

Утверждаю
Начальник Главного санитарно -
эпидемиологического управления
Министерства здравоохранения СССР
В.Е.КОВШИЛО
29 декабря 1984 г. № 3182-84

МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ ПО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОМУ КОНТРОЛЮ В АПТЕКАХ

МУ 3182-84

Методические указания разработаны Московской городской санэпидстанцией (Федорова Т.М., Кашинцева И.А.).

Предназначены для бактериологических лабораторий санэпидстанций и лечебно-профилактических учреждений.

Введение

В соответствии с Постановлением ЦК КПСС и Совета Министров СССР от 19.08.82 "О дополнительных мерах по улучшению охраны здоровья населения" санитарно - эпидемиологическая служба придает особо важное значение дальнейшему совершенствованию форм осуществления государственного санитарного надзора, значительная роль в котором отводится проведению текущего санитарного контроля. Разработанные Методические указания представляют дополненные по некоторым показателям "Методические указания по микробиологическому контролю в аптеках" № 1201-74 от 04.12.74, внедрение которых будет способствовать повышению эффективности текущего санитарного надзора за режимом аптек.

1. Объекты бактериологического контроля

Объектами бактериологических исследований являются:

- 1.1. Вода дистиллированная.
- 1.2. Инъекционные растворы до стерилизации.
- 1.3. Инъекционные растворы после стерилизации.
- 1.4. Глазные капли после стерилизации.
- 1.5. Глазные капли, приготовленные в асептических условиях на стерильных основах.
- 1.6. Сухие лекарственные вещества, используемые для изготовления инъекционных растворов.
- 1.7. Аптечная посуда, пробки, прокладки, прочие вспомогательные материалы.
- 1.8. Инвентарь, оборудование, руки и санитарная одежда персонала.
- 1.9. Воздушная среда.

2. Отбор проб

Отбор проб для исследования производят сотрудники санитарно - эпидемиологических станций, а при проведении исследований в лечебно - профилактических учреждениях - работники бактериологической лаборатории.

Кратность обследований с отбором проб составляет не менее 2-х раз в квартал.

2.1. Пробы дистиллированной воды, используемой для приготовления лекарственных средств (кроме лекарств для инъекций и глазных капель), отбирают в количестве 30 см³ в стерильные бутылки с последующим закрытием ватными пробками и бумажными колпачками. Пробы отбирают из бюретки, конец которой предварительно обжигают ватой, смоченной спиртом. При неудовлетворительных результатах анализа отбор пробы проводят из приемника.

При наличии в аптеке трубопровода для дистиллированной воды отбор проб осуществляют из бюретки над столом ассистента и дефектара.

Для оценки санитарного содержания трубопровода выемки дистиллированной воды производят непосредственно из трубопровода и затем из бюреток.

Оценка результатов бактериологического исследования производится в соответствии с требованиями ГОСТ 2874-82 "Вода питьевая".

2.2. Пробы дистиллированной воды, используемой для приготовления инъекционных растворов и глазных капель, отбирают в стерильные флаконы в количестве 15 - 20 см³ непосредственно из емкостей, в которых осуществляется стерилизация.

2.3. Инъекционные растворы (до стерилизации) отбирают во время их приготовления, но не позднее полутора часов, и доставляют в лабораторию в тех же флаконах, в которых они будут подвергнуты стерилизации.

2.4. Инъекционные растворы, глазные капли после стерилизации и приготовленные асептическим способом доставляют в аптечной упаковке.

2.5. Глазные капли из торгового зала аптек доставляют непосредственно во флаконах, отпускаемых в лечебно - профилактические учреждения и населению. Целесообразно отбирать глазные капли 3 - 4 наименований как со стола ассистента, так и прилавка.

2.6. Отбор сухих лекарственных веществ* проводят стерильными ложками в стерильную посуду лаборатории в количестве 30 - 50 г. В случае, если вещество таблетированное, то отбирают фламбириванным пинцетом в стерильную посуду лаборатории в количестве 30 - 50 г.

* По показаниям.

2.7. Аптечную посуду, подготовленную для розлива инъекционных растворов и глазных капель, отбирают в момент приготовления их в количестве трех штук одинаковой емкости. Флаконы доставляют в лабораторию в укупоренном виде, используя при этом пробки и прокладки, для отпуска лекарственных средств.

2.8. Пробки (корковые, полиэтиленовые) и прокладки отбирают в момент приготовления инъекционных растворов и глазных капель пинцетом после фламбиривания и помещают по пять штук в широкогорлые стерильные колбы или банки с последующим закрытием стерильными ватно-марлевыми пробками и бумажными колпачками.

2.9. Фильтровальные воронки, пипетки, мерные колбы, цилиндры, используемые для приготовления инъекционных растворов, контролируют путем ополаскивания их 10 см³ стерильной водопроводной воды.

2.10. Используемые в аптеках пипетки прополаскивают несколько раз в пробирке, содержащей 10 см³ стерильной водопроводной воды, пробирки со смывной жидкостью доставляют в лаборатории для исследования.

2.11. Смывы с инвентаря, оборудования, рук и санитарной одежды персонала аптеки осуществляют с помощью ватных тампонов, помещенных в пробирки с 2 см³ 0,85 % раствора хлорида натрия или 0,1 % пептонной воды.

2.12. Пробы воздуха отбирают в следующих помещениях:

- в асептическом блоке, стерилизационной;
- ассистентской, фасовочной, комнате дефектара и материальной;
- в моечной;
- в зале обслуживания.

Отбор проб воздуха производят при соблюдении следующих условий:

- чистое подготовленное к работе помещение;
- закрытые форточки и двери;
- определение в помещении % относительной влажности воздуха;
- уровень высоты отбора проб воздуха соответствует высоте рабочего стола;
- не ранее чем за 30 мин. после влажной уборки помещения.

Пробы воздуха отбирают аспирационным методом с помощью приборов для бактериологического анализа воздуха: модель 818 (прибор Кротова), ПОВ, ПАБ. Скорость протягивания воздуха должна составлять 25 литров в минуту, количество пропущенного воздуха - 100 литров для определения общего количества бактерий; 250 литров для определения золотистого стафилококка и 250 литров для определения плесневых и дрожжевых грибов.

Для определения общего содержания бактерий в 1 м³ отбор производят на 2 % питательный агар, разлитый в чашки по 12 - 15 мл. Для определения золотистого стафилококка используют желточно-солевой агар, для определения плесневых и дрожжевых грибов - среду Сабуро.

3. Методики исследования

3.1. Исследования дистиллированной воды, используемой для приготовления лекарственных средств (кроме лекарств для инъекций и глазных капель).

3.1.1. Определение количества мезофильных аэробных и факультативных анаэробных бактерий в 1 см³ дистиллированной воды.

Исследуемую воду вносят по 1 см³ в две параллельные чашки Петри, которые затем заливают питательным агаром и выдерживают 24 часа при температуре 37 °С и 24 часа при комнатной температуре. После этого подсчитывают число выросших колоний как на поверхности, так и внутри питательного агара. Подсчет колоний проводится обязательно с помощью лупы, так как колонии бактерий даже после 48-часового инкубирования могут быть настолько мелкими, что невооруженным глазом не видны.

При вычислении результатов анализа выводят среднее арифметическое из числа колоний, выросших на обеих чашках.

Для выявления плесневых и дрожжевых грибов засевают по 0,5 см³ исследуемой воды на поверхность двух чашек Петри со средой Сабуро и инкубируют при температуре 20 - 22 °С в течение 3 - 4 суток. Затем подсчитывают число колоний плесневых и дрожжевых грибов на обеих чашках.

Результаты оценивают по общему количеству непатогенных микроорганизмов путем суммирования числа бактерий, выросших на чашках с питательным агаром и на среде Сабуро*.

* Приказ Минздрава СССР № 537 от 30.11.62, приложение № 1.

3.1.2. Определение титра бактерий группы кишечной палочки*.

* Методика действующего Госстандарта 18963-73 "Вода питьевая. Методы санитарно - биологического анализа".

3.2. Исследование дистиллированной воды для приготовления инъекционных растворов и глазных капель, инъекционных растворов до стерилизации и глазных капель, приготовленных в асептических условиях на стерильных основах.

3.2.1. Определение количества мезофильных аэробов и факультативных анаэробов производят в соответствии с пунктом 3.1.1.

3.2.2. Определение наличия бактерий группы кишечных палочек в 1,0 см³.

Лекарственные средства засевают в количестве 1 г (см³) на 9 см³ разведенной глюкозо-пептонной среды, среды Кесслер и Кода. Посевы выращивают при температуре 37 °С в течение 18 - 24 часов с дальнейшим высевом секторами на среду Эндо, последнюю инкубируют при температуре 37 °С 18 - 24 часа и проводят просмотр посевов. Из подозрительных колоний делают мазки, красят по Граму и микроскопируют. При наличии грамтрицательных палочек оставшуюся часть колоний пересевают на глюкозо - пептонной среде с поплавком, инкубируют при 37 °С в течение 18 - 24 часов. Наличие кислоты и газа на глюкозо-пептонной среде обуславливает содержание бактерий группы кишечных палочек.

3.2.3. Количественное определение бактерий группы кишечных палочек.

1 г (см³) лекарственных средств засевают на чашку и заливают средой Эндо, т.е. применяют глубинный метод посева. После инкубации посевов при температуре 37 °С в течение 18 - 24 часов учитывают колонии, типичные для бактерий группы кишечной палочки.

3.3. Исследование сухих лекарственных веществ, используемых для приготовления инъекционных растворов и глазных капель.

Исследования проводят в случаях неоднократных неудовлетворительных бактериологических анализов, превышения норм предельно допустимого содержания непатогенных микроорганизмов*, при удовлетворительных результатах анализов дистиллированной воды, используемой для их приготовления, при удовлетворительных данных бактериологического контроля посуды, флаконов, пробок, прокладок. Результаты, полученные при исследовании сухих лекарственных веществ, служат одним из оснований для выбора партии при приготовлении инъекционных растворов.

* Приказ Минздрава СССР № 537 от 30.11.62, приложение № 1.

Сухие лекарственные вещества разводятся стерильной дистиллированной водой с целью создания соответствующих концентраций инъекционным растворам и глазным каплям, изготавливаемым в аптеках. Объем и методика исследования приготовленных растворов см. пункт 3.2.

Результаты, полученные при исследовании сухих веществ в растворах, должны соответствовать требованиям приложения Приказа № 573, такие же требования предъявляются к глазным каплям, приготовленным в асептических условиях на стерильной основе.

3.4. Исследования аптечной посуды, пробок, прокладок, воронок, цилиндров.

3.4.1. Подготовка к исследованию.

Три одноименных флакона, доставленные в лабораторию, последовательно ополаскивают в 10 см³ стерильной водопроводной воды. Воду из флакона во флакон переливают над пламенем горелки, тщательно споласкивая каждый флакон.

В банки или широкогорлые колбы с доставленными пробками и прокладками наливают 10 см³ стерильной водопроводной воды и тщательно споласкивают.

3.4.2. Определение в смывной жидкости:

- количество мезофильных аэробных и факультативно анаэробных бактерий (см. пункт 3.1). Число колоний, установленное в 1 см³ смывной жидкости, умножают на 10, что соответствует содержанию бактерий на всей смывной поверхности 3-х одноименных предметов;

- определение наличия бактерий группы кишечных палочек: 8 см³ оставшейся смывной жидкости засевают в 1 см³ концентрированной глюкозо-пептонной среды и инкубируют при температуре 37 °С в течение 18 - 24 часов. Дальнейший ход исследования и идентификацию бактерий группы кишечных палочек проводят по пункту 3.1.

3.4.3. Интерпретация результатов бактериологических исследований:

- количество мезофильных аэробов и факультативных анаэробов не должно превышать 150 колоний с 3-х флаконов, 5-ти пробок, 5-ти прокладок (т.е. в 10 см³ смывной жидкости);

- бактерии группы кишечной палочки не допускаются.

3.5. Методика исследования воздуха.

Доставленные чашки с посевами на питательном агаре и желточно-солевом агаре инкубируют в термостате при 37 °С в течение 24 часов, посевы на желточно-солевом агаре дополнительно выдерживают еще 24 часа при комнатной температуре. Посевы на среде Сабуро инкубируют при температуре 22 - 28 °С 4 суток.

Для определения общей бактериальной обсемененности через 48 часов посевы просматривают, подсчитывают количество выросших колоний и производят пересчет на 1 м³.

Для определения количественного содержания золотистого стафилококка просматривают посевы на желточно-солевом агаре после 48-ми часов инкубации, колонии, подозрительные на стафилококк, подсчитывают и проводят идентификацию*. После идентификации производят пересчет полученных результатов на 1 м³ воздуха.

* Приложение № 2 к Приказу Минздрава СССР № 720 от 31.07.78.

Для количественного определения плесневых и дрожжевых грибов после 96-часовой инкубации подсчитывают количество выросших колоний плесневых и дрожжевых грибов и производят пересчет на 1 м³.

КРИТЕРИИ ОЦЕНКИ МИКРОБНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ ВОЗДУХА ПОМЕЩЕНИЙ АПТЕК

№ п/п	Наименование помещений	Условия работы	Общее количество колоний микроорганизмов в 1 м ³ воздуха	Кол-во золотистого стафилококка в 1 м ³ воздуха	Кол-во плесневых и дрожжевых грибов в 1 см ³ воздуха
1	Асептический блок, стерилизационная (чистая половина)	до работы	не выше 500	не должно быть в 250 л	не должно быть в 250 л
		после работы	не выше 1000	не должно быть в 250 л	не должно быть в 250 л
2	Ассистентская, фасовочная, дефектарная, материальная	до работы	не выше 750	не должно быть в 250 л	не должно быть в 250 л
		после работы	не выше 1000	не должно быть в 250 л	не должно быть в 250 л
3	Моечная	во время работы	не выше 1000	не должно быть в 250 л	до 12
4	Зал обслуживания	во время работы	не выше 1500	до 100	до 20

4. Исследование смывов

4.1. Ориентировочный перечень объектов, подлежащих контролю методом смывов: рабочее место дефектара;

стол для приготовления инъекционных растворов;
стол для приготовления глазных капель;
весы для взвешивания сухих веществ у дефектара;
тара для хранения прокладок и пробок, используемых для укупорки инъекционных растворов и глазных капель;
ступки;
пластинки пластмассовые;
весы роговые;
кран водопроводный в ассистентской;
руки персонала;
полотенце;
санодежда.

4.2. Объем исследования:

- определение бактерий группы кишечных палочек;
- определение патогенных стафилококков (по показаниям).

4.3. При анализе смыва на наличие бактерий группы кишечной палочки тампон со стеклянной палочкой помещают в среду Кесслер или Кода. Дальнейший ход исследования и идентификацию проводят по общепринятой методике исследования, см. пункт 3.1.

4.4. Определение наличия патогенных (золотистых) стафилококков осуществляют путем посева смывов жидкости в пробирку с 5 см³ 6,5 % солевого бульона. Дальнейший ход исследования проводят согласно приложения № 2 к Приказу № 720 от 31.07.78.

4.5. Интерпретация результатов.

Бактерии группы кишечной палочки и патогенные стафилококки в смывах не допускаются.

5. Другие исследования

5.1. Исследования на синегнойную палочку.

При исследовании дистиллированной воды, инъекционных растворов до стерилизации, глазных капель, смывов с аптечного стекла, инвентаря, оборудования и рук персонала иногда отмечается рост синегнойной палочки, для выделения которой специальные посевы можно не производить, так как рост их колоний удается обнаружить на среде Эндо или питательном агаре. На среде Эндо колонии плоские, желтовато-красные, без металлического блеска, со специфическим запахом. На питательном агаре колонии расплывчатые, с просвечивающим краем, среда приобретает зеленоватый цвет. При окраске по Граму палочки грамотрицательные. С целью обнаружения способности продуцировать пигмент культуры изучают на питательном агаре с добавлением 2% глицерина или маннита.

Идентификация синегнойной палочки проводится по следующим тестам:

- положительная реакция по оксидазу;
- рост на среде Симонса или Козера;
- разжижение желатина;
- рост на бульоне при температуре 42 °С;
- отсутствие роста на среде с содержанием хлорида натрия 6,5%.

5.2. Исследование дистиллированной воды и лекарственных средств на бактерии рода Протея.

Специального посева для выявления этих бактерий можно не проводить, т.к. их удается обнаружить на среде Эндо в виде ползучего вуалеобразного роста. В случае выделения бактерий рода Протея необходимо проводить их видовую идентификацию с применением среды Гисса с мальтозой и изучением способности образовывать индол. Эти тесты дают возможность идентифицировать протеус вульгарис и протеус мирабилис.

6. Учет проведенных исследований в нормативных единицах:

- исследование дистиллированной воды из трубопровода - 4,1 ед.;
- исследование глазных капель и инъекционных растворов до стерилизации дистиллированной воды для их приготовления - 3,0 ед.;
- исследование сухих лекарственных веществ, используемых для приготовления инъекционных растворов и глазных капель, - 4,6 ед.;
- исследование аптечной посуды, пробок, прокладок - 3,0 ед.;
- исследование смывов - 1,3 ед.;
- исследование инъекционных растворов и глазных капель стерилизованных - 5 ед.

ВЫПИСКА
ИЗ ПРИЛОЖЕНИЯ № 2 К ПРИКАЗУ МИНЗДРАВА СССР № 573 ОТ 30.11.62

**ВРЕМЕННЫЕ НОРМАТИВЫ
ПРЕДЕЛЬНО ДОПУСТИМОГО СОДЕРЖАНИЯ НЕПАТОГЕННЫХ
МИКРООРГАНИЗМОВ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ АПТЕК**

№ п/п	Наименование	Предельно допустимое содержание микроорганизмов в 1 см ³	Примечание
1	2	3	4
1.	Растворы для инъекций до стерилизации, не позднее 1 - 1,5 часов после изготовления:	20 - 30	
1.1.	Глюкозы 5% и 4,0%	в виде исключения	
1.2.	Натрия хлорида 0,9%		
1.3.	Новокаина 0,25% и 2%		
1.4.	Натрия хлорида 5,0, калия хлорида 0,07, кальция хлорида 0,12, новокаина 2,5, воды для инъекций до 1000,0		
1.5.	Рингера - Локка		
1.6.	Сергозина 40%		
2.	Глазные капли:		
2.1.	Раствор сульфацила растворимого (альбуцида натрия) 20% и 30%	5 - 7	
2.2.	Раствор атропина сульфата 1%		
2.3.	Раствор дикаина 1%		
2.4.	Раствор этилморфина гидрохлорида (дионина) 1%		
2.5.	Раствор калия йодида 2%		
2.6.	Раствор синтомицина 0,25%		
2.7.	Раствор цинка сульфата 0,25%, борной кислоты 2% - 10,0		
2.8.	Раствор цинка сульфата 0,25 - 10,0	10 - 15	
2.9.	Раствор пилокарпина гидрохлорида		
2.10.	Раствор прозерина 0,25%		
2.11.	Раствор рибофлавина 0,001 (0,002), аскорбиновой кислоты 0,05 (0,03), глюкозы 0,2, воды дистиллированной 10,0		
2.12.	Раствор рибофлавина 0,002, калия йодида 0,3, аскорбиновой кислоты 0,05, воды дистиллированной 10,0		
3.	Дистиллированная вода:		
3.1.	Используемая для изготовления стерильных растворов сразу же после перегонки	10 - 15	При получении и хранении дистиллированной воды в условиях, максимально ограничивающих возможность загрязнения микробами
3.2.	Используемая после стерилизации для изготовления асептическим способом глазных капель и концентрированных растворов (концентратов)	0 - 3	

Содержание кишечной палочки и протей в дистиллированной воде и других лекарственных формах не допускается.

Приложение № 2

РЕЦЕПТ ПРИГОТОВЛЕНИЯ СРЕДЫ САБУРО

К 1 дм³ дистиллированной воды добавляют 10 г пептона, 40 г глюкозы или мальтозы, 15 г агар - агара. Ph не устанавливают. Среду разливают в пробирки по 15 - 18 см³ и стерилизуют при температуре 110 °С в течение 30 минут.