

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

2.1.4. ПИТЬЕВАЯ ВОДА И ВОДОСНАБЖЕНИЕ НАСЕЛЕННЫХ МЕСТ

Организация внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды

Изменение 1 к МУ 2.1.4.1057-01

Дата введения: с момента утверждения

1. РАЗРАБОТАНЫ ФБУЗ "Федеральный центр гигиены и эпидемиологии" Роспотребнадзора (М.В.Зароченцев, И.В.Новоклюнова, М.А.Ярославцева, Т.Д.Кузькина); ФГУН "Федеральный научный центр гигиены им. Ф.Ф.Эрисмана" (Г.М.Трухина); ГОУ ВПО Первый МГМУ им.И.М.Сеченова (Т.А.Семенова).

2. РЕКОМЕНДОВАНЫ К УТВЕРЖДЕНИЮ Комиссией по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 2 июня 2011 г. N 1).

3. УТВЕРЖДЕНЫ Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г.Г.Онищенко и введены в действие с 12.07.2011.

4. ВВЕДЕНЫ ВПЕРВЫЕ в качестве изменения 1 к МУ 2.1.4.1057-01.

УТВЕРЖДАЮ

Руководитель Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главный государственный санитарный врач Российской Федерации Г.Г.Онищенко 12 июля 2011 г.

Внести следующие изменения в МУ 2.1.4.1057-01:

1. В разделе 4 "Общие положения организации внутреннего контроля качества санитарно-микробиологических исследований воды":

- пункт 4 абзаца "Основные направления организации внутреннего контроля качества:" изложить в редакции: "4. Контроль качества фильтрующих материалов (или далее - фильтров);"

- в абзаце, начинающемся со слов "Описания процедур контроля соблюдения требований к условиям проведения анализа...", словосочетание "и мембранных фильтров" заменить на "и фильтрующих материалов".

2. В пункте 6.5 "Процедура контроля стерильности фильтровальных установок":

- третий абзац подраздела "Подготовительный этап" изложить в редакции: "- стерильный фильтрующий материал для микробиологических целей (мембранные фильтры, аналитические трековые мембраны и другие фильтрующие материалы с диаметром пор не более 0,45 мкм и размером диска 35 или 47 мм), проверенной ранее партии (раздел 12);";

- в первом абзаце подраздела "Методика контроля" после слов "С помощью стерильного пинцета помещают..." словосочетание "мембранный фильтр" заменить на "фильтрующий материал";

- третий абзац подраздела "Методика контроля" изложить в редакции: "Включают вакуум и отфильтровывают содержимое воронки. Вакуум отключают, снимают фильтровальную воронку и стерильным пинцетом переносят фильтрующий материал с основания на чашку со средой. Между фильтрующим материалом и поверхностью агара не должно быть пузырьков воздуха. Чашки с посевами переворачивают и инкубируют в термостате при (37±1) °С в течение (24±2) ч".

3. В пункте 6.6 "Процедура контроля обсемененности флаконов для отбора проб":

- пятый абзац подраздела "Подготовительный этап" изложить в редакции: "- стерильный фильтрующий материал для микробиологических целей (мембранные фильтры, аналитические трековые мембраны и другие фильтрующие материалы с диаметром пор не более 0,45 мкм и размером диска 35 или 47 мм), проверенной ранее партии (раздел 12);";

- в седьмом абзаце подраздела "Методика контроля" после слов "100 мл стерильной водопроводной воды (отрицательный контроль), затем через другой..." словосочетание "мембранный фильтр" заменить на "фильтрующий материал".

4. Четвертый абзац раздела 9 "Правила приготовления серийных разведений" изложить в редакции: "- для постановки исследований, требующих количественного учета используемых модельных микроорганизмов, например при количественной оценке качества питательных сред, фильтрующих материалов и т.д.".

5. Пункт 1 одиннадцатого абзаца пункта 10.1 "Общие положения" изложить в редакции: "1. E.coli M17-02 как положительный контроль биохимических тестов и отрицательный контроль реактива на оксидазу; для контроля фильтрующих материалов; для контроля качества питательных сред по биологическим показателям".

6. Название пункта 11.4.3 изложить в редакции: "11.4.3. Рекомендации по сравнительной оценке эффективности питательных сред с использованием фильтрующих материалов".

7. В пункте 11.4.3 "Рекомендации по сравнительной оценке эффективности питательных сред с использованием фильтрующих материалов":

- первый абзац изложить в редакции: "Основным методом концентрирования в санитарно-бактериологических исследованиях воды является фильтрование через фильтрующий материал. Введение дополнительного фактора, фильтрующего материала, в систему "микроорганизм-питательная среда" может оказать влияние на показатели роста микроорганизмов и биологические свойства среды";

- во втором абзаце после слов "обеспечивающие своим составом оптимальные условия роста микроорганизмов при использовании..." словосочетание "мембранных фильтров" заменить на "фильтрующих материалов";

- в четвертом абзаце после слов "оценка качества среды в комплексе с используемыми в анализе..." словосочетание "мембранными фильтрами" заменить на "фильтрующими материалами".

8. В пункте 11.4.3.1 "Подготовительный этап" подразделы "Мембранные фильтры" и "Питательные среды" изложить в редакции:

"Фильтрующие материалы"

Процент извлекаемости используемых фильтрующих материалов должен составлять не менее 80% на полноценной неселективной среде. Фильтрующие материалы должны быть стерильными.

Питательные среды

Питательные среды для посева фильтрующих материалов не подсушиваются, но на поверхности разлитых в чашки сред не должно быть видимой влаги".

9. В пункте 11.4.3.2 "Посев методом мембранной фильтрации":

- во втором абзаце после слов "Стерильным пинцетом помещают..." словосочетание "мембранный фильтр" заменить на "фильтрующий материал";

- четвертый абзац изложить в редакции: "Вакуум отключают, снимают фильтровальную воронку и стерильным пинцетом переносят фильтрующий материал с основания на питательную среду. Между фильтрующим материалом и поверхностью агара не должно быть пузырьков воздуха. Чашки с посевами переворачивают и инкубируют в термостате при (37±1) °С в течение 18-24 ч".

10. В пункте 11.4.3.3 "Методика сравнительных исследований":

- второй и третий абзацы изложить в редакции:

"На втором этапе отобранные среды оценивают по показателю "процент извлекаемости" с использованием двух способов посевов: прямого (по п.11.4.2.5) и методом с использованием фильтрующих материалов. Для каждой исследуемой среды и варианта посева должно быть выполнено не менее 5 повторов. Контролями служат прямой посев (контроль N 1) и посев методом с использованием фильтрующих материалов (контроль N 2) на неселективную среду.

При необходимости могут быть проведены параллельные дополнительные исследования с инокулятом природной воды. Инокуляты природной воды с внесенными тестовыми микроорганизмами (или без них) засевают методом с использованием фильтрующих материалов на исследуемые селективные среды";

- второй абзац подраздела "Учет результатов" изложить в редакции: "Согласно разделу 12 подтверждают качество используемых в эксперименте фильтрующих материалов путем расчета "процента извлекаемости" для фильтрующих материалов по средним результатам контрольных посевов (прямого N 1 и мембранного N 2) на неселективный агар".

11. Название раздела 12 изложить в редакции: "12. Контроль эффективности фильтрующих материалов".

12. Пункт 12.1 "Общие положения" изложить в редакции:

"В практике лабораторий, проводящих санитарно-бактериологический контроль воды, используются фильтрующие материалы диаметром 47 или 35 мм и средним размером пор 0,45 мкм.

Фильтрующие материалы применяются:

- в анализе на общие и термотолерантные колиформные микроорганизмы;
- в анализе на споры сульфитредуцирующих клостридий.

Качество используемых фильтрующих материалов может оказать существенное влияние на результаты анализа. При этом качество фильтрующих материалов одного производителя может меняться от партии к партии. При поступлении каждой новой партии фильтров, а также при необходимости принятия решения о возможности продления сроков годности осуществляется контроль эффективности фильтрующих материалов.

При наличии в поступившей партии нескольких серий фильтров контроль проводится для каждой серии.

Фильтрующие материалы, допущенные к проведению анализа, используются однократно. Повторное применение фильтрующих материалов запрещается.

Принцип метода

Эффективность фильтрующих материалов определяется путем сравнения числа колоний микроорганизмов, выросших на полноценной питательной среде в результате прямого поверхностного посева суспензии культуры контрольного микроорганизма, и числа колоний, выросших на этой же среде в результате посева способом мембранной фильтрации.

Оценка эффективности фильтрующих материалов осуществляется по показателю "процент извлекаемости". Фильтрующие материалы считаются пригодными, если при посеве способом мембранной фильтрации вырастает не менее 80% от числа колоний, полученных при прямом посеве.

Отбор фильтров для контрольного исследования должен проводиться "слепым" методом, т.е. фильтры для контроля необходимо отбирать произвольно из разных упаковок анализируемой партии".

13. В пункте 12.2 "Подготовительный этап" подраздел "Мембранные фильтры" изложить в редакции:

"Фильтрующий материал"

Исследуемый фильтрующий материал должен быть стерильным".

14. Первый абзац пункта 12.3 "Методика исследования" изложить в редакции: "Выполняются параллельные посевы суспензии чистой культуры тестового микроорганизма способом мембранной фильтрации через исследуемый фильтрующий материал и прямым (поверхностным) способом".

15. В пункте 12.3.1 "Посев методом мембранной фильтрации":

- во втором абзаце после слов "С помощью стерильного пинцета помещают..." словосочетание "мембранный фильтр" заменить на "фильтрующий материал";

- в третьем абзаце после слов "Вакуум отключают, снимают фильтровальную воронку и стерильным пинцетом..." изложить текст в редакции: "...фильтрующий материал переносят на чашку с питательной средой (п.11.2). Между фильтрующим материалом и поверхностью агара не должно быть пузырьков воздуха. Посевы инкубируют в термостате при (37±1) °С в течение 18-24 часов".

16. Пункт 12.3.3 "Расчет "процента извлекаемости" и оценка результатов" изложить в редакции:

"Для оценки исследуемого фильтрующего материала вычисляют процент извлекаемости (удержания) фильтрующих материалов по формуле:

$$И\% = \frac{CЧ_{мф}}{CЧ_{п}} \times 100\%,$$

где И% - процент извлекаемости (удержания);

$CЧ_{мф}$ - среднее арифметическое значение количества колоний, выросших на фильтрах при посеве методом мембранной фильтрации;

$CЧ_ч$ - среднее арифметическое значение количества колоний, выросших на чашках при прямом поверхностном посеве.

Пригодными считаются фильтрующие материалы, имеющие процент извлекаемости (удержания) $\geq 80\%$.

В случае получения менее 80% извлекаемости тестового микроорганизма исследования следует повторить с удвоенным количеством повторов (не менее 10), с суммарным учетом по контрольному прямому посеву не менее 400 КОЕ".

17. Название пункта 12.3.4 изложить в редакции: "12.3.4. Рекомендации по сравнительной оценке эффективности различного фильтрующего материала".

18. В пункте 12.3.4 "Рекомендации по сравнительной оценке эффективности различного фильтрующего материала"

- в первом абзаце после слов "поставляемых одним производителем, а также..." словосочетание "мембранных фильтров" заменить на "фильтрующих материалов";

- четвертый абзац изложить в редакции: "- посевы методом с использованием фильтрующих материалов с каждым видом (серией) фильтров по п.12.3.1.;"

- в седьмом абзаце после слов "осуществляется путем оценки достоверности различия средних значений количества колоний, выросших на..." словосочетание "мембранных фильтрах" заменить на "фильтрующих материалах";

- второй абзац подраздела "Оценка результатов" изложить в редакции: "При сравнении фильтрующих материалов разных марок, типов или разных производителей выбирают фильтрующие материалы, среднее число колоний которых превышает аналогичный показатель для других фильтров с достоверностью 95%".

19. Во втором абзаце пункта 13.2 "Постановка оксидазного теста" после слов "Следует иметь в виду, что при постановке оксидазного теста путем наложения..." словосочетание "мембранного фильтра" заменить на "фильтрующего материала".

20. В схеме "Структура внутреннего контроля качества по объектам контроля", представленной в прилож.1, текст в ячейке "Мембранные фильтры. Контроль эффективности" изложить в редакции: "Фильтрующий материал. Контроль эффективности".

21. В таблице "Структура организации внутреннего контроля качества в лаборатории" прилож.2 текст во второй графе "Область контроля" строки 2.5 изложить в редакции: "Контроль фильтрующих материалов".

22. В прилож.9:

- название таблицы "Протокол контроля мембранных фильтров" заменить на "Протокол контроля фильтрующих материалов", а также текст сноски к ней заменить на "*Заполняется при сравнении фильтрующих материалов разных серий одного производителя или фильтров разных производителей";

- табл. 7 изложить в редакции:

"7. Определение % удержания ФМ

Вид посева	Количество колоний на чашке или ФМ					Среднее количество колоний
	1	2	3	4	5	
Прямой поверхностный посев						
Посев методом фильтрации на исследуемые ФМ (ИФМ)						
Посев методом фильтрации на контрольные ФМ* (КФМ)						
% удержаний ИФМ						
% удержания КФМ						
Достоверность различия по критерию t_{95}						
Заключение о пригодности исследуемых ФМ						

23. Первый абзац прилож.10 "Оценка достоверности различия средних значений с использованием критерия Стьюдента-Фишера" изложить в редакции: "Достоверность различия средних значений количества колоний, выросших на контрольной и исследуемой среде/фильтрующем материале, оценивают с использованием критерия Стьюдента для вероятности 95%".

24. В таблице "Перечень перспективного оборудования для проведения санитарно-микробиологического анализа воды, повышающего качество результатов анализа" прилож.11 текст строки 3 во второй графе "Наименование оборудования" начать со слов "Фильтрующие материалы современного уровня, характеризующиеся:" и далее по тексту.