

# МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ



Все процедуры согласно Европейской фармакопее



**МИКРОЛАБ**



## Содержание

- 4 Микробиологический анализ воды
- 5 Тестирование на стерильность
- 6 Проверка пригодности метода
- 6 Проверка стерильности исследуемого продукта
- 7 Микробиологическое тестирование I, подсчёт микроорганизмов
- 9 *Escherichia coli*
- 10 Желчеустойчивые грамотрицательные бактерии
- 11 *Salmonella*
- 12 *Staphylococcus aureus*
- 13 *Pseudomonas aeruginosa*
- 14 *Clostridia*
- 15 *Candida albicans*





Фармацевтическая промышленность - один из самых влиятельных секторов бизнеса в мире, состоящий из государственных и частных организаций, занимающихся исключительно исследованиями, производством, маркетингом и распространением фармацевтических препаратов для здоровья человека и животных.

Регулирование анализа и контроля лекарств в этом секторе чрезвычайно важно как при разработке новых лекарств, так и при контроле существующих продуктов с целью обеспечения их качества, эффективности и безопасности.

Европейская фармакопея — это официальный правовой инструмент в ЕС, созданный для обеспечения качества продуктов этого типа. Он включает стандарты качества для действующих веществ, общие стандарты для формулировок и общие стандарты для производства лекарств. В состав фармакопеи входят экспертные комитеты участвующих стран и других стран, а также ВОЗ в качестве наблюдателя.

Этот стандарт рассматривает микробиологический анализ фармацевтических продуктов, используемого сырья, воды, воздуха, оборудования или упаковочного материала, который жизненно важен для минимизации типа и количества присутствующих микроорганизмов. Продукты для парентерального введения или для глаз должны быть стерильными.

Лекарства считаются загрязненными, если в них превышен лимит условно-патогенных или нежелательных патогенных микроорганизмов, которые способны снижать эффективность продукта, продуцируя токсичные метаболиты или приводя к его физическому или химическому ухудшению. Неэффективная доза варьируется между видами и даже индивидуумами.

В этом руководстве будут описаны питательные среды и процедуры, сформулированные в соответствии с Фармакопеей, необходимые для следующих процедур:

- Тестирование на стерильность
- Тестирование нестерильных продуктов
- Микробиологический подсчет
- Микробиологический анализ воды





## Микробиологический анализ воды

Вода является наиболее часто используемым веществом в фармацевтической промышленности как для производства, так и в качестве ингредиента продукта или на одной из стадий производства, а также для мойки оборудования. Микробиологический контроль воды имеет жизненно важное значение на входе в очистные сооружения, на этапах очистки, хранения и распределения, поскольку микроорганизмы могут размножаться на любой стадии, описанной выше, что влияет на ее качество.

Образцы воды следует анализировать, чтобы избежать изменений в процессе подсчета микробов. После взятия пробы ее необходимо хранить при температуре от 2 до 10 °С. Подсчет должен быть выполнен в течение 8 часов, а анализ на бактерии группы кишечной палочки - в течение 30 часов. Записи о взятии проб, приеме и анализе должны демонстрировать соблюдение установленных сроков.

Воду для фармацевтического использования можно классифицировать по использованию и способу производства.

- Вода для инъекций: используется в качестве носителя (основная вода для инъекций) или в качестве разбавителя веществ / препаратов для приготовления лекарств для парентерального введения.
- Очищенная вода: используется для приготовления лекарств, требующих стерильности и апиrogenности, за исключением разрешенных.
- Вода для приготовления экстрактов: для приготовления экстрактов лекарств.
- Высокоочищенная вода: ее цель - приготовление лекарственных средств, для которых требуется высокое биологическое качество (за исключением тех случаев, когда вода используется для инъекций).

**ОЧИЩЕННАЯ ВОДА: 100 КОЕ / мл.**

**ОЧИЩЕННАЯ ВОДА: 10 КОЕ / 100 мл.**  
(Используйте не менее 200 мл образца)

**ВОДА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ: 10 КОЕ / 100 мл.**  
(Используйте не менее 200 мл образца)

**ВОДА ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ: 100 КОЕ / 100 мл.**

**ОЧИЩЕННАЯ ВОДА ДЛЯ ХРАНЕНИЯ: 100 КОЕ / 100 мл.**

Тестируют с помощью фильтрующей мембраны с размером пор не более 0,45 мкм. Культивирование в агаре R2A (кат. 1071)

Инкубация при 30-35 °С // 5 дней

Тестируют с помощью фильтрующей мембраны с размером пор не более 0,45 мкм. Культивирование на триптоказеино-соевом агаре (TSA) (кат. 1068)

Инкубация при 30-35 °С // 5 дней

## Тестирование на стерильность

Целью теста на стерильность является проверка отсутствия контаминации микроорганизмами продуктов, которые, согласно фармакопеям, должны быть стерильными, независимо от того, были ли они стерилизованы или приготовлены в асептических условиях. Удовлетворительный результат указывает на отсутствие контаминирующих микроорганизмов в образце, исследованном в условиях испытания. Для достижения таких условий среда тестирования должна быть адаптирована к способу проведения теста на стерильность. Эти условия регулярно контролируются путем отбора соответствующих проб в рабочей зоне.

Данный тест впервые появился в Британской фармакопее в 1932 году, а затем в Фармакопее Соединенных Штатов в 1936 году для стерильных растворов. За прошедшие годы были внесены постоянные изменения, которые привели к совершенствованию методов обнаружения загрязнения в этом типе продуктов.



### Аэробный, анаэробный тест и тест на стимуляцию роста грибов

#### АЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

*(Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa)*

#### АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

*(Clostridium sporogenes)*

#### АЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

*(Bacillus subtilis)*

#### АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ

*(Candida albicans, Aspergillus brasiliensis)*

Инокулируйте в отдельные контейнеры с жидкой тиогликолевой средой (кат. 1508) с содержанием <100 КОЕ каждого вида, описанного выше.

Инокулируйте в отдельные контейнеры с триптоказеино-соевым бульоном (TSB) (кат. 1224), содержащим <100 КОЕ каждого вида, описанного выше.

Инкубируйте бактерии не более 3 дней, а грибы и дрожжи - не более 5 дней.

## Проверка пригодности метода

Этот тест должен проводиться одновременно с тестом на стерильность исследуемого продукта. Его проводят, когда необходимо провести испытание на стерильность нового продукта или при изменении экспериментальных условий испытания.

Используйте ту же процедуру, что и в описанной ниже Проверке стерильности исследуемого продукта, за исключением следующих изменений.

### А МЕТОД МЕМБРАННОЙ ФИЛЬТРАЦИИ

После переноса содержимого контейнера (контейнеров) с продуктами, которые необходимо исследовать, на мембрану фильтра, внесите небольшое количество жизнеспособных микроорганизмов (<100 КОЕ) в конечное количество стерильного разбавителя, используемого для промывки фильтра.

### Б МЕТОД ПРЯМОГО ПОСЕВА

После переноса содержимого контейнера (контейнеров) с исследуемыми продуктами в культуральную среду засеять небольшое количество жизнеспособных микроорганизмов (<100 КОЕ).

В обоих случаях используйте те же микроорганизмы, которые описаны в тесте на стимуляцию роста аэробов, анаэробов и грибов. Проведите тест на стимуляцию роста в качестве положительного контроля. Инкубируйте контейнеры не более 5 дней.

## Проверка стерильности исследуемого продукта

### А МЕТОД МЕМБРАННОЙ ФИЛЬТРАЦИИ

Анализируемый продукт:

- Водные растворы
- Растворимые твердые вещества
- Масла и масляные растворы
- Полутвердые вещества (кремы и мази)

### Б МЕТОД ПРЯМОГО ПОСЕВА

Анализируемый продукт:

- Маслянистые жидкости
- Полутвердые вещества (кремы и мази)
- Шовная нить и сопутствующие товары для животных

Инкубируйте инокулированную среду в течение 14 дней.

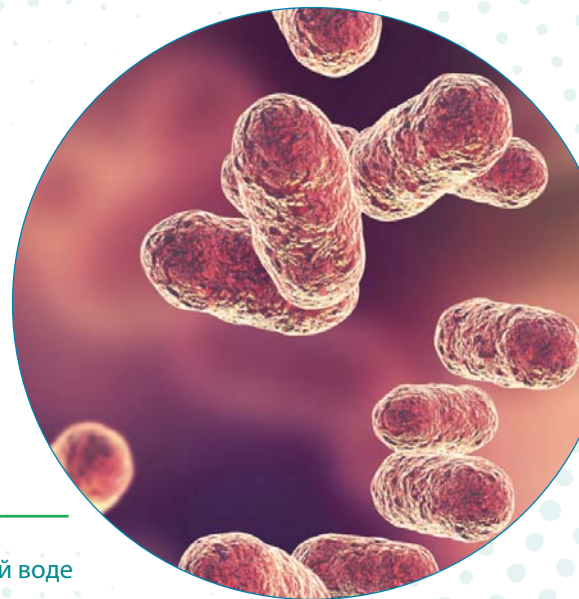
Во время инкубации и по истечении периода наблюдайте макроскопические признаки роста микробов. Если среда становится слишком мутной, чтобы определить наличие / отсутствие роста микробов, перенесите 1 мл в новую среду и инкубируйте не менее 4 дней.

Если нет доказательств роста микробов, продукт соответствует тесту на стерильность.

# Микробиологическое тестирование I, подсчёт микроорганизмов

**ТАМС (общее количество аэробных микробов);**  
**ТУМС (общее количество дрожжей и плесени)**

Тесты, описанные в этом разделе, позволяют определить количество мезофильных бактерий, общее количество аэробных микробов (ТАМС) и количество грибов, общее количество дрожжей и плесени (ТУМС), которые могут расти в аэробных условиях.



## А – МЕТОД МЕМБРАННОЙ ФИЛЬТРАЦИИ

### ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10 в забуференной пептонной воде (кат. 1401) при pH 7,0 и гомогенизируйте.

Этот основной раствор можно дополнить нейтрализаторами и поверхностно-активными веществами.

### ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Перенести 10 мл раствора на фильтрующую мембрану (размер пор 0,45 мкм)

### ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА ДРОЖЖЕЙ И ПЛЕСЕНИ

Перенести 10 мл раствора на фильтрующую мембрану (размер пор 0,45 мкм)

Промойте каждую мембрану 3 раза, используя каждый раз 100 мл забуференной пептонной воды (кат. 1401) при pH 7,0.

### ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Перенесите мембрану в триптоказеино-соевый агар (TSA) (кат.1068).  
Инкубация при 30-35 °C // 5 дней.

### ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА ДРОЖЖЕЙ И ПЛЕСЕНИ

Перенесите мембрану на чашки с агаром Сабуро с декстрозой (кат. 1024)  
Инкубация при 20-25 °C // 5-7 дней.

Рассчитайте КОЛИЧЕСТВО КОЕ на грамм или миллилитр продукта.

## Б – МЕТОД ПРЯМОГО ПОСЕВА

### Б1 – Метод глубинного посева

### ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10 в забуференной пептонной воде (кат. 1401) при pH 7,0 и гомогенизируйте.

Этот основной раствор можно дополнить нейтрализаторами и поверхностно-активными веществами.

### ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Перенесите 1 мл исходного раствора хотя бы в одну пустую и стерилизованную чашку Петри. Добавьте 15-20 мл триптоказеино-соевого агара (TSA) (кат. 1068) при <45 °C  
Инкубация при 30-35 °C // 5 дней.

### ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА ДРОЖЖЕЙ И ПЛЕСЕНИ

Перенесите 1 мл исходного раствора хотя бы в одну пустую и стерилизованную чашку Петри. Добавьте 15-20 мл агара Сабуро с декстрозой (кат. 1024) при <45 °C.  
Инкубация при 20-25 °C // 5-7 дней.

Выберите чашки, соответствующие данному разведению и содержащие наибольшее количество колоний меньше 250 для ТАМС и 50 для ТУМС.

Найдите среднее арифметическое подсчетов. Рассчитайте количество КОЕ на грамм или миллилитр продукта.

## Б2 – Поверхностный метод

### ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10 в забуференной пептонной воде (кат. 1401) при pH 7,0 и гомогенизируйте.

Этот основной раствор можно дополнить нейтрализаторами и поверхностно-активными веществами.

### ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА АЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Перенесите не менее 0,1 мл исходного раствора в чашку с триптоказеино-соевым агаром (TSA) (кат. 1068). Инкубация при 30-35 °C // 120 часов.

### ПОДСЧЕТ ОБЩЕГО КОЛИЧЕСТВА ДРОЖЖЕЙ И ПЛЕСЕНИ

Перенесите не менее 0,1 мл основного раствора в чашку с агаром Сабуро с декстрозой (кат.1024) Инкубация при 20-25 °C // 5-7 дней.

Рассчитайте количество КОЕ на грамм или миллилитр продукта.

## В – МЕТОД НАИБОЛЕЕ ВЕРОЯТНОГО ЧИСЛА (ТАМРС)

### ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10 в забуференной пептонной воде (кат. 1401) при pH 7,0 и гомогенизируйте.

Этот основной раствор можно дополнить нейтрализаторами и поверхностно-активными веществами.

Сделайте два серийных разведения исходного раствора по 1 мл / разведение в двух пробирках с 9 мл триптоказеино-соевого бульона (TSB) (кат. 1224).

Используя первые три разведения, приготовьте еще три разведения, используя по крайней мере 3 пробирки на одно разведение в триптоказеино-соевом бульоне (TSB) (кат. 1224) в концентрации 1:10. Инкубация при 30-35 °C / 120 часов.

Используя первые три разведения, приготовьте еще три разведения, используя по крайней мере 3 пробирки на одно разведение в триптоказеино-соевом бульоне (TSB) (кат. 1224) в концентрации 1:10. Инкубация при 30-35 °C / макс. 3 дня.

### ПОДТВЕРЖДЕНИЕ

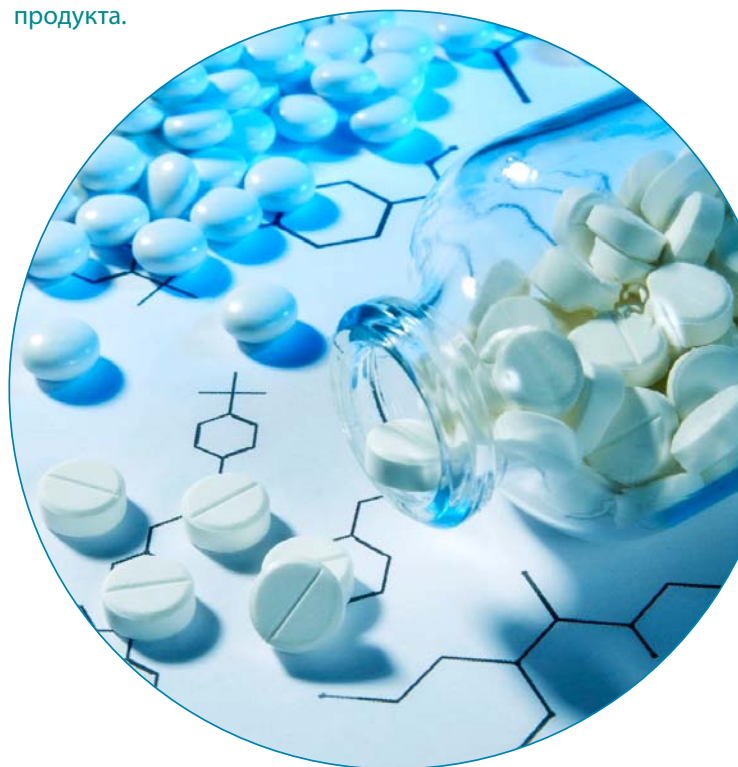
#### Пробирки с мутностью

Выполните пересев в тот же бульон или на чашку с триптоказеино-соевым агаром (TSA) (кат.1068). Определите наиболее вероятное количество микроорганизмов в граммах или миллилитрах продукта.

### ПОДТВЕРЖДЕНИЕ

#### Пробирки без мутности

Определите наиболее вероятное количество микроорганизмов на грамм или миллилитр продукта.





## Escherichia coli

Данный микроорганизм принадлежит к семейству Enterobacteriaceae; это грамотрицательная подвижная неспорообразующая палочка. Кроме того, она лактозоположительная и оксидазотрицательная. Escherichia coli можно отличить от других колиформ по способности продуцировать индол из триптофана или по продукции фермента β-глюкуронидазы. Эти характеристики используются для селективной изоляции и подтверждения в различных процессах анализа.

Эти широко распространенные бактерии обнаруживаются в кишечнике человека и теплокровных животных. Их высокое присутствие в кишечном тракте и фекалиях делает их маркером, указывающим на плохую гигиену или фекальное загрязнение во время производства или обращения с лекарствами. Их присутствие используется в качестве маркера того, что могут присутствовать другие патогенные организмы фекального происхождения, особенно в продуктах, предназначенных для перорального потребления, и в натуральном сырье.

На сегодняшний день тесты в соответствии с Европейской фармакопеей также предполагают определение концентрации Escherichia coli.



### МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

#### ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10, растворив по крайней мере 1 г / 1 мл продукта, который нужно исследовать, в забуференной пептонной воде (кат. 1401) и гомогенизируйте.

В этот основной раствор можно добавлять нейтрализаторы и поверхностно-активные вещества.

#### ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Распределите 10 мл основного раствора или количество, соответствующее 1 г / 1 мл продукта, в 100 мл триптоказеино-соевого бульона (TSB) (кат. 1224) и гомогенизируйте. Инкубация при 30-35 °C // 18-24 часа.

#### СЕЛЕКТИВНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Снова распределите 1 мл триптоказеино-соевого бульона в 100 мл бульона МакКонки (кат.1210). Инкубация при 42-44 °C // 24-48 часов.

#### СЕЛЕКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ

Выполните пересев на агар МакКонки (кат. 1052). Инкубация при 30-35 °C // 18-72 часа.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рост колоний в среде указывает на возможное присутствие E. coli. Подтверждение идентификационным тестом. Продукт считается прошедшим тест, если колонии не наблюдаются или результаты идентификационных тестов отрицательны.



## Желчеустойчивые грамотрицательные бактерии

Возбудители инфекций оказали решающее влияние на эволюцию истории человечества. В настоящее время они являются одной из основных причин смертности в мире, вызывая значительное количество инфекций.

Грамотрицательные бактерии характеризуются двойной клеточной мембраной, одной внешней и одной цитоплазматической, где может быть обнаружена тонкая стенка пептидогликана, которая не позволяет им удерживать краситель во время окрашивания по Граму. Структура внешней мембраны включает внешнюю часть, состоящую из комплекса липополисахаридов, липидная часть которых действует как эндотоксин и отвечает за патогенную способность микроорганизма. Эта внешняя мембрана защищает их от антибиотиков, таких как пенициллин, красители или детергенты, что позволяет им заселять среду, которую другим микроорганизмам трудно колонизировать.

Грамотрицательные бактерии, устойчивые к солям желчных кислот, включают *Escherichia*, *Pseudomonas* и *Aeromonas*.

### МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

#### ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10, растворив по крайней мере 1 г продукта, который нужно исследовать, в триптоказеино-соевом бульоне (кат. 1224) и гомогенизируйте. Инкубация при 20-25 °C // 2-5 часов.

В этот основной раствор можно добавлять нейтрализаторы и поверхностно-активные вещества.

#### А – ТЕСТ НА ОТСУТСТВИЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И ДРУГИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

##### ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Если не указано иное, распределите объем, соответствующий 1 г продукта, в 100 мл бульона Мосселя ЕЕ (кат. 1202). Инкубация при 30-35 °C // 24-48 часов.

##### СЕЛЕКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ

Субкультивировать в чашках с агаром с желчью, глюкозой и фиолетовым красным (VRBG) (кат. 1092). Инкубация при 30-35 °C // 18-24 часа.

##### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Продукт считается прошедшим тест, если рост колоний не наблюдается.

#### Б – КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ И ДРУГИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ

##### ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Приготовьте три пробирки с растворами, содержащими 0,1 г, 0,01 г и 0,001 г исследуемого продукта в 10 мл бульона Мосселя ЕЕ (кат. 1202). Инкубация при 30-35 °C // 24-48 часов.

##### СЕЛЕКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ

Выполните пересев на агар с желчью, глюкозой и фиолетовым красным (VRBG) (кат. 1092). Инкубация при 30-35 °C // 18-24 часа.

##### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рост колоний свидетельствует о положительном результате. Запишите наименьшее количество продукта, которое дает положительный результат, и наибольшее количество, которое дает отрицательный результат. Определите по таблице 2.6.13.2 Европейской фармакопеи.

## Salmonella

Salmonella - это очень разнообразный род микроорганизмов, включающее около 2300 различных серотипов. Это одна из четырех основных причин диарейных заболеваний. Эта группа бактерий существует в форме грамотрицательных палочек (поскольку они принадлежат к огромной группе энтеробактерий), они факультативно анаэробны и подвижны посредством жгутиков. Кроме того, они ферментируют глюкозу, но не ферментируют лактозу и не продуцируют уреазу.

По оценкам, сальмонеллез ежегодно поражает десятки миллионов людей во всем мире и вызывает более 100 000 смертей. Этот род бактерий является причиной миллионов госпитализаций во всем мире, и это число может увеличиться до 30 раз, если включить не диагностированные инфекции, поскольку они обычно могут вызывать нормальный процесс диареи. Salmonella ведет себя как факультативный внутриклеточный патоген, который, в зависимости от серотипа, инокулята, факторов вирулентности, выраженных штаммом, вовлеченного хозяина и иммунного статуса пациента, может вызывать желудочно-кишечную инфекцию от средней до тяжелой степени тяжести, а также системную инфекцию.

Данный микроорганизм широко распространен в природе и как нормальная флора кишечного тракта у животных и человека. В отличие от других микроорганизмов, вызывающих заболевания желудочно-кишечного тракта, он обычно встречается в натуральном сырье, что делает жизненно важным его исследование, особенно сырье животного происхождения.



### МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10, растворив по крайней мере 10 г / 10 мл продукта, который нужно исследовать, в триптоказеино-соевом бульоне (TSB) (кат. 1224), и гомогенизируйте. Инкубация при 30-35 °C // 18-24 часа.

Триптоказеино-соевый бульон может быть дополнен нейтрализаторами и поверхностно-активными веществами.

#### СЕЛЕКТИВНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

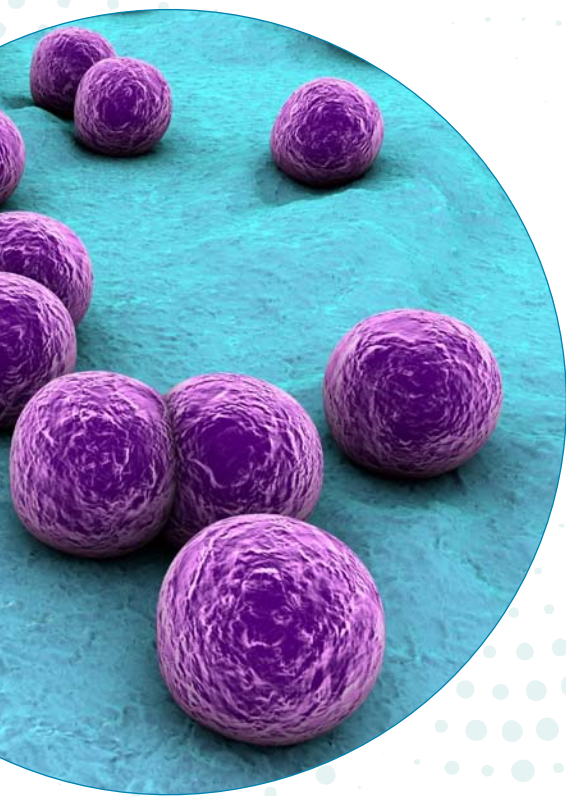
Распределить 0,1 мл триптоказеино-соевого бульона в 10 мл бульона Раппапорта-Вассилиадиса (кат. 1414). Инкубация при 30-35 °C // 18-24 часа.

#### СЕЛЕКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ

Выполните пересев на агар XLD (кат. 1080). Инкубация при 30-35 °C // 18-48 часов.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Идентифицируйте как сальмонеллу все красные колонии с черным центром или без него. Подтверждение с помощью идентификационного теста. Продукт считается прошедшим тест, если колонии описанного типа не наблюдаются или результаты подтверждающих тестов отрицательны.



## Staphylococcus aureus

Данный микроорганизм принадлежит к семейству Staphylococcaceae. Это факультативные анаэробные кокки, собранные в группы, грамположительные, неподвижные и не образующие спор. Среди наиболее отличительных характеристик - выработка факторов вирулентности, таких как коагулазы и каталазы, которые используются для подтверждающих тестов после изоляции. Это широко распространенный во всем мире микроорганизм, который действует как комменсал в эпителии человека и слизистых оболочках. Он часто обнаруживается во рту, крови, молочных железах, кишечнике, мочеполовых путях и дыхательных путях.

Это также условно-патогенный микроорганизм, вызывающий острые и гнойные инфекции, которые, если их не лечить, могут распространяться на окружающие ткани или другие органы через бактериемию. К типам инфекций, вызываемых этим микроорганизмом, относятся, среди прочего, пневмония, остеомиелит и острый эндокардит. Присутствие стафилококков и, в частности, рода *S. aureus* в сырье, фармацевтических или косметических продуктах указывает на то, что источником заражения может быть человек, то есть операторы. Эти микроорганизмы могут переноситься через пыль, кожу, одежду и капли влаги, возникающие при движении, разговоре и чихании.

### МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10, растворив по крайней мере 1 г / 1 мл продукта, который нужно исследовать, в триптоказеино-соевом бульоне (TSB) (кат.1224) / забуференной пептонной воде (кат.1401) при pH 7,2 и гомогенизируйте.

В этот основной раствор можно добавлять нейтрализаторы и поверхностно-активные вещества.

#### ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Распределите 10 мл основного раствора или количество, соответствующее 1 г / 1 мл продукта, в 100 мл триптоказеино-соевого бульона (TSB) (кат. 1224) и гомогенизируйте. Инкубация при 30-35 °C // 18-24 часа.

#### СЕЛЕКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ

Выполните пересев на солевой агар с маннитолом (MSA) (среда Чапмена) (кат. 1062). Инкубация при 30-35 °C // 18-72 часа.

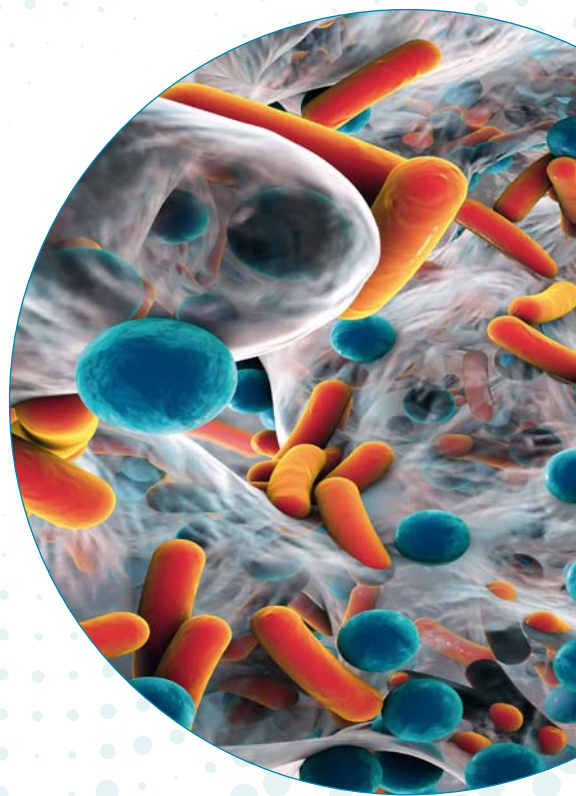
#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рост белых колоний, окруженных желтой зоной, указывает на возможное присутствие *Staphylococcus aureus*. Подтверждение посредством идентификационного теста. Продукт считается прошедшим тест, если колонии описанного типа не наблюдаются или подтверждающие тесты отрицательны.

## Pseudomonas aeruginosa

Данный микроорганизм принадлежит к семейству Pseudomonadaceae. Это прямые или изогнутые бациллы, строго аэробные, грамотрицательные, подвижные и не образующие спор. Кроме того, они являются положительными по каталазе, что позволяет использовать эту характеристику для последующей идентификации. Эта группа бактерий способна вырабатывать различные пигменты, такие как пиоцианин и флуоресцеин. Поэтому были разработаны различные питательные среды для стимулирования производства этих пигментов и, таким образом, для идентификации различных видов.

Этот микроорганизм сочетает в себе способность адаптироваться к различным экосистемам с широким спектром факторов вирулентности, а спектр заболеваний, которые он может вызвать, варьируется от легкой инфекции до сепсиса. Во время своего механизма действия он прикрепляется к эпителиальным клеткам с помощью полярных пилей и, будучи прикрепленным, вырабатывает протеазы, гемолизины, экзотоксины и эндотоксины, которые повреждают ткани.



Инфекция *P. aeruginosa* часто связана с загрязнением воды и водных растворов. Одной из самых тяжелых инфекций, вызываемых этим микроорганизмом, является эндокардит из-за внутривенного введения лекарств, когда они вводятся пациенту вместе с раствором или суспензией. Следовательно, важно обнаружение его присутствия в фармацевтических продуктах, которые должны вводиться ингаляционным и окулярным путем или в водных носителях. Косметика также может быть подвержена этому типу загрязнения, особенно жидкости и кремы.

Кроме того, *P. aeruginosa* может заселять системы очистки воды за счет образования биопленок, структур, которые очень трудно устранить с помощью антимикробных агентов. Его устойчивость к противомикробным препаратам - одна из самых серьезных проблем в мире.

### МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10, растворив по крайней мере 1 г продукта, который нужно исследовать, в забуференной пептонной воде (кат. 1401) при pH 7 и гомогенизируйте.

В этот основной раствор можно добавлять нейтрализаторы и поверхностно-активные вещества.

#### ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Распределите 10 мл основного раствора или количество, соответствующее 1 г / 1 мл продукта, в 100 мл триптоказеино-соевого бульона (TSB) (кат. 1224) и гомогенизируйте. Инкубация при 30-35 °C // 18-24 часа.

#### СЕЛЕКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ

Провести субкультивирование в цетримидном агаре (кат. 1102) Инкубация при 30-35 °C в течение 18-72 часов.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рост колоний в среде указывает на возможное присутствие *Pseudomonas aeruginosa*. Подтверждение посредством идентификационного теста. Продукт считается прошедшим тест, если колонии не наблюдаются или подтверждающие тесты отрицательны.



## Clostridia

Данный микроорганизм принадлежит к типу Firmicutes. Для них характерны в основном грамположительные анаэробные бациллы. Большинство родов не образуют споры, но некоторые из них, например Clostridium, могут образовывать споры.

Эти бактерии широко распространены в природе, главным образом в почве и в кишечном тракте многих видов животных, включая человека, где они также могут быть обнаружены, как нормальная флора на коже и слизистых оболочках носоглотки, глотки, рта, уретры и влагалища. Они могут вызывать как эндогенные, так и экзогенные инфекции, поражая любой участок тела при благоприятных условиях в тканях. Они фундаментально вовлечены в абсцессы любого органа, колит, аппендицит, бактериемию, хронический средний отит, целлюлит, зубные и оральные инфекции, эндокардит и эндометрит.

Присутствие анаэробных микроорганизмов, особенно принадлежащих к роду Clostridium, обычно обнаруживается в натуральном сырье, порошке, крахмале и т.д., а также в лекарственных травах и фитотерапевтических препаратах.

### МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10, растворив по крайней мере 2 г / 2 мл продукта, который нужно исследовать, в триптоказеино-соевом бульоне (TSB) (кат. 1224) / забуференной пептонной воде (кат. 1401) при pH 7,2 и гомогенизируйте.

В этот основной раствор можно добавлять нейтрализаторы и поверхностно-активные вещества.

#### ДЕАКТИВАЦИЯ СПОР

Разделите образец на 2 пробирки не менее 10 мл. Нагрейте 1 порцию до 80 °C / 10 мин и быстро остудите. Не нагревайте вторую часть.

#### ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Разлить по 10 мл каждой порции исходного раствора в отдельные контейнеры с 100 мл усиленной среды для клостридий (кат. 1007). Инкубация при 30-35 °C // 48 часов.

#### СЕЛЕКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ

Выполните пересев на колумбийский агар (кат. 1104). Инкубация в анаэробных условиях при 30-35 °C в течение 48-72 часов.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

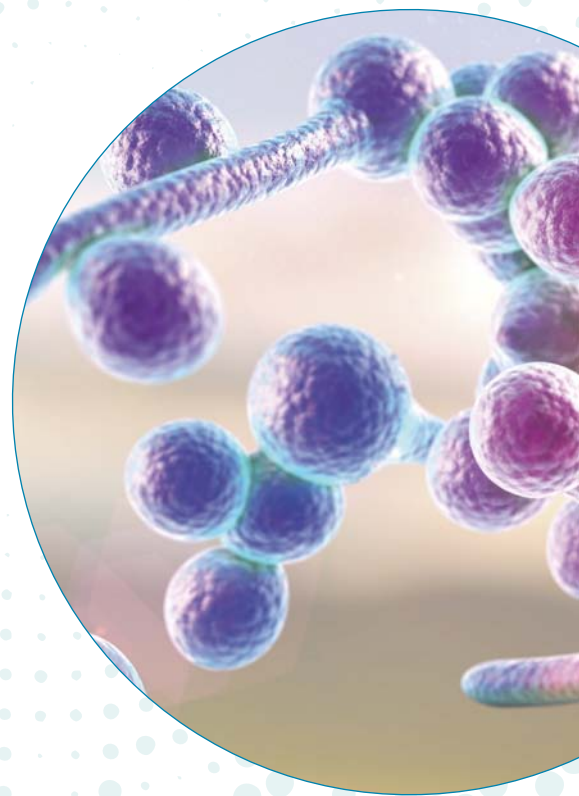
Рост колоний (со спорами / без) - признак отрицательной реакции на каталазу, что указывает на присутствие клостридий. Подтверждение идентификационным тестом.

## Candida albicans

Данный микроорганизм принадлежит к классу Saccharomycetaceae и роду Candida. Эти грибы развиваются в одноклеточной форме и являются сапрофитами человека. Они очень часто встречаются в полости рта, желудочно-кишечном тракте и влагалище. Хотя они выполняют очень важную функцию в ферментации определенных сахаров для организма, бывают случаи, когда этот микроорганизм действует как условно-патогенный микроорганизм, способный вызывать поверхностный или системный кандидоз у ослабленных людей, новорожденных и пожилых людей с недостаточностью иммунной системы.

Продукты с наибольшей подверженностью грибковому заражению — это офтальмологические растворы, мази, суппозитории, косметические средства, мыло, порошки и другие продукты, содержащие питательные вещества, богатые углеводами и жирными кислотами.

Следовательно, необходимо анализировать эти фармакологические продукты, чтобы определить присутствие этого микроорганизма и, таким образом, избежать последствий возможного заражения *C. albicans* у потребителя.



### МЕТОД ИССЛЕДОВАНИЯ

#### ПРИГОТОВЛЕНИЕ ОБРАЗЦА

Приготовьте разведение концентрации 1:10, растворив образец продукта, который нужно исследовать, в триптоказеино-соевом бульоне (TSB) (кат.1224) / забуференной пептонной воде (кат. 1401) при pH 7,2 и гомогенизируйте.

Этот основной раствор можно дополнить нейтрализаторами и поверхностно-активными веществами.

#### ПЕРВИЧНОЕ ОБОГАЩЕНИЕ

Распределите 10 мл основного раствора или количество, соответствующее 1 г / 1 мл продукта, в 100 мл бульона Сабуро с декстрозой (кат. 1205) и гомогенизируйте. Инкубация при 30-35 °C // 3-5 дней.

#### СЕЛЕКТИВНАЯ ИЗОЛЯЦИЯ

Выполните пересев в чашки с агаром Сабуро с декстрозой (кат.1024). Инкубация при 30-35 °C // 24-48 часов.

#### ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Рост белых колоний в среде указывает на возможное присутствие *Candida albicans*. Подтверждение посредством идентификационного теста. Продукт считается прошедшим тест, если эти колонии не наблюдаются или подтверждающие тесты дают отрицательный результат.

## ИНФОРМАЦИЯ ДЛЯ ЗАКАЗА

Кат.	Наименование	Упаковка
1071	Агар R2A (EP/USP)	500 г
1068	Агар триптиказеино - соевый (Trypticasein Soy Agar (TSA) (Eur. Pharm.))	500 г
1508	Жидкая тиогликолевая среда (Thioglycollate Fluid Medium European, USP)	500 г
1224	Бульон триптиказеино - соевый (Trypticasein Soy Broth (TSB) (Eur. Pharm.))	500 г
1401	Вода пептонная забуференная (Buffered Peptone Water (Eur. Pharm.))	500 г
1024	Агар Сабуро с декстрозой (Sabouraud Dextrose Agar (Eur. Pharm.))	500 г
1210	Бульон МакКонки (MacConkey Broth (Eur. Pharm.))	500 г
1052	Агар МакКонки (MacConkey Agar (Eur. Pharm.))	500 г
1202	Бульон Моссея (Mossel EE Broth (Eur. Pharm.))	500 г
1092	Агар с желчью, глюкозой и фиолетовым красным (Violet Red Bile Agar w/ Glucose (VRBG) ISO 21528 (Eur. Pharm.))	500 г
1414	Бульон Рапппорта-Вассилиадиса (Rappaport Vassiliadis Broth EP/USP)	500 г
1080	Агар XLD (ксилоза-лизин-дезоксихолат) (XLD AGAR (Xylose Lysine Desoxicholate) Eur. Pharm./USP)	500 г
1062	Агар маннит - солевой (Mannitol Salt Agar (MSA) (Chapman Medium USP) (Eur. Pharm.))	500 г
1102	Основа агара с цетримидом (Cetrimide Agar Base (Eur. Pharm.), USP)	500 г
1007	Усиленная среда для клостридий (Reinforced Clostridial Medium Eur. Pharm./USP)	500 г
1104	Основа колумбийского агара (Columbia Agar Base (Eur. Pharm.)) USP ISO 10272	500 г

