**ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ**

КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ, ВИРУСОЛОГИИ И ИММУНОЛОГИИ

**Стерильные лекарственные формы.**

**Источники загрязнения и методы бактериологического контроля**

**Микрофлора лекарственных растений и растительного сы­рья**

Микроорганизмы являются постоянными спутниками не толь­ко человека и животных, но и, в равной степени, высших расте­ний, в том числе используемых в качестве лекарственного сырья. В России используется более 200 видов лекарственных растений. Микроорганизмы поселяются и ведут активный образ жизни, как на поверхности, так и внутри зеленых частей растений, их корней, семян, плодов. Для приготовления лекарств служат самые разно­образные растения и работники аптечных учреждений, фармацев­тических фабрик и заводов должны обеспечивать сохранность ле­карственного сырья от микробной порчи.

Все микроорганизмы, населяющие лекарственные растения, можно разделить на две группы:

• представители нормальной микрофлоры растений;

• фитопатогенные микроорганизмы - возбудители заболева­ний растений

**1. Нормальная микрофлора растений**

Микроорганизмы являются постоянными обитателями растений, лекарственного сырья растительного происхождения. Различные группы микроорганизмов могут находиться на поверхности или внутри различных частей растений, их корней, семян, плодов, часть из них (фитопатогенные) могут приводить к болезням растений и порче лекарственного сырья. Работники аптечных учреждений должны способствовать сохранности лекарственного сырья от микробной порчи.

Микроорганизмы, населяющие лекарственные растения, можно разделить на две группы:

* представители нормальной микрофлоры растений;
* фитопатогенные микроорганизмы - возбудители заболеваний растений.

Нормальная микрофлора растений представлена *ризосферными* и *эпифитными* микробами.

Зона почвы, находящаяся в контакте с корневой системой растений, носит название *ризосферы*, а микроорганизмы, развивающиеся здесь, называют ризосферными. Количество микроорганизмов в ризосфере в сотни раз больше, чем в остальной почве. Почвенные микробы могут оказывать благоприятное воздействие на растения, что обусловлено:

* минерализацией органических веществ и растительных остатков;
* образованием различных факторов роста (витаминов, аминокислот, ферментов), усиливающих обменные процессы в растениях и способствующих усилению корневого питания;
* антагонизмом в отношении фитопатогенных микроорганизмов.

Состав микрофлоры ризосферы специфичен для различных растений. Основная масса прикорневой микрофлоры представлена грамотрицательными неспороносными бактериями рода Pseudomonas, микобактериями и грибами, главным образом базидиомицетами. Грибы образуют симбиоз с корнями растений, в том числе и лекарственных, называемый *микоризой*.

В зависимости от особенностей симбиоза грибов с растениями различают *эктотрофные* и *эндотрофные* микоризы. Эктотрофные – ассоциации, при которых гриб поселяется на их поверхности корней, образуя своего рода чехол из мицелия. При эндотрофных микоризах мицелий гриба располагается в клетках коры корней растений, где образует скопления в виде клубков.

Микориза благоприятна для развития растений:

* увеличивает поглощающую поверхность корней за счет разрастаний гиф гриба;
* грибы своими ферментами разлагают органические соединения, обеспечивая растения аминокислотами, минеральными веществами и водой;
* микоризные грибы снабжают растения ростовыми факторами.

Растения выделяют ряд веществ, стимулирующих развитие гриба. Грибы получают от растений углеводы, служащие источником энергии.

*Эпифитной* называется микрофлора, находящаяся на надземных частях растений. По качественному составу она довольно однообразна, типичными ее представителями являются Pseudomonas furbicola aurum - грамотрицательные короткие подвижные палочковидные бактерии, образующие колонии золотистого цвета на МПА; Pseudomonas fluorescens - полиморфные грамотрицательные палочковидные бактерии с полярно расположенными жгутиками, обусловливающие флуоресценцию при росте на МПА и МПБ. Реже встречаются споровые бактерии Bacillus mesentericus, плесневые и дрожжевые грибы. Эпифитные микроорганизмы являются антагонистами фитопатогенных бактерий, защищая растения от заболеваний.

**2.Фитопатогенные микроорганизмы**

Инфекционные болезни растений вызываются *фитопатогенными* микроорганизмами. Заражение растений происходит через инфицированные семена, почву, грунтовые и дождевые воды, насекомых. Основным источником является почва, т.к. в ней содержатся остатки неперегнивших растений.

Фитопатогенные микробы могут проникать в растения через естественные образования (чечевички, нектарники, желёзки, корневые волоски) и повреждения. Некоторые микроорганизмы вырабатывают ферменты, лизирующие кутикулу растений и облегчающие внедрение возбудителя. Попав в растение и достигнув критической концентрации, микроорганизмы вызывают заболевания. Различают *общие поражения* всего растения вследствие распространения возбудителя в сосудистой системе и местные или *очаговые* – поражения на листьях, стволах, ветвях, корнях и корневищах, возникающие при интрацеллюлярном распространении.

По совокупности анатомических и физиологических изменений определяют тип болезни растений:

Камеде-, смоло-, слизетечения. Чаще вызывают бактерии рода Erwinia и грибы (Ascomycetes), наблюдают у лиственных и хвойных деревьев.

Сухая и мокрая гниль. Размягчаются и разрушаются отдельные участи тканей растения за счет деятельности бактерий (род Pectobacterium) и грибов (Ascomycetes и несовершенные грибы).

Мучнистая роса. На листьях и побегах возникает белый налет, который является следствием размножения грибов (Ascomycetes).

Пожелтение, увядание, засыхание. Чаще всего вызывают грибы (Fungi imperfecti), реже бактерии (род Corynebacterium), может носить неинфекционный характер.

Чернь. На листьях и побегах появляется черная пленка вследствие развития грибов, бактерий рода Erwinia.

Ожог. Листья, молодые побеги, цветы, плоды буреют, чернеют. Возбудителями ожога являются бактерии рода Erwinia.

Пятнистость. Некоторые бактерии (род Pseudomonas), грибы (класс Ascomycetes и несовершенные грибы), вызывают образование разного цвета, формы, размеров пятен на листьях, плодах, семенах.

Опухоли. Местное увеличение ствола, ветвей, корней, корневищ в виде наростов, вздутий, утолщений за счет гиперплазии клеток. Эти заболевания вызывают бактерии (род Agrobacterium), грибы.

Язвы. Проявляются в виде углублений, часто окруженных наплывом. Вызываются бактериями (род Erwinia), грибами, механическими повреждениями.

Мозаика листьев. На листьях появляются бледно окрашенные пятна, чередующиеся с нормально окрашенными участками. Вызывается вирусами (вирус мозаичной болезни табака).

Ведьмины метлы. Образование побегов из спящих почек вызывают бактерии (род Rhisobium), грибы (класс Ascomycetes) и вирусы.

Деформация. Проявляется в изменении формы органов (искривление побегов, курчавость листьев, карликовость) вследствие поражения грибами (Ascomycetes и несовершенные грибы), вирусами (семейство Reoviridae).

Принципиально важным является отклонение от нормы обменных процессов вплоть до качественных изменений клеточных структур у больных растений, что приводит к изменению химического состава тканей и снижению содержания активных веществ. Использование их в качестве сырья в аптечных условиях становится невозможным.

Растительный организм обладает защитными механизмами, противодействующими внедрению и размножению фитопатогенных бактерий. К ним можно отнести особенности покровных тканей, высокую кислотность клеточного сока, образование биологически активных веществ – *фитонцидов*, подавляющих развитие микроорганизмов.

Для борьбы с фитопатогенными микроорганизмами проводятся следующие мероприятия:

**а. Биологические:**

- лечение антибиотиками,

- селекция, гибридизация,

- возделывание выносливых растений,

**б. Физико-химические:**

- удаление больных растений,

- сжигание листьев,

- дезинфекции семян и посадочного материала,

- дезинфекция почвы,

- опрыскивании растений химическими веществами,

- очистка и обработка семян,

- уничтожение переносчиков возбудителей болезней, обитающих на растениях.

в. **Карантинные:** - защита от завоза больных растений.

Высушенные растения, их части называют лекарственным сырьем. Из него готовят лекарственные препараты. Лекарственное сырье загрязняется микробами во время сборки, сушки, измель­чения, упаковки, хранения.

**Признаки порчи лекарственного сырья:** изменение цвета, гниение, плесень.

В испорченном сырье уменьшается количество лекарственных веществ и накапливаются токсины. Такое сырье непригодно для получения лекарственных препаратов.

Для оценки санитарного состояния лекарственного сырья определяют микробное число. Кол-во микробов в 1 г сырья назы­вается микробным **числом.**

Меры предупреждения **порчи** лекарственного **сырья:**

- уничтожать больные растения,

- соблюдать технологию транспортировки, сушки, хранения пе­реработки.

Фитопатогенные бактерии относятся к родам: *Erwinia, Pseudomonas, Xanthomonas, Corynebacterium, Pectobacterium, Rhisobium* (табл. 1). Вирусы вызывают более 20% болезней растений. Большинство фитопатогенных вирусов относится к семейству Reoviridae, родам Phytoreovirus, Fijvirus. Из фитопатогенных грибов следует отметить два класса – аскомицеты (Ascomycetes), и несовершенные грибы (Fungi imperfecti).

**Таблица 1. Фитопатогенные бактерии - возбудители**

**инфекционных заболеваний лекарственных растений**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Роды** | **Виды** | **Вызываемые заболевания** |
| Erwinia | E. amylovora | Ожог, увядание |
| Pseudomonas | P. syringae | Пятнистость |
| Xanthomonas | X. heterocea | Пятнистость, увядание |
| Corynebacterium | C.insidiosum, C. fasciens | Увядание |
| Pectobacterium | P. phetophtorum, P. aroidae | Гнили |
| Rhisobium | R. legyminosorum | Язвы |
| Agrobacterium | A. tumefaciens | Опухоли |

**3. Микрофлора растительного лекарственного сырья**

Лекарственное растительное сырье может инфицироваться патогенными микроорганизмами на всех этапах заготовки (сбор, первичная обработка, сушка, измельчение, упаковка) и хранения. При хранении сырья важно соблюдение санитарного режима в аптеках. Неблагоприятное действие оказывают влажность, пыль, насекомые и другие факторы, повышающие микробное обсеменение и приводящие к порче лекарственного сырья. Внешними проявлениями микробной порчи растительного сырья являются изменение цвета и консистенции, загнивание, плесневение всего растения или его частей. При этом резко снижается содержание или полностью исчезают фармакологически активные вещества, использование такого недоброкачественного сырья становится бесполезным или вредным. Легко портятся плоды, ягоды и корневища, богатые углеводистыми соединениями, более устойчивыми являются сухие листья, корни, кора.

Состав микроорганизмов зависит от вида лекарственного сырья, его структуры и фармакологических свойств. Преобладают грибы (Mucor, Penicillium, Aspergillus, Saccharomyces, Candida), актиномицеты и спорообразующие виды бактерий (B. subtillis, B. megatherium).

**4. Микрофлора готовых лекарственных форм**

Микробной порче подвергаются готовые лекарственные формы: сухие (порошки, сборы), жидкие (микстуры, настои, отвары, капли), мягкие (мази, пасты, шарики, свечи) и стерильные инъекционные препараты. Лекарства с высокой обсемененностью микробами, особенно патогенными, могут вызывать инфекционные заболевания у людей. **К фитозоонозам – инфекциям, вызываемым патогенными микроорганизмами, общими для теплокровных (включая человека) и растений** чаще всего относят кишечный иерсиниоз, листериоз, псевдотуберкулез, микотоксикозы. Размножение микроорганизмов в готовых лекарствах ведет к изменению их физических и органолептических свойств, появлению токсичности.

Микробная обсемененность лекарственных препаратов зависит от соблюдения в аптеке санитарно - эпидемического режима, регламентируемого в настоящее время **приказом МЗ РФ №309 от 21.10.97 «Об утверждении инструкции по санитарному режиму аптечных организаций (аптек)»**. Причиной микробного обсеменения готовых лекарств может быть микробное загрязнение растительного лекарственного сырья, воздуха производственных помещений, оборудования, посуды, дистиллированной воды, рук персонала.

*Инъекционные препараты, глазные капли и мази, препараты для новорожденных должны быть стерильными*. В ряде случаев инъекционные средства, оставаясь стерильными, обладают *пирогенными* свойствами. Пирогенная реакция организма человека, возникающая за счет применения лекарств, характеризуется повышением температуры, вазомоторными расстройствами, в тяжелых случаях – шоковым состоянием. Пирогенные вещества (пирогены), представляющие собой *эндотоксины* (преимущественно *грамотрицательных бактерий*), не инактивируются при кипячении, для их разрушения необходимо автоклавирование в течение 3 ч.

Причиной пирогенности лекарственных препаратов (появление эндотоксинов и вследствие – пирогенности) являются микробное загрязнение дистиллированной воды, нарушения асептики технологического процесса, увеличение времени между приготовлением раствора и стерилизацией.

Из жидких инъекционных лекарственных форм легче всего обсеменяются микробами настои и отвары; при их хранении появляются признаки порчи: муть, изменение цвета, пленка, необычный запах. Срок хранения этих препаратов ограничен. Спиртовые настойки меньше подвержены порче вследствие антимикробного действия алкоголя.

Сухие порошкообразные вещества, особенно тальк и крахмал, мягкие лекарственные формы также подвержены микробному загрязнению. Их микробная порча носит очаговый характер и проявляется изменением цвета и консистенции вещества.

Микробный состав готовых лекарств может быть представлен следующими группами:

-плесневые и дрожжевые грибы - Penicillium, Aspergillus, Mucor;

-кокки - сарцины, стафилококки;

-спороносные палочковидные бактерии - B. subtillis, B. mesentericus.

Предупреждение микробной порчи готовых лекарственных веществ возможно при соблюдении условий, снижающих их микробное загрязнение: соблюдение правил личной гигиены, качественное обеззараживание воздуха аптечных помещений, правильная обработка посуды, оборудования, при необходимости (стерильные лекарства) - асептическое изготовление.

**Микрофлора нестерильных лекарственных форм.**

Нестерильными называются лекарственные формы, в которых допускается содержание определенного количества непатогенных

микробов.

**Основные лекарственные формы:** настои, настойки, порошки,

таблетки, мази, капли и др.

**Признаки порчи** нестерильных лекарственных препаратов: из­менение цвета, неприятный запах, помутнение, осадок, пленка, изме­нение консистенции.

В жидких и мягких лекарственных формах условия для роста и размножения микроорганизмов более подходящие. Это связано с вы­соким содержанием воды, растительных масел и отсутствием консер­вантов в составе многих мазей. Более того, содержание в составе мазей антимикробных веществ не всегда гарантирует их микробную чистоту. В жидких лекарственных формах метаболиты микроорга­низмов могут изменить его химический состав, а также привести к образованию токсичных продуктов. В твёрдых лекарственных фор­мах риск микробной порчи минимален, так как отсутствуют условия для размножения микробов. Высокая загрязнённость сырья, его не­правильное хранение может приводить к изменению свойств.

Обсеменение лекарственного сырья может проходить на всех этапах его заготовки и при хранении. Активному размножению микроорганизмов способствует увлажнение растений и растительно­го сырья. Размножившиеся микроорганизмы приводят к измене­нию фармакологических свойств препаратов, полученных из лекар­ственных растений. Микроорганизмы могут также попадать из окру­жающей среды, от людей и обсеменять лекарственные препараты в процессе их изготовления из растительного сырья.

Для соблюдения санитарного режима изготовления лекарствен­ных препаратов проводится санитарно-микробиологический кон­троль объектов окружающей среды предприятия и каждой серии выпускаемой лекарственной формы. Контроль стерильности лекар­ственных средств проводится путем посева на тиогликолевую среду для выявления различных бактерий, в том числе анаэробов; при посеве на среду Сабуро выявляют грибы, главным образом рода Кандида. Стерильность лекарственных средств с антимикробным действием определяют путем мембранной фильтрации: фильтр после фильтрации исследуемого препарата делят на части и вносят для подращивания задержанных микроорганизмов в жидкие питатель­ные среды. При отсутствии роста препарат считается стерильным.

Лекарственные средства, не требующие стерилизации, содержат микроорганизмы, поэтому их испытывают на микробиологиче­скую чистоту: проводят количественное определение жизнеспособ­ных бактерий и грибов в 1г или 1мл препарата, а также выявля­ют микроорганизмы (бактерии семейства энтеробактерий, синегнойная палочка, золотистый стафилококк), которые не должны присут­ствовать в нестерильных лекарственных средствах.

В нестерильных лекарственных формах определяют:

1.Микробное число - количество бактерий и грибов в 1 г (мл).

2.Наличие кишечной палочки, золотистого стафилококка, синег-нойной палочки.

**Нормы микробов в нестерильных лекарственных формах:**

1. В 1г (мл) препарата для приема внутрь не более 1000 бактерий и 100 грибов.

2 В 1г (мл) препарата для местного применения - не больше 100 микробов, в т.ч. грибов.

3. В таблетированных препаратах не должно быть патогенной микрофлоры, а общая обсемененность не должна превышать 10 тыс. микробных клеток на таблетку.

4. Не допускается наличие кишечной папочки, золотистого стафи­лококка, синегнойной папочки.

Пути **повышения** микробной **чистоты** нестерильных **лекар­ственных средств.**

В зависимости от источников и путей попадания микроорга­низмов в лекарственные средства возможны различные подходы к обеспечению требуемого уровня микробной чистоты нестериль­ных лекарственных средств. Если микробное обсеменение вы­звано попаданием вместе с сырьём, то для достижения требуе­мого уровня микробной чистоты достаточно очистить от микро­организмов сырьё. Если обсеменение микробами происходит в процессе изготовления, то проводят деконтаминацию готовой лекарственной формы. Предварительного обеззараживания можно достичь прессованием сыпучих материалов (при отсутствии спо­ровых микроорганизмов, низкой влажности исходного порошка и высоком давлении). На практике применяют четыре способа деконтаминации сырья и готовых лекарственных средств.

**Термический способ.** Широко распространённый метод про­мышленной деконтаминации. Не пригоден для обработки термо­лабильных лекарственных форм, для которых применяют прогре­вание до 60-70 °С горячим воздухом, инфракрасное и высокочас­тотное излучение.

**Химический способ.** Более пригоден для стерилизации свето­непроницаемых веществ (бактерицидное действие реализуется лишь на глубине 1 мм). Наиболее часто его используют для обра­ботки упаковочного материала и технологической воды. Возможна обработка УФ-лучами формообразующих веществ (крахмала, таль­ка, сахара) в дисперсном состоянии (при перемешивании).

**Ионизирующее излучение.** Наиболее перспективный способ деконтминации сырья и готовых лекарственных форм. Ионизи­рующее излучение обладает высокой проникающей способностью. При облучении не образуются канцерогенные, мутагенные, токсич­ные вещества, сохраняются физико-химические и биологические свойства обрабатываемых лекарств. Метод используют для обра­ботки антибиотиков, витаминов, ферментов, гормонов и алкалои­дов.

**Стерильные и асептические лекарственные формы.**

**Стерильные (безмикробные) лекарственные формы** готовят в асептических условиях и стерилизуют. К ним относятся растворы для инъекций, глазные капли, препараты для детей до 1 года.

**Асептические лекарственные формы** готовят в асептических условиях без стерилизации.

**Асептика** - предупреждение попадания микробов в лекарствен­ный препарат. Асептические и стерильные лекарственные формы го­товят в асептических условиях:

1. Требования к помещению.

Помещение называется асептический блок. Уборка в нем произ­водится 1раз в смену с использованием дезинфицирующих растворов (хлорамин Б - 1%, перекись водорода - 3%). Для стерилизации воз­духа и поверхностей применяют бактерицидные лампы. Отбор проб для бактериологического исследования (силами центров ГСЭН) раз­личных объектов в аптеках проводится не менее 2 раз в квартал. Про­бы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью аппарата Кротова Микробное число воздуха в асептическом блоке не должно превышать 500 - 750 до и 1000 МК/м3 после работы, а золотистого стафилококка, плесневых и дрожжевых грибов не должно быть в 250 л воздуха ни до, ни после работы.

2.Требования к аптечной посуде, дистиллированной воде. Они обрабатываются в автоклаве (120 ° - 1атм. - 45 мин. или 132 °- 2 атм. - 20 мин).

3. Требование к персоналу. Персонал работает в стерильной одежде ( халат, шапочка, бахилы, марлевая повязка), обрабатывает руки дезраствором.

4 ( 0,5% р-р хлорамина Б или этанол - 80%). В стерильных ле­карственных формах содержание микроорганизмов не допускается, в асептических - допускается не более 10-15 в 1г (мл).

Нормативными документами, регламентирующими санитарный ре­жим аптечных организаций и микробиологический контроль качества ле­карственных средств являются:

- «Методические указания по микробиологическому контролю в аптеках», 1985 г.;

- Приказ МЗРФ № 53 от 25.03.94 года "Об усилении контроля ка­чества лекарственных средств";

- Приказ №118 от 14.06.94 года "Об аккредитации региональных (территориальных) контрольно-аналитических лабораторий (цен­тров контроля качества лекарственных средств) и сертификации ле­карственных средств в Российской Федерации";

- Приказ № 309 МЗ РФ от 21 октября 1997г. «Об утверждении инструкции по санитарному режиму аптечных организаций (аптек)» (см. придажение№3).

**5. Объекты санитарно-бактериологического обследования в**

**аптеках**

В аптеках согласно инструкции, утвержденной приказом Министерства здравоохранения, не менее двух раз в квартал осуществляется бактериологический контроль, объектами которого служат:

* вода дистиллированная;
* инъекционные растворы до и после стерилизации;
* глазные мази после стерилизации;
* глазные капли, приготовленные в асептических условиях на стерильной основе;
* сухие лекарственные вещества, используемые для приготовления инъекционных растворов;
* нестерильные лекарственные формы;
* аптечная посуда, пробки, прокладки, прочие материалы;
* инвентарь, оборудование, руки, санитарная одежда персонала;
* воздух аптечных помещений.

**6. Определение микрофлоры в лекарственных формах**

При исследовании лекарственных форм осуществляют:

* определение общего микробного числа (микробная обсемененность);
* определение бактерий группы кишечной палочки;
* определение дрожжевых и плесневых грибов;
* определение условно - патогенных и патогенных микроорганизмов.

*Общее микробное число* (ОМЧ) – количество микроорганизмов, содержащихся в 1 г (мл) препарата, определяют по числу выросших колоний.

Определение микробной обсемененности растительного лекарственного сырья

В асептических условиях (в стерильной чашке Петри, обоженными ножницами и пинцетом) из листа или верхнего слоя корневища вырезают кусочек площадью 1 см2, который помещают в пробирку с 10 мл стерильного физиологического раствора и взбалтывают в течение 5 мин. Из полученного смыва готовят четыре десятикратных разведения (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000), для посева в связи с большой обсемененностью растительного сырья используют два последних (1: 1000 и 1: 10000) разведения. В стерильную чашку Петри вносят 1 мл смыва, после чего в нее наливают 15 мл расплавленного и остуженного до 450С МПА, перемешивают и после застывания агара посевы инкубируют при 370С 24 - 48 ч. Производят подсчет выросших колоний на поверхности и в глубине агара. Полученное число колоний следует умножить на степень разведения.

Бактериологическое исследование стерильных лекарственных средств

Инъекционные растворы, глазные капли, лекарственные средства для новорожденных, другие лекарственные препараты, стерилизуемые в процессе их изготовления, засевают неразведенными в тиогликолевую среду для определения микробной обсемененности и среду Сабуро для выявления дрожжевых и плесневых грибов. Посевы на тиогликолевой среде выдерживают 14 суток при 370С, на среде Сабуро 14 суток при 240С. Учет результатов посевов проводят по отсутствию видимых изменений в посевах.

Определение микробной обсемененности готовых лекарств

Жидкие лекарственные формы разводят стерильным физиологическим раствором 1:10 (или 1:100) и засевают в объеме 0,5 мл на МПА в чашке Петри. 1г порошка или таблеток помещают в пробирку с 10 мл физиологического раствора и после растворения производят посев на МПА.

Мягкие лекарственные формы (мази, пасты) в количестве 1 г взвешивают в асептических условиях, переносят в пробирки с 10 мл стерильного 1,4% раствора натрия гидрокарбоната для диспергирования, которое производят вращательным движением пробирки между ладонями в течение 2-4 мин., 0,5 мл полученного раствора засевают на МПА в чашках Петри. Чашки с посевами помещают в термостат на 48 ч, затем подсчитывают число колоний и определяют количество бактерий в 1 мл или 1 г образца.

Определение общего количества грибов

Определение общего количества грибов проводят на твердой среде Сабуро, на которую засевают 0,5 мл цельного или разведенного 1:10 препарата. Посевы инкубируют при 240С в течение 5 суток, затем подсчитывают число выросших колоний и определяют количество грибов в 1 мл (1 г) препарата.

Качественное определение условно - патогенных и патогенных микроорганизмов

1. Определение бактерий семейства Enterobacteriaceae (роды Escherichia, Salmonella, Shigella).

Посев лекарственных средств производят на среду Эндо и висмут -сульфитный агар. Идентификацию энтеробактерий осуществляют следующим образом: если в образце обнаружены грамотрицательные неспоровые палочки, дающие отрицательную реакцию на цитохромоксидазу, ферментирующие глюкозу и восстанавливающие нитраты в нитриты, исследуемый препарат содержит бактерии семейства Enterobacteriaceae.

2. Определение патогенных стафилококков.

Определение патогенных стафилококков производят посевом на желточно - солевой агар. На этой среде патогенные стафилококки вызывают расщепление лецитина, проявляющееся в образовании вокруг колоний зоны помутнения с радужным венчиком по периферии. Выделенную чистую культуру исследуют на наличие плазмокоагулазы.

3. Выявление Pseudomonas aeruginosa.

Осуществляют на среде с глицерином. Синегнойная палочка на этой среде образует зеленоватые флуоресцирующие колонии, выделяющие в среду сине - зеленый пигмент.

4. Выявление протея. Производят посевом на МПА по Шукевичу.

Наличие условно - патогенных и патогенных микроорганизмов в лекарственных препаратах недопустимо. В соответствии с требованиями Государственной фармакопеи XI издания приняты следующие критерии оценки микробной обсемененности лекарственных средств (табл. 2)

Таблица 2

**Нормативы предельно допустимого содержания**

**непатогенных микроорганизмов в лекарственных формах**

|  |  |
| --- | --- |
| Лекарственные средства | Содержание микроорганизмов в 1 г/мл |
| Инъекционные растворы перед стерилизацией, не позднее 1,5 ч после приготовления | Не более 30 |
| Инъекционные растворы после стерилизации | Стерильны |
| Глазные капли, средства для новорожденных | Стерильны |
| Дистиллированная вода для приготовления стерильных растворов | Не более 15 |
| Препараты для местного применения (на кожу, слизистую носа, гинекологические) | Не более 100, в том числе не более 10 грибов |
| Пероральные препараты | Не более 1000, в том числе не более 100 грибов |

Определение пирогенности

Пирогенность (повышение температуры тела) обусловлена наличием в стерильных лекарственных препаратах продуктов распада бактерий (липополисахаридов). Стерильные инъекционные растворы должны быть апирогенны.

Определение пирогенности проводят на здоровых кроликах обоего пола, не альбиносах, весом 2,5-3,0 кг, содержащихся на полноценном рационе. Испытуемую дистиллированную воду или лекарственные средства вводят трем кроликам в ушную вену в количествах и растворителях, предусмотренных соответствующими инструкциями.

Воду для инъекций и раствор лекарственного средства считают непирогенными если сумма повышений температуры у 3 кроликов меньше или равна 1,40С. Если сумма превышает 2,20С, то испытуемые растворы считают пирогенными. В случаях, когда сумма повышений температуры у 3 кроликов находится в пределах от 1,5 до 2,20С, испытание проводят на 5 кроликах. В этом случае раствор считают непирогенным, если сумма повышений температуры у всех 8 кроликов не превышает 3,70С.

Таблица 3. **Требования к микробиологической чистоте**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| №№  п/п | Наименование  объекта контроля | Требования к микробиологической чистоте | Нормативный  документ |
| 1 | Вода очищенная | Не более 100 микроорганизмов в 1 мл при отсутствии Enterobacteriaceae, P.aeruginosa, S.aureus | ФС 42-2619-97 |
| 2 | Вода для инъекций | Апирогенность | ФС 42-2620-97 |
| 3 | Инъекционные растворы после стерилизации\* | Стерильность | ГФ Х1, вып.2,стр.187 |
| 4 | Глазные капли после стерилизации | Стерильность | ГФ Х1, вып.2,стр.187 |
| 4.1 | Глазные капли, приготовленные в асептических условиях на стерильной воде | Стерильность | ГФ Х1, вып.2,стр.187 |
| 5 | Основное сырье (субстанции) для производства стерильных препаратов | Не более 100 микроорганизмов в мл при отсутствии Enterobacteriaceae, P.aeruginosa, S.aureus | ГФ Х1, вып.2,стр.187 |
| 6 | Лекарственные средства для новорожденных (растворы для внутреннего и наружного применения, глазные капли, масла для обработки кожных покровов) | Стерильность | Приказ МЗ СССР от 19.10.82 «Об усилении контроля за санитарным состоянием родильных домов, детских лечебно-профилактических учреждений и аптек» |
| 7 | Детские лекарственные средства (от 0 до 1 года) | Не более 50 бактерий и грибов в 1г или 1 мл при отсутствии Enterobacteriaceae, P.aeruginosa, S.aureus | Изменение к статье ГФ Х1, вып.2, стр.187  «Методы микробиологического контроля лекаственных средств»(1995г.)  Методические указания по приготовлению стерильных растворов в аптеках (1994г.) |

**\***Интервал времени от начала изготовления раствора до стерилизации не должен превышать 3-х часов.

ИСПОЛЬЗУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА:

1. Интернет
2. Микробиология и иммунология / Под ред.А.А.Воробьева.- М.: Медицина, 2001г.
3. Методические рекомендации «фитопатогенная микрофлора. микробиологические методы исследования лекарственного сырья и готовых лекарственных форм» для студентов фармацевтического факультета по предмету «микробиология» (Омская государственная медицинская академия 2005год)