



Життєдайна сила розчину

Основи мікробіології

Мікробіологія

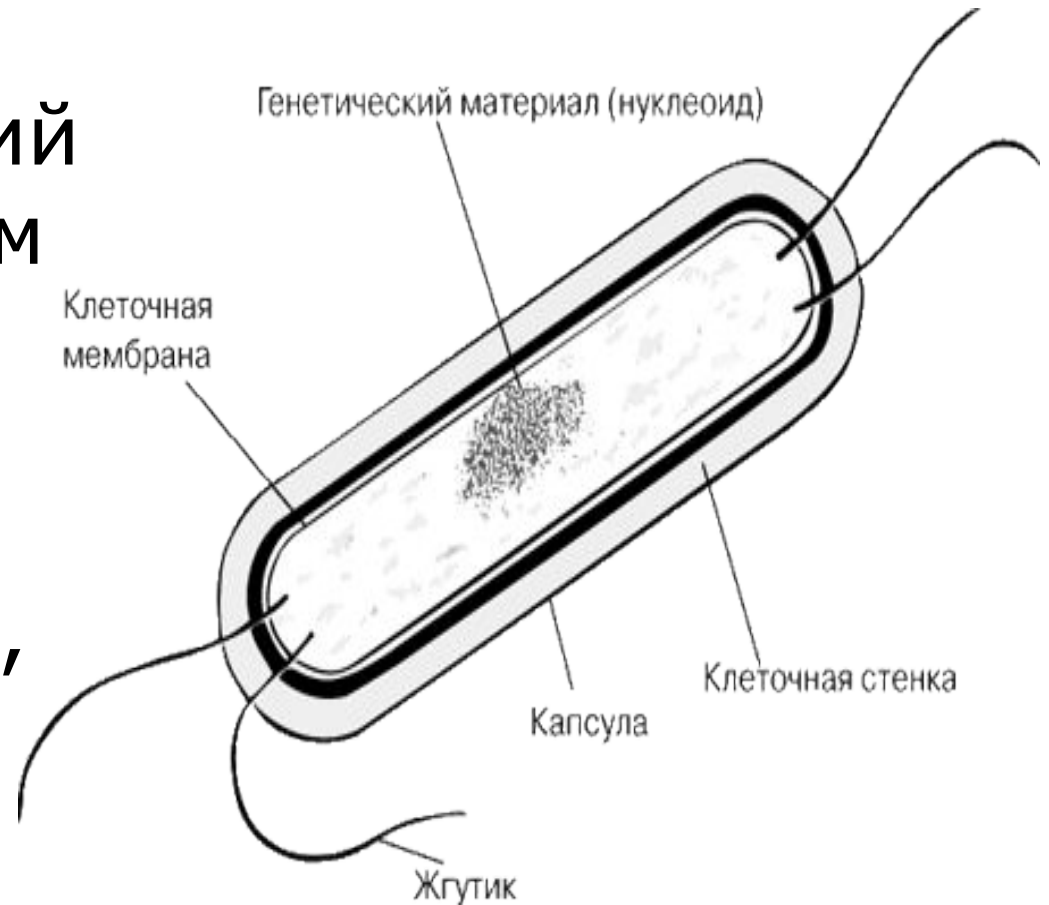
- **Мікробіологія** — галузь науки, яка займається дослідженням морфології, фізіології, біохімії, молекулярної біології, генетики, екології мікроорганізмів, їх ролі і значення у кругообігу речовин, в патології людини, тварин і рослин.

Мікроорганізми

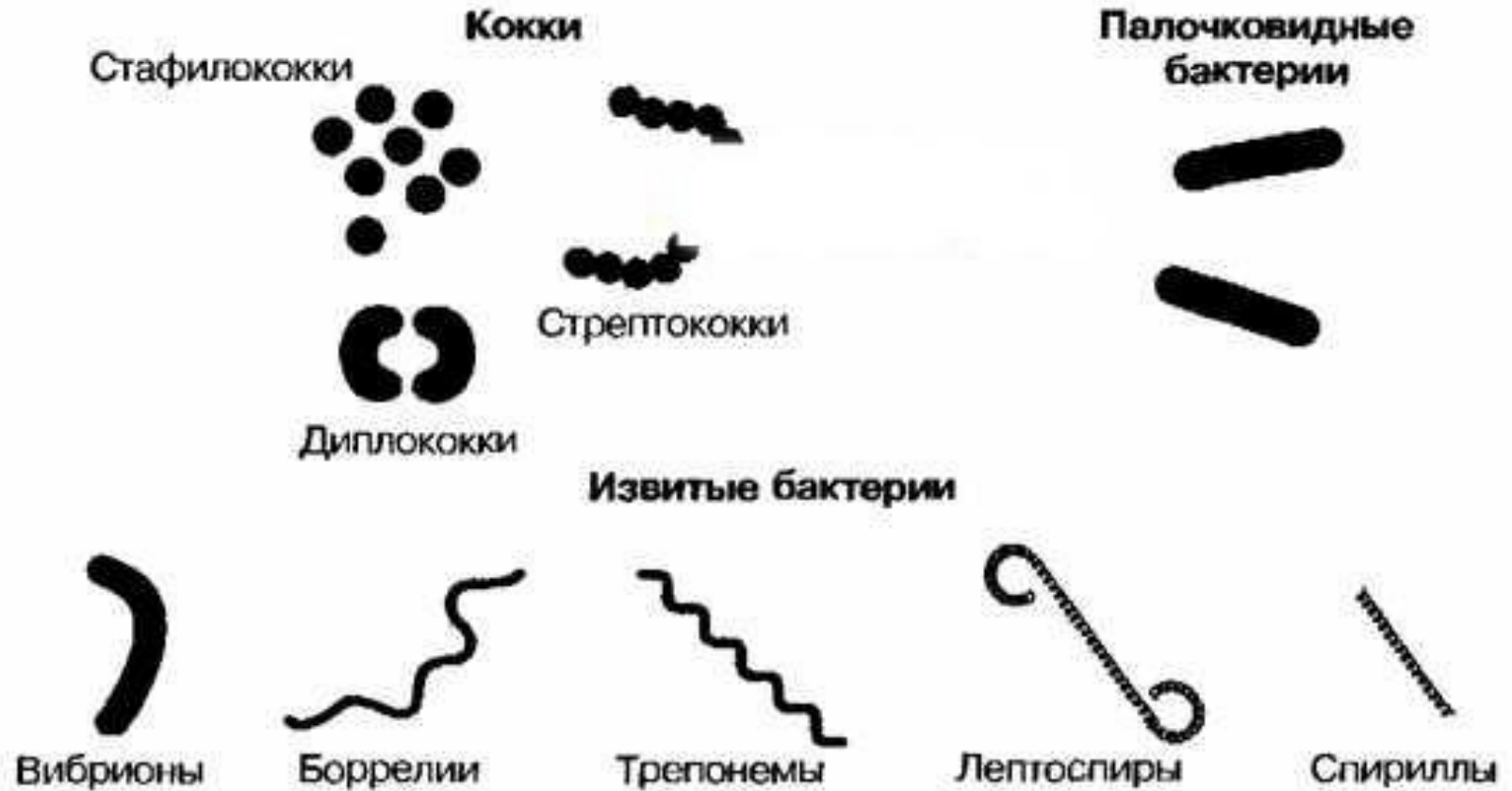
- ***Мікроорганізми*** – це групи живих мікроорганізмів, які занадто малі, щоб побачити їх неозброєним оком, складаються з однієї або декількох клітин.

Мікроорганізми

- **Бактерія** –
одноклітинний
мікроорганізм
рослинного
походження,
позбавлений
збарвлення,
не має ядра.



Формы бактерий



Мікроорганізми



- **Гриби** –
одноклітинні
мікроорганізми
рослинного
походження,
позбавлені
збарвлення,
мають риси
тваринної клітини,
мають ядро.

Особливості середовища існування мікроорганізмів

Сприятливі умови для мікроорганізмів:

Температурний режим у широкому діапазоні від 20°C до 45°C для більшості ґрунтових та водних бактерій.

Для спороутворюючих бактерій та термофільних бактерій вище 45°C .

Залізобактерій (психрофільні) нижче 20°C .

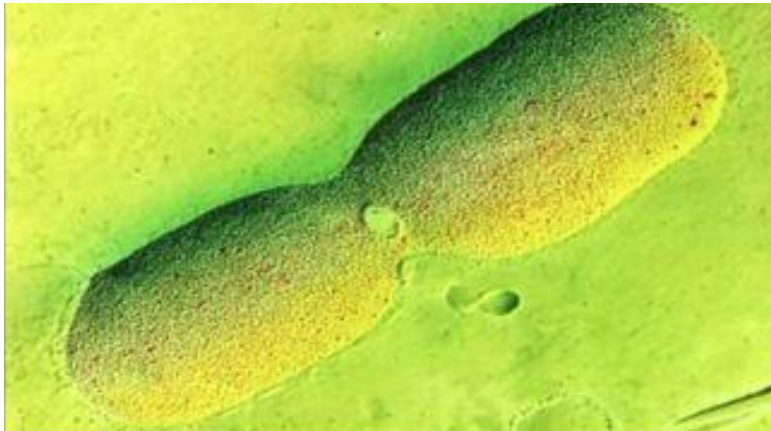
Оптимальне значення рН біля 7 рН

Гранично допустимі значення рН, вище і нижче яких відомі в даний час мікроорганізми припиняють ріст і розмноження, приблизно рівні 1 рН і 11 рН

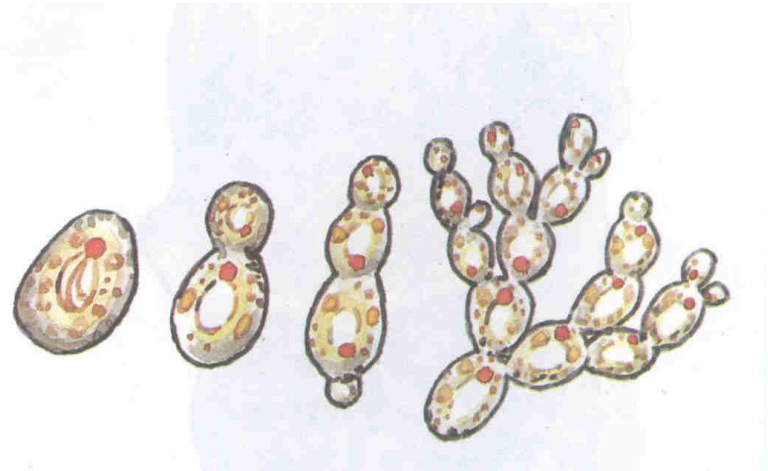
Вологість від 30 % до 70 %

Розмноження мікроорганізмів

Ділення



Брункування



Потрапляючи в сприятливі умови бактерія починає активно
розмножуватись вже через 20-30 хвилин. Гострі бактеріальні захворювання розвиваються вже через декілька годин.

Мікроорганізми

- Бактерії постійно знаходяться як у навколишньому середовищі, так і на поверхні людського тіла, причому у величезній кількості.
- Виділяють **нормальну мікрофлору**, що бере участь в різних біохімічних і фізіологічних процесах
- **Додаткову** (тимчасову, транзиторну) мікрофлору

Мікрофлора людини

Представники так званої **нормальної мікрофлори**, що населяють:

- шкіру (пропіо- , коринебактерії)
 - порожнину рота та органів дихання (стафілокок, мікоплазми)
 - шлунок (стрептококи, лакто- і біфідобактерії, дріжджеві гриби)
 - кишечник (кишкова паличка, гриби роду Candida)
- Підтримують здоров'я, виконують захисну функцію, пригнічуючи ріст патогенних мікроорганізмів

- **Додаткова**, що проходить **транзитом**, мікрофлора, яка існує в невеликих кількостях.

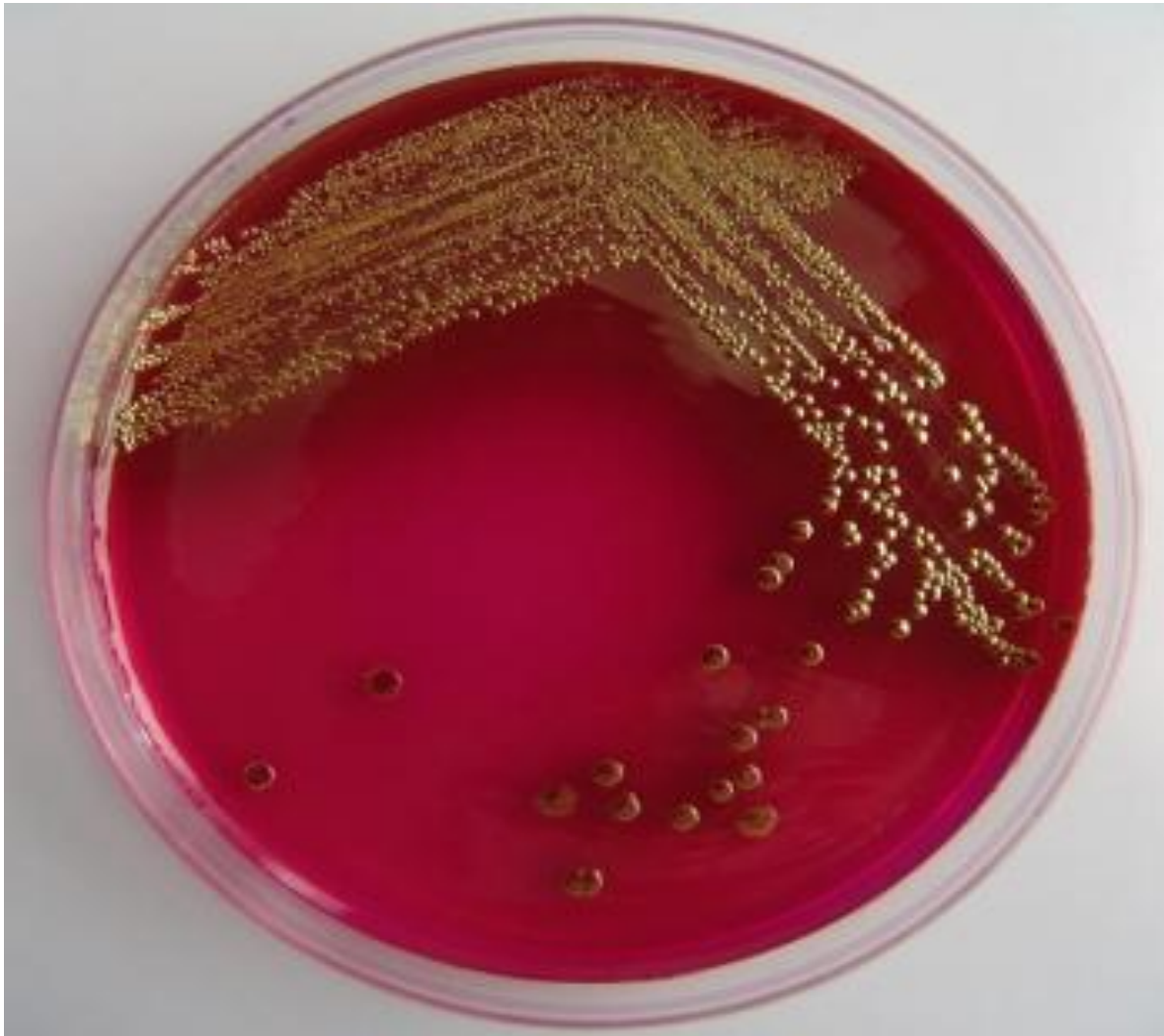
Esherichia coli

- Умовно-патогенна флора впроваджується, конкуруючи з корисними бактеріями, у мікробну плівку кишечника, заселяє кишкову стінку і викликає порушення роботи всього шлунково-кишкового тракту. Дисбактеріоз кишечника з підвищеним змістом умовно-патогенної флори може супроводжуватися алергійними шкірними реакціями, порушеннями стільця (запори, поноси, зелень і слиз у калі), болями в животі, здуттями живота, зригуванням, рвотами. При цьому, зазвичай, температура тіла не підвищується.

Esherichia coli

- Число індивідуальних бактерій **E.coli** в фекаліях, що одна людина виділяє за день, може бути від **100 млрд. до 10 трлн.**

Escherichia coli



Staphylococcus aureus

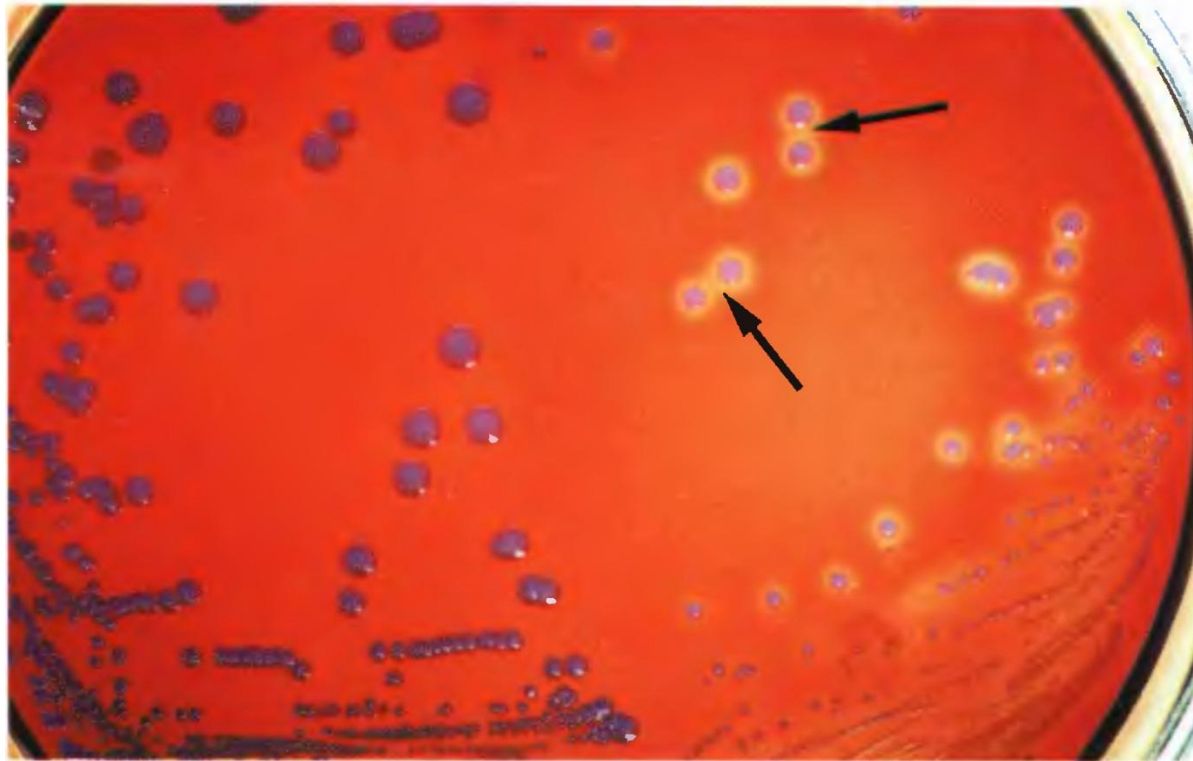


Рис. 1. Колонии *Staphylococcus epidermidis* (слева) и *Staphylococcus aureus* (окружены зоной гемолиза) на КА. Для лучшей визуализации зон гемолиза (отмечены стрелками) фотография сделана в проходящем свете, и колонии выглядят синеватыми вместо беловато-жёлтых.

Staphylococcus aureus

- Синдром інтоксикації:
- - гнійно-резорбтивна лихоманка,
- - головний біль,
- - блювота, астенія;
- - динамічний розвиток місцевого гнійного вогнища запалення.

Staphylococcus aureus

- Стафілококова інфекція викликає широкий діапазон захворювань починаючи від **легких шкірних інфекцій**:
 - вугрів,
 - фурункулів,
 - подразнень шкіриі закінчуючи **смертельно небезпечними**:
 - пневмонія,
 - менінгіт,
 - остеоміліт,
 - сепсис.
- На сьогодні стійкі штами стафілокока є ***найчастішою проблемою лікарняних інфекцій***, особливо для післяопераційного періоду.

Захворювання шкіри



Staphylococcus aureus



Pseudomonas aeruginosa



Pseudomonas aeruginosa

Заболевание или поражение	Микроорганизм	Клинический материал, используемый для выделения
Кожные поражения, абсцессы	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i>	Аспираты, мазки-отпечатки отделяемого, биоптаты поражённых тканей
Инфекции ожоговых поражений	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. cepacia</i>	Аспираты, мазки-отпечатки отделяемого, биоптаты поражённых тканей
Кератиты	<i>P. aeruginosa</i>	Биоптаты ткани роговицы
Отиты наружного уха (в том числе злокачественные)	<i>P. aeruginosa</i>	Биоптаты ткани наружного слухового прохода ушной кости (в тяжёлых случаях)
Менингиты	<i>P. aeruginosa</i>	СМЖ
Бактериемия/септицемия	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i>	Кровь
Эндокардиты	<i>P. aeruginosa</i>	Кровь, биоптаты клапанов сердца и материал протезов клапанов
Энтериты	<i>P. aeruginosa</i>	Фекалии, биоптаты слизистой оболочки кишечника
Пара- и ректальные абсцессы	<i>P. aeruginosa</i>	Аспираты, мазки-отпечатки отделяемого из очагов поражения
Пневмонии	<i>P. aeruginosa</i> , <i>P. mallei</i> , <i>P. pseudomallei</i>	Мокрота, промывные воды бронхов и трахеи, биоптаты лёгких, кровь, плевральная жидкость (при плевритах)
Инфекции мочевыводящих путей	<i>P. aeruginosa</i>	Моча
Остеомиелиты и артриты	<i>P. aeruginosa</i>	Биоптаты костной ткани, взятой из очагов поражений, и суставная жидкость

Pseudomonas aeruginosa

- Штами *P. aeruginosa* стійкі до антибіотиків та антисептиків, контамінують лікарські препарати і можуть зберігати свою життєздатність у неконценрованих розчинах антисептиків та дезинфектантів.
- Основні шляхи розповсюдження інфекції :
 - - хвора людина;
 - - руки обслуговуючого персоналу.
 - -контаміновані предмети : розчини, креми для рук, рушник для обличчя т. д.
 - - через інструменти, прилади та апаратуру, яка піддавалась дезинфекції, що виявилась неефективною;
 - - інфіковані лікарські розчини (5 % розчин глюкози та ін.);
 - - медикаменти, до складу яких входять недостатньо ефективні бактеріостатичні речовини, особливо при довготривалому використанні (очні краплі)

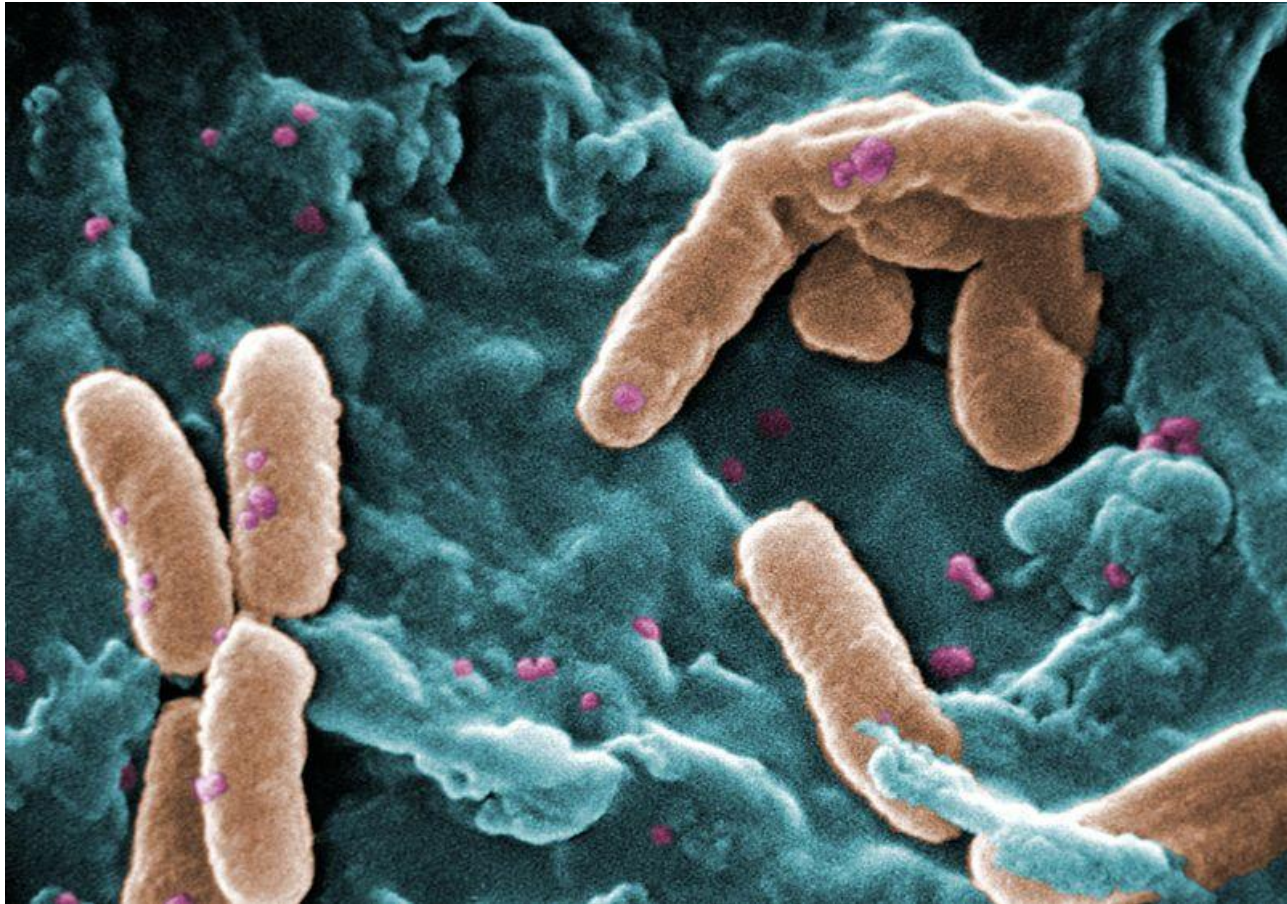
Pseudomonas aeruginosa



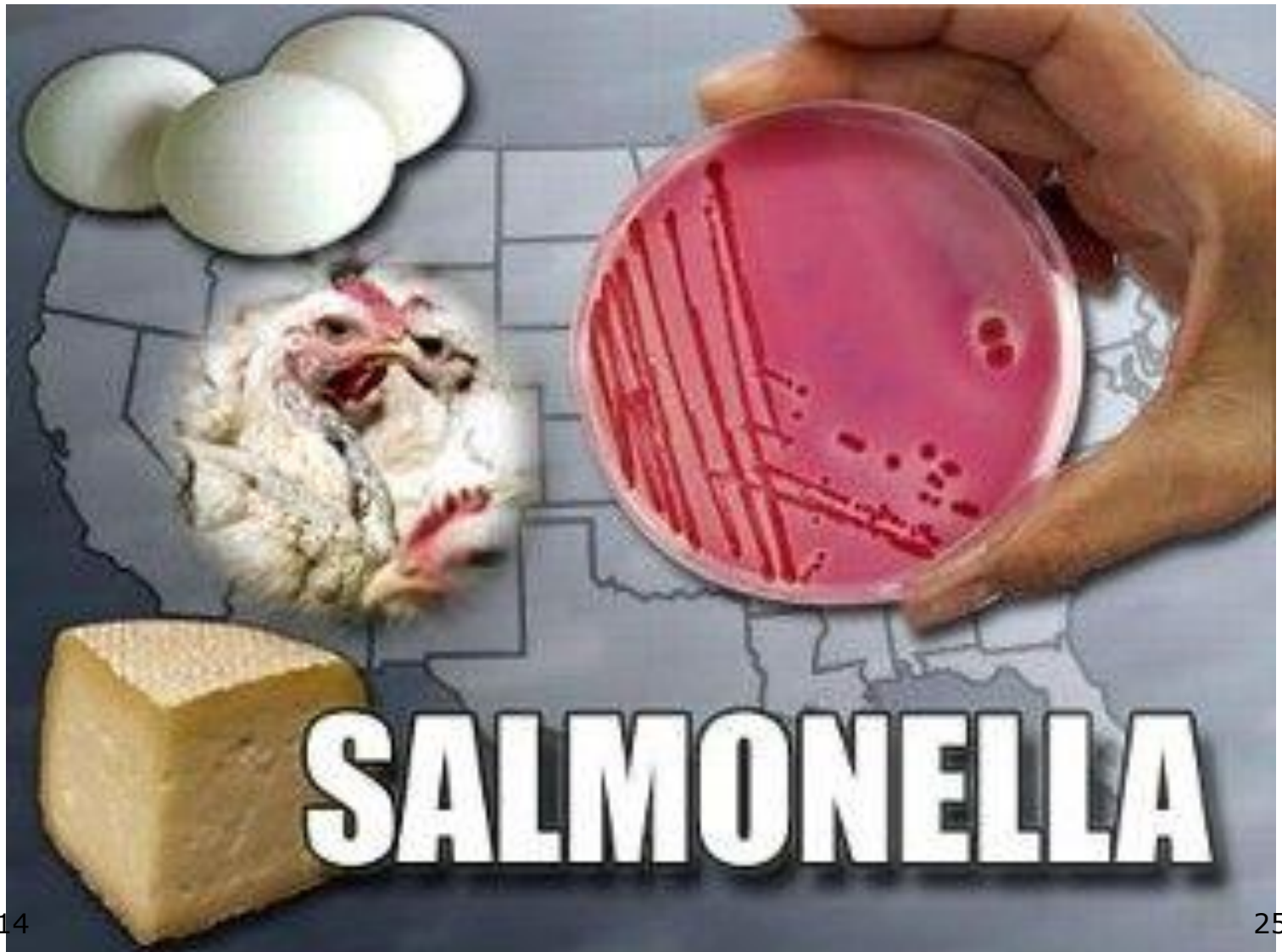
Pseudomonas aeruginosa



Pseudomonas aeruginosa



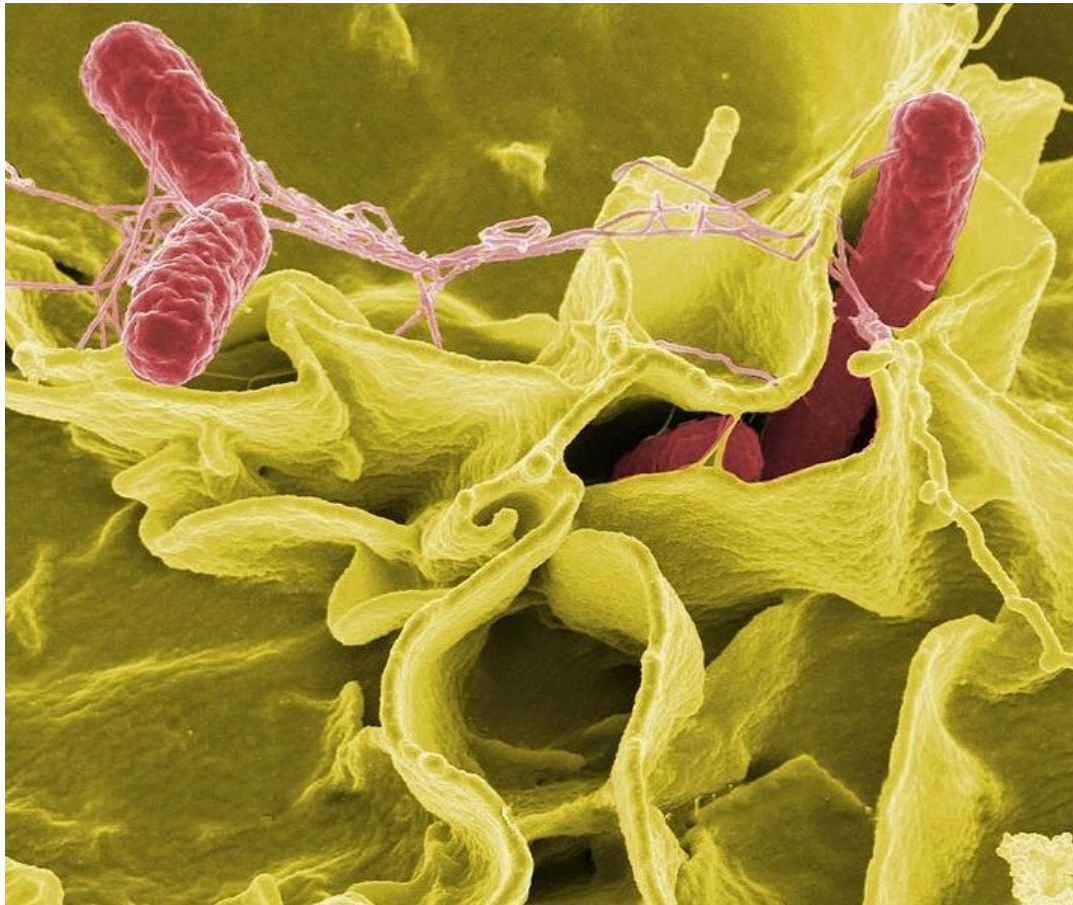
Salmonella



Сальмонельоз

- Найчастіше (75–90%) зустрічається гастроінтестинальна форма, яка супроводжується синдромами інтоксикації та ураженням травного каналу. Початок захворювання гострий, симптоми інтоксикації максимально розвиваються протягом 1–2 діб.
 - Симптоми:
 - - загальна слабкість,
 - - головний біль,
 - - розлади сну,
 - - озноб, біль у м'язах і попереку,
 - - підвищується температура тіла.
- У наступні години або через добу приєднуються нудота, блювання, біль у животі. Блювота частіше багаторазова, спочатку залишками їжі, а далі блювотиння стає водянистим, зеленуватого кольору.

Salmonella typhimurium



Антимікробні заходи

- **стерилізація** — повне знищення в/на об'єктах життєздатних мікроорганізмів та їх спор;
- **дезинфекція** — знищення у/на об'єктах патогенних мікроорганізмів;
- **антисептика** — знищення або зменшення росту мікроорганізмів у/на живих тканинах, обладнанні;

контамінація — потрапляння в певне середовище будь-якої домішки, яка змінює властивості цього середовища;

- **деконтамінація** — очищення об'єктів від забруднення;
- **асептика** — комплекс антисептичних дій по знищенню мікроорганізмів на об'єктах;
- **дезрозчини**- хімічні речовини, використовують для знищення мікроорганізмів на об'єктах та предметах зовнішнього середовища

Вимоги до нестерильних лікарських засобів

- Загальне число аеробних мікроорганізмів – **1000 КУО/мл**
- Загальне число дріжджевих та плісневих грибів – **100 КУО/мл**

Відсутність деяких інших мікроорганізмів

- Відсутність *E. coli* в 1 мл
- Відсутність *S. aureus* в 1 мл
- Відсутність *P. aeruginosa* в 1 мл
- Відсутність *Salmonella* в 1 мл

Вимоги до інфузійних розчинів

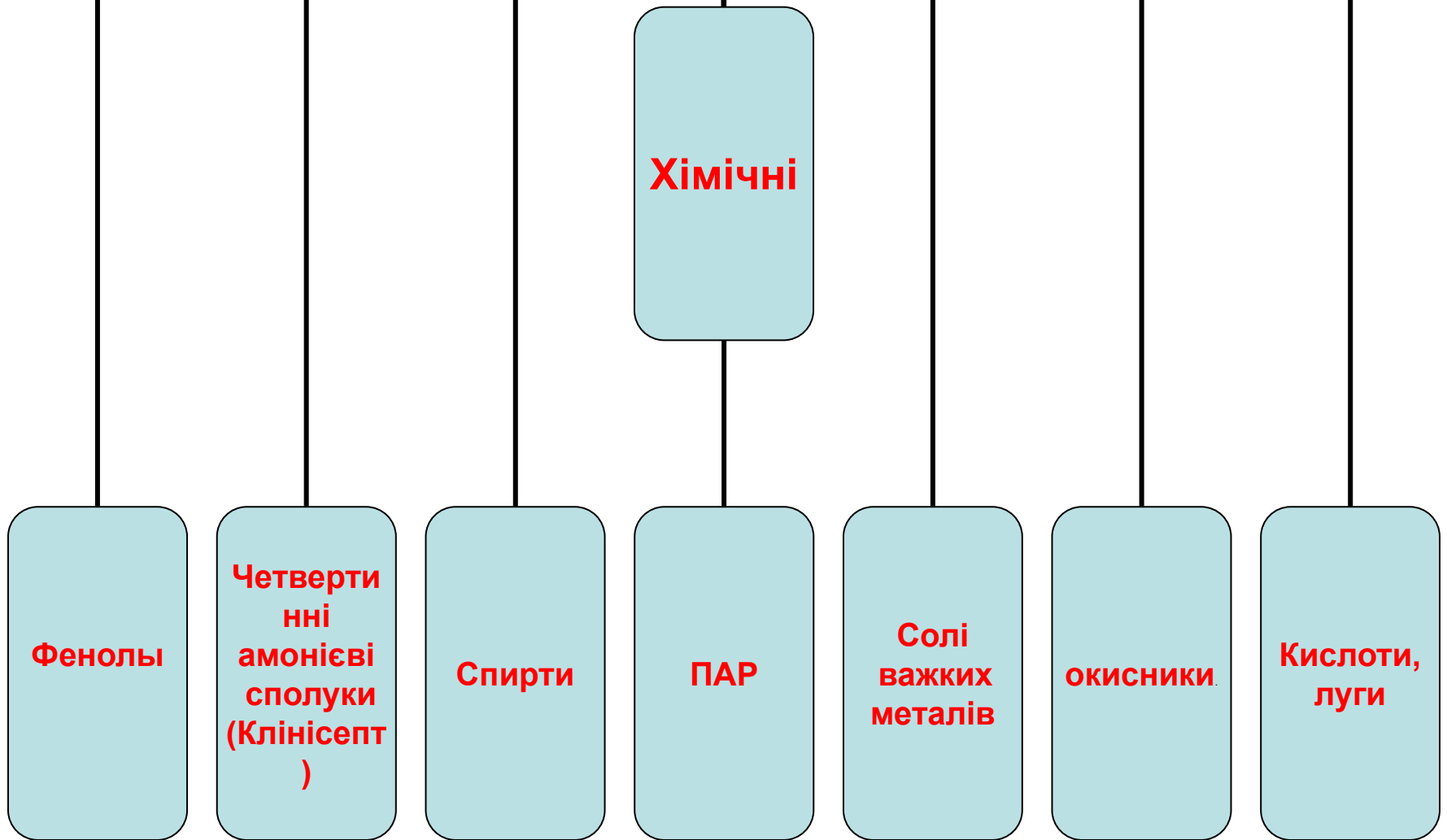
- - стерильність
- - апірогенність/вільний від ендотоксинів
- ***Інфузійні розчини*** – розчини, що безпосередньо вливаються в кров, минаючи травний шлях.

Вимоги до ВМП (шприци одноразового використання)

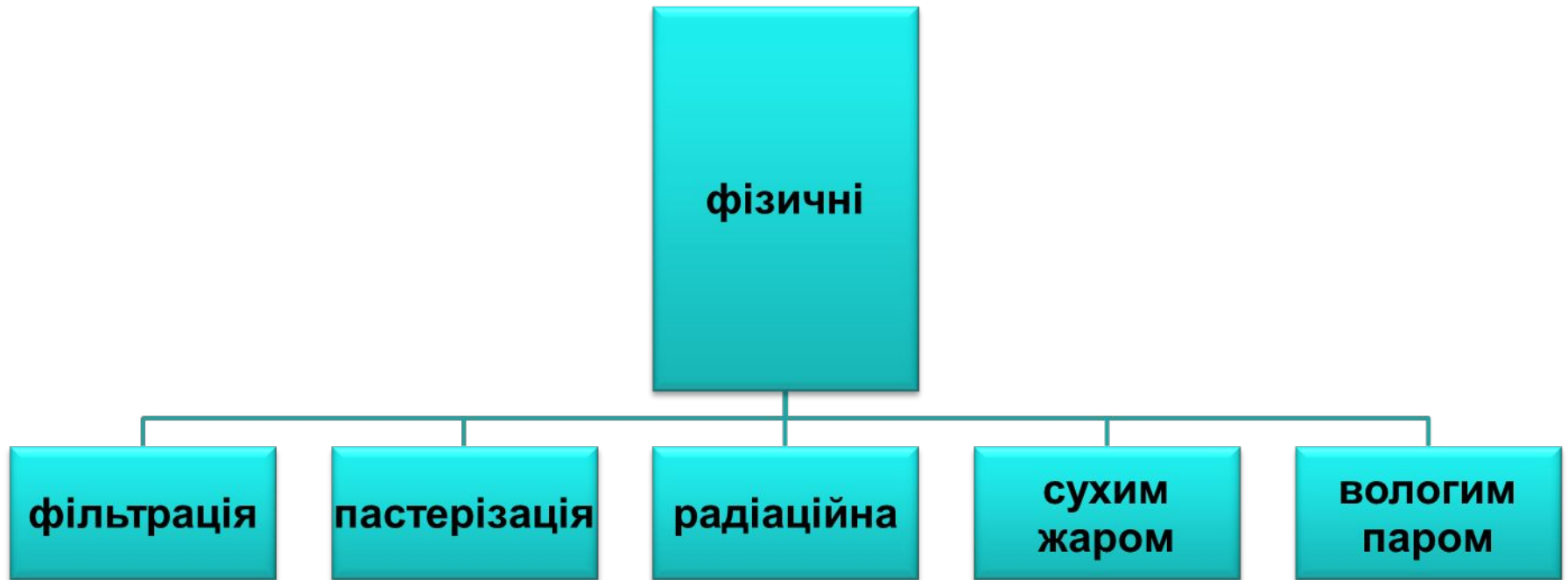
- - стерильність
- - апірогенність/вільний від ендотоксинів
- **Вироби медичного призначення** - вироби медичної техніки, матеріали, медичні вироби, обладнання тощо, які застосовуються в медичній практиці для: попередження захворювань; діагностики захворювань; моніторингу, контролю та дослідження морфофункціонального стану організму; лікування, повного або часткового усунення проявів хвороби тощо.

Методи стерилізації

Методи стерилізації



Методи стерилізації

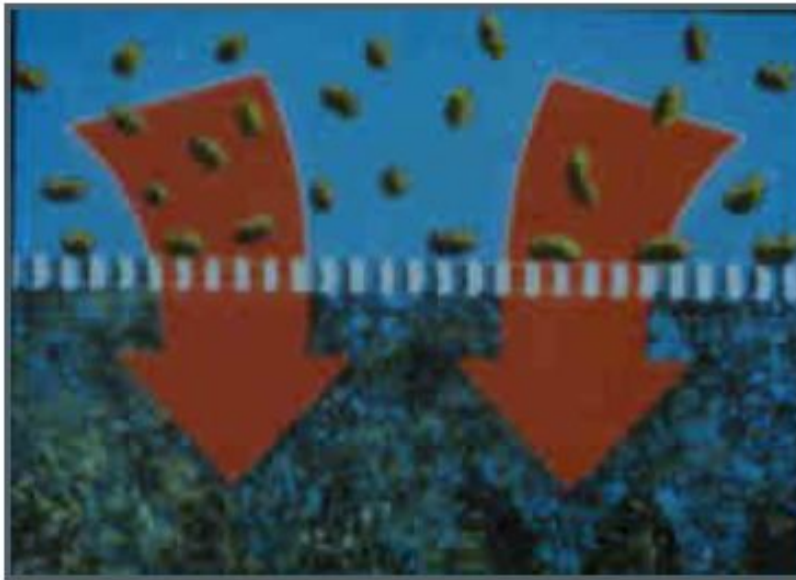


Випробування на стерильність



Використовуючи
фільтраційну
установку лікарський засіб
фільтрують згідно вимог
ДФУ
після чого інкубують в
поживному середовищі
14 діб

Метод мембранной фильтрации



Образец, содержащий микроорганизмы, фильтруют через мембранный фильтр.



Помещают фильтр с задержанными на нем микроорганизмами на питательную среду и инкубируют

Контроль якості

- *Випробування готової продукції на стерильність необхідно розглядати тільки як завершальний етап у серії контрольних заходів, що гарантує стерильність*

Апірогенність

- Апірогенність – відсутність пірогенів в ЛЗ/ВМП
- **Наявність** пірогенів, своєрідних **“залишків клітин”** викликає лихоманку, сильне підвищення температури та **анафілактичний шок**

Анафілактичний шок



Анафілактичний шок або анафілаксія –

алергічна реакція негайного типу, супроводжується симптомами:

- різка біль,
- сильний набряк,
- припухлість, почервоніння, свербіж шкіри,
- набряк гортані, гіпоксія
- різке зниження артеріального тиску,
- втрата свідомості.
- смерть.

ПАТОЛОГІЧНІ ЕФЕКТИ БАКТЕРІАЛЬНИХ ЕНДОТОКСИНІВ



Пірогенна реакція.

Бактеріальні ендотоксини

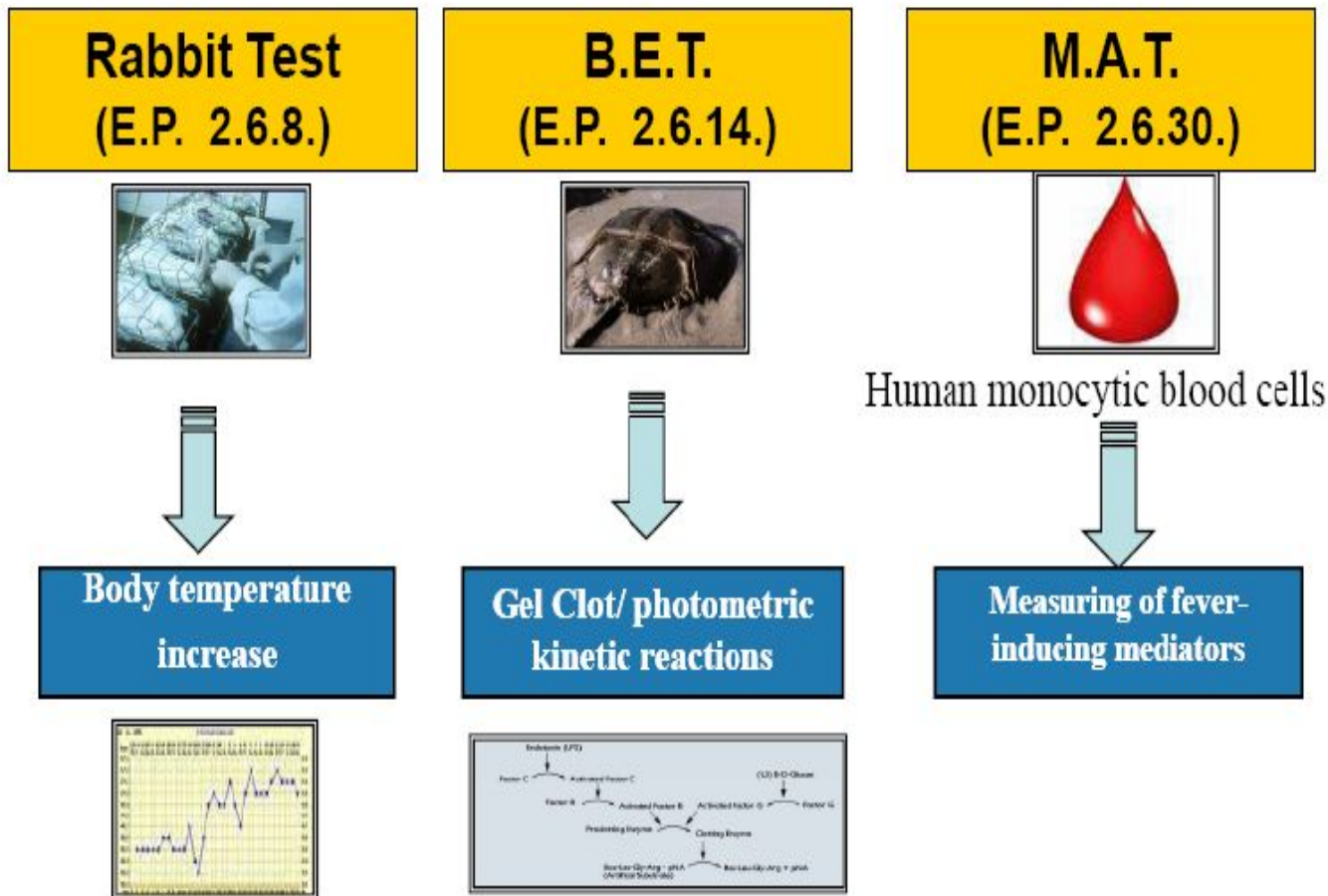
- **Пірогенна реакція** – захисна реакція організму на дію пірогенних речовин, супроводжується підвищенням температури тіла
- **Пірогени** (грец., «pyretos» - жар) – речовини, що потрапляючи в організм викликають лихоманку
- **Бактеріальні ендотоксини** – компоненти зовнішньої оболонки грамнегативних бактерій
- Всі бактеріальні ендотоксини - пірогени, але не всі пірогенні речовини – ендотоксини (ДФУ 1.4)

Перший фармакопейних тест пірогенності на кроликах

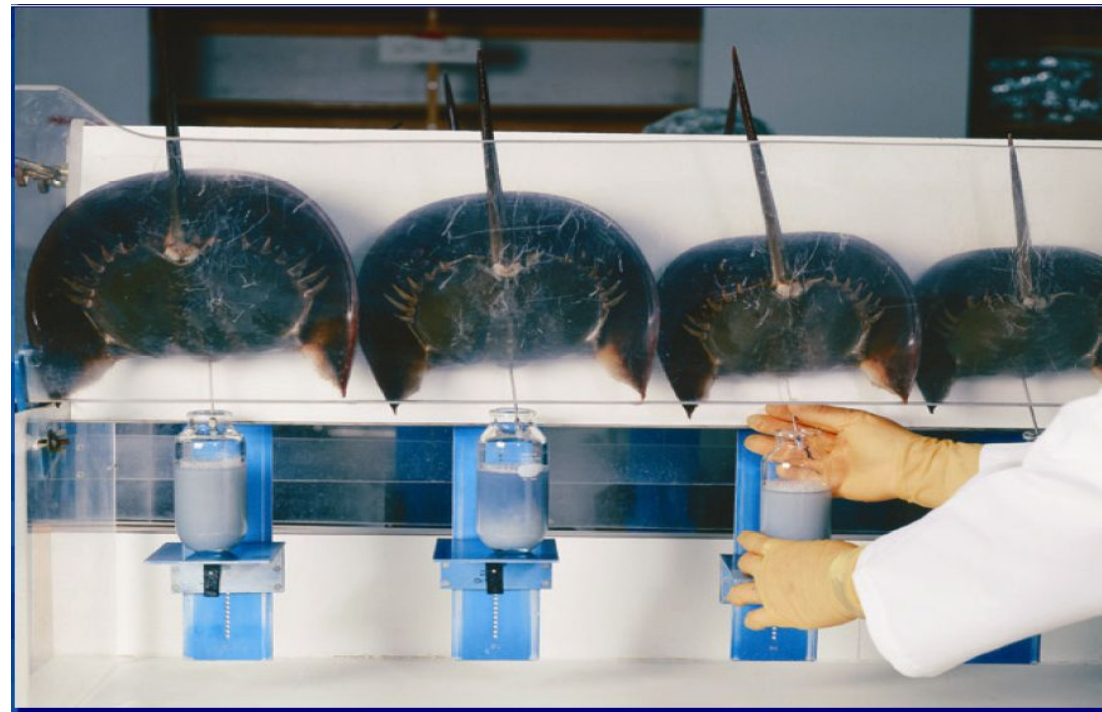
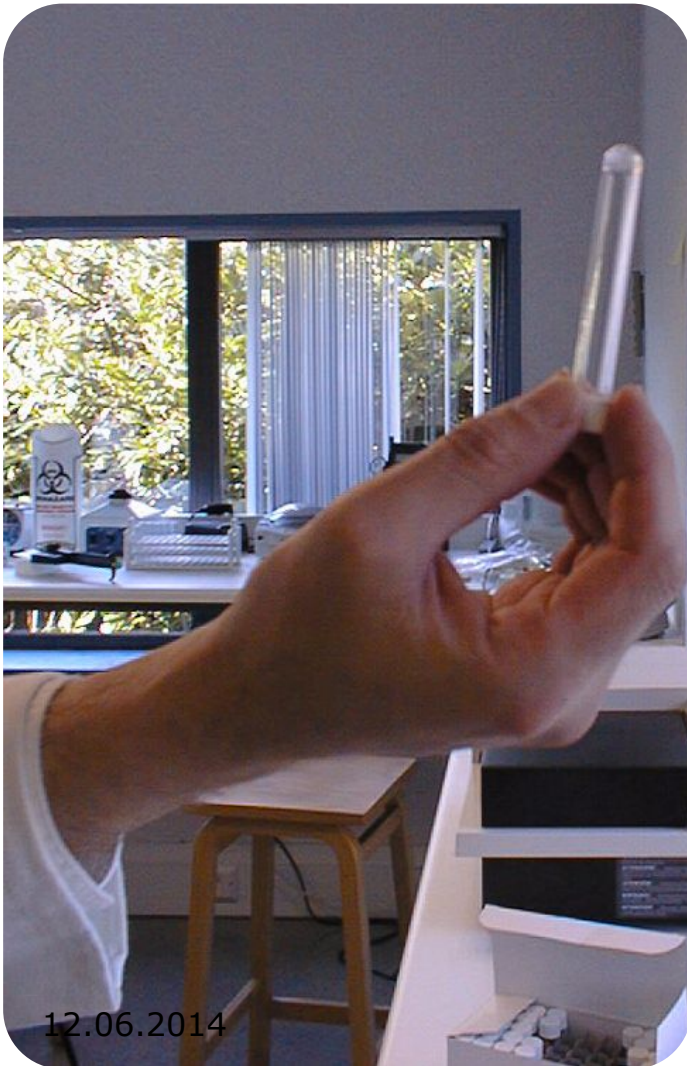
Метод визначення пірогенів, передбачає термометрію кроликів (з рівними проміжками часу) після ін'єкційного введення лікарського засобу



Європейська Фармакопея. Методи контролю пірогенів



Метод А. Гель-тромб метод: граничне випробування



ЛАЛ-тест

- В основі ЛАЛ-теста лежить здатність лізату амебоцитів (клітин крові) мечехвоста специфічно реагувати з ендотоксинами Гр- бактерій (ліпополісахаридами). В результаті реакції ендотоксину і лізату відбувається помутніння реакційної суміші і **утворення твердого гелю** реакційної суміші, в випадку присутності ендотоксину.

ДЕПІРОГЕНІЗАЦІЯ. СУХОЖАРОВА ОБРОБКА – НАЙБІЛЬШ ЕФЕКТИВНИЙ СПОСІБ ДЕПІРОГЕНІЗАЦІЇ

170 °С;
2 ч

Депірогенізація
не призводить
до руйнування
ендотоксинів

180 °С;
3 ч

Депірогенізація
призводить до
декструкції
ендотоксинів

250 °С;
30 мин

Депірогенізація
призводить до
декструкції
ендотоксинів

Знак застереження про біологічну небезпеку лабораторії



«Біологічна небезпека лабораторії» – використовується для запобігання ненавмисного впливу патогенів і токсинів, або їх випадкове вивільнення

Музейні тест-штами III-IV групи патогенності



Музейні тест-штами

Процедуру перевірки придатності методики визначення загального числа аеробних мікроорганізмів проводять з використання 5 тест-штамів, з визнаної колекції культур:

- *Bacillus subtilis* ATCC 6633,
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538,
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027,
- *Candida albicans* ATCC 10231,
- *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404

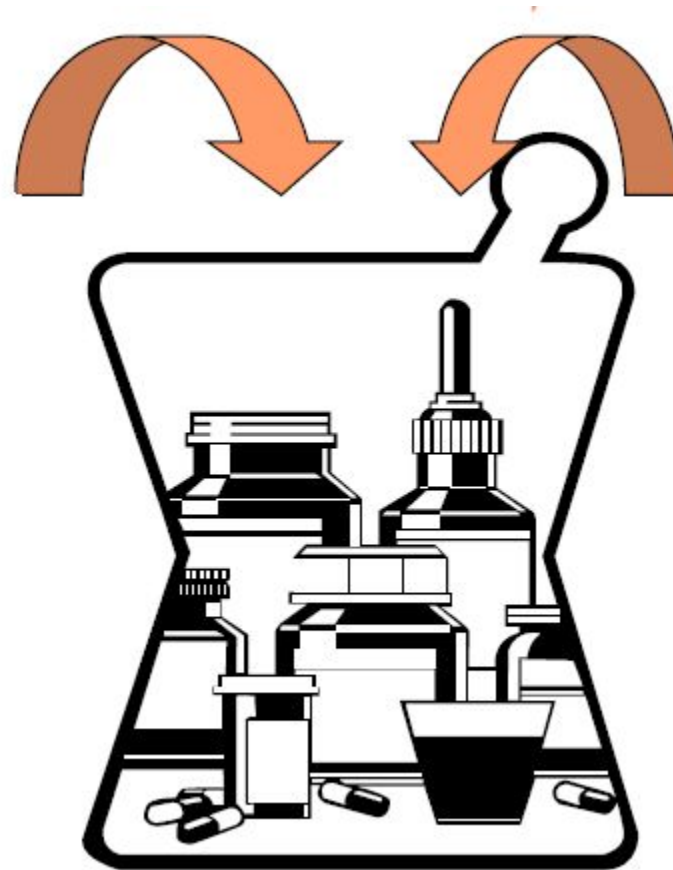
Джерела мікробної контамінації

Джерела мікробного забруднення

Можливі джерела контамінації

Вода
Навколишнє середовище

- Повітря
- Приміщення
- Обладнання



Персонал
Матеріали

- Субстанції
- Компоненти

Мікробіологічний моніторинг в фармацевтичному виробництві

● Вхідний контроль

Субстанції

Первинне

пакування

- флакони
- пляшки
- контейнери
- шприци
- ковпачки
- пробки

Постадійний контроль

Мікробіологічне забруднення:

- повітря
- поверхонь
- одягу та рук персоналу

Проміжної продукції (МН)

Поточний контроль первинного пакування

Води для ін'єкцій, очищеної, питної, знесоленої, конденсату чистої

Контроль готового ЛЗ

Стерильність:

- інфузій
- ін'єкцій
- концентратів для інфузій/ін'єкцій
- виробів мед призначення

Мікробіологічна чистота нестерильних ЛЗ

- сиропи
- аерозолів
- розчинів для зовнішнього застосування

**Основні класи
негативних факторів
при виробництві лікарських засобів**

Основні класи негативних факторів при виробництві лікарських засобів:

1. Організаційні
2. Фізичні
3. Хімічні
4. Мікробіологічні

Вимоги до приміщення та обладнання (організаційний фактор)

- **Приміщення:**
 - - запобігання входу, що **не** є необхідним;
 - - за усіма процесами необхідно спостерігати зовні;
 - - поверхні мають бути гладенькі, непроникні, непошкоджені;
 - - місця з'єднання стіна-стеля, стіна-стіна мають бути заокруглені;
 - - не використовувати обладнання та меблі, що не піддаються очищенню та миттю;
 - - має бути система оповіщення ;
 - - проводити кваліфікацію повітряних потоків.

Вимоги до приміщення та обладнання (хімічний фактор)

Приміщення:

- - не використовувати патогенні, високотоксичні та радіоактивні матеріали;
- впровадити процедури знезараження повітря, обладнання, одягу;
- проводити очищення та дезінфекцію.

Фізичні чинники, що впливають на МБЧ продукції

- - тверді частинки;
- - цілісність фільтрів;
- - перепади тиску;
- - швидкість потоку повітря;
- - зміни повітряних потоків;
- - час очищення та миття;
- - температура та відносна вологість.

4. Мікробіологічні фактори

Включають в себе **мікробіологічну контамінацію...**

- повітря;
- робочих поверхонь класифікованих приміщень та обладнання
- технологічного одягу та рук персоналу;

Мониторинг оточуючого середовища:

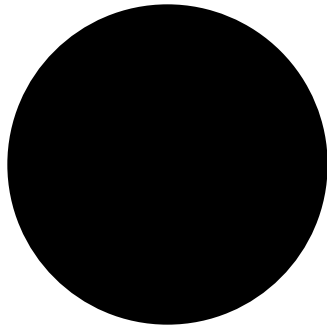
- **Мікробіологічний контроль:**
- - *відбір зразків повітря;*
 - *концентрації часток в повітрі*
 - *мікробіологічної чистоти повітря*
- - *змиви з обладнання і поверхонь;*
- - *змиви з одягу та рук персоналу.*

Відбір зразків повітря за показником – концентрація часток у повітрі

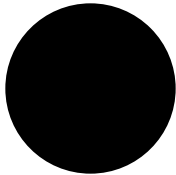
- Здійснюється в оснащеному та експлуатованому стані
- **Вимірюються частинки розміром**
 - 0,5 мкм
 - 5,0 мкм



Порівняння діаметрів часток



Товщина
волосинки



Частинка
діаметром 5 мкм
видима неозброєним оком



частинка розміром 0,5 мкм

Відбір зразків повітря за показником - мікробіологічна чистота повітря

- Здійснюється тільки в експлуатованому стані

Аспіраційним або седиментаційним методом

На сьогодні не існує метода аналізу виявлення мікроорганізмів, що працює в режимі реального часу



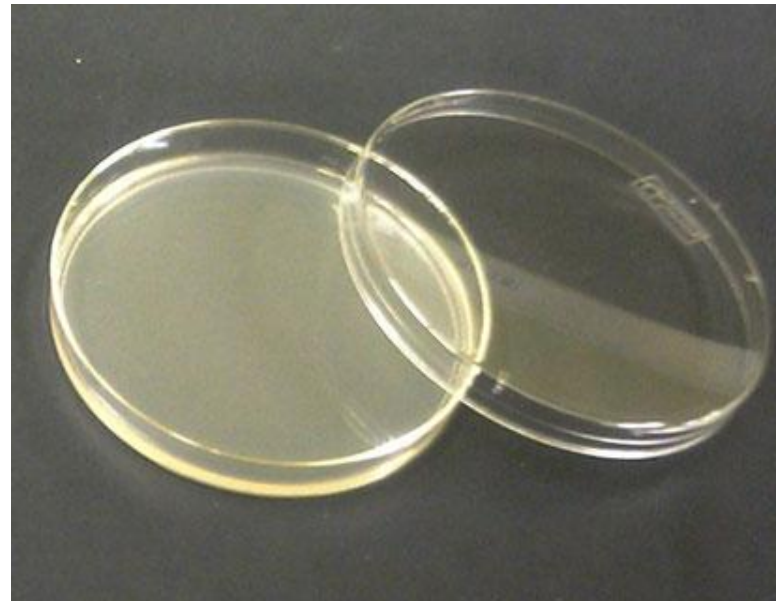
Відбір зразків повітря за показником - мікробіологічна чистота повітря

- Здійснюється в експлуатованому стані
- **Аспіраційний** метод дозволяє оцінити рівень мікроорганізмів в 1 м³ повітря в момент відбору.



Відбір зразків повітря за показником мікробіологічна чистота повітря

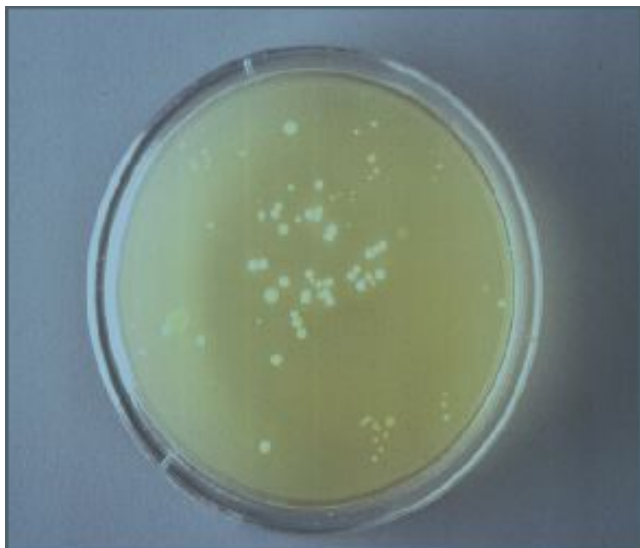
- **Седиментаційний метод**
 - осадження частинок повітря на живильне середовище чашки Петрі
- Метод дозволяє оцінити рівень мікроорганізмів в одному 1 м^3 повітря за певний проміжок часу (від 4 годин але не менше 1 години)



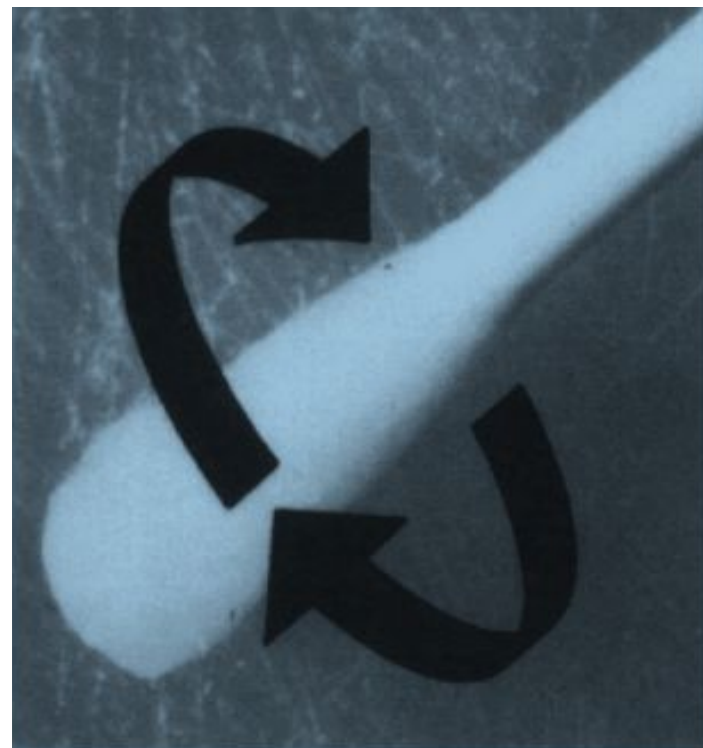
Контроль мікробіологічної контамінації поверхонь та

Методи **обладнання :**
контролю

- Контактний



Метод змиву



Контроль МБЧ :

Моніторинг забруднення таких частин одягу (метод відбитків на чашці Петрі):

- рукавички (відбитки пальців);
- манжети на рукавах халату;
- верхні передні частини халату;
- шапочка (біля чола, по боках та ззаду);
- нижня частина халату, над бахілою;
- верхня частина бахіли.



Чистота рук та технологічного одягу, для персоналу чистих приміщень класу С

Чистота рук та технологічного одягу персоналу, що працює в чистих приміщеннях класу С

Попереджувальна межа	25 КУО
-----------------------------	---------------

Межа, що вимагає вживання заходів	40 КУО
--	---------------

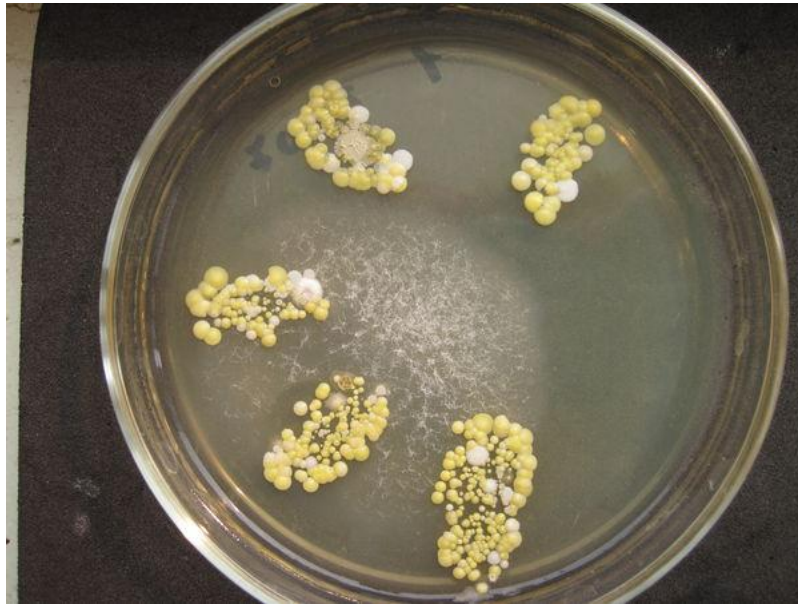
Максимально-допустима межа	55 КУО
-----------------------------------	---------------

Вимоги до персоналу



«Мойте руки до и после»

Відбиток немитих пальців



**Відбиток вмитих пальців
(вода+мило)**



Для висушування допускається використання одноразових паперових рушників

Гігієнічні вимоги до персоналу:

- - періодична перевірка здоров'я;
- - початкове та регулярне навчання всього персоналу, що займається миттям та обслуговуванням;
- - мінімальна кількість персоналу в чистих зонах;
- - високі стандарти гігієни та очищення;
- - відсутність мікробіологічної небезпеки;
- - заборона заходити у верхньому одязі;
- - виключення відкритих частин тіла
- - заборона на користування годинників, ювелірних прикрас, застосування косметики, парфумів татуювання, накладних нігтів

Кожен повинен розуміти, чому він

повинен бути чистим!



Чисті приміщення (джерела мікрозабруднень)



70-80 % людина

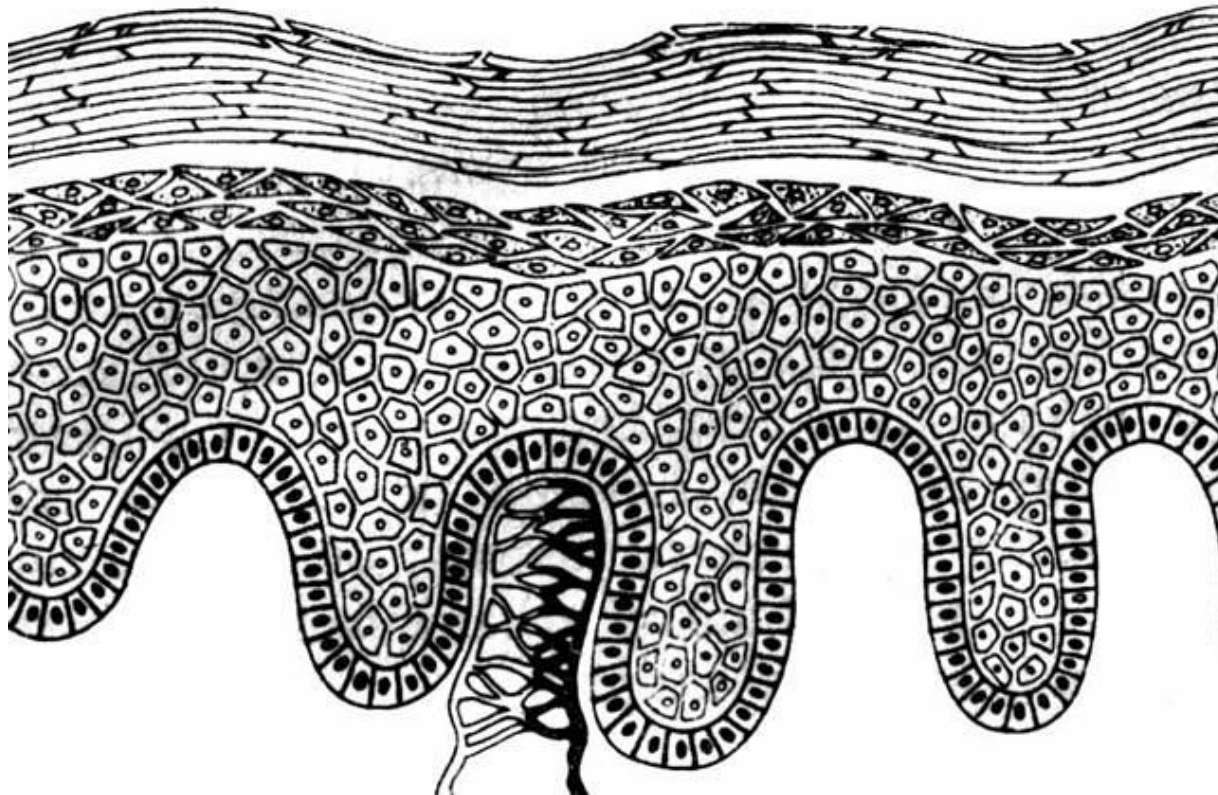
15-20 % обладнання

5-10 % навколишнє
середовища

Правила поведінки персоналу в чистих приміщеннях

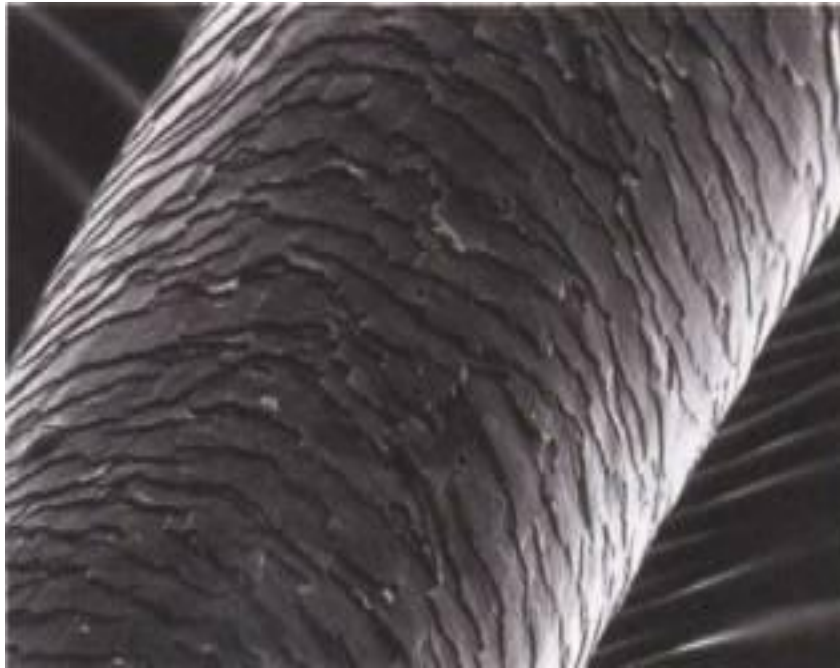
- - не розмовляти голосно та без необхідності
- - уникати різких рухів
- - не пити, не їсти, не курити, не жувати
- - при чханні відвернутися від продукції,
- - не очищати ніс,
- - уникати прямого контакту між руками оператора і відкритою продукцією
- - не нахилятись над продукцією
- - не притуляти матеріали до себе

Структура епідермісу (шкіра)



- 1 – роговий
- 2- блискучий
- 3- зернистий
- 4 – остистий
- 5 - базальний

Структура в



Електронна мікроскопія

Запах, парфуми

Запах

- Розпилюючись частинки парфумів, змішуються з іншими частками в повітрі і нерівномірно поширюються в приміщенні. Цей рух неперервний та некерований



Що живе під нігтями?

Мікроорганізми, що живуть під нігтями вважають **потенційним джерелом** поширення інфекції

Так стафілокок, та сінна паличка під нігтями (в тому числі під накладними нігтями) можуть жити до 8 тижнів



Грибок нігтів



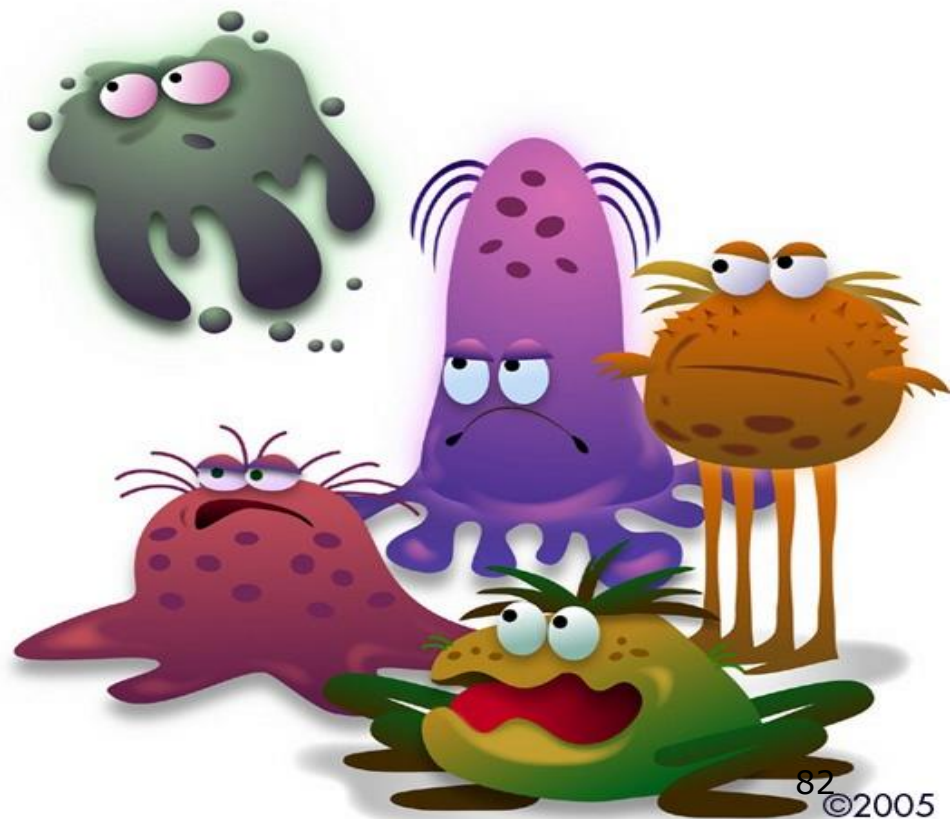
При чханні виділяється до 5000 краплин
рідини, що поширюються на відстань
від 3 м до 7 м



Література

- “Належна практика для фармацевтичних мікробіологічних лабораторій” матеріал з лекцій Жернокльов В.М.
- Медицинская микробиология, О.К.Поздеев, Москва , мед 2001
- Настанова Лікарські засоби Належна виробнича практика СТ-Н МОЗУ 42-4.0:2008
- ДФУ 1.4
- А. Е. Федотов “Чистые помещения”
- ГОСТ Р ИСО 14644-3-2007 Часть 3. Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды
- Микробиологический мониторинг в производстве лекарственных средств А.С.Ельфимов Merck Millipore

Дякую за увагу



НАЙГОЛОВНІША ЗЕМНА ЦІННІСТЬ!

