Питательные среды для определения предельной концентрации микроорганизмов



Микробиологические предельные тесты - это стандартизированные методы для многих фармацевтических сырьевых материалов и готовой продукции. Проведение испытаний и соблюдение этих стандартов, подробно описанных в разделе «Микробиологические предельные тесты», является базовым требованием для глобальной разработки, выпуска и распространения фармацевтических ингредиентов и лекарственных препаратов. Микробиологические предельные тесты проводятся для определения совместимости и безопасности лекарственных средств, а также для рутинного контроля качества.

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА НЕСТЕРИЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ

Три наиболее важные в мире фармакопеи (Европейская, Японская и Фармакопея США) опубликовали в 2009 году согласованные версии своих глав, посвященных микробиологическому исследованию нестерильных продуктов. Кроме того, издание Китайской фармакопеи 2016 года в основном согласовано в отношении состава питательных сред и критериев эффективности, хотя тестирование на стимуляцию роста необходимо проводить со штаммами из китайской коллекции штаммов. Эти методы касаются общего количества аэробных микроорганизмов (TAMC и TYMC) и тестирования на наличие определенных микроорганизмов.

Предлагаемый компанией MERCK ассортимент питательных сред для микробиологического исследования нестерильных продуктов соответствует требованиям Гармонизированной Фармакопеи. Компания MERCK тщательно отслеживает изменения в методах определения микробных пределов и оперативно внедряет любые изменения в состав или тестирование характеристик для соответствия питательных сред нормативным требованиям.

Широкий выбор продукции для всех питательных сред и веществ, необходимых для:

- Подготовка образцов
- Тесты для подсчета микроорганизмов
- Тесты на наличие определенных микроорганизмов

Ассортимент продукции MERCK для проведения микробиологических тестов на определение предельно допустимых концентраций микроорганизмов включает:

- Разбавляющие среды
- Обезвоженная культуральная среда (DCM)
- Питательная среда - готовая к использованию тарелка
- Питательная среда для культивирования – готовая к применению жидкая
- Нейтрализующие агенты

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА НЕСТЕРИЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ

Фармакопея. Тестирование микробных пределов.

Регулирующие органы обязаны проводить тестирование лекарственных препаратов и следовать методам, описанным в соответствующих фармакопеях, или валидированным методам.

ПРИМЕР ПОДГОТОВКИ К ИСПЫТАНИЯМ НА ПРЕДЕЛЬНУЮ КОНЦЕНТРАЦИЮ МИКРОБОВ

Выбор среды для разведения и используемых добавок зависит от свойств исследуемого образца. Для нейтрализации антимикробных свойств можно использовать нейтрализующие агенты.

Таблица 1. Продукты, используемые в качестве разбавителей и нейтрализующих агентов при подготовке образцов.

Средство / Вещество	**Назначение**
Буферизованный хлорид натрия Пептоновый раствор, pH 7,0 Фосфатный буферный раствор, pH 7,2 Соевый казеиновый бульон	Разбавители для всех обезжиренных продуктов, растворимые или нерастворимые в воде.
Полисорбат 80	Продукты, нерастворимые в воде; добавляются для улучшения суспендируемости жирных продуктов с низкой смачиваемостью. Нейтрализация четвертичных аммониевых соединений, йода и парабенов.
Изопропилмиристат	Разбавители для жирных продуктов
Лецитин	Трансдермальные пластыри. Нейтрализуют четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), парабены и бис-бигуаниды.
Гидросульфит натрия	Нейтрализация глутарового альдегида и ртутных соединений.
Глицин	Нейтрализация альдегидов
Тиогликолят	Нейтрализующие ртутные соединения
Тиосульфат	Нейтрализация ртутных соединений, галогенов и альдегидов.

Микробиологические предельные тесты для переписи микроорганизмов

Микробиологические анализы - это количественные методы определения уровня загрязнения мезофильными бактериями и грибами, растущими в аэробных условиях в фармацевтическом продукте.

Эти анализы включают определение общего количества аэробных микроорганизмов (TAMC) и общего количества дрожжей и плесени (TYMC). Наиболее распространенными методами являются мембранная фильтрация, подсчет колоний на чашках Петри или метод наиболее вероятного числа (MPN), выбор метода зависит от тестируемого продукта.

Перед выбором метода необходимо доказать его пригодность в присутствии данного продукта. Это включает подготовку подходящих тест-штаммов, проведение тестов на стимуляцию роста культуральных сред и проверку пригодности метода подсчета в присутствии продукта.

Таблица 2. Пригодность питательных сред для тестовых штаммов.

Тестовые штаммы	**Подготовка тестовых штаммов**	**Содействие росту**	**Пригодность метода подсчета в присутствии продукта**
Стафилококк золотистый	Агаровая среда или бульон на основе казеина сои	Агаровая среда или бульон на основе казеина сои	Агаровая среда с казеином сои (MPN) или бульон
Pseudomonas aeruginosa	Агаровая среда или бульон на основе казеина сои	Агаровая среда или бульон на основе казеина сои	Агаровая среда с казеином сои (MPN) или бульон
Bacillus subtilis	Агаровая среда или бульон на основе казеина сои	Агаровая среда или бульон на основе казеина сои	Агаровая среда с казеином сои (MPN) или бульон
Candida albicans	Агаровая среда Сабуро с декстрозой или бульон	Соевый казеиновый агар (TAMC) Декстрозный агар Сабуро (TYMC)	Соевый казеиновый агар (TAMC) Декстрозный агар Сабуро (TYMC)
Aspergillus brasiliensis	Агар Сабуро с декстрозой или картофельно-декстрозный агар с полисорбатом 80 (по желанию)	Соевый казеиновый агар (TAMC) Декстрозный агар Сабуро (TYMC)	Соевый казеиновый агар (TAMC) Декстрозный агар Сабуро (TYMC)

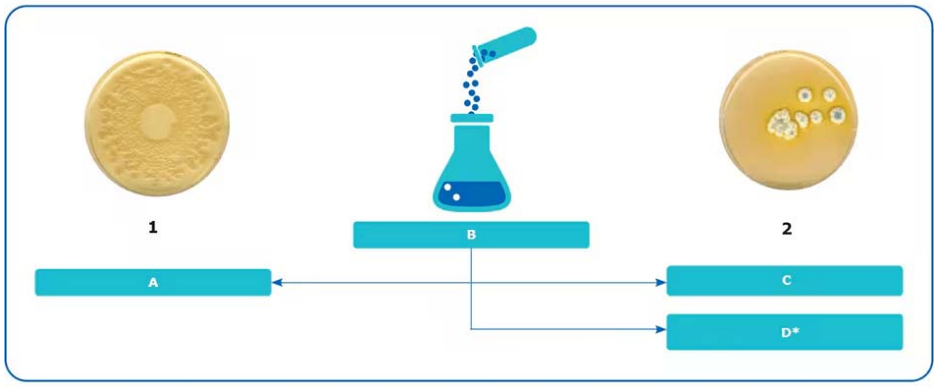


Рисунок 1. Схема проведения анализа количества микроорганизмов между 1. TAMC: смешанный рост микроорганизмов на агаре с соевым казеином и 2. TYMC: смешанный рост дрожжей и плесени на агаре с декстрозой Сабуро. A) Агар с соевым казеином B) Бульон с соевым казеином C) Агар с декстрозой Сабуро D) Агар с декстрозой Сабуро с хлорамфениколом*

*Может использоваться для подавления роста бактерий, угрожающего превышением критериев приемлемости TYMC.

Тесты на наличие определенных микроорганизмов



В зависимости от требований к микробиологическому качеству каждого нестерильного фармацевтического продукта производитель обязан определить отсутствие или ограниченное присутствие следующих семи микроорганизмов:

1. Желчеустойчивые грамотрицательные бактерии
2. Escherichia coli
3. Сальмонелла
4. Pseudomonas aeruginosa
5. Стафилококк золотистый
6. Клостридии
7. Candida albicans

Эти организмы служат в качестве общих индикаторных организмов, но в зависимости от характера продукта, его целевого применения, целевой группы и метода применения могут быть актуальны и другие патогенные микроорганизмы.

Приведенный ниже обзор необходимых питательных сред ограничивается конкретными требованиями Фармакопеи.

Организм:
Желчеустойчивые грамотрицательные бактерии
Разведение/обогащение:
бульон на основе соевого казеина, бульон для обогащения энтеробактериями, бульон из моллюсков.
Пересев: агар с фиолетовой красной желчью и глюкозой.

Организм:
Escherichia coli
Разведение/обогащение:
бульон на основе соевого казеина, бульон Макконки.
Пересев:
агар МакКонки

Организм:
Сальмонелла
Разведение/обогащение:
бульон на основе соевого казеина, бульон для обогащения сальмонеллы по Раппапорту-Василиадису.
Пересев:
агар с ксилозой, лизином и дезоксихолатом.

Организм:
Pseudomonas aeruginosa
Разведение/обогащение:
бульон, полученный из гидролизата соевого казеина
Пересев:
цетиримидный агар

Организм:
Стафилококк золотистый
Разведение/обогащение:
бульон, полученный из гидролизата соевого казеина
Пересев:
маннитоловый солевой агар

Организм:
Candida albicans
Разведение/обогащение:
бульон Сабуро с декстрозой
Пересев:
агар Сабуро с декстрозой
Организм:
Клостридии
Разведение/обогащение:
Усиленная среда для клостридий
Пересев:
Колумбийский агар

Разбавляющие среды

Кат. №	Название продукта	Описание продукта
1.46408	Буферный раствор хлорида натрия с пептоном	Объем бутылки 500 мл, объем наполнения 300 мл, тип крышки: синяя откидная крышка с перегородкой, упаковка из 6 бутылок.
1.46368	Буферный раствор хлорида натрия с пептоном	Объем бутылки: 1000 мл, объем наполнения: 1000 мл, тип крышки: синяя винтовая крышка с 3 пазами, упаковка из 6 бутылок.
1.46367	Буферный раствор хлорида натрия с пептоном	Объем бутылки: 125 мл, объем наполнения: 100 мл, тип крышки: синяя винтовая крышка с 3 пазами, упаковка: 10 бутылок.
1.46480	Буферный раствор хлорида натрия с пептоном	Объем бутылки: 125 мл, объем наполнения: 90 мл, тип крышки: синяя винтовая крышка с 3 пазами, упаковка: 70 бутылок.
1.46360	Буферный раствор хлорида натрия с пептоном	Объем бутылки 250 мл, объем наполнения 90 мл, тип крышки: синяя винтовая крышка с 3 пазами, упаковка из 6 бутылок.
8.17066	Изопропилмиристат	EMPROVE ® ESSENTIAL, доктор медицинских наук, Северная Каролина
429415	L-α-лецитин, соя	L-α-лецитин, соевый, CAS 8002-43-5, представляет собой концентрат соевого лецитина, состоящий более чем на 94% из фосфатидилхолина и менее чем на 2% из триглицеридов.
1.10582	Буферный раствор пептона с хлоридом натрия	GranuCult ® prime, в соответствии со стандартами EP, USP, JP, гранулированный, для аэробных бактерий, упаковка 500 г, упаковка 5 кг

Обезвоженная культуральная среда (DCM)

Кат. №	Название продукта	Описание продукта
1.05284	Цетримидный агар	GranuCult ® prime, JP, USP, EP, FDA-BAM, гранулированный, для борьбы *с Pseudomonas* spp., упаковка 500 г
1.10455	Колумбийский агар (основа)	для культивирования прихотливых микроорганизмов (в соответствии с EP/USP/JP и ISO).
1.05403	*Бульон для обогащения энтеробактериями* (EE) Моссель	GranuCult ® prime, в соответствии с EP, USP, JP, гранулированный, для *Escherichia coli* , для *Staphylococcus spp.* , для *Pseudomonas spp.* , упаковка 500 г
1.05465	агар МакКОНКИ	для выделения сальмонелл, шигелл и колиформных бактерий (в соответствии с EP/USP/JP).
1.05396	бульон Макконки	GranuCult ® prime, в соответствии со стандартами USP, EP, JP, гранулированный, для энтеробактерий, для *сальмонелл* , для *кишечной палочки* , упаковка 500 г
1.07666	Бульон для обогащения сальмонелл по Раппапорту-Василиадису	GranuCult ® prime, в соответствии со стандартами EP, USP, JP, гранулированный, для *борьбы с сальмонеллой* , упаковка 500 г.
1.05411	Усиленная клостридиальная среда (RCM)	GranuCult ® prime, в соответствии со стандартами USP, EP, JP, гранулированный, для борьбы *с Clostridium spp.* , упаковка 500 г.
1.05438	Агар Сабуро с декстрозой	GranuCult ® prime, декстроза 4 %, EP 5.6, USP 29, JP 4.05, гранулированный, для дрожжей, для плесени, упаковка 500 г и 5 кг
1.08339	Бульон Сабуро с декстрозой	GranuCult ® prime, декстроза 2 %, в соответствии с EP, USP, JP, гранулированный, для дрожжей, для плесени, упаковка 500 г
1.05458	Триптический соевый агар — обезвоженная культуральная среда	GranuCult ® prime, EP, USP, JP, ISO 11133, FDA (BAM), гранулированный, подходит для микробиологических исследований.
1.05459	Триптический соевый бульон - обезвоженная питательная среда	GranuCult ® prime, USP, EP, JP, ISO 21871, гранулированный, подходит для тестирования на патогены.
1.10275	Фиолетово-красный желчно-декстрозный агар	GranuCult ® prime, в соответствии со стандартами ISO 21528, USP, EP, JP, APHA, гранулированный, для энтеробактерий, упаковка 500 г

Питательная среда - готовые к использованию чашки Петри

Кат. №	Название продукта	Описание продукта
1.46048	Цетримидный агар	Чашки Петри Heimplate, USP, EP, JP, диаметр 90 мм, готовые к использованию, чашки Петри для длительной инкубации, асептически заполненные, упаковка из 20 чашек, для *Pseudomonas* spp.
1.46022	агар МАК Конки	Чашки Петри Heimplate, диаметр 90 мм, готовые к использованию, чашки Петри Settle, асептически заполненные, упаковка 20-120 чашек, для *Escherichia coli.*
1.46023	Маннитоловый солевой агар	Чашки Петри Heimplate, диаметр 90 мм, готовые к использованию, чашки Петри для длительной инкубации, асептически заполненные, упаковка 20-120 чашек, для *Staphylococcus spp.*
1.05404	Маннитол-солевой фенол-красный агар	GranuCult ® prime, в соответствии со стандартами JP, EP, USP, гранулированный, для *борьбы со стафилококками* , упаковка 500 г.
1.46004	Триптический соевый агар — готовые к использованию чашки Петри для осаждения.	EP, USP, чашка Петри для длительного инкубирования, асептически заполненная, диаметр чашки 90 мм, подходит для мониторинга воздуха.
1.46000	HEIMPLATE Фиолетово-красный желчно-декстрозный агар Отстойник	Heimplate, APHA, USP, ISO 21528, JP, диаметр пластины × объем наполнения 90 мм × 30 мл/фут

Питательная среда для культивирования – готовая к применению жидкая

Кат. №	Название продукта	Описание продукта
1.46463	Моссельский бульон	Объем флакона 125 мл, объем наполнения 100 мл, тип крышки: синяя винтовая крышка с 3 пазами, упаковка из 10 флаконов, для *Enterobacter* spp.
1.46219	Моссельский бульон	Объем пробирки 17 мл, объем наполнения 10 мл, тип крышки желтая, коробка из 20 пробирок (1.46219.0020), коробка из 100 пробирок (1.46219.0100), для энтеробактерий
1.46181	Раппапорт Вассилиадис Медиум	Объем пробирки 17 мл, объем наполнения пробирки 10 мл, тип крышки: желтая, упаковка из 20 пробирок, для *сальмонеллы* .

Нейтрализующие агенты

Кат. №	Название продукта	Описание продукта
1.06691	Тиогликолят натрия	подходит для микробиологии
1.06512	Тиосульфат натрия	безводный EMPLURA ®
8.17061	TWEEN ® 80 (полисорбат)	EMPROVE ® ESSENTIAL, Ph. Eur., JP, NF
1.04201	Глицин	ГР для анализа