

Л. Ю. Крылова¹, Т. В. Пушкина¹, В. А. Самойленко²

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ НОВОГО ОРИГИНАЛЬНОГО БИОЛОГИЧЕСКОГО ИНДИКАТОРА ДЛЯ КОНТРОЛЯ СТЕРИЛИЗАЦИИ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД И РАСТВОРОВ НАСЫЩЕННЫМ ПАРОМ

¹ ЦХЛС – ВНИХФИ, Москва;

² ИБФМ РАН (Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина), Пущино.

Требования к надежности стерилизационных мероприятий во всех странах возрастают. Об этом свидетельствует тот факт, что в последние годы принят ряд важных международных, европейских и национальных стандартов по стерилизации. Правила GMP стран Европейского экономического сообщества предусматривают наряду с другими методами применение биологического метода для контроля цикла стерилизации. Не явилась исключением и наша страна. При Комитете по стандартизации Российской Федерации был создан технический комитет по стерилизации. Первые российские стандарты, запланированные к разработке в 1997 – 99 годах, касались вопросов контроля процессов стерилизации [1 – 5].

В Государственной Фармакопее в статье “Стерилизация” отмечено, что контроль параметров и эффективности термических методов стерилизации осуществляют с помощью контрольно-измерительных приборов, химических и биологических тестов. Однако в регламентах и технологических инструкциях фармацевтических предприятий отсутствует требование биологического контроля.

В последнее время в лечебно-профилактических учреждениях и на фармпредприятиях нашел применение метод биологического контроля при стерилизации изделий медицинского назначения. Однако для контроля режимов стерилизации растворов лекарственных средств и питательных сред биологический метод на практике не применяется, хотя в процессе производства лекарственных препаратов на многих этапах технологического процесса необходима стерилизация растворов.

Инструментальные методы используются для измерения отдельных физических параметров цикла стерилизации (температура, время, давление), химические методы контроля позволяют проверить один или несколько параметров цикла стерилизации, биологические методы дают возможность оценить суммарное влияние всех факторов на результаты процесса стерилизации [6 – 8].

Биологический метод контроля осуществляется с помощью биологических индикаторов. Биологические индикаторы представляют собой стандартные препараты определенных микроорганизмов, используемых для оценки эффективности процессов стерилизации [6]. Используются споры бактерий *Bacillus stearothermophilus* в специальной питательной среде, которая окрашивается в желтый цвет при наличии роста спор.

Целью настоящей работы явились исследования по созданию отечественного биоиндикатора и испытание

его пригодности для контроля эффективности процессов стерилизации насыщенным паром.

Материалы и методы

Для контроля стерильности растворов и питательных сред использован биологический индикатор ИБКсл-01 оригинальной конструкции, созданный на базе Института биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г. К. Скрыбина РАН, любезно предоставленный ЗАО “Биотест-2000” в модификации ИБКсл-01-120, предназначенный для контроля режимов стерилизации растворов при температуре 121 ± 1 °C и различном времени стерилизационной выдержки (от 8 мин и более, в зависимости от объема раствора). В тесте ИБКсл-01-120 содержится 10^4 спор *Bacillus stearothermophilus* ВКМ В-718.

В качестве испытуемых сред использовали следующие питательные среды и растворы: физиологический раствор, дистиллированную воду, фосфатный буферный раствор, питательную среду № 1 для выращивания бактерий, питательную среду № 2 для выращивания грибов (среда Сабуро), питательную среду № 3 (среда обогащения для бактерий семейства *Enterobacteriaceae*) и № 8 (для выращивания *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*).

Для стерилизации растворов и питательных сред использовали паровой вертикальный стерилизатор ВК-75 (Тюменский завод медицинского оборудования и инструментов) емкостью стерилизационной камеры 75 л. Оптимальные условия проведения стерилизации растворов и питательных сред были выбраны в соответствии со статьей ГФ XI, вып. 2, стр. 19 “Стерилизация”. Паровую стерилизацию осуществляли насыщенным водяным паром при избыточном давлении $0,11 \pm 0,02$ МПа ($1,1 \pm 0,2$ кгс/см²) и температуре 121 ± 1 °C.

Биологический контроль проводили в процессе приготовления стерильных растворов и питательных сред при каждом цикле стерилизации. Наряду с биологическим контролем, проведен инструментальный контроль физических параметров цикла стерилизации (температура, время, давление) с помощью манометра и максимального термометра.

Биологический индикатор использовали согласно [9]. Перед применением биотеста визуально проверяли срок годности (сине-зеленый цвет свидетельствовал о его пригодности).

После подготовки биотесты помещали в колбы того же объема (100 мл), что и колбы со стерилизуемой

Регистрация режима стерилизации растворов

Наименование сред	Условия стерилизации		Цвет биотеста		
	температура, °С	время, мин	до стерилизации	после стерилизации	Через 48 ч после стерилизации
Физиологический раствор	121	20	Сине-зеленый	Сине-зеленый	Сине-зеленый
Дистиллированная вода	-“-	-“-	-“-	-“-	-“-
Физиологический раствор	-“-	15	-“-	-“-	-“-
Дистиллированная вода	-“-	-“-	-“-	-“-	-“-
Фосфатный буфер	-“-	-“-	-“-	-“-	-“-

партией растворов и питательных сред. Колбы с биотестами закрывали такими же ватными пробками, как и колбы всей партии, и помещали в контрольные точки согласно “Методическим указаниям по контролю работы паровых стерилизаторов”. Количество биотестов для проведения одного контроля брали в соответствии с МУК 4.2.1036 – 2001 г.

После завершения процесса стерилизации индикаторы извлекали из колб и помещали в термостат при температуре 55 ± 2 °С. Учет результатов проводили через 48 ч путем визуального наблюдения за цветом индикатора (сине-зеленый цвет соответствует соблюдению режима стерилизации, а желтый — нет).

Результаты и их обсуждение

Результаты проведенных исследований по контролю эффективности процесса стерилизации растворов насыщенным паром представлены в табл. 1.

Ранее, в отсутствие дополнительных методов контроля кроме инструментальных, нами проводилась стерилизация в течение 20 и более минут при 121 °С. Первая контрольная стерилизация проведена нами также в течение 20 мин при 121 °С. Индикаторы были погружены в 5 колб каждого раствора, а также были размещены в разные точки стерилизационной камеры согласно “Методическим указаниям по контролю работы паровых и воздушных стерилизаторов”. Результат 1-го контроля режима стерилизации был положительным, в связи с этим следующую стерилизацию

проводили 15 мин (в соответствии с рекомендациями ГФ XI, вып. 2, ст. “Стерилизация”). Результат 2-го контроля режима стерилизации также был положительным.

Следующая серия опытов проведена по контролю эффективности процесса стерилизации питательных сред и глицерина насыщенным паром. Результаты представлены в табл. 2.

Поскольку тиогликолевая среда и глицерин представляют вязкие продукты, стерилизацию проводили 20 мин. Индикаторы были погружены в 5 колб каждого раствора, а также были размещены в разные точки стерилизационной камеры согласно “Методическим указаниям по контролю работы паровых и воздушных стерилизаторов”. Результат данного контроля режима стерилизации был положительным.

Далее нами была изучена эффективность стерилизации питательных сред и определены их ростовые свойства. Стерилизовали питательные среды: № 2 (среда Сабуро), № 3 (среда обогащения для бактерий семейства Enterobacteriaceae), № 8 (для выращивания *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*) в течение 15 мин (в соответствии с рекомендациями ГФ XI, вып. 2, ст. “Методы микробиологического контроля лекарственных средств”). Результат данного контроля режима стерилизации был положительным.

Далее было проведено исследование ростовых свойств питательных сред. Питательные среды засеивали соответствующими тест – штаммами бактерий и

Таблица 2

Регистрация режима стерилизации питательных сред

Наименование сред	Условия стерилизации		Цвет биотеста		
	температура, °С	время, мин	до стерилизации	после стерилизации	через 48 ч после стерилизации
Тиогликолевая среда	121	20	Сине-зеленый	Сине-зеленый	Сине-зеленый
Глицерин	-“-	-“-	-“-	-“-	-“-
Среда Сабуро	-“-	15	-“-	-“-	-“-
Среда № 3	-“-	-“-	-“-	-“-	-“-
Среда № 8	-“-	-“-	-“-	-“-	-“-

Таблица 3

Регистрация режима стерилизации питательных сред

№ опыта	Наименование сред	Условия стерилизации			Цвет биотеста		
		время про- дувки, мин	темпе- ратура, °С	время, мин	до стерилизации	после стерилизации	через 48 ч после стерилизации
1	Глицерин	10	121	15	Сине-зеленый	Сине-зеленый	Сине-зеленый
2	-“-	5	117	-“-	-“-	-“-	Желтый
3	Физиологический раствор	10	121	-“-	-“-	-“-	Сине-зеленый
4	-“-	5	116	-“-	-“-	-“-	Желтый

грибов: на среде № 3 выращивали бактерии *Escherichia coli* ATCC 25922; на среде № 8 — *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-Р и *Pseudomonas aeruginosa* NCDC 27853, на среде Сабуро — *Candida albicans* ATCC 885 – 653. Установлено, что питательные среды, простерилизованные в данном режиме, обеспечивают рост соответствующих микроорганизмов.

Наконец, с помощью биологического индикатора был проведен контроль эффективности стерилизации при нормальном режиме и при укороченном времени продувки стерилизатора (вытеснения воздуха паром из стерилизационной камеры). Результаты представлены в табл. 3.

В опытах 1 и 3, в которых режим стерилизации соблюдался, результаты положительные. В опытах 2 и 4 — результат отрицательный. Поскольку неполное вытеснение воздуха из камеры стерилизатора вызвало уменьшение температуры стерилизации, эффективность стерилизации была недостаточной и все биологические индикаторы изменили свой цвет на желтый, указав, таким образом, на несоблюдение режима стерилизации в этих опытах.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что биологические индикаторы позволяют проводить эффективный контроль режима стерилизации в дополнение к имеющемуся инструментальному контролю, что обеспечивает надежность стерилизации. Проведенный контроль стерилизационной камеры показал, что режим стерилизации соответ-

ствует условиям, предъявляемым рекомендациями ГФ XI, вып. 2 “Методы микробиологического контроля лекарственных средств”.

Следует отметить, что оригинальная, выполненная на отечественной базе, конструкция биологического индикатора ИБКсл–01 удобна в использовании, при работе с индикатором не требует никакого специального оборудования, асептических условий, обучения персонала. Индикатор безопасен при использовании, поскольку тест-микроорганизмы содержатся в запаянном пластмассовом контейнере, герметичность которого не нарушается в процессе контроля. Хранить и транспортировать биотест ИБКсл–01 можно при комнатной температуре.

ЛИТЕРАТУРА

1. “Методические указания по дезинфекции, предстерилизационной очистке и стерилизации изделий медицинского назначения” МУ-287-113 от 30.12.1998, Москва (1998).
2. Приказ МЗ РФ № 254 “О развитии дезинфекционного дела в стране” от 03.09.1991, Москва (1991).
3. ГОСТ Р ИСО 11138–1.
4. ГОСТ Р ИСО 11138–2
5. ГОСТ Р ИСО 11138–3
6. Г. И. Рубан, *Дезинфекционное дело*, № 2, 40 – 44 (1998).
7. М. И. Леви, Ю. Г. Сучков, В. Я. Бессонова и др., *Дезинфекционное дело*, № 4, 121 – 130 (1998).
8. А. Я. Найденов, *Технология чистоты*, № 2, 15 – 16 (2000).
9. *Контроль режимов стерилизации растворов лекарственных средств с помощью биологических индикаторов ИБКсл-01. Методические указания МУК 4.2.1036 – 01.-М.: Федеральный центр госстанэпиднадзора МЗ РФ, Москва (2001).*

Поступила 19.11.01.