Цефтизоксим (ceftizoxime)	Вода	
Цефтобипрол (ceftobiprole)	Сульфоксид этана плюс безводная уксусная кислота ^b	Вода, вихрь энергично
Цефтриаксон (ceftriaxone)	Вода	
Цефуроксим (cefuroxime)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0
Цефалотин (cephalothin)	Фосфатный буфер 0,1 моль/л, pH 6,0	Вода
Хлорамфеникол (Chloramphenicol)	Объемная доля этанола 95 %	Вода
Цинокацин (cinocacin)	Половина объема воды, минимальный объем 1 моль/л NaOH для растворения, затем добавить воды до полного объема	Вода