МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

БІОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини

Кваліфікаційна робота

магістра

на тему СТЕРИЛЬНІСТЬ ЖИВИЛЬНИХ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ СЕРЕДОВИЩ ПРИ РІЗНИХ СПОСОБАХ ЇХ СТЕРИЛІЗАЦІЇ

Виконала: студентка 2 курсу, групи 8.0913-б-з

спеціальності 091 Біологія та біохімія

освітньої програми Біологія

О.В. Калашнікова

Керівник доцент, к.б.н., В. В. Копійка

Рецензент доцент, к.б.н., Н. В. Григорова

Запоріжжя – 2024

ЗАПОРІЗЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет біологічний
Кафедра фізіології, імунології і біохімії з курсом цивільного захисту та медицини
Рівень вищої освіти магістр
Спеціальність 091 Біологія та біохімія
Освітня програма Біологія

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри О.Г. Кущ
_____
«_____» _____ 2023 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ СТУДЕНТЦІ

Калашнікової Ольги Валеріївни

Тема роботи Стерильність живильних мікробіологічних середовищ при різних способах їх стерилізації Sterility of Nutrient Microbiological Media with Different Methods of Their Sterilization
керівник роботи Копійка В. В., к.б.н., доцент
затверджена наказом ЗНУ від «26» березня 2024 року № 519-с
1. Строк подання студентом роботи грудень 2024 року
2. Вихідні дані до роботи: Стерилізація − один з важливих і необхідних прийомів в мікробіологічній техниці. Навіть в сучасних умовах з розробкою різноманітних способів стерилізації ця проблема залишається актуальною для фармакологічних виробництв та дотичних до медичної практики областях.
3. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити): 1) проаналізувати ефективність стерилізації поживних мікробіологічних середовищ з використанням парового стерилізатора UNISTERI; 2) оцінити ефективність стерилізації з використанням установки для приготування живильних середовищ виробництва компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30»).
4. Перелік графічного матеріалу (з точним зазначенням обов'язкових креслень): Таблиця 2.1-2.3, 3.1–3.2; рисунки 2.1-2.9, 3.1-3.3; додатки А, Б.

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Консультант	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
4	Гороховський Є.Ю., к. б. н., доцент		

6. Дата видачі завдання _____2023 р._____

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітки
1.	Огляд літературних джерел. Написання відповідного розділу роботи.	Січень 2024	Виконано
2.	Підбір методик дослідження. Написання відповідного розділу роботи.	Лютий 2024	Виконано
3.	Засвоєння правил техніки безпеки під час виконання експериментальної частини.	Березень 2024	Виконано
4.	Формування бази експериментальних досліджень. Оформлення результатів експерименту.	Квітень - травень 2024	Виконано
5.	Оформлення кваліфікаційної роботи. Передзахист роботи.	Червень-листопад 2024	Виконано
6.	Рецензування кваліфікаційної роботи.	Листопад 2024	Виконано
7.	Захист кваліфікаційної роботи.	Грудень 2024	Виконано

Студентка _____ О.В. Калашнікова

Керівник роботи _____ В.В. Копійка

Нормоконтроль пройдено
Нормоконтролер _____ Є.Ю. Гороховський

РЕФЕРАТ

Робота викладена на 62 сторінках друкованого тексту, містить 5 таблиць, 12 рисунків. Перелік посилань включає 63 джерела.

Об’єктом дослідження були способи стерилізації живильних мікробіологічних середовищ; предметом дослідження − частота їх контамінації.

Метою роботи було дослідження стерильності живильних мікробіологічних середовищ при різних способах їх стерилізації.

Методи дослідження – мікробіологічні, статистичні. У дослідженні стерилізацію мікробіологічних середовищ проводили на установці для приготування живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30») та у паровому стерилізаторі UNISTERI.

В результаті дослідження було зроблено висновок, що обидва способи є ефективними та якісними: з 2020 по 2024 роки завдяки удосканаленню способів стерилізації контамінація середовищ знизилась до 0 % на рік.

Новизна роботи полягає в тому, що ми продемострували ефективність удосконаленої стерилізації на установках – паровому стерилізаторі UNISTERI та установці для приготування живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30»).

Значущість роботи – удосконалена стерилізація живильних середовищ дає довіру до якості та чистоти випускаємої фармацевтичними підприєствами продукції та впевненість щодо подальшого використання фармацевтичних компонентів у медицині.

МІКРОБІОЛОГІЯ, ЖИВИЛЬНІ СЕРЕДОВИЩА, СТЕРИЛІЗАЦІЯ, ПАРОВИЙ СТЕРИЛІЗАТОР, КОНТАМІНАЦІЯ.

ABSTRACT

The work is presented on 62 pages of printed text, contains 5 tables, 12 figures. The list of references includes 63 sources.

The object of the study was the methods of sterilization of nutrient microbiological media; the subject of the study is the frequency of their contamination.

The purpose of the work was to study the sterility of nutrient microbiological media with different methods of their sterilization. Research methods - microbiological, statistical.

In the study, sterilization of microbiological media was carried out on a plant for preparing nutrient media from the company «Systec» (Germany, model «Mediaprep-30») and in a steam sterilizer UNISTERI.

As a result of the study, it was concluded that both methods are effective and high-quality: from 2020 to 2024, due to the improvement of sterilization methods, contamination of media decreased to 0% per year.

The novelty of the work lies in the fact that we demonstrated the effectiveness of improved sterilization on the units - the UNISTERI steam sterilizer and the unit for preparing nutrient media from the Systec company (Germany, model «Mediaprep-30»).

The significance of the work - improved sterilization of nutrient media gives confidence in the quality and purity of the products produced by pharmaceutical companies and confidence in the further use of pharmaceutical components in medicine.

MICROBIOLOGY, NUTRITIONAL MEDIA, STERILIZATION, STEAM STERILIZER, CONTAMINATION.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ ТА ТЕРМІНІВ …….7
ВСТУП …….8
1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ ……10
1.1 Порядок приготування і контролю живильних середовищ для випробування стерильності ……10
1.2 Порядок підготовки лабораторного посуду для відбору проб і мікробіологічних випробувань ……14
1.3 Порядок контролю біологічних індикаторів, що використовуються ЛМБК і ВВ …….18
2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ……20
2.1 Порядок приготування, контролю, зберігання та використання живильних середовищ для мікробіологічного контролю ……..20
2.2 Порядок експлуатації установки для приготування живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30») ……...25
2.3 Порядок експлуатації установки автоматичного розливу живильних середовищ фірми «INTEGRA» модель «MEDIAJET» ……...26
2.4 Експлуатація стерилізаторів парових UNISTERI в лабораторії контролю якості ……..30
2.5 Порядок проведення знезараження відпрацьованого матеріалу ……....34
3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА ……..38
4 ОХОРОНА ПРАЦІ …….48
ВИСНОВКИ ……..53
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ……...54
ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ …….55
ДОДАТКИ ……61

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ЛМБК – лабораторія мікробіологічного контролю

ВКЯ – відділ контролю якості

ВО – вода очищена

ЧС – чисті середовища

ГЛЗ – готові лікарські засоби

ЖС – живильні середовища

ЛЗ – лікарські засоби

НД – нормативні документи

СММК – сектор мікробіологічних методів контролю

ЧП – чисті приміщення

ІР – інструкція по роботі

ББ – бокс біологічної безпеки

СМЧС - сектор моніторингу чистих середовищ

ВВ – відділ валідації

МО – мікроорганізми

СЗ – службова записка

СКА – соєво – казеїновий агар

LIMS LabWare – програмне забезпечення комп'ютеризованої системи, що призначене для управління лабораторними потоками робіт та документування. Оптимізує збір, аналіз, представлення та звіти лабораторних даних

ДФУ – Державна Фармакопея України

Ізолят – мікроорганізм виділений з навколишнього середовища

КУО – колонієутворюючі одиниці

USP - United States Pharmacopeia (Фармакопея США)

ЕР – European Pharmacopoeia, (Європейська Фармакопея)

ДФУ - Державна Фармакопея України

Megapolis.DocNet, Directum – система електронного документообігу

ВСТУП

Стерилізація − один з важливих і необхідних прийомів в мікробіологічній техниці. Під стерилізацією (від лат. *«sterilis»* - знепліднення) в мікробіології розуміють загибель всіх живих мікроорганізмів. У мікробіологічній практиці стерилізують поживні середовища, посуд, інструмент та інші необхідні матеріали з метою уникнення розвитку сторонньої мікрофлори.

До виробництва стерильної продукції висувають особливі вимоги з метою мінімізації ризиків мікробної контамінації [51]. Персонал повинен мати належну кваліфікацію та досвід, пройти навчання та дотримуватись правил поведінки з особливою увагою до принципів захисту стерильної продукції під час процесів виробництва, пакування та дистрибуції.

Управління процесами, обладнанням, приміщеннями та виробничою діяльністю слід здійснювати відповідно до принципів управління ризиками для якості, щоб забезпечити проактивні заходи виявлення, наукового оцінювання та контролю потенційних ризиків для якості.

Контроль контамінації і заходи, що вживають для мінімізації ризику контамінації мікроорганізмами і твердими частинками, включають низку взаємопов’язаних подій і заходів.

Потенційними джерелами контамінації є залишки мікроорганізмів та клітин (наприклад, піроген, ендотоксин), а також тверді частинки (наприклад, скло та інші видимі та невидимі частинки). Системи моніторингу – у тому числі оцінювання доцільності впровадження науково обґрунтованих, альтернативних методів для оптимізації виявлення контамінації навколишнього середовища.

У рамках стратегії контролю контамінації слід врахувати всі аспекти контролю за контамінацією з їх постійним і періодичним оглядом, що, за необхідності, приводить до актуалізації фармацевтичної системи якості.

Існують різні способи стерилізації мікроаргонізмів, наприклад за допомогою мікрохвильової печі, описані авторами Сюзан Шарів, Пеймен Акрам Хамасаїд та АбдулілаСалех Ісмаїл (2018) [1-10].

Також ефективні та перевірені методи ультразвукової стерилізації, яким можна віддати перевагу, ультрафіолетовій та хімічній стерилізації, описані в статті Четана Крішнан (Університет Алабами в Бірмінгемі) та Віджай Джеякумар (Інженерний коледж Шрі Сівасубрамані) [11-20].

Ультрафіолетове (УФ) світло окремо або в поєднанні з іншими способами обробки, такими як використання органічних кислот або дезінфікуючих розчинів, виявилося багатообіцяючим підходом до підтримки мікробіологічної безпеки та якості продуктів. Цей спосіб описано у липні 2022 року авторами Ачют Адхікарі (Університет Луїзіана) та Хуан Морейра (Університет штату Колорадо) [21-26].

Але найефективнішим способом стерилізації є стерилізація на парових стерилізаторах або на установках для приготування живильних середовищ з герметичною кришкою.

Метою роботи було дослідження стерильності живильних мікробіологічних середовищ при різних способах їх стерилізації.

Об’єктом дослідження були способи стерилізації живільних мікробіологічних середовищ; предметом дослідження − частота їх контамінації.

Новизна роботи полягає в тому, що ми продемострували ефективність удосконаленої стерилізації на установках – паровому стерилізаторі UNISTERI та установці для приготування живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30»).

Значущість роботи – удосконалена стерилізація живильних середовищ дає довіру до якості та чистоти випускаємої фармацевтичними підприєствами продукції та впевненість щодо подальшого використання фармацевтичних компонентів у медицині.

1 ОГЛЯД НАУКОВОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Порядок приготування і контролю живильних середовищ для випробування стерильності

Згідно вимог відповідних нормативних документів для проведення випробування на стерильність використовують готові та приготовані живильні середовища (далі ЖС) [1].

Всі операції по отриманню та зберіганню сухих ЖС виконують лаборанти-мікробіологи.

Лаборанту-мікробіологу при надходженні в лабораторіяю мікробіологічного контролю (далі ЛМБК) сухих ЖС кожну упаковку маркувати ідентифікаційною, вказати дату отримання, термін придатності, вказаний виробником на упаковці.

При відкритті першої упаковки з одержаної нової партії сухого ЖС заповнити протокол використання .

При першому відкритті упаковки сухого ЖС в ідентифікаційній картці, вказати: дату першого розкриття упаковки; термін придатності сухого ЖС після розкриття упаковки; підпис виконавця.

Терміни придатності сухих ЖС після першого розкриття упаковки підтверджуються після проведення валідації терміну зберігання.

Лаборанту-мікробіологу 1 раз на 3 місяці здійснювати аналіз інформації, у разі необхідності здійснити його актуалізацію.

Для контролю режиму стерилізації ЖС в паровому стерилізаторі використовувати хімічні та біологічні індикатори згідно WIQC000218.

Приготоване ЖС можна використовувати для проведення контролю стерильності зразків одночасно з випробуванням ЖС на стерильність.

Проводять перевірку ростових властивостей ЖС.

Витрати в процесі приготування ЖС (сухі ЖС, інактиватори та інше) та витрати в процесі використання приготованих ЖС реєструвати в системі Lims LabWare .

При невідповідності вимогам НД до придатності приготованих ЖС або у випадку аварійної ситуації під час стерилізації ЖС.

Особі, що виявила невідповідність в Протоколі приготування живильного середовища для контролю стерильності в графі «Термін придатності» вказати «непридатне», в графі Виконав вказати ПІБ, поставити дату, підпис.

Лаборанту-мікробіологу заповнити загальну ідентифікаційну картку вказавши: назву; партію ЖС; в разі невідповідності за показником pH або у випадку аварійної ситуації під час стерилізації ЖС в графі Попереджувальні дії вказати «Заборонено використовувати. На знищення»; написати дату та поставити підпис; маркувати касети з флаконами та пробірками із ЖС; заламінувати заповнену ідентифікаційну картку та передати в чисте приміщення для маркування касети з флаконами та пробірками із ЖС.

Інженеру з розробки методик зробити висновок про непридатність ЖС, підписати Протокол, в системі Lims LabWare підтвердити непридатність ЖС. Статус ЖС змінюється на «Непридатне».

Лаборанту-мікробіологу: непридатні до використання за показником pH та ростові властивості ЖС передати на знищення; непридатні до використання за показником стерильність ЖС передати на знезараження.

Інженеру з розробки методик провести вилучення непридатної до використання партії ЖС з системи LIMS LabWare.

Лаборанту-мікробіологу підготувати посуд (пробірки, флакони).

В комп’ютеризованій системі LIMS LabWare створити ЛОТ приготування ЖС та роздрукувати Протокол приготування живильного середовища для контролю стерильності.

Приготування живильних середовищ.

Зважити розраховану наважку сухого середовища на електронних вагах Mettler Toledo PB 1502- S/A .

Записати інформацію про зважування в журнал простежуваності функціонування обладнання.

Додати наважку ЖС в ємність для приготування з необхідним об’ємом.

Приготувати ЖС згідно інструкції виробника на плиті настільній або в установці автоматичного приготування Agaster Eco в установці приготування живильних середовищ МР-, або в установці для приготування живильних середовищ Systec Mediaprep-30.

Вимірювання pH ЖС перед розливом у флакони/пробірки:

Після приготування порцію ЖС об’ємом приблизно 15 мл відлити в скляний стакан та охолодити до температури 25 ºС.

Температуру перевірити з допомогою термометра.

Перевірити значення pH на pH-метрі Seven Easy Mettler Toledo.

Записати значення pH в журнал та у протокол приготування живильних середовищ.

В разі потреби відкоригувати значення pH за допомогою реагентів: 1М HCL, 10% NaOH.

Записати у протокол кількість внесеного реагенту.

Перевірити pH середовища після коригування, записати значення pH у протокол та в журнал .

Роздруківку з pH-метра з результатами вимірювання приклеїти до протоколу приготування та підписати.

ЖС у скляному стакані після вимірювання pH передати на знищення.

Розлив ЖС у флакони/пробірки та маркування:

Розлив ЖС проводити в приміщенні лаборантіа-мікробіолога за допомогою дозатора, або мірного посуду.

Приготоване і охолоджене ЖС розлити в підготовлені флакони або пробірки.

Об’єм розлитого середовища має бути не більше 80% ємності флакона чи пробірки, в які вони розлиті.

Флакони закрити гумовими пробками, закупорити алюмінієвими ковпачками на пресі ПОМР-1370.

Лаборанту–мікробіологу вказати у протокол кількість розлитого у ємності ЖС.

Заповнити загальну ідентифікаційну картку «Карантин», вказавши назву та партію жильного середовища.

Заламінувати загальні ідентифікаційні картки та помістити у касети з флаконами та пробірками з розлитим живильним середовищем.

Стерилізація живильних середовищ в паровому стерилізаторі.

Стерилізувати ЖС в паровому стерилізаторі UNISTERI HP SPS 559-1ED за визначеним режимом стерилізації 121°С 15 хвилин.

Після закінчення стерилізації на роздруківці стерилізатора (протоколі/чеку циклу стерилізації), вказати: підпис виконавця, назву середовища, дату стерилізації. Приклеїти протокол/чек стерилізації до протоколу приготування ЖС. Підписати протокол/чек стерилізації.

Після закінчення процесу стерилізації лаборанту відкрити стерилізатор і розмістити ЖС в шафах, призначених для їх зберігання.

Середовища, простерилізовані в стерилізаторі UNISTERI HP SPS 559-1ED, передати в чисте приміщення через передавальний шлюз.

Вимірювання pH живильного середовища після стерилізації.

Лаборанту-мікробіологу відібрати один флакон/пробірку від кожної партії приготованого живильного середовища, охолодити ЖС до температури 25 ºС.

Перевірити pH середовища після стерилізації, записати значення pH у Протокол приготування ЖС та в журнал.

Після вимірювання pH флакон/пробірку із ЖС передати на знищення.

Лаборанту-мікробіологу в графі «Виконав» підтвердити підписом приготування живильного середовища.

Після завершення випробувань ЖС на ростові властивості лаборанту-мікробіологу заповнити загальну ідентифікаційну картку «Ідентифікаційна картка статусу сировини та матеріалів «Увага», вказавши назву, партію

живильного середовища, «дозволено до використання», дату та поставити підпис..

Відкріпити ідентифікаційну картку «Карантин» за від контейнера з ЖС, яке придатне до використання, та замінити її на. Використану ідентифікаційну картку «Карантин» помістити у контейнер для відходів.

Приготовлені живільні середовища зберігати в шафі при температурі:

− приготовлене живильне середовище тіогліколеве - протягом 14 діб;

− приготовлене живильне середовище соєво-казеїнове - протягом 1 місяця.

1.2 Порядок підготовки лабораторного посуду для відбору проб і мікробіологічних випробувань

При проведенні робіт із знезараження, миття, підготовки та стерилізації лабораторного посуду дотримуватись правил техніки безпеки згідно із інструкціями по експлуатації лабораторного обладнання.

При виникненні відхилень в процесі стерилізації провести повторно стерилізацію матеріалів.

Посуд з відпрацьованими живильними середовищами, пробірки та будь-який інструмент, який був в контакті з тест-культурами, підлягає знезараженню в паровому стерилізаторі STERIVAP HP IL 446 або в паровому стерилізаторі UNISTERI HP SPS IL 559-1ED.

Перед знезараженням всі написи на склі чашок, пробірок, флаконів витерти за допомогою серветки, змоченої в 70% етиловому спирті.

Посуд, призначений для знезараження, помістити в металеві бікси та поставити в стерилізатор.

Провести знезараження в стерилізаторі паровому STERIVAP HP IL 446-1 або в паровому стерилізаторі UNISTERI HP SPS IL 559-1ED.

Процес деконтамінації перевірити відповідними індикаторами.

Зареєструвати процес деконтамінації в журналі знезаражування відпрацьованого матеріалу .

Після закінчення процесу знезараження посуд звільнити від відпрацьованого матеріалу. Відходи помістити в ємність, призначену для передавання на нейтралізацію .

Очищений посуд передати на миття.

Миття посуду.

Новий посуд (пробірки, піпетки, чашки, флакони, колби тощо) перед миттям очистити від візуально видимого забруднення шляхом відтирання за допомогою йоршиків чи серветок.

Очищений новий посуд та після деконтамінації розмістити у відповідні картриджі (для флаконів, піпеток, чашок Петрі) миючо-дезінфікуючої машини фірми Miele.

Завантажені картриджі перемістити в камеру миючої машини та провести миття.

Посуд та матеріали, що не підлягають миттю в миючо-дезінфікуючій машині (частини фільтраційної установки Міліпор, флакони з гвинтовою кришкою, ножиці, ступки, шпателі Дригальського, металеві шпателі, пінцети, пробовідбірники для відбору субстанцій і т.д.) промити в проточній воді, прополоскати водою очищеною.

Помитий посуд просушити в універсальній печі з примусовою конвекцією UT 20 №319.1.1 при температурі 100 ºС .

Очищений посуд маркувати.

Підготовка посуду до стерилізації.

Вимиті та висушені пробірки закрити металевими кришками, скласти в металеві касети.

Вимиті та висушені флакони закрити металевими або гвинтовими кришками, скласти в металеві касети.

Чашки Петрі упакувати в термоплівку Stericlin та запаяти на приладі hd 260 .

Піпетки скласти в металеві пенали або упакувати в термоплівку Stericlin та запаяти на приладі hd 260 .

Інші допоміжні матеріали висушити, охолодити, упакувати в термоплівку Stericlin та запаяти на приладі hd 260 .

Кожну запаяну упаковку візуально перевірити на цілісність.

При виявленні не цілісно запаяної або пошкодженої упаковки, зняти дану упаковку та помістити у контейнер для відходів з паперу та картону. Повторно упакувати, запаяти та візуально перевірити упаковки.

На матеріали та посуд, підготовлений до стерилізації, наклеїти індикаторну стрічку з метою відокремлення простерилізованих матеріалів від тих, які не пройшли стерилізацію .

Матеріали та посуд, підготовлений до стерилізації, маркувати ідентифікаційною карткою Form000264.

Стерилізація.

Лаборанту-мікробіологу підготовлений посуд простерилізувати в повітряному стерилізаторі при температурі 180 ºС 60 хвилин відповідно.

Підготовлені матеріали та флакони з гвинтовими кришками простерилізувати в паровому стерилізаторі UNISTERI HP.

Зареєструвати процес стерилізації в журналі .

Після завершення стерилізації лаборанту-мікробіологу написати на чеку-протоколі циклу стерилізації найменування простерилізованих матеріалів, поставити підпис та прикріпити чек в папку протоколів стерилізації.

Стерильний посуд та матеріали розмістити для використання:

− стерильні піпетки передати через передавальний шлюз та передавальне вікно активного типу в чисті приміщення;

− стерильні флакони з металевими кришками, пробірки, чашки Петрі і т.д. розмістити в шафі для стерильного посуду.

Стерильний посуд зберігати та використовувати згідно терміну зберігання стерильності (Таблиця 1.1). Термін зберігання стерильності встановлено за результатами проведеної валідації [2].

Таблиця 1.1 - Термін зберігання стерильного посуду та допоміжного матеріалу.

Найменування	Термін зберігання
Бікси медичні	7 діб з моменту закінчення циклу стерилізації
Інструментарій: ножиці, пінцети, ступки, шпателі.	
Металеві щупи (пробовідбірники) для відбору сипучих речовин	
Насадки на MAS-100	
Палички для змивів	
Піпетки	
Скляні фільтротримачі 47 мм Merck Millipore	
Пробірки скляні з металевими кришками	30 діб з моменту закінчення циклу стерилізації
Флакони скляні з синіми кришками об’ємом від 50 мл до 1 літр	
Флакони скляні з металевими кришками 250 мл, 100 мл	
Чашки Петрі в поліамідній плівці	

Лаборанту мікробіологу щомісячно проводити огляд посуду для виявлення зношених та пошкоджених одиниць. Пошкоджений посуд утилізувати.

Зберігати тільки ті матеріали та посуд, які використовуються у роботі. Всі матеріали та посуд повинні зберігатися у відповідних маркованих місцях.

1.3 Порядок контролю біологічних індикаторів, що використовуються ЛМБК і ВВ

За способом використання індикатори поділяються на:

− зовнішні, які розташовуються на поверхні об’єктів стерилізації та упаковок;

− внутрішні, які розміщуються всередині упаковок та в середині розчинів.

За принципом роботи індикатори поділяються на:

− хімічні, в яких використовуються реакції хімічних речовин на вплив факторів стерилізації;

− біологічні, які містять спори тестових мікроорганізмів [3-5].

Для хімічних індикаторів підтвердженням ефективності стерилізації є зміна вихідного кольору на колір елементу порівняння.

Хімічні індикатори використовувати кожен цикл стерилізації.

Для біологічних індикаторів підтвердженням ефективності стерилізації є зміна кольору контрольного індикатора, який не стерилізувався, в порівнянні з простерилізованим. Зміна кольору контрольного індикатора відбувається за рахунок росту тест-мікроорганізмів.

Перевірку роботи стерилізаторів проводити лаборанту-мікробіологу.

При виявленні неефективної стерилізації (на чеку буде зафіксовано що не пройшла програма, результати не відповідають акцептному критерію або не відповідність результатів) поставити до відома інженера сектору кваліфікації відділу лабораторного обладнання [6-9].

Після усунення неполадок провести повторну стерилізацію об’єктів.

Лаборанту-мікробіологу перед початком стерилізації наклеїти індикатори на поверхню індивідуальних виробів, упаковок або покласти смужки індикатора всередину кожної індивідуальної упаковки, бікси, контейнера і т. д. Провести стерилізацію.

Після дії стерилізуючих факторів відбувається незворотна зміна кольору смужок. Це дозволяє відрізнити простерилізовані вироби, від тих, які не стерилізувались [10-14].

Лаборанту-мікробіологу після закінчення процесу стерилізації провести порівнянні кольору тестової та контрольної смужки, при виявлені недостатні умови стерилізації (колір смужки не змінився), вважати об’єкт нестерильним.

Після закінчення процесу стерилізації об’єкти передати для подальшого використання.

Результати стерилізації записувати в журнал контролю роботи стерилізаторів.

Хімічні індикатори для контролю роботи повітряних стерилізаторів використовувати для: для оперативного візуального контролю дотримання параметрів режимів та умов стерилізації; виявлення неполадок в роботі обладнання в процесі стерилізації.

Біологічний індикатор використовувати для перевірки ефективності стерилізації, для моніторингу(один раз на тиждень) та валідації процесів стерилізації паром в рідинах [15-19, 40].

Перед початком стерилізації лаборантам-мікробіологам розмістити індикатор або ємність з індикатором (ємність з розчином або живильним середовищем) в камері парового стерилізатора в найбільш холодних точках.

Індикатори, чашка Петрі з посівом що знаходиться на інкубації переглядати щоденно для своєчасного виявлення росту.

Використання хімічних та біологічних індикаторів WIQC000218 [39].

Порядок приготування середовища соєвого казеїну для перевірки стерильності [41-46].

Контроль якості посівних середовищ в мікробіологічній лабораторії. (https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255085721025858) [59-64].

2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Порядок приготування, контролю, зберігання та використання живильних середовищ для мікробіологічного контролю

Дослідження проведено впродовж 2020-2024 р.р. на базі фармацевтичного підприєства АТ «Фармак» (м. Київ), за постійним місцем роботи автора дослідження на посаді лаборанта-мікробіолога.

Терміни придатності сухих ЖС після першого розкриття упаковки підтверджуються після проведення валідації терміну зберігання. Термін придатності після першого розкриття упаковки встановлюється окремо для кожного ЖС після вивчення його властивостей з моменту відкриття контейнеру до використання останньої порції сухого ЖС для приготування. Інженеру з розробки методик або бактеріологу, який провів валідацію терміну зберігання сухих ЖС після першого відкриття актуалізувати List000376 (ст.56) .

Готувати ЖС згідно інструкції виробника, яка розміщена на упаковці з сухим ЖС.

ЖС готувати в установці автоматичного Systec Mediaprep-30 або в ємності для приготування ЖС на електричній плитці.

Простерилізовані та охолоджені до температури від 45ºС до 50ºС агаризовані ЖС розливати за допомогою установки автоматичного розливу INTEGRA MEDIAJET.

Агаризовані ЖС, простерилізовані у стерилізаторі паровому UNISTERI або ЖС, які не підлягають стерилізації, передавати в ЧП через передавальний. Охолоджені до температури від 45ºС до 50ºС ЖС розливати з допомогою дозатора чи мірного стакана/циліндра в ББББ ЧП .

Термін зберігання приготованих ЖС становить:

− при температурі від 20ºС до 25ºС: для агаризованих середовищ – 2 тижні, для рідких середовищ – 30 діб;

− в холодильнику при температурі від 2ºС до 8ºС для агаризованих середовищ – 30 діб.

Протягом проведення випробувань на стерильність та ростові властивості приготовані ЖС зберігати промаркованими ідентифікаційною карткою Form000264 та ідентифікаційною карткою Form000612 «Карантин». Ідентифікаційну картку «Карантин» використовувати до завершення випробування на стерильність та перевірку ростових властивостей.

Лаборанту-мікробіологу виконати в системі Lims LabWare відповідні операції процесу приготування ЖС (створення ЛОТ приготування ЖС, друк протоколу, введення інгрідієнтів, списання інгрідієнтів, списання кількості одиниць приготованого ЖС для вимірювання pH та контролю стерильності і розміщення) [40].

Приготувати ЖС згідно інструкції виробника (рис. 2.1).

Вимірювання pH ЖС до розливу у чашки Петрі/флакони/пробірки:

Після приготування ЖС приблизно 15 мл відлити в скляний стакан та охолодити до температури 25 ºС. Температуру перевірити з допомогою термометра.

Перевірити значення pH на pH-метрі Seven Easy METTLER TOLEDO.

Записати значення pH в журнал та у відповідний протокол приготування ЖС. В разі потреби відкоригувати значення pH за допомогою реагентів: 1М HCL, 10% NaOH:

− для середовищ, які готуються на електричній плитці і не підлягають стерилізації, корекцію pH проводити стерильними реагентами в ББВ ЧП;

− для середовищ, які стерилізуються в установці автоматичного приготування, коригування pH не проводити.

Записати в протокол кількість внесеного реагенту.

Перевірити pH середовища після коригування, записати значення pH у відповідний протокол приготування та в журнал .

Роздруківку з pH-метра з результатами вимірювання прикріпити до протоколу приготування.

Агаризовані середовища розливати в чашки Петрі, пробірки або флакони; рідкі ЖС - у флакони або пробірки. В чашки Петрі розливати по 30 мл живильного середовища.



Рисунок 2.1 – Бокс біологічної безпеки (ESCO Airstream, Сінгапур) для посіву середовищ на стерильність, АТ «Фармак», власне фото).

Для ЖС, які підлягають стерилізації в паровому стерилізаторі, об’єм середовища повинен бути не більше 80% об’єму флакона чи пробірки, в які вони розлиті.

Кожну чашку/флакон промаркувати канцелярським маркером або наклейкою, роздрукованою на принтері вказавши: назву середовища, дату приготування, термін придатності.

Бікс або штатив з пробірками промаркувати ідентифікаційною карткою, вказавши: назву середовища; номер партії; дату приготування; термін

придатності; при використанні інактиваторів, вказати назву інактиваторів та їх кількість; ПІБ виконавця.

Чашки, пробірки чи флакони з ЖС помістити в контейнери, закрити кришками.

Контейнери з живильними середовищами з ЧП перемістити в передавальний шлюз. За допомогою візка з передавального шлюзу перемістити ЖС до інкубаторів. Помістити в інкубатор певну кількість одиниць партії приготованого ЖС для перевірки на стерильність, решту помістити для зберігання в шафу або в холодильник до завершення випробування на стерильність та ростові властивості.

ЖС, розлиті вручну передати на стерилізацію.

Стерилізація ЖС в паровому стерилізаторі. Для контролю режиму стерилізації ЖС в паровому стерилізаторі використовувати хімічні та біологічні індикатори.

Стерилізувати підготовлені ємності з ЖС в паровому стерилізаторі UNISTERI HP.

Після закінчення стерилізації на роздрукованому протоколі/чеку циклу стерилізації, вказати: підпис виконавця, назву середовища, дату стерилізації. Прикріпити протокол стерилізації до відповідного протоколу приготування ЖС.

Перевірити pH середовища після стерилізації:

− взяти для вимірювання pH приблизно 15 мл;

− записати значення pH у відповідний протокол приготування та в журнал;

− роздруківку pH метру прикріпити до протоколу приготування ЖС.

Флакони з ЖС, простерилізованими в стерилізаторі UNISTERI: агаризовані ЖС перемістити до ЧП для розливу в чашки Петрі, рідкі ЖС - в шафу або в для зберігання до завершення випробування на стерильність та ростові властивості.

Стерилізація ЖС в установці автоматичного приготування.

Приготовлені в установці автоматичного приготування середовища простерилізувати в Systec Mediaprep-30 (компанія «Systec» , Німеччина).

Перевірити pH середовища після стерилізації, результати вимірювання записати у відповідний протокол приготування. Роздруківку pH метру прикріпити до протоколу приготування ЖС.

Розлив ЖС після стерилізації та маркування живильних середовищ:

Простерилізовані та охолоджені до температури 45ºС-50ºС агаризовані ЖС розлити за допомогою установки автоматичного розливу INTEGRA MEDIAJET або дозатора чи мірного стакана/циліндра в ЧП. Для розливу за допомогою установки автоматичного розливу INTEGRA MEDIAJET необхідно вибрати програму «90 STD» (рис. 2.2).

Зробити запис про приготування ЖС в журнал простежуваності функціонування обладнання.

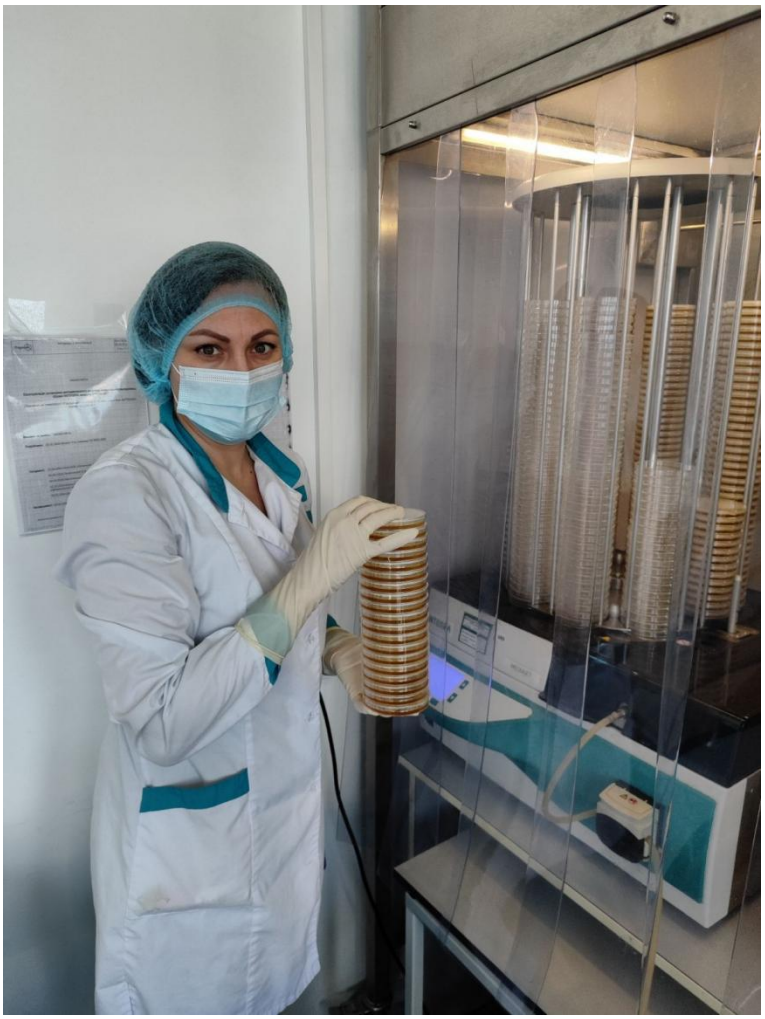
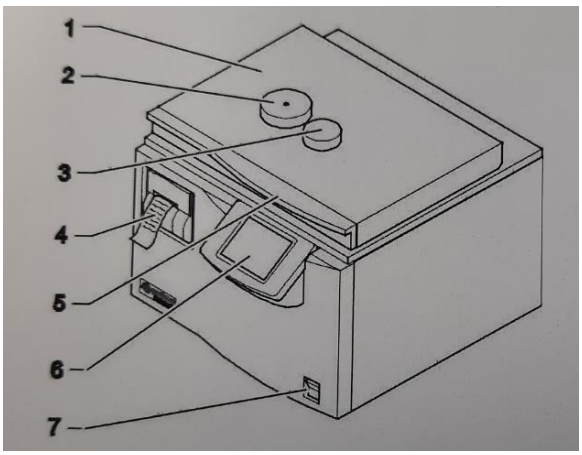


Рисунок 2.2 – АТ Фармак, лаборант-мікробіолог, фото автора.

2.2 Порядок експлуатації установки для приготування живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина), моделі «Mediaprep-30»

Обладнання призначене для приготування стерильних живильних середовищ (Рисунок 2.3, таблиця 2.1).



1 – Двері камери; 2 – Додатковий порт; 3 – Порт для розливу; 4 – принтер; 5 – ручка; 6 – сенсорний екран; 7 – Кнопка I/O

Рисунок 2.3 − Установка для приготування стерильних живильних середовищ «Mediaprep-30»

Таблиця 2.1 − Основні технічні характеристики установки для приготування живильних середовищ («Systec», Німеччина, модель «Mediaprep-30» [48].

№ з/п	Назва характеристики	Значення
1	2	3
1	Температура приготування, °С	+60 … +138
2	Температура розливу, °С	+30 … +75
3	Максимальний тиск, бар	4
4	Швидкість обертів мішалки, об/хв	до 260

Продовження таблиці 2.1

1	2	3
5	Вага, кг	70
6	Об’єм камери, л	34
7	Кількість нагрівальних елементів, шт	3
8	Потужність, кВт	9,3
9	Габаритні розміри (Ш×Г×В), мм	555×635×830

2.3 Порядок експлуатації установки автоматичного розливу живильних середовищ фірми «INTEGRA» модель «MEDIAJET»

Установка (рис. 2.4, рис. 2.5, рис. 2.6) складається з таких основних вузлів: 1 - карусель, 2 – захисна кришка, 3 – перестальтичний насос, 4 – операційна панель, 5 – головний вимикач «POWER». Також до складу установки входить принтер фірми LINX модель 5900.

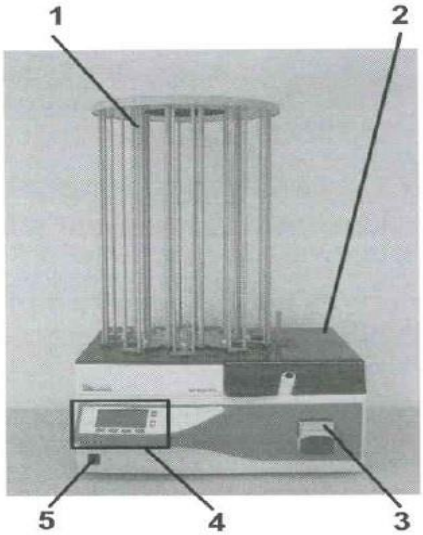


Рисунок 2.4 − Загальний вигляд установки автоматичного розливу живильних середовищ фірми «INTEGRA» модель «MEDIAJET»

Таблиця 2.2 − Технічні характеристики установки установки автоматичного розливу живильних середовищ фірми «INTEGRA» модель «MEDIAJET» [49].

Назва характеристики	Значення
Максимальна кількість чашок Петрі	360 шт.(по 40 у секції)
Об’єм дозування середовища	1-99,9 мл.
Відтворюваність дозування	приблизно 1 %
Швидкість перекачування рідини	до 500 мл./хв.
Висота чашок Петрі	12-25 мм.
Розміри обладнання В х Ш х Г	1070 х 655 х 634 мм
Вага	54 кг.
Потужність	200 Вт
Робоча напруга	100/240 В
Частота	50/60 Гц

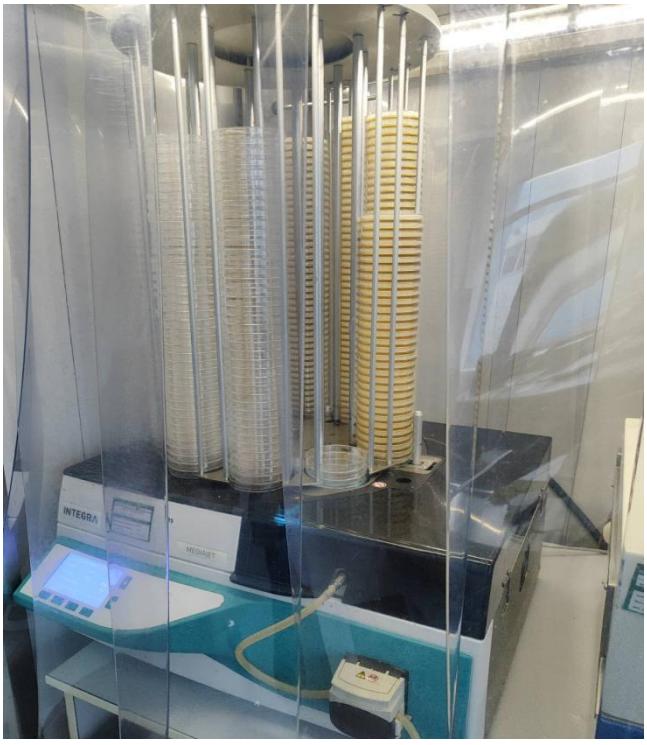


Рисунок 2.5 - Установка автоматичного розливу живильних середовищ фірми «INTEGRA», модель «MEDIAJET» (АТ «Фармак», власне фото).

Заміряти висоту стопки з десяти чашок Петрі.

Натиснути у головному меню кнопку «FILL DISHES».

Обрати потрібну програму розливу, ввести заміряне значення висоти чашок Петрі (мм.).Провести завантаження чашок Петрі у карусель (останню секцію не завантажувати).

Приготувати середовище.

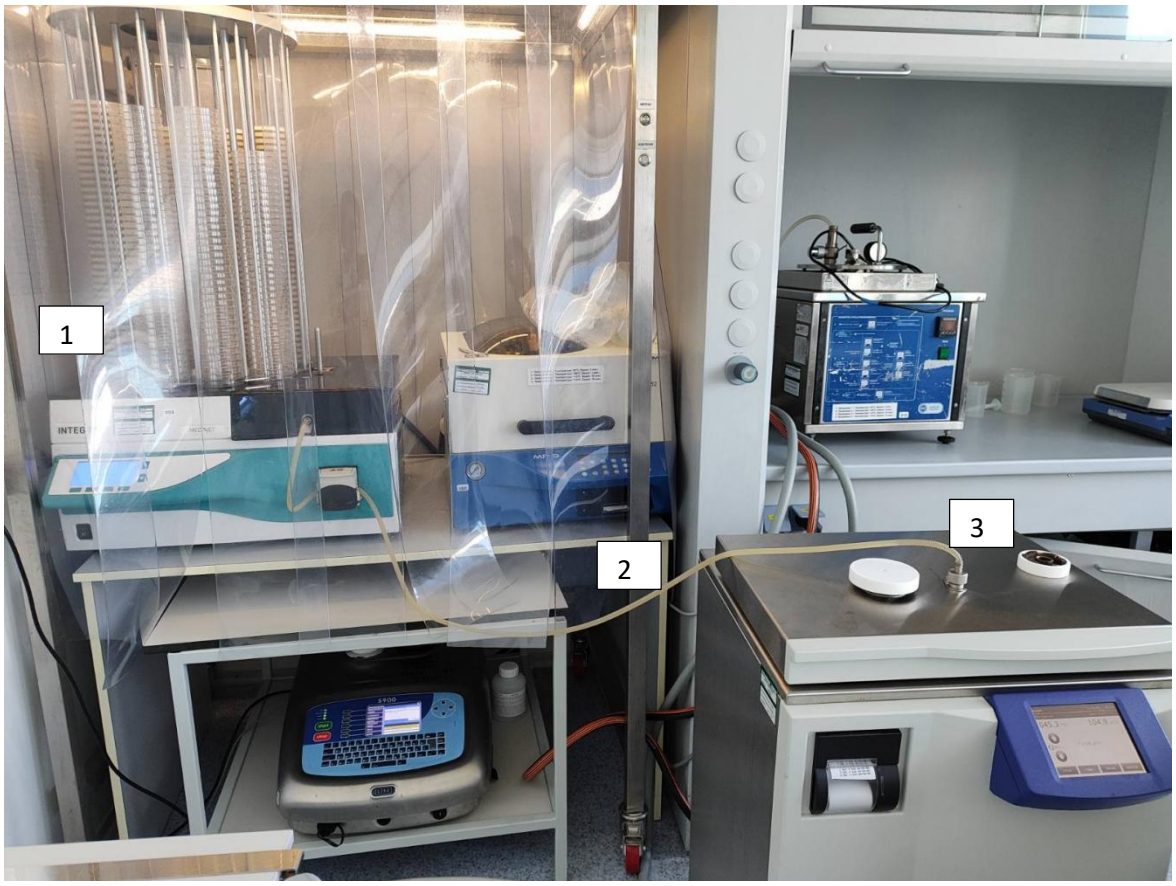
Вставити силіконовий шланг між робочі ролики та поверхню головки перестальтичного насосу так, щоб кінець шлангу зі сторони середоварки знаходився з правого боку замка головки перестальтичного насосу та довжина шлангу ліворуч від головки перестальтичного насосу була приблизно 30 см.

Закрити замок головки перестальтичного насосу, зафіксувавши ручку замка у нижньому положенні.

Перед прокачуванням шлангу вставити вільний кінець із соплом до стерильного флакону.

Вставити шланг разом із металевим соплом у відповідний порт установки розливу.

Після автоматичного закінчення процесу розливу при заданій кількості чашок Петрі, на екрані повідомлення «FILLING PROCESS TERMINATED».



1-Установка автоматичного розливу живильних середовищ фірми «INTEGRA»: 2 - силіконовий шланг; 3 - установки для приготування живильних середовищ «Mediaprep-30»

Рисунок 2.6 − Установки для приготування живильних середовищ «Mediaprep-30» (АТ «Фармак», власне фото).

2.4 Експлуатація стерилізаторів парових UNISTERI в лабораторії контроля якості

Обладнання виконане у вигляді шафи (рис. 2.7, таблиця 2.3) та складається з таких основних компонентів: металевого корпусу, рами, камери, дверей завантаження, парогенератор, вакуум насосів та сенсорного дисплея керування.

Обладнання повинно бути під’єднано до системи подачі води очищеної, системи стиснутого повітря, системи пом'якшеної води та міської холодної води. Сировину чи матеріал який завантажують в обладнання підлягає обробці насиченою парою. Обробці підлягають бавовняні текстильні, термостійкі текстильні матеріали, металеві предмети і предметів з гуми, пластиків, кераміки і скла. Температура стерилізації зазвичай становить 134°С. При температурі 121°С виконують стерилізацію термочутливих предметів з гуми, пластикових деталей, предметів зі скла, чутливих механічних приладів.



Рисунок 2.7 - Сторона завантаження зразків середовищ у стерилізатор паровий UNISTERI.

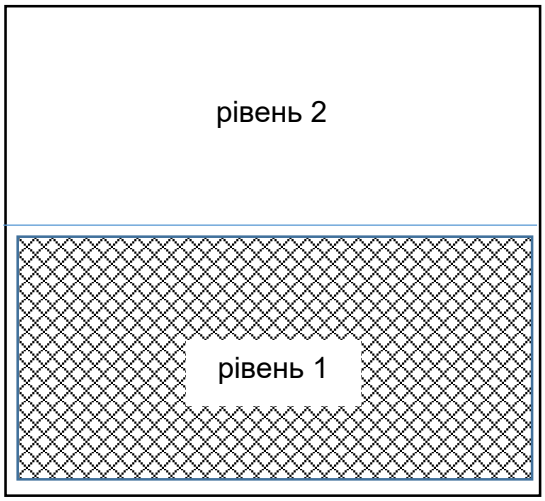
Таблиця 2.3 - Технічні характеристики стерилізатора парового UNISTERI [50]

Назва характеристики	Значення	
	SPS 559-1ED	SPS IL 559-1ED
Макс. допустима температура	144 ° C	144 ° C
Макс тиск пари (абсолютний):	3,5 бар	3,5 бар
Середня акустична потужність	<65 Дб	<65 Дб
Внутрішні розміри камери В х Ш х Г	509 х 509 х 990 мм	509 х 509 х 990 мм
Об'єм камери	254 л	254 л
Робоча напруга	3 х 230/400 В ± 10%	3 х 230/400 В ± 10%
Частота	50/60 Гц ± 5%	50/60 Гц ± 5%
Температура навколишнього середовища	+5 °C – +40 °C	+5 °C – +40 °C
Максимальна відносна вологість навколишнього середовища	85 % при 31 °C	85 % при 31 °C
Біологічний фільтр	Відсутній	Присутній
Тип з'єднання трубопроводів	Різьбове виконання	Клампове виконання

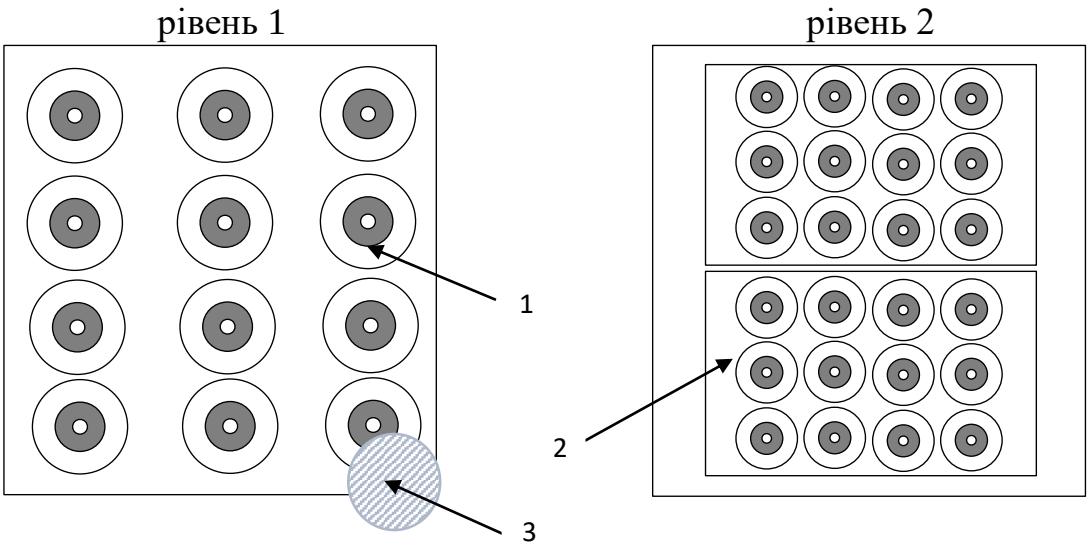
Алгоритм розташування флаконів з мікробіологічним середовищем для стерилізації представлений на рис. 2.8. та рис. 2.9.



«Фото завантаження»



«Схема завантаження»



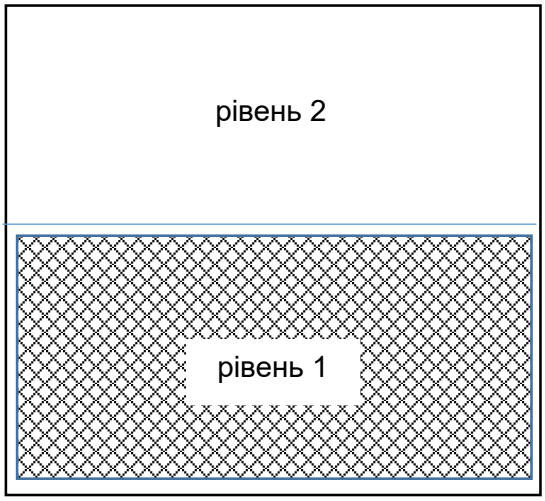
1 – флакони 1000 мл;

2 – флаконы 500 мл;
3 – холодна зона.

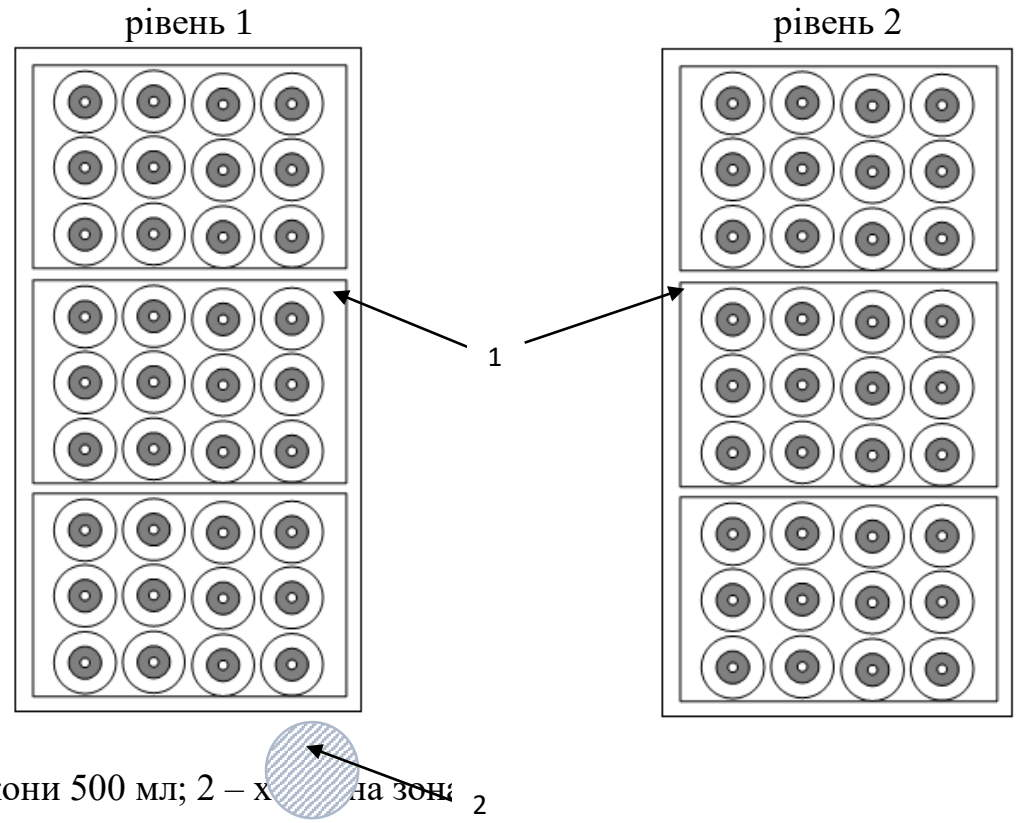
Рисунок 2.8 − Програма стерилізації №7-Р8, Р8 – 121°С / $F_0 \geq 20$ хв. (Флакони 1000 мл, 500 мл).



«Фото завантажень»



«Схема завантажень»



1 – флакони 500 мл; 2 – х на зон

Рисунок 2.9 − Програма стерилізації №8-Р8, 121°С / $F_0 \geq 20$ хв. (флакони 500 мл).

2.5 Порядок проведення знезараження відпрацьованого матеріалу − деконтамінація

Знезараженню підлягають:

Скляний посуд, одноразовий поліетиленовий посуд, частини обладнання і пристосування, які використовувались при роботі з живими культурами тестових мікроорганізмів тривалого, тимчасового і цільового використання.

Скляний посуд (флакони, чашки Петрі, пробірки і т.д.), одноразовий поліетиленовий посуд (чашки Петрі, пробірки і т.д) з агаризованими і рідкими живильними середовищами:

− після проведення мікробіологічних випробувань,

− після проведення моніторингу на виробничих дільницях.

Одноразові каністри фільтраційної системи Стеритест з рідкими середовищами після проведення випробувань на стерильність.

Фільтраційні системи Millipore: скляні утримувачі із тефлоновим покриттям для фільтрів діаметром 47 мм, який складається з лійки 300 мл, основи з пробкою, гумової кришки, пружинного затискача.

Використаний одяг після роботи з тест-штамами мікроорганізмів.

Живильні середовища, які після приготування непридатні для використання.

Відпрацьовані пробірки, чашки Петрі, флакони з живильним середовищем, розчинами, які мали контакт з тест-штамами мікроорганізмів.

Використані пробірки з тест-культурами тривалого, тимчасового і цільового використання на агаризованих та рідких середовищ записати в протокол передачі тест-штамів мікроорганізмів на знезараження. Записи в якому проводять інженери з розробки методик СММК, провідний інженер СМЧС та передають лаборантам-мікробіологам.

Відпрацьовані матеріали (скельця для фарбування за Грамом, пробірки, чашки Петрі, касети для ідентифікації мікроорганізмів) після роботи з in-house ізолятами, виявлених під час моніторингу ЧС.

Фільтраційна установка для проведення валідації стерилізуючої фільтрації, яка складається з утримувача фільтрів, патрону з тестованим фільтром, перехідників, ущільнювачів, вентилів, затискачів, металевих ніжок, стальної трубки, силіконових трубок, ємності для розчину/води.

Знезараження проводити в парових стерилізаторах Sterivap HP IL 446-1 та Unisteri HP SPS IL559-IED згідно визначених програм знезараження.

Реєструвати кожен цикл знезараження в журналі реєстрації знезараження відпрацьованого матеріалу та в журналі простежуваності функціонування обладнанн .

Вносити номер протоколу передачі тест-штамів мікроорганізмів на знезараження в журнал реєстрації знезараження відпрацьованого матеріалу [52].

Попередні операції.

Відпрацьований посуд, частини обладнання і пристосування, допоміжні матеріали та одяг, які використовувались при роботі з живими культурами тест-мікроорганізмів та при контролі підготувати до знезараження:

− використані пробірки з тест-культурами на агаризованих та рідких середовищах, флакони з посівами тест-культур та після мікробіологічних випробувань розмістити в металеві контейнери;

− використані чашки з тест-культурами, з посівами після мікробіологічних випробувань на агаризованих середовищах, одноразові мікробіологічні петлі, матеріали після роботи з in-house ізолятами скласти в термостійкі пакети та розмістити в металеві контейнери;

− відпрацьовані матеріали після валідації стерилізуючої фільтрації скласти в металеві контейнери;

− одноразові каністри фільтраційної системи Стеритест з рідкими середовищами після проведення випробувань на стерильність та каністри, в які вносили відповідні тест-штами мікроорганізмів для проведення

мікробіологічних досліджень скласти в термостійкі пакети та розмістити в металеві контейнери;

− одноразові чашки Петрі після обліку результатів мікробіологічного моніторингу, скласти в термостійкі пакети та розмістити в металеві контейнери;

− фільтраційні системи Millipore: скляні утримувачи із тефлоновим покриттям для фільтрів діаметром 47 мм, який складається з лійки 300 мл, основи з пробкою, гумової кришки, пружинного затискача скласти в металеві контейнери;

− використаний одяг після роботи з тест-штамами мікроорганізмів скласти в термостійкий пакет та помістити в металевий контейнер;

Перед початком знезараження наклеїти хімічні індикатори на поверхню термостійкого пакета або контейнера та розмістити біологічний індикатор.

Деконтамінацію/знезараження провести протягом дня, при неможливості провести знезараження протягом дня, всі матеріали призначені для деконтамінації помістити в пластиковий контейнер з кришкою, маркований «на знезараження», і як виняток, залишити на ніч в шафі з локальною витяжкою в спецприміщенні.

Проведення знезараження.

Розмістити в стерилізаторах підготовлений до знезараження матеріал.

Підтвердженням ефективності деконтамінації є зміна вихідного кольору хімічного індикатора на колір елементу порівняння, для біологічних індикаторів є зміна кольору контрольного індикатора, який не стерилізувався, в порівнянні з простерилізованим згідно з інструкцією виробника щодо використання.

Деконтамінацію всіх матеріалів, окрім одягу, фільтраційних систем Millipore, елементів фільтраційної установки, проводити згідно програми деконтамінації Р10-132°С/60 хвилин в стерилізаторах Sterivap HP IL 446-1 або Unisteri HP SPS IL559-IED.

Деконтамінацію одягу, фільтраційних систем Millipore, елементів фільтраційної установки, проводити згідно програм деконтамінації Р 11-

134°С/30 хвилин в стерилізаторі Sterivap HP IL 446-1 та Р 08 -134°С/30 хвилин в Unisteri HP SPS IL559-IED.

Після деконтамінації посуд звільнити від рідких відходів шляхом розведення їх водою та зливом в каналізаційну систему, одноразовий посуд помістити в контейнер для відходів «Відходи поліетиленові» . Очищений скляний посуд передати на мийку .

Металеві шпателі, пінцети після контакту з суспензіями тест-культур повністю занурити в розчин перекису водню 6%, витримати протягом 60 хвилин з метою знезараження.

Після знезараженя металеві шпателі, пінцети промити в проточній питній воді, прополоскати водою очищеною та просушити в універсальній печі з примусовою конвекцією UT 20 №319.1.1 при температурі 100ºС. Піпетки промити в проточній питній воді та розмістити у відповідні картриджі для піпеток в миючо-дезинфікуючій машині G7827/G7828 фірми Miele .

Контейнери після завершення випробувань на герметичність занурити в 2% розчин «Мікробак форте», витримати протягом 5 хвилин. Дістати пінцетом контейнери з розчину, помістити в лоток, витримати їх на повітрі до повного висихання та передати на інкубацію .

Для знезараження мікробіологічної петлі при посівах тест-культур, пересівах з рідких середовищ на агаризовані середовища робочу частину петлі прожарювати в полум’ї газового пальника перед контактом з посівним матеріалом і після закінчення посіву.

3 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Алгоритм стерилізації мікробіологічних середовищ представлено у Додатку А та Додатку Б.

Алгоритм температурних режимів, які застосовувались при виконанні експерименту представлені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 –Температурний режим середовищ і кількість їх для контролю стерильності

Назва живильного середовища		Температурний режим інкубації	Кількість ЖС для контролю стериль-ності
1		2	3
Агаризовані живильні середовища для виявлення загального числа мікроорганізмів, розлиті в чашки Петрі та пробірки	Соєво-казеїновий агар (СКА) (Середовище В)	30-35°С	Вся партія приготованого живильного середовища
	Сабуро-декстрозний агар (СДА) (Середовище С)	20-25°С	
	Сабуро-декстрозний агар з хлорамф. (СДА з хл) (Середовище С)	20-25°С	
	М’ясо-петонний агар (Густе живильне середовище №1)	30-35°С	
	Агар Сабуро (Густе живильне середовище №2)	20-25°С	
	LB агар	30-35°С	
	LB агар з додаванням канаміцину	30-35°С	

Продовження таблиці 3.1

1		2	3
Агаризовані живильні середовища для виявлення окремих видів та ідентифікації мікроорганізмів, розлиті в чашки Петрі та пробірки	Агар із жовчю, глюкозою, кристалічним фіолетовим та нейтральним червоним (густе живильне середовище F)	35-37°С	Не менше 2 чашок або пробірок з кожної партії приготованого живильного середовища
	Агар із жовчю, глюкозою, кристаліч. фіолетовим та нейтральним червоним (VRBGA) (густе живильне середовище F без лактози)	30-35°С	
	Агар Мак-Конки (АМК) (середовище Н)	30-35°С	
	Дезоксихолатний агар з ксилозою та лізином (XLD) (Середовище К)	30-35°С	
	Цетримідний агар (ЦА) (Середовище N)	30-35°С	
	Манітно-сольовий агар (МСА)	30-35°С	
	Основа для Колумбійського агару (Середовище Q)	30-35°С	
	Цитратний агар Симонса	35-37°С	
	Трицукровий агар із залізом	35-37°С	
	Агар для виявлення пігменту флуоресцину	35-37°С	
	Агар для виявлення пігменту піоціоніну	35-37°С	
	Густе живильне середовище №4 (агар Ендо)	35-37°С	
	Густе живильне середовище №5 (вісмутсульфіт агар)	35-37°С	
	Густе живильне середовище №9	35-37°С	
	Густе живильне середовище №10	35-37°С	
	Густе живильне середовище О (агар Байєрд-Паркера)	35-37°С	

Продовження таблиці 3.1

1		2	3
Нагромаджувальні рідкі живильні середовища, розлиті у флакони та пробірки	Соєво-казеїновий бульйон (СКБ) (Середовище А)	30-35°С	Не менше 2 флаконів або пробірок від партії
	Бульйон Мак-Конки (БМК) (Середовище G)	42-44°С 43-45°С	
	Нагромаджувальний бульйон Мозеля для ентеробактерій (МБ) (середовище Е)	30-35°С	
	Нагромаджувальний бульйон Раппапорта-Василіадіса для Salmonella (РВБ)	30-35°С	
	Рідке живильне середовище №3 (середовище збагачення для бактерій род. Enterobacteriaceae)	35-37°С	
	Рідке живильне середовище №8 (для вирощування Pseudomonas aeruginosa та Staphylococcus aureus	35-37°С	
	Рідке живильне середовище №1	35-37°С	
	Сабуро-декстрозний бульйон	20-25°С	
	Буферно-пептонне середовище	30-35°С	

У дослідженні використовуались два методи стерилізації живільних середовищ:

− на установці для приготування та стерилізації живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина), моделі «Mediaprep-30»;

− на паровому стерилізаторі UNISTERI.

Простерилізуємо розчин на паровом стерилізаторі UNISTERI:

При стерилізації рідин в герметичній тарі, тара виконує роль автоклаву, оскільки рідини усередині доводять до необхідної температури, приводячи тим самим до нарощування тиску. Оскільки в цьому випадку час збалансування (тобто час, коли температура всередині завантаження буде дорівнювати температурі в камері стерилізатора) може сильно варіюватися залежно від кількості/ємності рідини, то етап стерилізації починається за сигналом «датчику температури PT 100, що розташований в продукті» (згідно ДСТУ EN 285 та ДСТУ EN ISO 17665-1), що знаходиться всередині ємності та є стартом для початку стерилізації всієї рідини. Важливим аспектом є те, що етап охолодження повинен проходити повільніше, аби запобігти вибуху тари:

− 121°C з часом витримки принаймні 15 хвилин.

− температура знаходиться в межах діапазону стерилізації (-0/+3 °C від встановленої температури) • різниця між найнижчою і найвищою температурою, включаючи теоретичну температуру насиченої пари, не більше 2 K (°C)

− температура, що вимірювалась протягом часу витримки не коливалася більш ніж на 1 K (°C).

Парова стерилізація або стерилізація вологим теплом являє собою процес, який використовує насичений пар під тиском, як стерилізуючий агент. Стерилізація парою є надійним процесом стерилізації (https://uni-cert.ua/wp-content/uploads/2021/04/journal_phte20_a4_unicert.pdf) [53].

Стерилізація на Systec MediaPrep до 30 л.

Блокування дверей і завантажувального люка залежить від температури і тиску. Випадкове відкриття неможливе. Внутрішній тримач посудини можна замінити, його легко зняти та очистити. Кожен MediaPrep оснащений і

контролюється таким чином, що його можна використовувати як звичайний автоклав.

Потужні нагрівальні елементи дозволяють здійснювати особливо швидкий нагрів. Швидке охолодження відбувається шляхом циркуляції води та підтримки тиску безпосередньо на зовнішніх стінках ємності із середовищем за допомогою стерилізованої демінералізованої води. Вода доводиться до температури охолодження за допомогою пластинчастого теплообмінника з підключенням до води. Загальний час процесу, включаючи нагрівання, стерилізацію та охолодження до 50°C, триває від 60 до 120 хвилин, залежно від розміру посудини, кількості середовища та температури охолоджувальної води. Підтримуючий тиск дозволяє уникнути перекипання та спінювання середовища. Повітряний компресор вбудований.

Автоматичний процес гарантує рівномірну, високу та відтворювану якість підготовлених і стерилізованих середовищ. Весь процес - від початкового нагрівання до змішування та стерилізації при встановленій температурі до охолодження - контролюється мікропроцесором. Крім того, можна попередньо вибрати температуру, яку необхідно підтримувати після стерилізації.

Фіксоване гвинтове з’єднання гарантує безпечне та стерильне дозування середовища. Оброблене і стерильне середовище видається через гнучку трубку. Внутрішня аспіраційна трубка та порт видачі також стерилізуються парою під час кожного процесу стерилізації. Частину трубки за межами інструменту та під’єднаний розподільний адаптер необхідно окремо стерилізувати за допомогою відповідної процедури стерилізації парою та підключити до роздавального порту в стерильних умовах.

Автоматичний трубчастий клапан. Економний спосіб дозування. У той час як попередньо встановлений постійний невеликий надлишковий тиск у резервуарі із середовищем сприяє потоку, MediaPrep контролює відкриття та закриття пережимного клапана. Після введення потрібного об’єму MediaPrep виконує операцію дозування зразка та калібрується на основі в’язкості

середовища (https://profilab24.com/en/laboratory/autoclaves/systec-media-preparators-mediaprep-for-up-to-30-litres) [54].

Під час дослідження відбувалась перевірка кожного з приготовлених зразків на контамінацію (рис. 3.1).

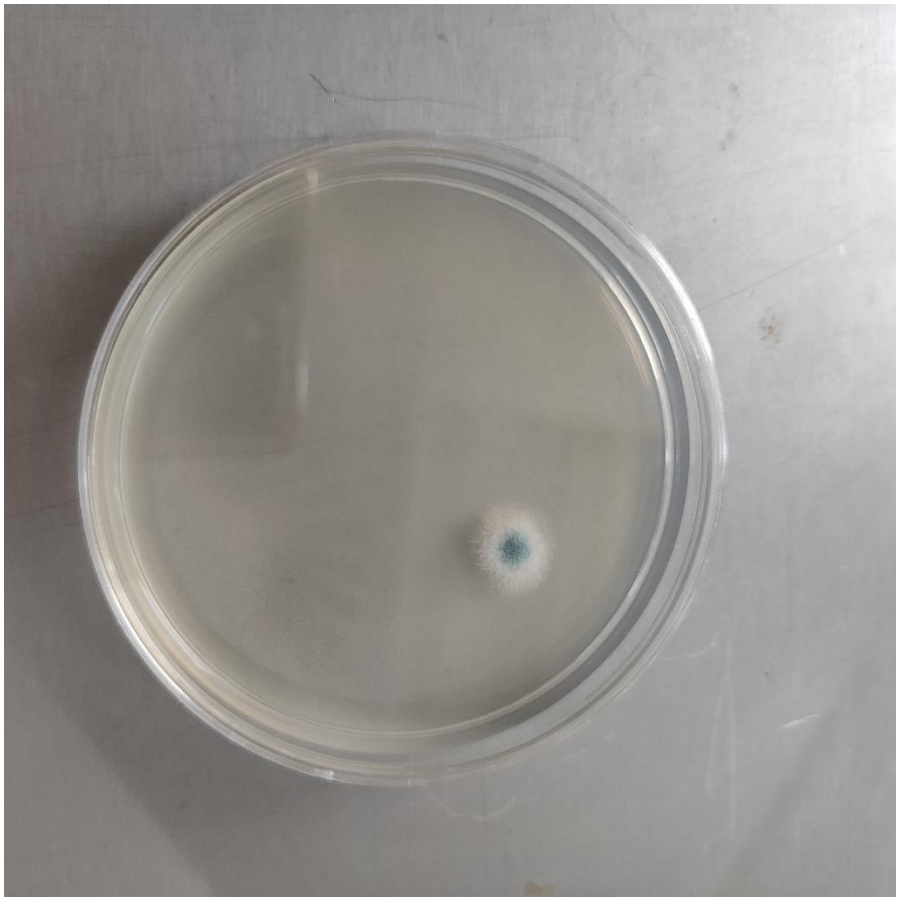


Рисунок 3.1 – Контамінація зразка середовища (власне фото).

Стерилізація на паровому стерилізаторі UNISTERI, як показує практика, досконала та ефективна. Завдяки насиченому пару під тиском під високій температурі та автоматичним закриттям і ущільненням дверей до кінця програми, стерилізація проходить на 100 % без порушень. Контамінація за останні п’ять років завдяки цим процесам зійшла на нуль.

Стерилізація на установці для приготування та стерилізації живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина), моделі «Mediaprep-30» теж є ефективною завдяки високій температурі та герметичній, автоматичній кришці

установки. Але при розливі живильного середовища на установці автоматичного розливу живильних середовищ фірми «INTEGRA», в рідких випадках може простежуватись контамінація після розливу, це пов’язано зі стерильним станом установки, за якою слідкує лаборант-мікробіолог. Як ми бачимо на графіку у 2024 році, відсоток контамінації дорівнює нулю.

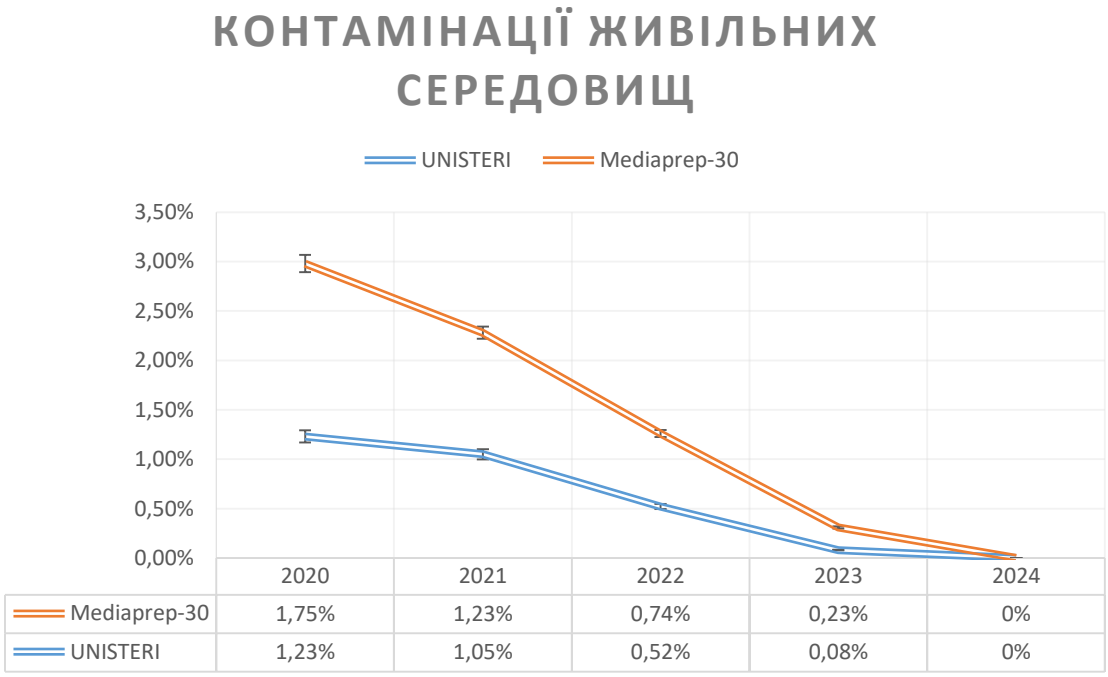


Рисунок 3.2 – Динаміка частоти випадків контамінації зразків середовищ на установці для приготування та стерилізації живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина), моделі «Mediaprep-30» та на паровом стерилізаторі UNISTERI.

Показники частоти контамінації живильних середовищ загалом за останні п’ять років.

Графік кількості випадків контамінації живильних середовищ у відсотках після стерилізації на установці для приготування та стерилізації живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина), моделі «Mediaprep-30» та паровому стерилізаторі UNISTERI за останні п'ять років (2020–2024 р.р.).

Ми бачимо, що кількість таких випадків знижується, завдяки вдосконаленню процесів стерилізації та контролю якості.



Рисунок 3.3 – Динаміка частоти випадків контамінації зразків середовищ на АТ «Фармак»

Таким чином, показники контамінації за останні п’ять років на виробництві свідчать про вдосконалення стерилізації як на установці для приготування та стерилізації живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30»), так і на паровому стерилізаторі UNISTERI.

Використані установки для стерилізації мікробіологічних поживних середовищ є надійними і досконалими на данний час. Також слід зазначити, що обидва способи стерилізації є ефективними і надійними, порівняними між собою за результативністю (статистично значимих відміностей між показниками контамінації при використанні двох видів стерилізації не виявлено; $p \leq 0,05$).

Таблиця 3.2 – Термін зберігання поживних середовищ після відкриття

Назва	Термін придатності після відкриття упаковки
1	2
Сабуро-декстрозний агар (середовище C)	2 місяці
Сабуро-декстрозний агар (середовище C) з хлорамфеніколом	6 місяців
Рідке середовище Сабуро	7 місяців
Нагромаджувальний бульйон Мозеля для ентеробактерій (середовище E) (сухе середовище)	12 місяців
Агар Мак-Конки (середовище H)	6 місяців
Нагромаджувальний бульйон Раппапорта-Василіадіса для *Salmonella* (сухе середовище)	12 місяців
Дезоксихолатний агар з ксилозою та лізином (XLD) (середовище K)	12 місяців
Цетримідний агар (середовище N)	6 місяців
Основа для Колумбійського агару (середовище Q)	12 місяців
Цитратний агар Сімонса	54 місяці
Трицукровий агар з залізом	12 місяців
Агар із сахарозою, лактозою, брильянтовим зеленим і феноловим червоним (густе живильне середовище L)	6 місяців
Агар Байерд-Паркера (густе живильне середовище O)	12 місяців
Тетратіонатно-жовчний бульйон з брильянтовим зеленим (рідке живильне середовище I)	12 місяців

Продовження таблиці 3.2

1	2
М’ясо-пептонний агар (Густе № 1)	12 місяців
Рідке живильне середовище № 1	12 місяців
Сабуро агар з глюкозою (Густе живильне середовище № 2)	12 місяців
Рідке живильне середовище № 3 (середовище збагачення для бактерій родини Enterobacteriaceae)	12 місяців
Густе живильне середовище № 4 (агар Ендо)	9 місяців
Густе живильне середовище № 5 (вісмутсульфітний агар)	9 місяців
Рідке живильне середовище № 8 (для вирощування Pseudomonas aeruginosa та Staphylococcus aureus	12 місяців
Густе живильне середовище № 9 (для ідентифікації Pseudomonas aeruginosa)	9 місяців
Густе живильне середовище № 10 (для ідентифікації Staphylococcus aureus)	9 місяців
Агар для біфідобактерій	12 місяців
Сольовий бульйон з манітом	12 місяців
Біфідум бульйон	12 місяців
Агар Сальмонела Шигела (SS агар)	12 місяців
Середовище М-17	12 місяців
Середовище Донована	6 місяців
Середовище Кеслера	12 місяців
Середовище Кліглера	12 місяців

4 ОХОРОНА ПРАЦІ

Один раз на рік лаборантам-мікробіологам лабораторії мікробіологічного контролю, проходити навчання з охорони праці та отримати допуск до роботи з посудинами, що працюють під тиском згідно Положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці.

При виконанні робіт у лабораторії на працівників можуть впливати небезпечні та шкідливі виробничі біологічні фактори: мікроорганізми (бактерії, віруси, рикетсії, спірохети, хламідії, гриби), гельмінти, найпростіші та ін., а також продукти їх життєдіяльності [56].

Лабораторія повинна бути забезпечена водопровідною системою, каналізацією, електрикою, засобами зв'язку, вентиляцією, опаленням, газифікована.

Імунобіологічні препарати повинні бути зареєстровані, дозволені для використання в Україні, мати документи, що засвідчують їх якість, і зберігатися згідно з нормативною документацією (НД) про застосування.

Реактиви, що використовуються в лабораторіях, повинні бути кваліфікації ЧДА (чисті для аналізу), якщо в НД немає інших вказівок, зберігатися і використовуватися згідно вимог чинної НД.

Роботу із біологічними патогенними агентами (БПА) I-IV рівня небезпеки дозволяють лабораторіям, які мають дозвіл на роботу.

При роботі з культурами мікроорганізмів та в усіх інших випадках, пов'язаних з їх зберіганням і рухом в межах та поза межами лабораторії, працівники повинні керуватися «Положенням про порядок обліку, пересилки, зберігання, обігу, відпуску культур бактерій, вірусів, рикетсій, грибів, найпростіших, мікоплазм, бактеріальних токсинів, отрут біологичного походження».

Забороняється проведення в одному і тому ж приміщенні діагностичних і експериментальних досліджень, а також одночасна робота з діагностичним

матеріалом і живими вакцинами, або музейними культурами, якщо це не передбачено методикою.

На ємностях з культурами (посівами), повинні бути чітко написані назва культури (матеріалу), реєстраційний номер, дата посіву або пересіву.

Після закінчення роботи з БПА об’єкти з посівами переносять у сховища (сейфи, холодильники, термостати, шафи і т. п.) і опечатують їх. Двері кімнат закриваються на замок (вимоги до зберігання об'єктів з культурами та посівами БПА I-II груп патогенності викладені у ДСП 9.9.5.03599, ст. 3.42). Проводять дезінфекцію робочих поверхонь у приміщенні, обробляють руки 70% етиловим спиртом. Проводять вологе прибирання і вмикають на 60 хвилин бактерицидні лампи.

Забороняється залишати після закінчення роботи на відкритих місцях або в неопечатаних сховищах незафіксовані мазки, об'єкти з посівами та інші об'єкти, які містять біологічний матеріал.

Всі заражені матеріали, зразки та культури повинні бути знезаражені перед видаленням з лабораторії.

Специфіка мікробіологічних робіт вимагає, щоб приміщення лабораторії було ізольованим від інших кімнат [56].

До мікробіологічної лабораторії належать:

− приміщення для бактеріологічних досліджень;

− стерильний бокс для виконання робіт в стерильних умовах;

− передбоксник, де знаходиться стерильний матеріал;

− автоклавна для стерилізації посуду, поживних середовищ та знешкодження відпрацьованого матеріалу;

− приміщення для миття посуду та приготування середовищ.

Бокс має бути обладнаним бактерицидною лампою, стіни і підлога вистелені плиткою або лінолеумом, що забезпечує можливість використання дезинфікуючих розчинів для прибирання кімнати. До необхідних інструментів та обладнання мікробіологічної лабораторії відносять: термостати, центрифуги, мікроскопи, шафи сушильні, спиртівки, піпетки, шпателі скляні та металеві,

пінцети, ножиці, предметні та покривні скельця, петлі бактеріологічні, ваги, pH-метри. Особливістю мікробіологічних робіт є постійний контакт працівників лабораторії з біологічно небезпечним матеріалом: культурами патогенних мікроорганізмів, тканинами, кров`ю і виділеннями живих організмів тощо. Тому всі працівники мікробіологічної лабораторії зобов'язані дотримуватись правил, які забезпечують стерильність в роботі і попереджують можливість зараження:

1). До приміщення мікробіологічної лабораторії заборонено заходити без спеціального одягу-халату, волосся повинно бути підібране під шапочку або бавовняну хустинку, а не падати на плечі та на лоба.

2). Забороняється заносити до лабораторії сторонні речі.

3). Не дозволяється виходити за межі лабораторії в халатах або одягати верхній одяг на халат.

4). Двері мікробіологічної лабораторії повинні бути постійно зачиненими.

5). В приміщенні мікробіологічної лабораторії категорично заборонено палити, вживати їжу, зберігати продукти харчування.

6). Весь матеріал, який потрапляє до мікробіологічної лабораторії для аналізу, повинен трактуватися як інфікований.

7). При використанні біологічного матеріалу не дозволяється ставити посуд, який містить матеріал для дослідження, безпосередньо на стіл. Для цього використовуються підноси або кювети, посуд попередньо протирають ззовні дезінфікуючим розчином.

8). Переливання рідин, які містять патогенні мікроорганізми, здійснюють над посудиною з дезінфікуючим розчином.

9). У випадках пошкодження посуду з мікробіологічним матеріалом або його витікання слід негайно повідомити відповідальну особу і провести заходи для знезараження забрудненого одягу, частин тіла, предметів робочого місця.

10). При роботі з мікробіологічним матеріалом необхідно використовувати загальноприйняті технічні прийоми, які виключають можливість контакту рук з мікробіологічним матеріалом.

11). Після закінчення роботи зайвий біологічний матеріал та культури мікроорганізмів повинні бути знищені. Інструменти, які використовувалися в роботі, та поверхню робочого столу необхідно дезінфікувати.

12). Необхідно також пильно слідкувати за чистотою рук, після закінчення роботи руки треба вимити та продезінфікувати.

13). Мікробіологічний матеріал та культури мікроорганізмів, які потрібні для подальшої роботи, здаються відповідальній особі. http://biochem.ontu.edu.ua/pdf/laboratory_workshop_special_181.pdf [59].

Правила роботи з стерилізатором паровим UNISTERI.

До роботи допускаються спеціалісти не молодше 18 років, що ознайомленні з даною ІЕ та пройшли перевірку знань з питань охорони праці, пожежної безпеки згідно «Положення про порядок проведення навчання і перевірку знань з питань охорони праці», а також пройшли попередній профілактичний огляд.

Забороняється використовувати обладнання не за призначенням, а також вносити технічні зміни в його конструкцію, попередньо не погодивши їх з виробником.

У випадку виявлення зауваження чи недоліків в роботі обладнання обов’язково повідомити відповідальних осіб структурного підрозділу.

Забороняється працювати на обладнанні до проведення необхідного навчання та без отримання дозволу від керівництва відповідного структурного підрозділу.

Забороняється ставити в обладнання матеріали чиї розчинники можуть утворювати займисті суміші з повітрям.

При виявленні пробивання струму на корпус обладнання негайно відключити обладнання рубильником від електромережі та повідомити безпосереднього керівника.

В обладнані забороняється стерилізувати агресивні розчини і хімічні препарати, які могли б викликати корозію металу стерилізаційної камери.

На обладнані не можна розміщувати будь-які предмети, рідини і т. д.

Не можна закривати вентиляційні отвори апарату.

При тривалій роботі обладнання верхня частина дверей обладнання може нагріватися до температури вище 70 °С і загрожує небезпека отримання опіки. Тому обслуговуючий персонал повинен дотримуватися виняткову обережність!

Не можна відкривати двері стерилізатора перед завершенням програми стерилізації.

Слід мати на увазі, що після стерилізації матеріал - гарячий, і під час його розвантаження користуватися рукавичками.

Знімати чи відкривати кожухи апарату, підключеного до електромережі, забороняється. Ці операції, а також роботи на електричних частинах апарату може виконувати тільки відповідна особа, працівником сервісної служби.

Забороняється використовувати обладнання без подачі води чи повітря.

Завжди вимикайте апарат і від'єднуйте кабель живлення від джерела електроживлення перед виконанням будь-яких процедур з обслуговування або догляду за апаратом або перед зміною місця розташування апарату [Наказ АТ «Фармак» з охорони праці, 58].

ВИСНОВКИ

1. Відсоток контамінації станом на 2024 рік як при стерилізації мікробіологічних середовищ на установці для приготування та стерилізації живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30»), так і на паровому стерилізаторі UNISTERI становив 0%.

2. Показники контамінації за останні п’ять років на виробництві свідчать про вдосконалення стерилізації як на установці для приготування та стерилізації живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30»), так і на паровому стерилізаторі UNISTERI.

3. Обидва способи стерилізації є ефективними і надійними, порівняними між собою за результативністю (статистично значимих відмінностей між показниками контамінації при використанні двох видів стерилізації не виявлено; $p \leq 0,05$).

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Відсутність контамінації мікробіологічних середовищ при їх стерилізації на установці для приготування та стерилізації живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина, модель «Mediaprep-30») та на паровому стерилізаторі UNISTERI дозволяє рекомендувати ці способи для використання на виробництві у АТ «Фармак».

ПЕРЕЛІК ПОСИЛАНЬ

1. Prijana C., Yanti M., Basuki H. Roles of microwave oven in preparation of microbiological growth media. *AMJ*. 2016. Vol. 3, №1. P. 1-3.

2. Park, D.K.; Bitton, G.; Melker, R. Microbial inactivation by microwave radiation in the home environment. *J. Environ Health*. 2006. Vol. 69. P.17-24.

3. Park D.K., Bitton G., Melker R. Microbial inactivation by microwave radiation in the home environment. *J. Environ Health*. 2006. Vol. 69. P. 17-24.

4. Jankovic S.M., Milorad Z., Milosev Milan, Novakovic L.J. The effects of microwave radiation on microbial cultures. *HOPH*. 2014. Vol. 1, №2. P.102-108.

5. Glass R.T., Conrad R.S., Bullard J.W., Goodson L.B. Evaluation of cleansing methods for previously worn prostheses. *Compend. Contin. Educ. Dent*. 2011. Vol. 32, №71. P. 68-73.

6. Bhowmik G. Introduction to the Laboratory. *Analytical techniques in biotechnology*. New Delhi: Tata McGraw-Hill Education, 2011. P. 27–28.

7. Baqai R., Saleem H. Microwave oven in microbiology laboratory. *JPMA*. 1992. P. 42-46.

8. Belanger-Ginquere S., Belanger M. Disinfection of toothbrushes contaminated with streptococcus mutans. *Am J. Dent*. 2011. № 24. P. 155- 158.

9. Bhattacharjee M.K., Sugawara K., Ayandeji O.T. Microwave sterilization of growth medium alleviates inhibition of aggregatibacter actinomycetemcomitans by maillard reaction products. *J. Microbiol. Meth*. 2009. Vol. 78, №2. P. 227–230.

10. Spencers R.C., Hafiz C.C. Effect of microwave energy on the metabolism of enterobacteriaceae. *J . Med. Microbil*. 1985. № 19. P. 269-272.

11. Vaid A., Bishop A.H. The destruction by microwave radiation of bacterial endospores and amplification of the released DNA. *J. Appl. Microbiol*. 1998. Vol. 85. P. 115-122.

12. Woo I.S., Rhee I.K., Park H.D. Differential damage in bacterial cells by microwave radiation on the basis of cell wall structure. *Appl. and Environmental Microbiol*. 2000. Vol. 66. P. 2243–2247.

13. Yoo J.H. Review of Disinfection and Sterilization - Back to the Basics. *Infect Chemother*. 2018. Vol. 50, №2. P. 101-109.

14. Delikoyun K., Yaman S., Anil-Inevi M., Ozcivici E., Tekin H.C. Cell Separation with Hybrid Magnetic Levitation-Based Lensless Holographic Microscopy Platform. *Medical Technologies Congress* (TIPTEKNO), 2019. P. 1-4.

15. Abreu A.C., Tavares R.R., Borges A., Simoes M. Current and emergent strategies for disinfection of hospital environments. *J Antimicrob Chemother*. 2013. Vol. 68. P. 2718–2732.

16. Miller O.T., Schmitt R.F., Phillips G.B. Applications of germicidal ultraviolet in infectious disease laboratories. I. Sterilization of small volumes of air by ultraviolet irradiation. *Am J Public Health Nations Health*. 1955. Vol.45, №11. P. 1420–1423.

17. Wedum A.G., Hanel E. Jr., Phillips G.B. Ultraviolet sterilization in microbiological laboratories. *Public Health Rep*. 1956. Vol. 71, № 4. P. 331-336.

18. Rock M. Ultraviolet and ultrasonic sterilization methods. *Med Tech (Stuttg*). 1952. Vol. 72, №11. P.249-250.

19. Anderson R.L., Carr J.H., Bond W.W., Favero M.S. Susceptibility of vancomycin-resistant enterococci to environmental disinfectants. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 1997. Vol. 18, №3. P. 195–199.

20. Rutala W.A., Weber D.J. New disinfection and sterilization methods. *Emerg Infect Dis*. 2001. Vol. 7, №2. P. 348-353.

21. Walsh S.E., Maillard J.Y., Russell A.D. Ortho-phthalaldehyde: a possible alternative to glutaraldehyde for high level disinfection. *J Appl Microbiol*. 1999. Vol. 86, №6. P. 1039–1046.

22. Yoo J.H. Review of Disinfection and Sterilization - Back to the Basics. *Infect Chemother*. 2018. Vol. 50, №2. P. 101-109.

23. Elizabeth L., Machado P., , Lawrence M. Ultra-processed foods and health outcomes: A narrative review. *Nutrients*.2020. №12. P. 55–87.

24. A Review of Foodborne Illness in America from 2002–2011. Washington: Center for Science in the Public Interest. 2014. P. 23-67.

25. National Outbreak Reporting System. URL: https://wwwn.cdc.gov/norsdashboard/ (дата звернення: 20.06.2024).

26. Hussain M.A., Gooneratne R. Understanding the fresh produce safety challenges. *Foods*. 2017. №6. P. 23–24.

27. Tarek A.R., Rasco B.A., Sablani S.S. Ultraviolet-C light sanitization of English cucumber (Cucumis sativus) packaged in polyethylene film. *J Food Sci*. 2016. Vol. 81. P. 14–30.

28. Avalos K., Marsellés-Fontanet A., Martín-Belloso O., Soliva-Fortuny R. Impact of pulsed light treatments on antioxidant characteristics and quality attributes of fresh-cut apples. *Innov Food Sci Emerg Tech*. 2016. Vol. 33. P.6–15.

29. WIQ000101/6 Порядок приготування і контролю ж.с. для випробування стерильності. АТ Фармак. Розроблено: Лагутіна З.Г., інженер з розробки методик. 23.01.2024.

30. WIQC000051 Порядок підготовки лабораторного посуду для відбору проб і мікробіологічних випробувань. АТ Фармак. Розроблено: Сузанська Г.С., інженер з розробки методик. 12.07.2024.

31. Протокол приготування живильного середовища Form003413.

32. WIQC000218/4 Контроль біологічних індикаторів, використання індикаторів. АТ Фармак. Розроблено: Бондаренко О.С., бактеріолог СМЧС ЛМБК. 29.06.2023.

33. Перевірка стерилізації за використанням біологічних індикаторів. URL: https://www.uwindsor.ca/chemical-control-centre/sites/uwindsor.ca.chemical-control-centre/files/biological_indicator_testing_procedures_ver_1_biosafety_program.pdf (дата звернення: 22.06.2024).

34. Schmidt H.J., Rand R.E. Biological Monitoring: Does your system tell you all you need to know? *Infection Control Rounds*, 1987. №3. P. 1-4.

35. Cholak J. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999. 89 p.

36. Aitio A, Riihimaki V. Management of Biomedical Waste in Ontario. New Delhi: Ministry of Health and Family Welfare, 1990. 82 p.

37. Grandjean P. Non-Incineration Technologies for Treatment of Biomedical Waste (Procedures for Microbiological Testing). Baltimore: Williams & Wilkins,1990. 144 p.

38. Laboratory Biosafety Guidelines, New Delhi: Ministry of Health and Family Welfare, 2004. 81 p.

39. Laboratory Biosafety Manual. Geneva: Ministry of Health, 2003. 134 p.

40. WIO001750/3 Експлуатація стерилізаторів парових UNISTERI в ЛМБК ВКЯ, АТ Фармак, Розроблено: Борисова Л. М., інженер СК ВЛО ДКЯ. 20.03.2023.

41. WIQC000053/6 Порядок проведення знезараження відпрацьованого матеріалу. АТ Фармак. Розроблено: Шостак Н.А., інженер з розробки методик СММК. 29.07.2024.

42. Контроль біологічних індикаторів, використання індикаторів. Wiq000218/4. Розроблено 29.06.2023 Бондаренко А.С, бактеріолог СМЧС ЛМБК. АТ Фармак АТ Факрмак.

43. Порядок контролю біологічних індикаторів, що використовуються ЛМБК в АТ Фармак. Wiq000218.

44. WIQC000189/10 Порядок приготування, контролю, зберігання та використання живильних середовищ для Мікробіологічного контролю. АТ Фармак. Розроблено: Шостак Н.А., інженер з розробки методик СММК. 23.01.2024.

45. Порядок приготування середовища соєвого казеїну для перевірки стерильності. Procedure for preparation of soy casein medium for testing sterility.

URL: https://exodocientifica.com.br/_technical-data/M011.pdf (дата звернення: 26.09.2024).

46. MacFaddin J. F. Media for Isolation-Cultivation-Identification-Maintenance of Medical Bacteria. Baltimore: Williams & Wilkins,1985. 267 p.

47. The United States PharmacopeiaThe United States Pharmacopeial Convention. Rockville: MD, 2018. 345 p.

48. Forbes B. A., Sahm D. F., Weissfeld A. S. Indian Pharmacopeia. New Delhi: Ministry of Health and Family Welfare, 2018. 343 p.

49. Isenberg H.D. Clinical Microbiology Procedures Handbook: 2nd Edition. Baltimore: Williams & Wilkins, 1995. 145 p.

50. Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Carroll K.C. Manual of Clinical Microbiology, *J Appl Bact.* 2015. Vol. 1. P. 45-87.

51. WIQC000048/6 Порядок приготування, зберігання та використання допоміжних реагентів. АТ Фармак. Розроблено: Федорюк Н.О., інженер з розробки методик. 15.08.2023.

52. WIO001909/1 Експлуатація установки для приготування живильних середовищ компанії «Systec» (Німеччина), моделі «Mediaprep-30». АТ Фармак. Розроблено: Ісаєв С.А., інженер. 22.07.2021.

53. WIO001597/2 Експлуатації установки автоматичного розливу живильних середовищ фірми «INTEGRA» модель «MEDIAJET». АТ Фармак. Розроблено: Катрич О.А., інженер СК ВЛО ДКЯ. 22.02.2024.

54. Запобігання контамінації URL: https://ibidi.com/content/436-prevention-of-contaminations (дата звернення: 29.11.2024).

55. Контамінація. URL: http://biochem.ontu.edu.ua/pdf/laboratory_workshop_special_181.pdf (дата звернення: 96.09.2024).

56. ТА Факрмак WIQC000008 Правила перебування відвідувачів та персоналу у лабораторних приміщеннях ВКЯ.

57. Наказ АТ Фармак від 23.07.2008р. Інструкція № 15 З охорони праці по безпечному обслуговуванні посудин, що працюють під тиском. Провідний

інженер по технічному нагляду А.П.Балюк. Узгоджено: технічним директором Г.В.Костюк, Начальник відділу ОПтаНС В.І. Ільєнуо.

58. Контроль якості посівних середовищ в мікробіологічній лабораторії. URL: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255085721025858 (дата звернення: 29.09.2024).

59. Ferraro M.J., Wikler M.A., Craig W.A., Dudley M.N., Eliopoulus G.M. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. Approved Standards 8th edn. NCCLS M2-A8. *J Appl Bact.* 2003. №8. P.24-27.

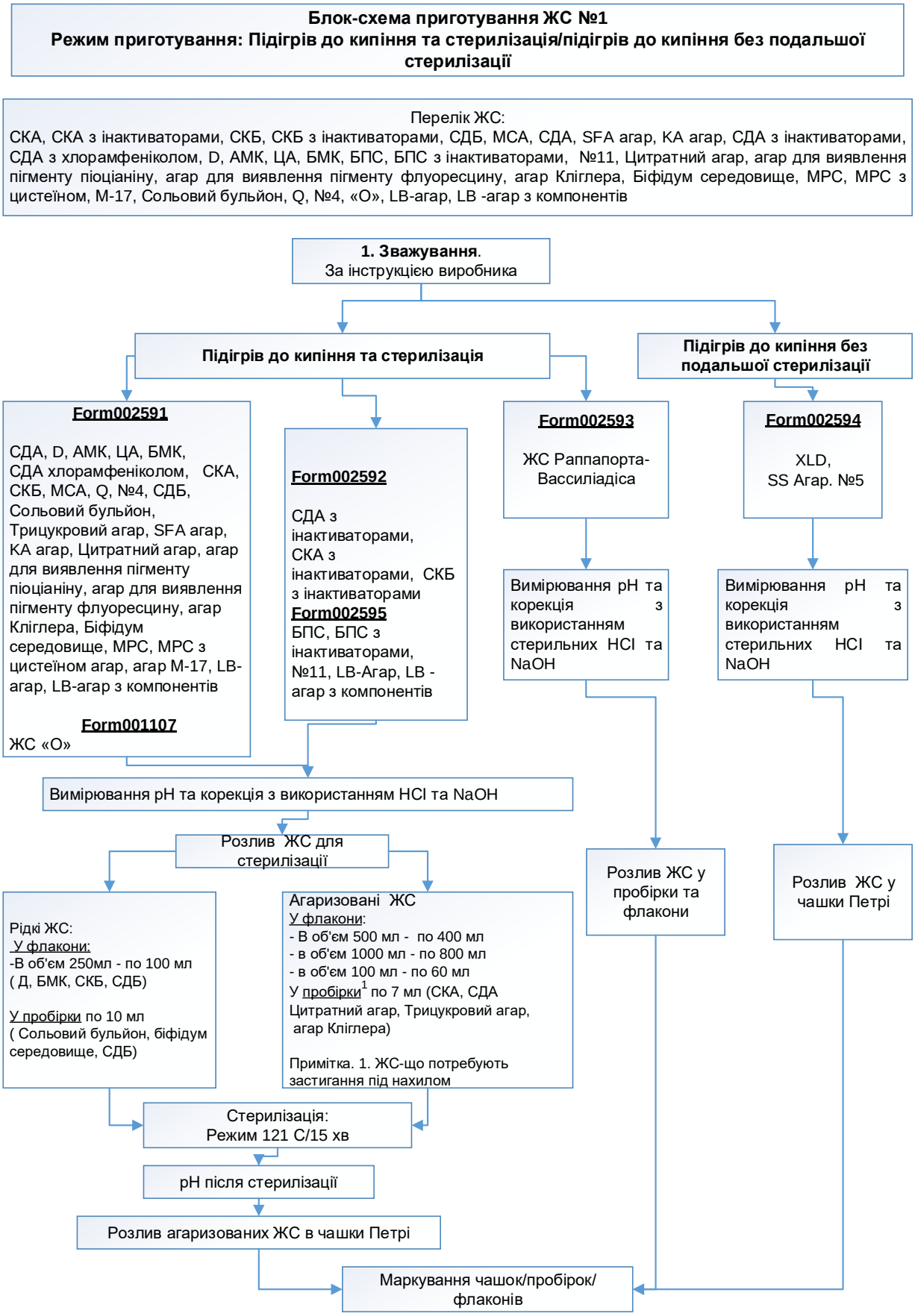
60. Krisher K, Callihan DR, Jones RN, Luper DC. Quality Control for Commercially prepared Microbiological Culture Media. Approved Standards-3rd edn. NCCLS M22-A3. *J Appl Bact.* 2004. №4. P. 18-22.

61. Anonymous. Quality Control of Culture Media. *Culture Media Manual LAB M.* United Kingdom: IDG Ltd., 2002. 168 p.

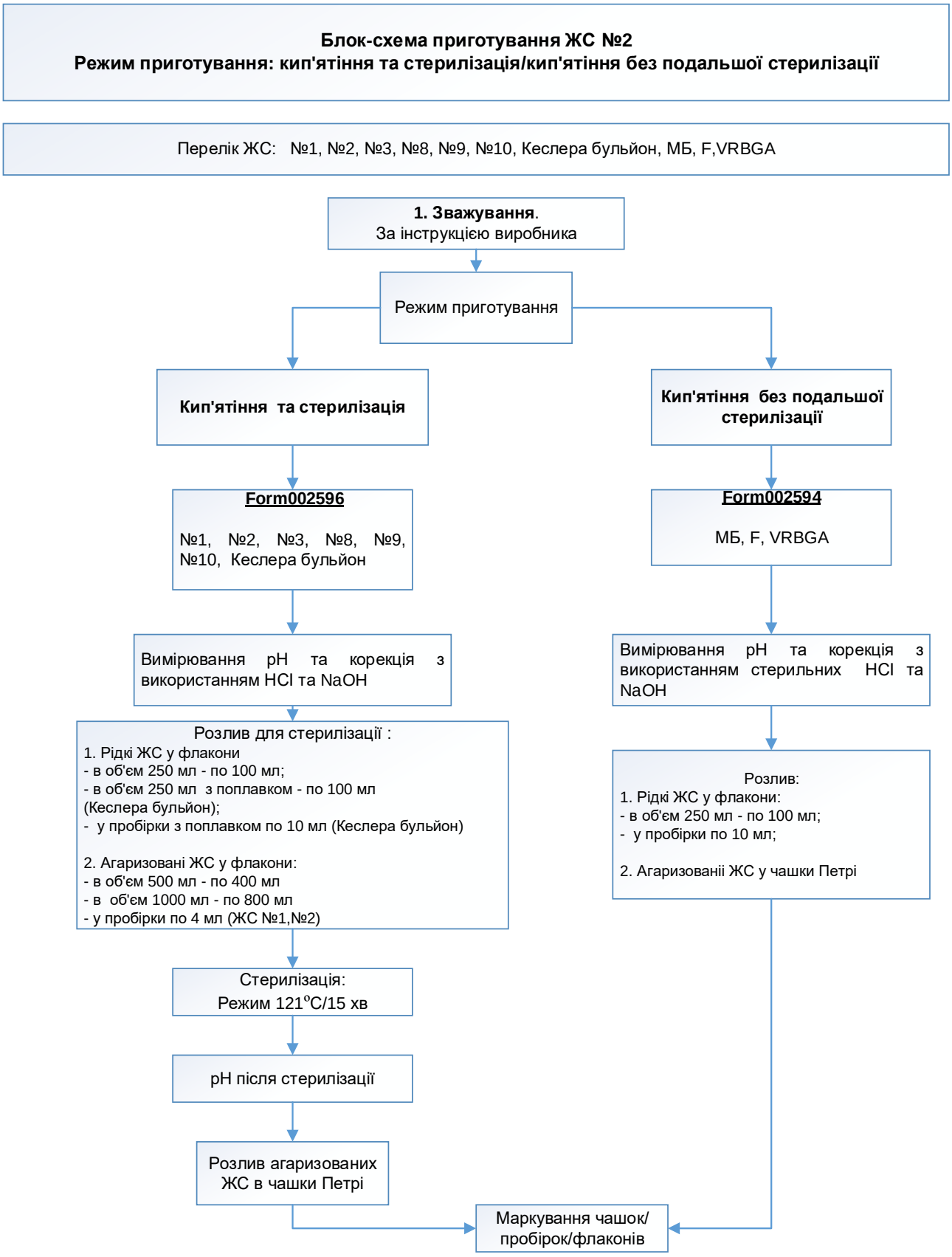
62. Mossel D.A., Trees M.G., Laarhoven B.V., Anniek M.T., Lightenberg M. Quality assurance of selective culture media for bacteria, moulds and yeast: An attempt to standardization at international level. *J Appl Bact.* 1983. Vol. 13. P. 34-42.

63. Arora D.R. Quality Assurance in Microbiology. *Indian J Med Microbiol*. 2004. Vol. 22. P. 81-86.

Додаток А


Блок-схема приготування ЖС №1
Режим приготування: Підігрів до кипіння та стерилізація/підігрів до кипіння без подальшої стерилізації
Перелік ЖС:
СКА, СКА з інактиваторами, СКБ, СКБ з інактиваторами, СДБ, МСА, СДА, SFA агар, КА агар, СДА з інактиваторами, СДА з хлорамфеніколом, D, АМК, ЦА, БМК, БПС, БПС з інактиваторами, №11, Цитратний агар, агар для виявлення пігменту піоціаніну, агар для виявлення пігменту флуоресцину, агар Кліглера, Біфідум середовище, МРС, МРС з цистеїном, М-17, Сольовий бульйон, Q, №4, «О», LB-агар, LB -агар з компонентів
1. Зважування.
За інструкцією виробника
Підігрів до кипіння та стерилізація
Підігрів до кипіння без подальшої стерилізації
Form002591
СДА, D, АМК, ЦА, БМК, СДА хлорамфеніколом, СКА, СКБ, МСА, Q, №4, СДБ, Сольовий бульйон, Трицукровий агар, SFA агар, КА агар, Цитратний агар, агар для виявлення пігменту піоціаніну, агар для виявлення пігменту флуоресцину, агар Кліглера, Біфідум середовище, МРС, МРС з цистеїном агар, агар М-17, LB-агар, LB-агар з компонентів
Form001107
ЖС «О»
Form002592
СДА з інактиваторами, СКА з інактиваторами, СКБ з інактиваторами
Form002595
БПС, БПС з інактиваторами, №11, LB-Агар, LB - агар з компонентів
Form002593
ЖС Раппапорта-Вассиліадіса
Form002594
XLD, SS Агар. №5
Вимірювання pH та корекція з використанням стерильних HCl та NaOH
Вимірювання pH та корекція з використанням стерильних HCl та NaOH
Вимірювання pH та корекція з використанням HCl та NaOH
Розлив ЖС для стерилізації
Розлив ЖС у пробірки та флакони
Розлив ЖС у чашки Петрі
Рідкі ЖС:
У флакони:
-В об'єм 250мл - по 100 мл
(Д, БМК, СКБ, СДБ)
У пробірки по 10 мл
(Сольовий бульйон, біфідум середовище, СДБ)
Агаризовані ЖС
У флакони:
- В об'єм 500 мл - по 400 мл
- в об'єм 1000 мл - по 800 мл
- в об'єм 100 мл - по 60 мл
У пробірки[1] по 7 мл (СКА, СДА Цитратний агар, Трицукровий агар, агар Кліглера)
Примітка. 1. ЖС-що потребують застигання під нахилом
Стерилізація:
Режим 121 С/15 хв
pH після стерилізації
Розлив агаризованих ЖС в чашки Петрі
Маркування чашок/пробірок/ флаконів

Додаток Б


Блок-схема приготування ЖС №2
Режим приготування: кип'ятіння та стерилізація/кип'ятіння без подальшої стерилізації
Перелік ЖС: №1, №2, №3, №8, №9, №10, Кеслера бульйон, МБ, F,VRBGA
1. Зважування.
За інструкцією виробника
Режим приготування
Кип'ятіння та стерилізація
Кип'ятіння без подальшої стерилізації
Form002596
№1, №2, №3, №8, №9, №10, Кеслера бульйон
Form002594
МБ, F, VRBGA
Вимірювання pH та корекція з використанням HCl та NaOH
Вимірювання pH та корекція з використанням стерильних HCl та NaOH
Розлив для стерилізації :
1. Рідкі ЖС у флакони
- в об'єм 250 мл - по 100 мл;
- в об'єм 250 мл з поплавком - по 100 мл (Кеслера бульйон);
- у пробірки з поплавком по 10 мл (Кеслера бульйон)
2. Агаризовані ЖС у флакони:
- в об'єм 500 мл - по 400 мл
- в об'єм 1000 мл - по 800 мл
- у пробірки по 4 мл (ЖС №1,№2)
Розлив:
1. Рідкі ЖС у флакони:
- в об'єм 250 мл - по 100 мл;
- у пробірки по 10 мл;
2. Агаризованіі ЖС у чашки Петрі
Стерилізація:
Режим 121°С/15 хв
pH після стерилізації
Розлив агаризованих ЖС в чашки Петрі
Маркування чашок/ пробірок/флаконів

Декларація
академічної доброчесності
здобувача вищої освіти ЗНУ

Я, Калашнікова Ольга Валеріївна, студентка 2 курсу, групи 8.0913-б-з, заочної форми навчання, біологічного факультету, спеціальності 091 Біологія та біохімія, адреса електронної пошти kalasha061280@gmail.com,

− підтверджую, що написана мною кваліфікаційна робота на тему «Стерильність живильних мікробіологічних середовищ при різних способах їх стерилізації. Sterility of Nutrient Microbiological Media with Different Methods of Their Sterilization» відповідає вимогам академічної доброчесності та не містить порушень, що визначені у ст. 42 Закону України «Про освіту», зі змістом яких ознайомлена;

− заявляю, що надана мною для перевірки електронна версія роботи є ідентичною її друкованій версії;

згодна на перевірку моєї роботи на відповідність критеріям академічної доброчесності у будь-який спосіб, у тому числі за допомогою інтернет-системи, а також на архівування моєї роботи в базі даних цієї системи.

Дата _____ _____ О.В. Калашнікова

Дата _____ _____ В.В. Копійка