

Документ подписан простой электронной подписью  
Информация о владельце:  
ФИО: Лужанин Владимир Геннадьевич  
Должность: Ректор  
Дата подписания: 11.03.2025 15:59:33  
Уникальный программный ключ:  
d56ba45a916e51664e719e2c5ae3bb2c0db840aff

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ПЕРМСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ АКАДЕМИЯ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

---

**КАФЕДРА МИКРОБИОЛОГИИ**

В. В. Новикова, А. А. Гагарина, О. В. Рябова, С. С. Дубровина

**МЕТОДИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ ПО ПРОВЕДЕНИЮ  
ПРАКТИЧЕСКИХ ЗАНЯТИЙ  
ДЛЯ ПРЕПОДАВАТЕЛЕЙ ПО ДИСЦИПЛИНЕ  
ОСНОВЫ МИКРОБИОЛОГИИ И ГИГИЕНЫ**

**для студентов 1-го курса, обучающихся по специальности  
33.02.01 Фармация**

**Пермь 2024**

УДК 579(075.8)  
ББК 28.4+52.6я7  
М597

Учебно-методическое пособие подготовлено доцентами кафедры микробиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России: В. В. Новиковой, А. А. Гагариной, О. В. Рябовой, С. С. Дубровиной.

Рецензент: д-р мед. наук, доц., зав. кафедрой физиологии ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России И. П. Рудакова.

Новикова, В.В., Гагарина А.А., Рябова О.В., Дубровина С.С. Учебно-методическое пособие Основы микробиологии и гигиены для студентов 1-го курса, обучающихся по специальности 33.02.01 Фармация. [Текст]. – Пермь: ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, 2024. – 144 с.

Учебно-методическое пособие подготовлено в соответствии с действующим федеральным государственным образовательным стандартом среднего профессионального образования по специальности 33.02.01 Фармация и рабочей программой дисциплины Основы микробиологии и гигиены, реализуемой в ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России.

Учебно-методическое пособие предназначено для самостоятельной подготовки к практическим занятиям по разделам «Общая микробиология. Основы фармацевтической микробиологии», «Основы учения об инфекции и иммунитете», «Основы гигиены» дисциплины Основы микробиологии и гигиены и их выполнения студентами, обучающимися по специальности 33.02.01 Фармация.

Издается по решению центрального методического совета ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России, протокол № \_\_\_\_ от \_\_\_\_\_ 2024 г.

© ФГБОУ ВО ПГФА  
Минздрава России, 2024 г.  
© В. В. Новикова, А. А. Гагарина, О. В. Рябова, С. С. Дубровина

## СОДЕРЖАНИЕ

Введение.....	5
Правила работы в микробиологической лаборатории.....	5
Раздел 1. Общая микробиология. Основы фармацевтической микробиологии.....	6
Занятие №1. Морфология микроорганизмов. Правила работы в микробиологической лаборатории. Микроскопический метод диагностики инфекционных заболеваний. Морфология бактерий. Основные морфологические формы бактерий.....	6
Занятие №2. Морфология микроорганизмов. Строение бактериальной клетки. Методы приготовления препаратов для микроскопии. Простой метод окраски .....	11
Занятие №3. Морфология микроорганизмов. Сложные методы окраски препаратов из культур микроорганизмов .....	14
Занятие №4. Морфология микроорганизмов. Эукариоты. Вирусы.....	18
Занятие №5. Генетика микроорганизмов.....	22
Занятие №6. Физиология микроорганизмов.....	27
Занятие №7. Физиология микроорганизмов .....	35
Занятие №8. Микробиологические основы противомикробной химиотерапии .....	40
Занятие №9. Экология микроорганизмов .....	46
Занятие №10. Основы фармацевтической микробиологии .....	53
Занятие №11. Основы фармацевтической микробиологии .....	56
Занятие №12. Основы фармацевтической микробиологии .....	60
Занятие №13. Основы фармацевтической микробиологии .....	63
Занятие №14. Основы фармацевтической микробиологии .....	69
Занятие №15. Зачет по разделу «общая микробиология. Основы фармацевтической микробиологии».....	73
Раздел 2. Основы учения об инфекции и иммунитете .....	75
Занятие №1. Основы учения об инфекции .....	75
Занятие №2. Основы учения об инфекции .....	79
Занятие №3. Основы учения об иммунитете. Неспецифические факторы защиты.....	84
Занятие №4. Специфические факторы защиты организма. Серологические реакции.....	88

Занятие №5. Аллергия. Виды аллергических реакций, механизмы и клинические проявления. Общие принципы диагностики, лечения и профилактики аллергии.....	93
Занятие №6. Иммунобиологические препараты. Вакцины.....	97
Занятие №7. Иммунобиологические препараты. Иммунные сыворотки и иммуноглобулины.....	101
Занятие №8. Зачет по разделу «Основы учения об инфекции и иммунитете».....	105
Раздел 3. Основы гигиены .....	106
Занятие №1. Санитарно-эпидемиологические требования к аптечным организациям.....	106
Занятие №2. Гигиеническая оценка микробного загрязнения воздушной среды помещений аптечных организаций.....	113
Занятие №3. Гигиеническая оценка искусственной вентиляции помещений аптечных организаций.....	119
Занятие №4. Гигиеническая оценка микроклимата помещений аптечных организаций.....	123
Занятие №5. Гигиеническая оценка освещения помещений аптечных организаций.....	128
Список литературы.....	134
Приложение 1.....	136
Приложение 2.....	140

## ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с квалификационной характеристикой фармацевта основной целью изучения микробиологии и гигиены является приобретение студентами знаний, умений и навыков, которые позволят им на должном уровне решать профессиональные задачи.

Знания, умения и навыки, приобретённые при изучении дисциплины Основы микробиологии и гигиены, необходимы для формирования компетенций фармацевта, связанных с соблюдением санитарно-гигиенического режима в аптечных организациях, проведением контроля качества лекарственных средств.

Будущему фармацевту необходимы знания о биологических особенностях микроорганизмов, их распространении в биосфере, инфекционных свойствах; о влиянии их на процесс изготовления и производства лекарственных средств.

Чрезвычайно важным моментом для фармацевтов, осуществляющих свою профессиональную деятельность, является понимание механизмов микробной контаминации готовых лекарственных препаратов и субстанций, обеспечение условий, исключающих данные процессы – соблюдение правил асептики, антисептики, знание методов стерилизации и получение общих представлений о гигиене и санитарии.

Учебно-методическое пособие содержит теоретические сведения по дисциплине Основы микробиологии и гигиены, а также материалы по методике ее самостоятельного изучения и практического освоения: предназначено для самоподготовки к практическим занятиям по разделам «Общая микробиология. Основы фармацевтической микробиологии», «Основы учения об инфекции и иммунитете», «Основы гигиены» и их выполнения студентами.

## ПРАВИЛА РАБОТЫ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ

1. В помещении лаборатории необходимо работать в санитарной одежде (белый халат, шапочка, сменная обувь).

2. Нельзя вносить посторонние вещи.

3. Категорически запрещается прием пищи и курение.

4. С живыми бактериальными культурами необходимо работать с соблюдением всех правил предосторожности: работать сидя, не разговаривать на посторонние темы, не совершать резких движений.

5. При попадании исследуемого материала на стол, одежду, обувь и т.д. необходимо произвести дезинфекцию.

6. В целях противопожарной безопасности надо знать, где находятся средства пожаротушения и уметь ими пользоваться.

7. Соблюдать чистоту и аккуратность в работе, по окончании работы убрать рабочее место, руки вымыть с мылом, обработать дезинфицирующим раствором.

8. Обсудить и записать в альбом, расписаться в журнале за инструктаж по технике безопасности.

# РАЗДЕЛ 1. ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ. ОСНОВЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

## *Занятие №1*

### **Тема: МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРАВИЛА РАБОТЫ В МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЛАБОРАТОРИИ. МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ. МОРФОЛОГИЯ БАКТЕРИЙ. ОСНОВНЫЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ФОРМЫ БАКТЕРИЙ.**

**Цель занятия:** изучить правила работы в микробиологической лаборатории. Изучить систематику и номенклатуру микроорганизмов, морфологические особенности кокковидных, палочковидных и извитых форм бактерий. Освоить микроскопический метод исследования с иммерсионной системой.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Устройство и оснащение микробиологической лаборатории.
2. Систематика и номенклатура микроорганизмов. Морфологические группы бактерий. Отличие прокариотов от эукариотов.
3. Структура бактериальной клетки. Характеристика обязательных структур.
4. Микроскопический метод исследования. Правила работы с иммерсионной системой.

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

##### **1. Ознакомиться с устройством микроскопа.**

Оснащение:

- 1) микроскоп,
- 2) таблица «Устройство микроскопа».

##### Методика

Изучить устройство светового микроскопа, выделяя:

- а) механическую часть, включающую штатив, состоящий из основания и тубусодержателя, тубус, предметный столик, систему винтов, револьвер;
- б) оптическую часть, представленную объективами, окуляром (окуляр-ами) и осветительной системой, которая в свою очередь состоит из расположенных под предметным столиком конденсора, диафрагмы и встроенного осветителя.

##### **2. Освоить технику работы с иммерсионной системой микроскопа.**

Оснащение:

- 1) микроскоп,

- 2) иммерсионное масло,
- 3) готовый окрашенный препарат

### Методика

На готовый препарат нанести каплю иммерсионного масла, поместить препарат на предметный столик. С помощью макровинта ввести объектив в масло, далее, осторожно крутя макровинт, добиться появления изображения. Затем, действуя микровинтом, улучшить качество изображения.

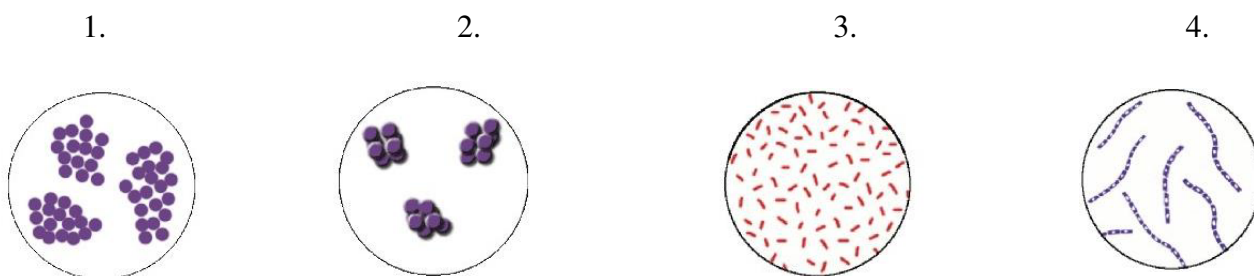
### **3. Посмотреть под иммерсией демонстрационные препараты и зарисовать в рабочую тетрадь.**

Оснащение:

- 1) микроскоп
- 2) иммерсионное масло
- 3) 4 препарата разных морфологических групп бактерий
- 4) таблицы: "Основные формы бактерий"  
"Извитые формы бактерий"  
"Круглые формы бактерий"
- 5) слайды по морфологии кокковидных, палочковидных и извитых форм бактерий
- 6) мультимедийный проектор, ноутбук.

### Методика

Промикроскопировать предложенные микропрепараты в иммерсионной системе, описать морфологию бактерий (определить форму, размер и расположение микроорганизмов), зарисовать в рабочую тетрадь.



## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Микроскопический метод исследования:

- устройство светового микроскопа
- иммерсионная система микроскопии

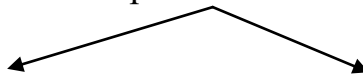
2. Морфологические особенности бактерий: кокковидных, палочковидных и извитых.

**1. Микроскопический метод исследования** - это изучение под микроскопом окрашенных препаратов из исследуемого материала.

- Достоинства:
- быстрый;
  - ранний

- Недостатки:
- неточный (ориентировочный)

Световой микроскоп состоит из частей:



механической

предназначена для устойчивости прибора, удобства использования:

- подставка (ножка)
- тубусодержатель
- тубус
- револьвер
- предметный столик
- макровинт
- микровинт

оптической

предназначена для освещения и увеличения объектов:

- осветительный аппарат находится под предметным столиком
- зеркало плосковогнутое (при искусственном освещении используется вогнутая сторона зеркала)
  - диафрагма (регулирует объем светового пучка)
  - конденсор (в фокусе конденсора собираются параллельные лучи света) для увеличения:
  - объективы: малый  $\times 8$   
 большой  $\times 40$   
 иммерсионный  $\times 90$
  - окуляры:  $\times 7$ ,  $\times 10$ ,  $\times 15$  раз

Общее увеличение микроскопа равно произведению увеличения объектива на увеличение окуляра.

Разрешающая способность микроскопа определяется размером наименьшего объекта, который можно увидеть в данный микроскоп. Для световых микроскопов разрешающая способность – 0,2 мкм, для электронного - в 100-1000 раз выше.

**Системы микроскопии**

<b>Сухая</b>	<b>Иммерсионная</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>- между объектом и объективом находится воздух;</li> <li>- используется для изучения относительно крупных биологических объектов;</li> <li>- максимальное увеличение объектива <math>\times 40</math>;</li> <li>- создает недостаточную освещенность, т.к. луч света проходит через неоднородную среду стекло-воздух, коэффициенты преломления</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- между объектом и объективом находится жидкость (масло);</li> <li>- используется для изучения более мелких биологических объектов;</li> <li>- увеличение объектива <math>\times 90</math>;</li> <li>- достигается лучшая освещенность, т.к. иммерсионное масло и стекло имеют практически одинаковый коэффициент преломления лучей света (1,51 и 1,51), что создает однородную среду, в которой рассеивания лучей</li> </ul>



<p>которых составляют 1,51 и 1,0, в результате чего происходит преломление и отклонение лучей света.</p>	<p>света не происходит.</p>
--	-----------------------------

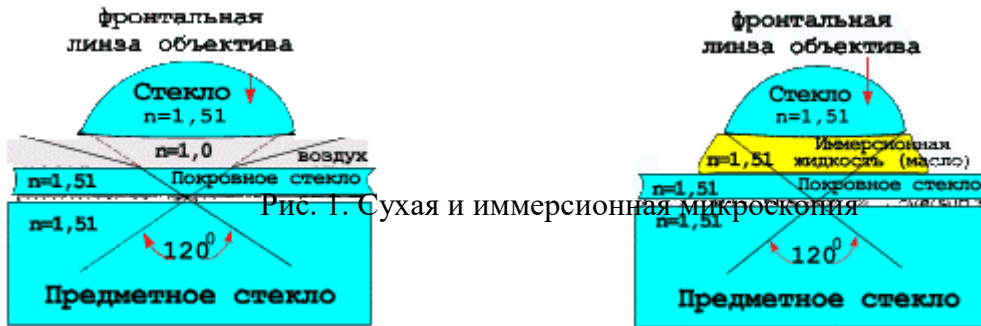


Рис. 1. Сухая и иммерсионная микроскопия

(рисунок из открытых интернет-источников)

**Преимущества иммерсионной системы**

1. Больше увеличение.
2. Лучшая освещенность за счет создания однородной среды для прохождения лучей света с помощью иммерсионного масла.

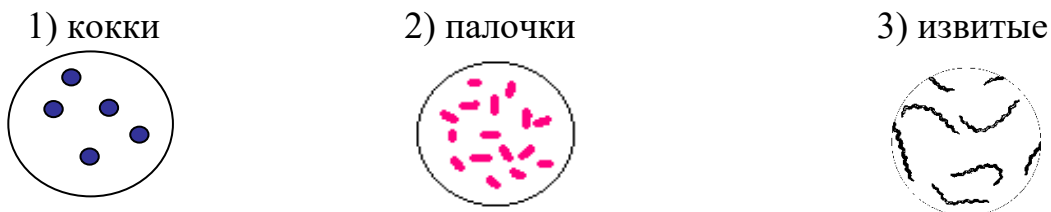
**2. Морфология бактерий**

Бактерии - это домен (надцарство) одноклеточных (исключение актиномицеты и нитчатые цианобактерии) прокариотных (безъядерных) организмов. Они видны в световой микроскоп, размеры их измеряются в микрометрах. Бактерии растут на искусственных питательных средах, размножение преимущественно происходит бинарным делением.

Микроорганизмы, в том числе и бактерии, принято делить на группы:

- непатогенные (сапрофиты) - не вызывают заболеваний
- патогенные (паразиты) - вызывают болезни человека, животных, растений-
- условно-патогенные - вызывают заболевания при определенных условиях.

*Морфология* - это форма, размер бактерий, расположение клеток в препарате. Выделяют три основные морфологические формы бактерий:



1. Кокки: форма - круглая  
размер - мелкие  
расположение в препаратах - 6 разновидностей:



## Занятие №2

### Тема: МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

#### СТРОЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ.

#### МЕТОДЫ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ ДЛЯ МИКРОСКОПИИ.

#### ПРОСТОЙ МЕТОД ОКРАСКИ.

**Цель занятия:** закрепить теоретические знания по формам бактерий, изучить особенности строения прокариотической клетки, ее структурные компоненты; освоить методику приготовления препаратов из бактериальных культур с жидких и плотных питательных сред и окраски их простым методом, а также методику выявления подвижности бактерий.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

- 1 Структурные элементы бактериальной клетки (основные и дополнительные).
2. Особенности строения актиномицетов, спирохет, риккетсий, хламидий, микоплазм.
3. Этапы приготовления окрашенных препаратов.
4. Простой метод окраски.

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

#### 1. Приготовить мазок из чистой культуры, окрасить простым методом.

Оснащение:

- 1) обезжиренные предметные стекла,
- 2) бактериологическая петля,
- 3) спиртовка, спички,
- 4) восковой карандаш,
- 5) пробирки с культурой *Bacillus subtilis* на жидкой питательной среде,
- 6) колба с водой,
- 7) водный раствор метиленовой сини Леффлера,
- 8) белые фильтровальные бумажки,
- 9) иммерсионное масло,
- 10) микроскоп.

#### Методика

Соблюдая правила асептики, приготовить мазок из чистой культуры *Bacillus subtilis*, выращенной на жидкой питательной среде: с помощью бактериологической петли поместить каплю культуры на предметное стекло, распределить. Высушить препарат, зафиксировать. Окрасить простым методом – поместить 2-3 капли водного раствора метиленового синего на мазок на 3-5 мин., затем промыть водой, удалить фильтровальной бумагой остатки жидкости. Промикроскопировать в иммерсии, зарисовать.

## 2. Определить подвижность бактерий методами "висячей" и "раздавленной" капли.

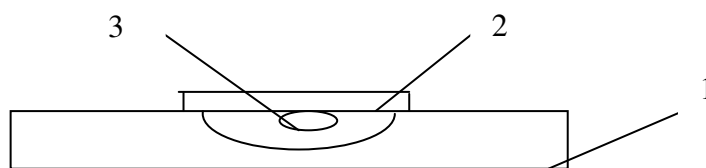
Оснащение:

- 1) пробирка с чистой культурой подвижных микроорганизмов (*E. coli*),
- 2) бактериологическая петля,
- 3) предметные стекла,
- 4) предметные стекла с лунками,
- 5) покровные стекла,
- 6) вазелиновое масло,
- 7) пробирка с изотоническим раствором хлорида натрия,
- 8) спиртовка, спички,
- 9) микроскоп, иммерсионное масло

### Методика

**Метод «висячей капли».** Препарат готовят на покровном стекле, в центр которого наносят одну каплю бактериальной культуры, выращенной на жидкой питательной среде, или наносят петлей каплю физиологического раствора, в которую помещают культуру с плотной питательной среды. Затем предметное стекло с лункой, края которой предварительно смазывают вазелином, прижимают к покровному стеклу так, чтобы капля находилась в центре лунки. Быстрым движением переворачивают препарат покровным стеклом вверх. В правильно приготовленном препарате капля должна свободно висеть над лункой, не касаясь ее дна или края (рис.1). Препарат изучают в сухой системе микроскопии, используя объектив, увеличивающий в 40 раз при опущенном конденсоре.

Рис. 1. Препарат «Висячая капля»: 1- предметное стекло с углублением в центре, 2 – покровное стекло, 3 – капля суспензии микроорганизмов



**Метод «раздавленной» капли.** На поверхность обезжиренного предметного стекла наносят каплю бактериальной культуры, выращенной на жидкой питательной среде, или наносят петлей каплю физиологического раствора, в которую помещают культуру с плотной питательной среды. На каплю помещают покровное стекло. Капля должна быть небольшой, не выходящей за край покровного стекла, излишки жидкости удаляют фильтровальной бумагой. Микроскопируют препарат, используя объектив, увеличивающий в 40 раз.

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Этапы приготовления мазка.
2. Методы выявления жгутиков у бактерий.

### 1. Этапы приготовления мазка

#### 1. Приготовление мазка

1) с жидкой питательной среды 2) с плотной питательной среды на культуру берут петлей и каплю предметное стекло наносят непосредственно на стекло небольшую каплю воды, в которой эмульгируют исследуемый материал и распределяют по площади около  $2 \text{ см}^2$

#### 2. Высушивание

на воздухе

высоко над пламенем спиртовки  
мазком вверх

#### 3. Фиксация

Цель: - прикрепить микробов к стеклу  
- обезвредить патогенные микробы  
- убитые микробы лучше окрашиваются

#### Методы

##### физический

- над пламенем спиртовки мазком вверх (3 раза круговыми движениями)

##### химический

- более щадящий по сравнению с физическим: мазок погружают в фиксатор (этанол, ацетон, формалин и др.) на определенное время

#### 4. Окраска. Простой (ориентировочный) метод

Окрашивают препарат одним из красителей анилинового ряда:

- кислый фуксин;
- эозин;
- метиленовый синий;
- генциановый фиолетовый.

Краситель наливают на поверхность мазка на определенное время, затем мазок промывают до тех пор, пока струи воды не станут бесцветными, осторожно высушивают фильтровальной бумагой. Если мазок правильно окрашен и промыт, то поле зрения абсолютно прозрачно, а клетки микробов интенсивно окрашены.

### 2. Методы выявления жгутиков у бактерий

#### Прямые

- окраска по Леффлеру
- электронная микроскопия

#### Косвенные

(по обнаружению подвижности)

- методы «висячей» и «раздавленной» капли
- посев в полужидкие среды;
- укол в столбик.

### Занятие №3

## Тема: МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ СЛОЖНЫЕ МЕТОДЫ ОКРАСКИ ПРЕПАРАТОВ ИЗ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ

**Цель занятия:** закрепить теоретические знания по особенностям строения прокариотической клетки и освоить методы (сложные) выявления ее отдельных компонентов (тип клеточной стенки в препаратах, окрашенных по методу Грама, наличие капсул у бактерий в препаратах, окрашенных методом Бурри-Гинса; наличие спор у бактерий в препаратах, окрашенных по Цилю-Нильсену) .

### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Сложные методы окраски препаратов.
2. Метод окраски Грама.
3. Метод окраски Циля-Нильсена.
4. Метод окраски Бурри-Гинса.

**1. Приготовить мазок из смеси двух бактериальных культур: грамположительной (*Bacillus subtilis*) и грамотрицательной (*Escherichia coli*), окрасить по Граму, изучить под иммерсией, зарисовать.**

Оснащение:

- 1) культура белого стафилококка на плотной питательной среде,
- 2) культура кишечной палочки на плотной питательной среде,
- 3) пробирка с изотоническим раствором хлорида натрия,
- 4) бактериологическая петля,
- 5) предметные стекла,
- 6) спиртовка, спички,
- 7) бумажки, пропитанные генциановым фиолетовым (для окраски по модификации Синева),
- 8) колба с водой,
- 9) фильтровальная бумага,
- 10) раствор Люголя,
- 11) бюкс с этанолом,
- 12) водный раствор фуксина Пфейфера,
- 13) таблицы: - «Метод Грама», «Методика окраски по Граму».
- 14) микроскоп, иммерсионное масло

### Методика приготовления и окраски мазка по Граму (модификация Синева)

Соблюдая правила асептики, приготовить мазок из чистых культур кишечной палочки и белого стафилококка, выращенных на плотных питательных средах: с помощью бактериологической петли поместить каплю

физраствора на предметное стекло, затем поместить в каплю соответствующие культуры, распределить. Высушить препарат, зафиксировать.

#### Окраска:

1. На фиксированный мазок помещают полоску фильтровальной бумаги, пропитанную генциановым фиолетовым на 2-3 мин.

2. Краску сливают, удаляют фильтровальную бумагу пинцетом и, не смывая водой, наливают раствор Люголя (I в KI)

3. Сливают раствор Люголя и, не смывая водой, препарат помещают в стаканчик с этанолом 2-3 раза или помещают 1-2 капли этанола на 30 секунд, после чего быстро смывают водой.

4. Дополнительно окрашивают разведенным фуксином 2 мин.

5. Краску смывают, промывают водой до тех пор, пока струи воды не станут бесцветными.

6. Препарат высушивают фильтровальной бумагой и исследуют с иммерсионной системой.

Результаты: грамположительные микробы окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, а грамотрицательные - в красный (розовый).

**2. Зарисовать в рабочую тетрадь микроскопическую картину капсульных бактерий при окраске по методу Бурри-Гинса и микроскопическую картину спор, окрашенных по методу Циля-Нильсена.**

Оснащение:

1) таблицы: - «Капсулы у бактерий»

2) таблицы: - «Споры у бактерий»

3) слайды: - «Капсулы», «Окраска по Гинсу-Бурри»

4) слайды: - «Споры у бактерий»

- «Столбнячная палочка, споры»

5) мультимедийный проектор, ноутбук.

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Сложные методы окраски.

2. Методика и механизм окраски по методу Грама.

3. Методы выявления капсул и спор.

### **1. Сложные (дифференцирующие) методы окраски**

При окраске препаратов сложными методами используют несколько красителей (основная и вспомогательная краски), обесцвечивающие жидкости (спирты, кислоты и др.). Эти методы применяются для изучения ультраструктуры микробных клеток.

*Основные методы:*

- Грама (определение типа клеточной стенки);

- Бурри-Гинса (выявление капсул);

- Циля-Нильсена в модификации Мюллера (определение кислотоустойчивости бактерий, выявление спор);

- Ожешко (выявление спор) и др.

## 2. Методика и механизм окраски по методу Грама

### Метод Грама (модификация Синева)

1. На фиксированный мазок помещают полоску фильтровальной бумаги, пропитанную генциановым фиолетовым на 2-3 мин.

2. Краску сливают, удаляют фильтровальную бумагу пинцетом и, не смывая водой, наливают раствор Люголя (I в KI)

3. Сливают раствор Люголя и, не смывая водой, препарат помещают в стаканчик с этанолом 2-3 раза, после чего быстро смывают водой.

4. Дополнительно окрашивают разведенным фуксином 2 мин.

5. Краску смывают, промывают водой до тех пор, пока струи воды не станут бесцветными.

6. Препарат высушивают фильтровальной бумагой и исследуют с иммерсионной системой.

Результаты: грамположительные микробы окрашиваются в сине-фиолетовый цвет, а грамотрицательные - в красный (розовый).

### Механизм окраски по Граму

**1 этап.** Используется основная краска генциановый фиолетовый, затем раствор Люголя. Образуется прочное комплексное соединение «генциановый фиолетовый+йод». Все микробы окрашиваются в сине-фиолетовый цвет.

**2 этап.** Обработка этанолом (дифференциация)



#### одни микробы

сохраняют комплекс генциановый фиолетовый+йод, не обесцвечиваются, это связано с тем, что:

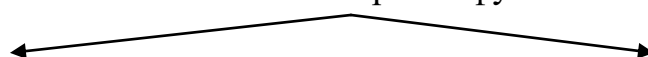
- клеточная стенка толстая,
- в ее состав входит много пептидогликана,
- имеются тейхоевые кислоты,
- по строению клеточная стенка представляет собой прочное образование, поэтому после обработки этанолом поры клеточной стенки суживаются и краска не вымывается

#### другие микробы

теряют комплекс генциановый фиолетовый+йод, обесцвечиваются, это объясняется тем, что:

- клеточная стенка микробов тонкая,
- пептидогликана мало,
- тейхоевых кислот нет,
- структура клеточной стенки мозаичная, рыхлая, поэтому после обработки этанолом поры остаются прежними, краска вымывается, микробы обесцвечиваются

### **3 этап.** Окраска фуксином



#### одни микробы

остаются сине-фиолетовыми,

#### **грамположительные:**

1. Все кокки за исключением гонококков и менингококков

#### другие микробы

окрашиваются в красный цвет,

#### **грамотрицательные:**

1. Гонококки и менингококки
2. Большинство неспорообразующих



2. Все спорообразующие палочки	палочек
3. Из неспорообразующих бактерий туберкулезная и дифтерийная палочки	3. Спириллы
4. Актиномицеты	4. Риккетсии
	5. Микоплазмы

Окраска по методу Грама не используется при изучении спирохет, простейших, грибов и вирусов.

### **3. Методы выявления капсул и спор**

#### Выявление капсул

Принцип выявления капсул основан на том, что слизистый слой капсулы с высоким содержанием воды не связывает краситель, поэтому используют методики, контрастирующие окружающую среду, фон.

#### *Методика Бурри-Гинса*

1. Мазок, приготовленный из капсулообразующих бактерий, фиксируют в пламени спиртовки.
2. Окрашивают фуксином Циля через фильтровальную бумагу - 5 мин.
3. Мазок промывают водой, высушивают.
4. На высушенный мазок наносят каплю колларгола. С помощью предметного стекла колларгол распределяют тонким слоем, высушивают на воздухе, проводят микроскопию.

Микроскопическая картина: на коричневом (желтом) фоне видны ярко-красные тела бактерий, окруженные бесцветной каймой - капсулой).

#### Выявление спор

При окрашивании спор используют такие методические приемы как:

1. нагревание пламенем спиртовки
2. обработка 5% раствором  $H_2SO_4$
3. Использование концентрированного красителя - карболовый фуксин Циля (см. методику Циля-Нильсена)

*Занятие №4*  
**Тема: МОРФОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ**  
**ЭУКАРИОТЫ. ВИРУСЫ**

**Цель занятия:** закрепить теоретические знания по морфологии и ультраструктуре эукариотов (грибов, простейших) и вирусов; научиться определять их морфологические особенности.

**ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ  
ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Особенности морфологии и медицинское значение грибов и простейших. Методы изучения морфологии.
2. Вирусы. Особенности морфологии и жизнедеятельности вирусов и бактериофагов. Микроскопические методы обнаружения вирусов.
3. Получение и применение бактериофагов. Лечебно-профилактические препараты бактериофагов.

**ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ  
К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ**

**1. Приготовить нативный мазок из чистой культуры дрожжей по типу «раздавленная капля» и окрашенный по методу Грама. Промикроскопировать препарат, зарисовать.**

Оснащение:

- 1) обезжиренные предметные стекла
- 2) бактериологическая петля
- 3) спиртовка, спички
- 4) восковой карандаш
- 5) пробирки с культурой дрожжей в жидкой питательной среде
- 6) покровное стекло
- 7) белые фильтровальные бумажки
- 8) набор реактивов для окраски по Граму
- 9) иммерсионное масло
- 10) микроскоп

Методика

1. Соблюдая правила асептики, приготовить мазок из чистой культуры дрожжей выращенной на жидкой питательной среде: с помощью бактериологической петли поместить каплю культуры на предметное стекло, накрыть покровным стеклом, излишки воды удалить фильтровальной бумагой. Промикроскопировать препарат, зарисовать.

2. Приготовить мазок из жидкой питательной среды, окрасить по Граму (см. выше).

**2. Промикроскопировать готовые демонстрационные микропрепараты простейших (просмотреть слайды). Описать морфологию, зарисовать.**

Оснащение:

1) слайды (готовые демонстрационные препараты представителей различных классов простейших - споровиков, саркодовых, жгутиков, ресничных).

2) мультимедийный проектор, ноутбук.

#### Методика

Методику микроскопии в иммерсионной системе см. в разделе «Практическая работа», работа №3, лабораторного занятия №1.

### **3. Изучить и зарисовать включения вируса бешенства в нервной ткани (тельца Бабеша-Негри).**

Оснащение:

1) демонстрационный препарат включений вируса бешенства в нервной ткани (тельца Бабеша-Негри)

2) таблица «Бешенство»

3) слайды «Тельца Бабеша-Негри»

4) мультимедийный проектор, ноутбук.

### **4. Постановка и разбор опыта по лизирующему действию колибактериофага на бульонную культуру *E. coli*.**

Оснащение:

1) пробирка с МПБ

2) пробирка с бульонной культурой кишечной палочки

3) пробирка с фильтратом лизата бульонной культуры кишечной палочки (колибактериофаг)

4) 2 пипетки на 1-2 мл

5) пустая стерильная пробирка

6) спиртовка

7) спички

8) пробирка с результатом инкубации

#### Методика

В пустую пробирку пипеткой внести 0,1 мл культуры кишечной палочки и 1-2 капли бактериофага (другой пипеткой). Инкубировать при 37<sup>0</sup>С в течение 24 ч. Учесть результат, записать вывод в рабочую тетрадь.

### **5. Демонстрация и разбор опыта по фаготипированию культуры стафилококка.**

Оснащение:

1) слайд «Фаготипирование стафилококка»

#### Методика

Определение фаготипа проводится с помощью специальных наборов типовых фагов и является одним из методов внутривидовой дифференциации бактерий. Реакция фаготипирования применяется с целью установления

источников и путей передачи инфекции при госпитальных, кишечных заболеваниях и пищевых отравлениях.

Испытуемую суточную бульонную культуру *Staphylococcus aureus* равномерно распределяют на поверхности подсушенного агара в чашке Петри. Дно чашки расчерчивают на 22 квадрата по числу фагов, затем капают разные фаги по одному в каждый квадрат. Посев инкубируют в термостате 18-24 часа при температуре 37°C. На 2-й день проводят учёт результатов; фаготип культуры соответствует тому фагу, который вызывает её полный лизис.

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Морфологические особенности грибов.
2. Морфологические особенности простейших.

### 1. Морфологические особенности грибов

Грибы – это эукариотические, грамположительные, неподвижные микроорганизмы. Клетка гриба покрыта оболочкой, имеется ядро, цитоплазма, вакуоли, эндоплазматическая сеть и митохондрии.

Существует 2 типа роста грибов: мицелиальный и дрожжевой. Первый тип характерен для *плесневых* грибов (рис.1, а). Основа их тела или структурная единица – гифа – разветвленная микроскопическая трубка, содержащая цитоплазму и органеллы. Совокупность гиф образует мицелий. Мицелий может быть септированным (с перегородками) и несептированным. Выделяют мицелий вегетативный (для питания) и репродуктивный (для размножения, т.к. несет репродуктивные структуры – споры). *Дрожжевой* тип: представлен в виде одиночных клеток различной формы (овальных, круглых, палочковидных, рис. 1, б).

Многие виды грибов проявляют **диморфизм**, т. е. способность существовать в той и другой форме. Например, у возбудителя гистоплазмоза мицелиальная форма образуется при росте на питательной среде, а в организме человека, животного формируется дрожжевая форма.

Существует также псевдомицелий – цепочки удлиненных клеток с расположенными на них дрожжеподобными бластоспорами. (у дрожжеподобных грибов, рис.1, в)

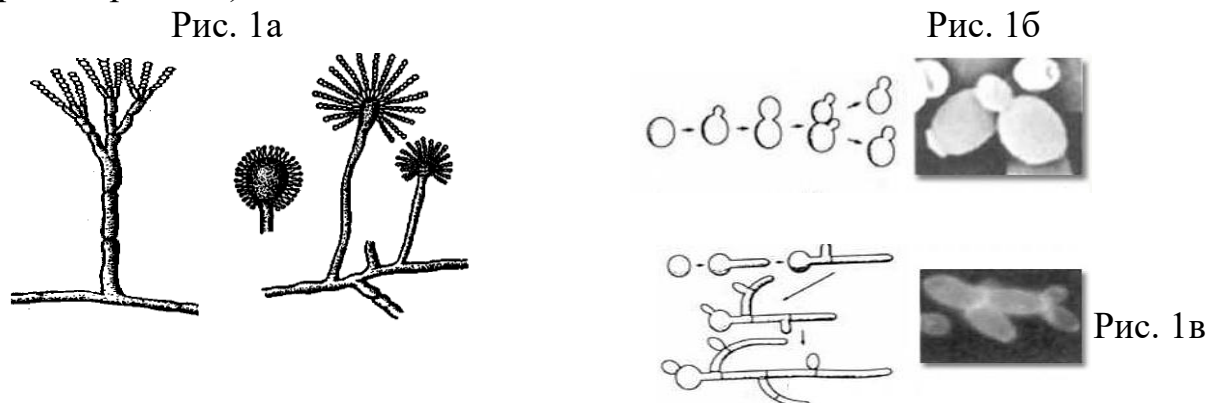


Рис.1. Виды грибов

а - плесневые грибы, б - дрожжевые грибы, в – дрожжеподобные грибы  
(рисунки из открытых интернет-источников)

## 2. Морфологические особенности простейших

Простейшие – одноклеточные эукариотические организмы, это самые крупные микроорганизмы, самые высокоорганизованные. Имеют дифференцированное ядро, цитоплазму, оболочку, примитивные органоиды. Многие из них образуют цисты, обеспечивающие длительную устойчивость к неблагоприятным факторам окружающей среды.

В зависимости от наличия тех или иных органов передвижения осуществляется классификация простейших (рис. 2): саркодовые передвигаются с помощью ложноножек, жгутиковые – с помощью одного или нескольких жгутиков, ресничные – с помощью ресничек, у споровиков органов передвижения нет.

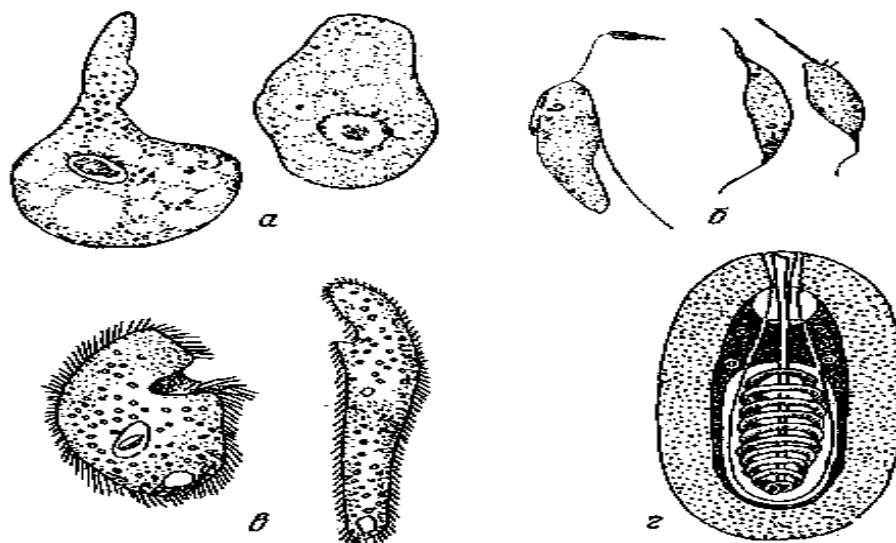


Рис. 2. Виды простейших: а – саркодовые, б – жгутиковые, в – ресничные, г – споровики  
(рисунки из открытых интернет-источников)

**Занятие №5**  
**Тема: ГЕНЕТИКА МИКРООРГАНИЗМОВ**

**Цель занятия:** закрепить теоретические знания по особенностям генетики бактерий и вирусов. Изучить основные задачи и области применения биотехнологии.

**ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ  
ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Строение генома бактерий.
2. Понятие о генотипе и фенотипе. Генотипическая и фенотипическая изменчивость у бактерий.
3. Особенности рекомбинативного процесса у бактерий.
4. Особенности генетики вирусов.
5. Понятие, сущность, цели и задачи биотехнологии.
6. Генная инженерия, область применения в биотехнологии. Биопрепараты, полученные генно-инженерным методом.

**ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ  
К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ**

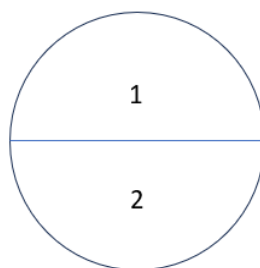
**1. Постановка опыта по трансформации**

Оснащение:

- 1) пробирка бульонной культурой *E. coli*, Ciprofloxacin<sup>s</sup>
- 2) пробирка с ДНК штамма *E. coli*, Ciprofloxacin<sup>f</sup>
- 3) МПА с ципрофлоксацином
- 4) бактериологическая петля, пипетки на 1-2 мл.
- 5) пустая стерильная пробирка
- 6) спички, спиртовка
- 7) чашка с результатом

Методика

К 1 мл бульонной культуры реципиента (штамм *E. coli*, Ciprofloxacin<sup>s</sup>) добавляют 1 мл ДНК донора, выделенной из *E. coli*, Ciprofloxacin<sup>f</sup>, инкубируют 40 минут при 37<sup>0</sup>С и делают высев петлей на чашку с селективной средой (МПА с ципрофлоксацином) по секторам: из опытной пробирки (1) и реципиента (2). Далее посеы инкубируют при 37<sup>0</sup>С 48-72 часа.



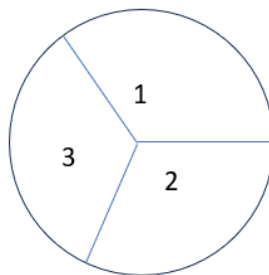
## 2. Постановка опыта по конъюгации

Оснащение:

- 1) пробирка с 2 мл бульонной культуры *E. coli* F<sup>-</sup>Pro<sup>-</sup>Ura<sup>-</sup>His<sup>-</sup>Ciprofloxacin<sup>r</sup>
- 2) пробирка с бульонной культурой *E. coli* HfrPro<sup>+</sup>Ura<sup>+</sup>His<sup>+</sup>Ciprofloxacin<sup>s</sup>
- 3) минимальный агар с ципрофлоксацином
- 4) бактериологическая петля, пипетки на 1-2 мл.
- 5) пустая стерильная пробирка
- 6) спички, спиртовка
- 7) чашка с результатом

### Методика

К 2 мл бульонной культуры реципиента (штамм *E. coli* F<sup>-</sup>Pro<sup>-</sup>Ura<sup>-</sup>His<sup>-</sup>Ciprofloxacin<sup>r</sup>) добавляют 1 мл бульонной культуры донора (*E. coli* HfrPro<sup>+</sup>Ura<sup>+</sup>His<sup>+</sup>Ciprofloxacin<sup>s</sup>), инкубируют 40 минут при 37<sup>0</sup>С и делают высев петлей на чашку с селективной средой (минимальный агар с ципрофлоксацином) по секторам: культуры донора (1), реципиента (2) и из опытной пробирки (3). Далее посевы инкубируют при 37<sup>0</sup>С 48-72 часа.



## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Микроорганизмы, используемые в биотехнологии.
2. Стадии биотехнологического производства.

### *1. Микроорганизмы, используемые в биотехнологии*

Микроорганизмов, синтезирующих продукты или осуществляющих реакции, полезные для человека, несколько сотен видов. В качестве биотехнологических объектов используют вирусы, бактерии, грибы, простейшие (рис. 1).

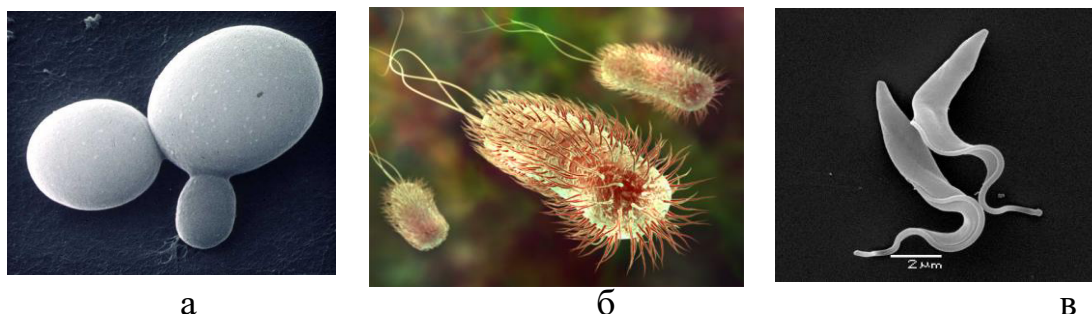


Рис. 1. Микроорганизмы, используемые в биотехнологических процессах:  
а – дрожжи, б – бактерии; в – простейшие  
(рисунки из открытых интернет-источников)

Бактерии используются при производстве: пищевых продуктов, например, уксуса (*Gluconobacter suboxidans*), молочнокислых напитков (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*), сока; микробных инсектицидов (*Bacillus thuringiensis*); белка (*Methylomonas*, дрожжи); витаминов (*Clostridium* - рибофлавин); антибиотиков (*Cephalosporum acremonium*, *Bacillus brevis*, *Bacillus subtilis*), вакцин и др.

Биотехнологические функции грибов разнообразны. Их используют для получения таких продуктов, как антибиотики (пенициллы, цефалоспорины); белок (*Candida*, *Saccharomyces lipolitica*); сыры типа рокфор и камамбер (пенициллы); соевый соус (*Aspergillus oryzae*) и др.

К грибам относятся дрожжи и плесени. Преимущество дрожжей заключается прежде всего в их "технологичности": дрожжи легко выращивать в условиях производства. Они характеризуются высокой скоростью роста, устойчивостью к посторонней микрофлоре, способны усваивать любые источники питания, легко отделяются, не загрязняют воздух спорами. Наиболее ценный компонент дрожжевой биомассы - белок, который по составу аминокислот превосходит белок злаковых культур и лишь немного уступает белкам молока и рыбной муки. Биологическая ценность дрожжевого белка определяется наличием значительного количества незаменимых аминокислот. По содержанию витаминов дрожжи превосходят все белковые корма.

Плесневые грибы привлекают внимание исследователей благодаря способности утилизировать самое разнообразное по составу органическое сырье: молочную сыворотку, сок растений и корнеплодов, целлюлозосодержащие твердые отходы пищевой, деревообрабатывающей,



гидролизной промышленности. Грибной мицелий богат белковыми веществами, которые по содержанию незаменимых аминокислот ближе всего к белкам сои.

Простейшие относятся к числу нетрадиционных объектов биотехнологии. До недавнего времени они использовались лишь как компонент активного ила при биологической очистке сточных вод. В настоящее время они привлекли внимание исследователей как продуценты некоторых биологически активных веществ, например, обладающих противоопухолевой активностью. Простейшие используются в производстве кормового белка, являются источниками полисахаридов.

Производственные штаммы микроорганизмов должны соответствовать определенным требованиям: способность к росту на дешевых питательных средах, высокая скорость роста и образования целевого продукта, минимальное образование побочных продуктов, стабильность продуцента в отношении производственных свойств, безвредность продуцента и целевого продукта для человека и окружающей среды.

## **2. Стадии биотехнологического производства**

В общем виде система биотехнологического производства продуктов микробного синтеза представлена на рисунке 2.

Существует 5 стадий биотехнологического производства.

Две начальные стадии включают подготовку сырья и биологически действующего начала. Они обычно состоят из приготовления раствора субстрата (питательной среды) с заданными свойствами (рН, температура, концентрация) и подготовки ферментного препарата (первая стадия). Вторая стадия – культивирование штамма-продуцента. Поддержание чистой культуры штамма-продуцента - главная задача любого микробиологического производства, поскольку высокоактивный, не претерпевший нежелательных изменений штамм может служить гарантией получения целевого продукта с заданными свойствами.

Третья стадия - ферментации, на которой происходит образование целевого продукта. На этой стадии идет микробиологическое превращение компонентов питательной среды сначала в биомассу, затем, если это необходимо, в целевой метаболит.

На четвертом этапе из культуральной жидкости выделяют и очищают целевые продукты. Для промышленных микробиологических процессов характерно, как правило, образование очень разбавленных растворов и суспензий, содержащих, помимо целевого, большое количество других веществ. При этом приходится разделять смеси веществ близкой природы, находящихся в растворе.

Заключительная стадия биотехнологического производства - приготовление товарных форм продуктов. Особые требования предъявляются к медицинским препаратам и биохимическим реактивам.

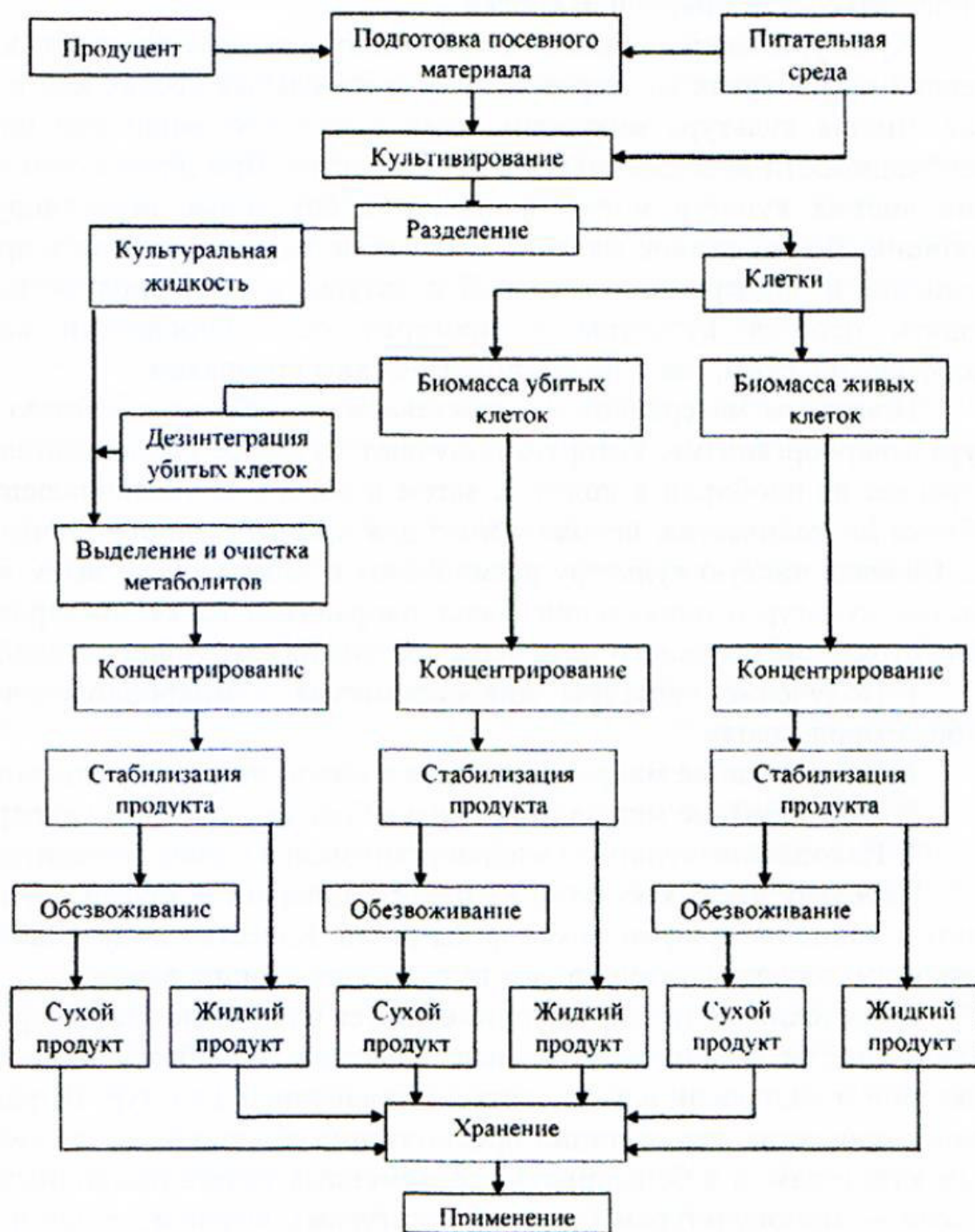


Рис. 2. Система биотехнологического производства  
[https://alternativa-sar.ru/images/Pi\\_Biotechnologia/Рис.\\_15.jpg](https://alternativa-sar.ru/images/Pi_Biotechnologia/Рис._15.jpg)

## *Занятие №6*

### **Тема: ФИЗИОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ**

**Цель занятия:** изучить основные физиологические процессы, протекающие в микробных клетках; принципы культивирования микроорганизмов. Освоить методы посева и пересева микроорганизмов; бактериологический метод исследования.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Химический состав микробной клетки.
2. Ферменты и пигменты микробов. Их биологическая роль.
3. Питание микробов. Типы питания. Питательные среды. Виды, получение, назначение.
4. Дыхание микроорганизмов, типы дыхания.
5. Рост и размножение микробов.
6. Принцип и методы культивирования вирусов и риккетсий, анаэробов.
7. Понятие о чистой культуре и колонии микроорганизмов, методы выявления чистых культур.
8. Бактериологический метод исследования.

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ**

**1. Ознакомиться с различными питательными средами, применяемыми для культивирования микроорганизмов.**

Оснащение:

- 1) полуфабрикаты простых и специальных питательных сред во флаконах;
- 2) пробирки с МПБ и МПА (столбиком и скошенный);
- 3) чашки с МПА, с кровяным агаром, с дифференциально-диагностической средой Эндо;
- 4) среды «пестрого ряда».

**2. Изучить характер роста разных видов микроорганизмов на питательных средах. Описать морфологию колоний (см. таблицу 1). Зарисовать.**

Оснащение:

- 1) культуры кишечной палочки, стафилококка белого, сарцины в пробирках (чашках) с МПА.
- 2) культура дрожжевых грибов на среде Сабуро (слайд).
- 3) культура золотистого стафилококка на желточно-солевом агаре (слайд).
- 3) среды Гисса с культурой кишечной палочки.
- 4) таблица и слайды «Рост микробов при посеве уколом в столбик сахарного агара и на МПБ»

5) мультимедийный проектор, ноутбук.

Таблица 1

### Морфология колоний

	Макроскопические исследования						Микроскопические исследования	
	размер	форма	прозрачность	цвет	поверхность	консистенция	край	структура

### 3. Освоить бактериологический метод исследования (выделить и идентифицировать культуру кишечной палочки из исследуемого материала), методики посева бактериальной культуры.

Оснащение:

- 1) исследуемый материал.
- 2) предметные и покровные стекла.
- 3) набор реактивов для окраски по Граму.
- 4) пробирки со стерильным МПБ.
- 5) чашки со стерильной плотной средой МПА, Эндо.
- 6) бакпетли, пинцеты.
- 7) чашки с МПА, засеянные *Escherichia coli* штрихом по секторам.
- 8) чашки с Эндо, засеянные *Escherichia coli* штрихом по секторам.
- 9) стерильные пробирки со скошенным МПА.
- 10) пробирки с посевом на скошенном агаре *Escherichia coli*.
- 11) покровные стекла.
- 12) перекись водорода, зубочистки для теста на каталазу.
- 13) наборы сред Гисса и пробирки с пептонной водой (незасеянные), индикаторные полоски на индол и сероводород.
- 14) наборы сред Гисса и пробирки с пептонной водой и индикаторными бумажками (засеянные = результат после посева *Escherichia coli*).
- 15) 3% раствор перекиси водорода, пипетка, зубочистка.
- 16) кристаллизатор с салазками, спиртовка, спички.
- 17) микроскоп, иммерсионное масло.
- 18) таблица «Колонии микроорганизмов на питательных средах».
- 19) таблица «Методика окраски по Граму».
- 20) таблицы: «Ферментативная активность бактерий».

### Методика

#### **1-й день исследования**

1. Произвести посев исследуемого материала на МПА и Эндо штрихом по секторам (см. информационный блок) для получения отдельных колоний.
2. Культивировать посеvy в термостате при 37<sup>0</sup>С в течение 1-2 суток.

#### **2-й день исследования**

3. Описать характер роста (культуральные свойства) выросших на МПА и Эндо колоний.
4. Приготовить из колоний фиксированные мазки, окрасить по Граму.

5. Определить, соответствует ли морфология клеток в колониях морфологии клеток кишечной палочки (грамотрицательные хаотично расположенные палочки с закругленными концами, не образующие спор).

6. Сделать высев из одной колонии (при соответствии морфологии *E. coli*) на скошенный МПА штрихом (см. информационный блок) для накопления чистой культуры.

7. Культивировать посев в термостате при 37<sup>0</sup>С в течение 1-х суток.

### ***3-й день исследования***

1. Проверка чистоты выделенной культуры:

- макроскопически (визуально): сравнить характер роста культуры на скошенном агаре с характером роста исходной колонии (из которой делали пересев во 2-й день исследования). При идентичности роста и отсутствии посторонних включений предполагают, что культура чистая.

- микроскопически: готовят мазок из культуры со скошенного агара, причем материал берут со всей площади посева. Затем окрашивают по методу Грама. Под микроскопом исследуют 5-6 полей зрения.

Убедившись, что получена чистая культура, приступить к изучению ее свойств.

2. Изучение свойств выделенной чистой культуры:

- морфологические свойства (форма и размеры клеток, расположение в препаратах) и тинкториальные свойства (работа выполняется при микроскопии окрашенного по Граму препарата одновременно с определением чистоты культуры),

- культуральные свойства - рост культуры на скошенном агаре (цвет, блеск, прозрачность налета),

- подвижность бактерий методами "висячей" и "раздавленной" капли (см. занятие №2),

- наличие каталазы;

- сахаролитической и протеолитической активности.

### ***Определение каталазы***

На сухое чистое предметное стекло нанести полную петлю агаровой культуры. Пипеткой нанести на культуру 1 каплю 3% раствора перекиси водорода. Реактив можно нанести на стекло рядом с культурой, а затем перемешать зубочисткой. Ошибкой является внесение культуры в каплю перекиси водорода при помощи металлической петли, поскольку металл при контакте с перекисью водорода может вызвать ложноположительный результат.

При положительном результате пузырьки газа появятся практически мгновенно, вызывая "вскипание" реактива. Позднее образование пузырьков, а также их малое количество могут свидетельствовать о ложноположительном результате.

### ***Определение сахаролитической и протеолитической активности***

Посев чистой культуры, выросшей на скошенном агаре, в среды "пестрого ряда" (среды Гисса) для изучения сахаролитической активности;

посев в МПБ с индикаторными бумажками для определения протеолитической активности.

Произвести посев во все шесть пробирок «пестрого ряда»: перенести исследуемую культуру, соблюдая правила асептики, со скошенного агара в пробирки с жидкими средами (методика пересева - см. информационный блок). В стаканы поместить этикетку: № группы, фамилия.

Пробирки поместить в термостат на 24 часа при  $t$  37°C.

#### ***4-й день исследования***

##### Методика

Сделать заключение о видовой принадлежности чистой культуры бактерий по совокупности изученных свойств: морфологических, тинкториальных, культуральных, биохимических (используя дифференциально-диагностическую таблицу), наличии подвижности. Данные внести в протокол исследования.

### **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Общие требования к осуществлению посевов.
2. Техника посева и пересева.
3. Культуральные свойства колоний.

#### ***1. Общие требования к осуществлению посевов***

Все манипуляции, связанные с взятием и посевом материала, производят над пламенем горелки. Края пробирки при вынимании пробки прожигают. Бактериальную петлю прокаливают на огне непосредственно перед взятием материала. Пробирки закрывают, предварительно обжигая их края и ту часть пробки, которая входит в горлышко пробирки. По окончании работы петлю стерилизуют в пламени горелки и ставят в штатив.

#### ***2. Техника посева и пересева***

Посев с плотной питательной среды на жидкую питательную среду.

Пробирку с культурой на плотной питательной среде и пробирку со стерильной жидкой питательной средой одновременно поместить в левую руку в наклонном положении между большим и указательным пальцами так, чтобы поверхность среды можно было наблюдать. Петлю, находящуюся в правой руке, прокаливают. Правой рукой вынимают из пробирок ватные пробки над пламенем горелки, охлаждают петлю о стенку пробирки, набирают петлей посевной материал, после чего закрывают пробирку с культурой пробкой, пронося горлышко пробирки через пламя спиртовки. В пробирку с МПБ вносят петлю с посевным материалом, погружают в среду. Вынув петлю, обжигают край пробирки и закрывают ее пробкой. Петлю стерилизуют в пламени горелки и ставят в штатив.

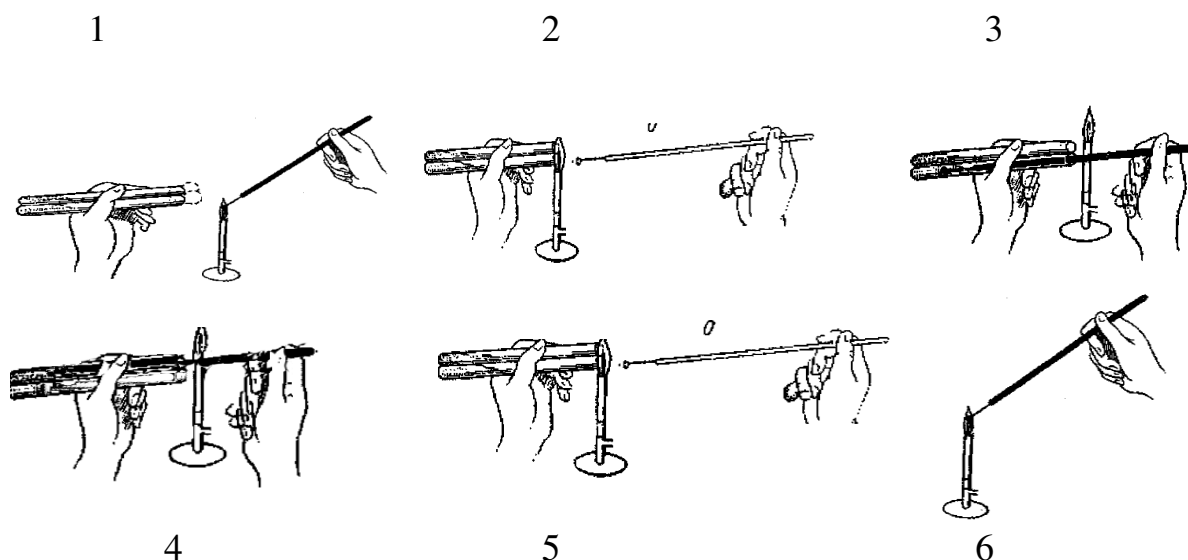


Рис. 1. Техника посева с плотной питательной среды на жидкую питательную среду.

(Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. – Изд-во.: Медицина, 1978.- 394 с.)

Посев с жидкой питательной среды на плотную питательную среду методом истоющего штриха

Чашку Петри с плотной питательной средой делят на 4 -5 радиальных секторов. Пробирку с бактериальной культурой в жидкой питательной среде помещают в левую руку. Петлю, находящуюся в правой руке, прокалывают. Правой рукой, одновременно держа в ней петлю, вынимают из пробирки ватную пробку, пронося край пробирки над пламенем спиртовки, набирают петлей посевной материал, после чего закрывают пробирку пробкой. При взятии петлей жидкость должна образовать в кольце петли тонкую прозрачную пленку - "зеркало". Затем левой рукой приоткрывают один край чашки, вносят внутрь петлю и засевают материал на сектор среды, нанося параллельны штрихи с интервалом 4 - 5 мм. Не обжигая петли и не забирая дополнительного посевного материала, аналогичным образом засевают культуру штрихом на оставшиеся сектора – метод получения изолированных колоний, содержащих чистую культуру по Дригальскому. Вынув петлю, стерилизуют ее в пламени горелки и ставят в штатив.

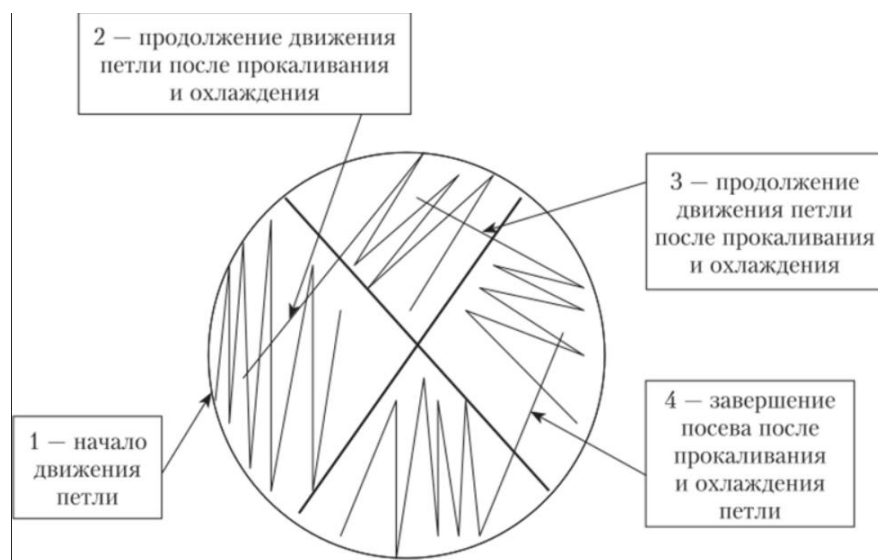


Рис. 2 Техника посева на плотную питательную среду методом истощающего штриха (<https://studme.org/htm/img/32/3257/4.png>)

**Колония** – видимое невооруженным взглядом скопление микробов на плотной питательной среде, выросшее из одной клетки. Колония - это потомство микробов, выросших из одной клетки. Т.к. все микробы в колонии выросли из одной клетки, они относятся к одному виду, т.е. в каждой изолированной колонии (отдельно стоящей, не сливающейся с другими колониями) содержится *чистая культура*.

При посеве на скошенный агар петлю с находящимся на ней материалом вводят в пробирку до дна и скользящим движением делают штрихи на поверхности среды от стенки к стенке снизу вверх.

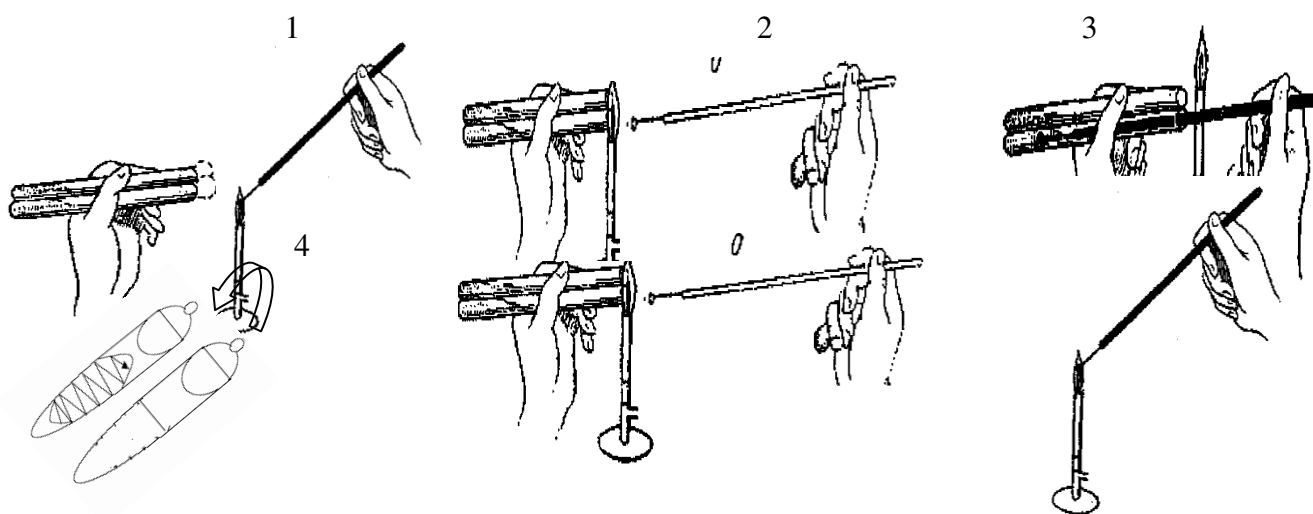


Рис. 3 Техника посева с жидкой питательной среды на скошенный агар (Лабинская А.С. *Микробиология с техникой микробиологических исследований*. – Изд-во.: Медицина, 1978.- 394 с.)



### Посев с жидкой питательной среды на плотную питательную среду методом газона

Посевы газонам производят шпателем на агар в чашке Петри. Для этого, приоткрыв крышку, петлей наносят посевной материал на поверхность агара. Затем проводят шпатель через пламя горелки, остужают его о внутреннюю сторону крышки и распределяют материал по всей поверхности среды. При этом крышку придерживают левой рукой и одновременно вращают чашку, не отрывая ее от стола. После инкубации посева появляется равномерно сплошной рост.

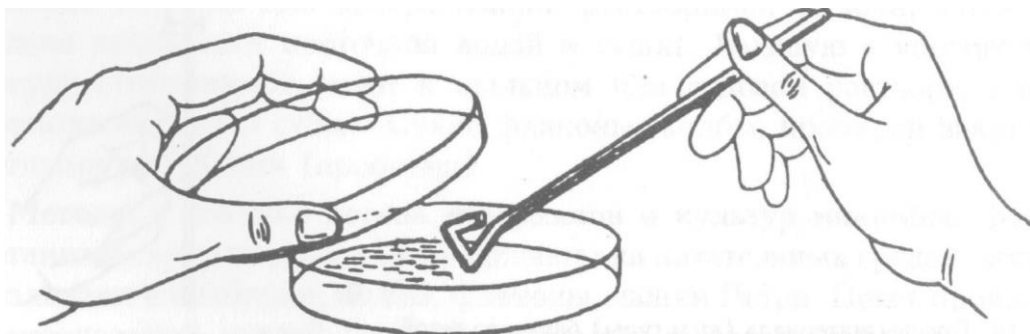


Рис. 4. Посев с жидкой питательной среды на плотную питательную среду методом газона

([https://studfile.net/html/2706/1197/html\\_6RQqHUZHMX.uHXo/htmlconvd-ftwkuM\\_html\\_f5fe66858d89f326.jpg](https://studfile.net/html/2706/1197/html_6RQqHUZHMX.uHXo/htmlconvd-ftwkuM_html_f5fe66858d89f326.jpg))

### **3. Культуральные свойства колоний**

1. *Форма колоний* может быть круглой, неправильной, корневидной, эллипсоидной и т.д.

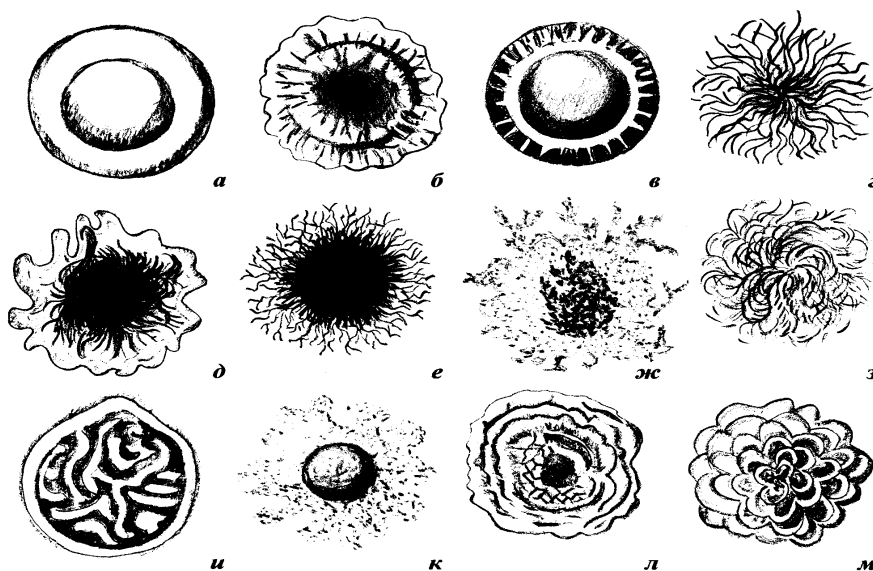


Рис. 5. Форма колоний: а – круглая; б – круглая с фестончатым краем; в – круглая с валиком по краю; г; д – ризоидная; е – с ризоидным краем; ж – амёбовидная; з – нитевидная; и – складчатая; к – неправильная; л – концентрическая; м – сложная

([https://ds05.infourok.ru/uploads/ex/1277/000df526-9ff7293e/hello\\_html\\_31bbd7ea.png](https://ds05.infourok.ru/uploads/ex/1277/000df526-9ff7293e/hello_html_31bbd7ea.png))

2. *Размеры колоний*: Колонии, имеющие диаметр более 4 мм являются крупными, от 2 до 4 мм – средними, от 1 до 2 мм – мелкими, менее 1 мм – точечными или росинчатыми.

3. *Цвет колоний*: Микроорганизмы, содержащие пигменты могут быть желтого, оранжевого, розового, кремового и др. цветов. Большинство микроорганизмов не содержат пигментов и растут на плотных средах в виде серовато-матовых колоний. Такие колонии называют бесцветными.

4. *Поверхность колоний*: Поверхность колоний может быть гладкой, блестящей, шероховатой, морщинистой, извилистой и т.д.

5. *Характер края колоний*: Край может быть ровным (гладким); волнистым; локонообразным (нитчатым); лопастным; бахромчатым; зазубренным; корневидным (ветвистым) и др.

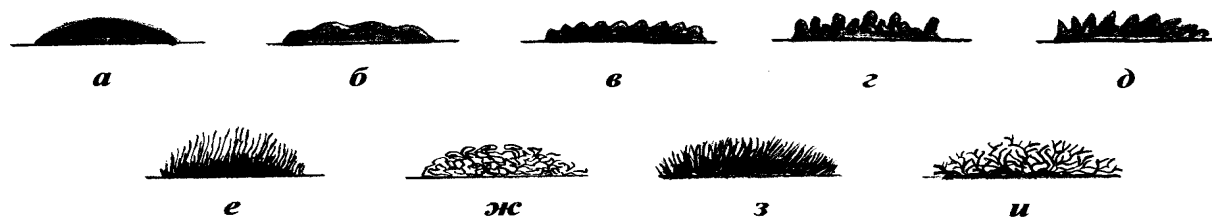


Рис. 6 Край колоний: а - гладкий; б – волнистый; в – зубчатый; г – лопастный; д – неправильный; е – реснитчатый; ж – нитчатый; з – ворсинчатый; и - ветвистый

([http://images.myshared.ru/10/980245/slide\\_13.jpg](http://images.myshared.ru/10/980245/slide_13.jpg))

6. *Прозрачность колоний*: Колонии бывают прозрачные, полупрозрачные и непрозрачные.

7. *Структура колоний*: Структура колоний бывает однородная (гомогенная) и неоднородная (гетерогенная). Неоднородные колонии могут быть мелко- и крупнозернистыми, радиально или концентрически исчерченными, чешуйчатыми и др.

8. *Консистенцию колоний*: Определяется при приготовлении препаратов для микроскопического анализа.

## Занятие №7

### Тема: ВЛИЯНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ, ХИМИЧЕСКИХ, БИОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА МИКРООРГАНИЗМЫ

**Цель занятия:** Изучить физические, химические и биологические факторы, оказывающие воздействие на микроорганизмы, применение этих факторов в фармации и медицине; методы асептики, антисептики, стерилизации, дезинфекции; научиться определять влияние высокой температуры, ультрафиолетового облучения и дезинфицирующих средств на спорообразующие и не спорообразующие бактерии.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Взаимоотношения микроорганизмов и окружающей их среды обитания.
2. Влияние биологических факторов на микроорганизмы.
3. Влияние физических факторов на микроорганизмы: температуры, высушивания, лучистой энергии. Использование физических факторов в медицине и фармации.
4. Влияние химических факторов на микроорганизмы. Характеристика дезинфицирующих средств.
5. Асептика, понятие, методы.
6. Антисептика, понятие, методы.
7. Стерилизация, виды, режим. Методы контроля стерильности.
8. Дезинфекция. Понятие. Виды и методы.
9. Дезинсекция. Понятие. Виды и методы.
10. Дератизация. Понятие. Виды и методы.

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

##### **1. Исследование влияния высокой температуры на спорообразующие и неспорообразующие бактерии.**

Оснащение:

- 1) пробирки с жидкой питательной средой (мясопептонный бульон)
- 2) пробирки с культурами *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli* в мясопептонном бульоне
- 3) водяная баня
- 4) спиртовка, спички
- 5) пипетки на 1 мл, груши
- 6) банка с дезинфицирующим раствором
- 7) маркер

#### Методика

В 3 пробирки с жидкой питательной средой (мясопептонный бульон - МПБ) вносят по 0,1 мл культуры *E. coli* (неспорообразующие бактерии). В 3 пробирки с жидкой питательной средой (МПБ) вносят по 0,1 мл культуры *B. subtilis* (спорообразующие бактерии).

По одной пробирке с каждой культурой помещают на водяную баню на 5 мин. По одной пробирке с каждой культурой помещают на водяную баню на 30 мин. Оставшиеся пробирки – контроли – воздействию высокой температуры не подвергаются.

По истечении времени все посевы (пробирки) помещают в термостат на 24 часа при температуре 37°C.

Учет результатов производят по наличию или отсутствию признаков роста на жидкой питательной среде (помутнение, пленка, осадок). На основании полученных результатов делают вывод о чувствительности спорообразующих и неспорообразующих бактерий к действию высокой температуры.

## 2. Исследование влияния УФ-лучей на спорообразующие и неспорообразующие бактерии

Оснащение:

- 1) пробирки с культурами *B. subtilis* и *E. coli* в мясопептонном бульоне
- 2) чашка Петри с плотной питательной средой (мясопептонный агар)
- 3) УФ-лампа
- 4) трафарет из светонепроницаемой бумаги с двумя отверстиями в центре
- 5) бактериологическая петля
- 6) шпатель
- 7) спиртовка, спички
- 8) банка с дезинфицирующим раствором
- 9) маркер

### Методика

Культуры *E. coli* (неспорообразующие бактерии) и *B. subtilis* (спорообразующие бактерии) высевают методом газона (шпателем) на мясопептонный агар (МПА) на 1-й и 2-й сектора (маркируют каждый сектор), закрывают трафаретом и при открытой чашке подвергают воздействию ультрафиолетовых лучей в течение 10 мин.

Посевы помещают в термостат при температуре 37°C на 24 часа. Учет производят по наличию или отсутствию роста микроорганизмов в области, подвергшейся УФ-облучению, сравнивают чувствительность культур к действию УФ-лучей.



### **3. Исследование влияния дезинфицирующих средств на спорообразующие и неспорообразующие бактерии методом бумажных дисков (качественный тест).**

Оснащение:

- 1) пробирки с культурами *B. subtilis* и *E. coli* в мясопептонном бульоне
- 2) чашки Петри с мясопептонным агаром
- 3) растворы дезинфицирующих средств
- 4) бактериологическая петля
- 5) шпатель
- 6) пинцет
- 7) диски из фильтровальной бумаги
- 8) спиртовка, спички
- 9) линейка
- 10) маркер

#### Методика

Культуры *E. coli* (неспорообразующие бактерии) и *B. subtilis* (спорообразующие бактерии) высевают методом газона (шпателем) на чашки Петри с мясопептонным агаром.

- на 1-ую чашку - спорообразующую культуру (*B. subtilis*);
- на 2-ую чашку - неспорообразующую культуру (*E. coli*).

Диски из фильтровальной бумаги смачивают растворами 3 исследуемых дезинфицирующих средств и помещают их на засеянную поверхность питательной среды. Расстояние от стенок чашки и между дисками должно составлять не менее 25 мм.

Посевы помещают в термостат при температуре 37°C на 24 часа. Учет производят по диаметру зоны задержки роста микроорганизмов вокруг дисков:

- 25 мм и более – чувствительность высокая;
- 15-25 мм - чувствительность средняя,
- 15 мм и менее - чувствительность низкая.

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Влияние на микроорганизмы биологических, физических, химических факторов.

2. Комплексные мероприятия по борьбе с микроорганизмами, насекомыми и грызунами.

### ***1. Влияние на микроорганизмы биологических, физических, химических факторов.***

#### **Биологические факторы.**

**Симбиоз** – благоприятное сосуществование представителей разных биологических видов, без нанесения вреда одному из видов.

**Мутуализм** – взаимовыгодные отношения между организмами. Обычно, один из партнёров использует продукты жизнедеятельности другого в качестве пищи, тогда как второй получает благоприятные для роста и размножения условия.

**Комменсализм** – способ совместного существования двух разных видов живых организмов, при которых одна популяция извлекает пользу от взаимоотношения, а другая не получает ни пользы, ни вреда.

**Антагонизм** – неблагоприятное сосуществование представителей разных биологических видов, при котором один из видов наносит вред жизнедеятельности другого.

**Паразитизм** – вид неблагоприятного сосуществования, когда один вид (паразит) использует другой вид (хозяина) как источник питания, среду обитания. Примером является система – «человек – патогенный микроорганизм».

**Хищничество** – вид неблагоприятного сосуществования, когда один вид (хищник) использует другой вид (сегмент пищевой цепочки) в качестве пищи, что приводит к гибели последнего.

**Физические факторы.** Механизмы неблагоприятного воздействия физических факторов на микроорганизмы представлены в таблице 1.

Таблица 1

Механизмы неблагоприятного воздействия физических факторов на микроорганизмы

Вид фактора	Механизм неблагоприятного действия
Температура	Высокая (более 60°C) температура вызывает коагуляцию белка.
Высушивание	Нарушение окислительно-восстановительных процессов клетки вследствие ее обезвоживания.
Лучистая энергия	Стимуляция образования свободных радикалов и образование нежизнеспособных димеров нуклеиновых кислот.
Ультразвук	Образование кавитационных полостей в цитоплазме клетки.
Осмотическое давление	Нарушение окислительно-восстановительных процессов клетки вследствие ее обезвоживания.
Фильтрация	Механическое разделение неоднородных сред.

**Химические факторы.** Механизмы неблагоприятного воздействия различных групп химических соединений на микроорганизмы представлены в таблице 2.

Таблица 2

Механизмы неблагоприятного воздействия химических факторов на микроорганизмы

Вид фактора	Механизм неблагоприятного действия
Спирты	Денатурация (свертывание) белков.
Фенолы	Нарушение свойств клеточной стенки микроорганизмов вследствие образования комплексных соединений с полисахаридами, входящими в ее состав.
Галогениды	Выделение атомарного (свободного) галоген-радикала, который денатурирует протоплазму клеток путем взаимодействия с аминокетонами белков.

<b>Вид фактора</b>	<b>Механизм неблагоприятного действия</b>
ПАВ	Нарушение поверхностного натяжения клетки.
Окислители	Окисление компонентов клеточной стенки.
Кислоты и их производные	Денатурация белка микробной клетки вследствие изменения рН среды.
Альдегиды	Разрушение клеточных мембран, денатурация белков и инактивация ферментов.
Соли тяжелых металлов	Инактивация жизненно важных ферментов микробной клетки путем взаимодействия ионов тяжелых металлов ( $Me^{2+}$ ) с сульфгидрильными группами ферментов.

## ***2. Комплексные мероприятия по борьбе с микроорганизмами, насекомыми и грызунами.***

***Асептика*** – комплекс профилактических мероприятий, направленный на предупреждение попадания микроорганизмов в лекарственный препарат, питательную среду, рану и т.д.

В комплекс мероприятий асептики входят:

1) Создание соответствующих условий, исключающих попадание м/о на объекты, т.е. соблюдение санитарно-гигиенического режима, требований к помещению и персоналу, регламентируемых соответствующей НД.

2) Стерилизация всех материалов и предметов, необходимых для работы (инструменты, посуда, вспомогательный материал).

***Антисептика*** – комплекс лечебно-профилактических мероприятий, направленный на уничтожение уже попавших микроорганизмов в объект (*лекарственный препарат, питательную среду, рану и т.д.*).

***Дезинфекция*** – комплекс лечебно-профилактических мероприятий, направленный на предотвращение попадания микроорганизмов *на объекты окружающей среды.*

***Стерилизация*** - это комплекс мероприятий, направленный на *полное* освобождение объекта от всех микроорганизмов: патогенных и непатогенных, споровых и неспоровых.

***Дезинсекция*** – комплекс мероприятий, направленный на уничтожение насекомых, являющихся переносчиками инфекционных заболеваний (клещи, вши, мухи и т.д.)

***Дератизация*** – комплекс мероприятий, направленный на уничтожение грызунов, являющихся источниками инфекционных заболеваний (зоонозов).

## Занятие №8

### Тема: МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПРОТИВОМИКРОБНОЙ ХИМИОТЕРАПИИ

**Цель занятия:** изучить основные группы химиопрепаратов и антибиотиков, спектры и механизм их действия, побочное действие, способы получения антибиотиков; методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам; научиться определять чувствительность микроорганизмов к антибиотикам диско-диффузионным методом, методом серийных разведений, а также к фитонцидам - методами «лунки» («колодца») и «летучих фракций».

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

- 1 Химиотерапия. Требования к химиотерапевтическим препаратам.
- 2 Микробный антагонизм. История открытия антибиотиков. Роль отечественных ученых.
- 3 Принципы классификации антибиотиков. Классификация антибиотиков по происхождению, методам получения.
- 4 Классификация антибиотиков по спектру и характеру действия.
- 5 Классификация антибиотиков по механизму действия
- 6 Классификация антибиотиков по химическому строению.
- 7 Принципы рациональной антибиотикотерапии.
- 8 Осложнения и ошибки антибиотикотерапии.
- 9 Антибиотикорезистентность микроорганизмов. Причины формирования, механизмы, меры предупреждения.
- 10 Методы определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам.

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

##### **1. Определение чувствительности *Staphylococcus albus* к антибиотикам методом бумажных дисков.**

Оснащение:

- 1) пробирка с культурой *S. albus* в мясопептонном бульоне
- 2) чашка Петри с мясопептонным агаром
- 3) диски, пропитанные растворами антибиотиков
- 4) бактериологическая петля
- 5) шпатель
- 6) пинцет
- 7) спиртовка, спички
- 8) линейка
- 9) банка с дезинфицирующим раствором
- 10) маркер

Методика



Производят посев культуры *S. albus* на плотную питательную среду (МПА) методом газона с помощью шпателя. На засеянную поверхность питательной среды помещают диски, пропитанные растворами антибиотиков на расстоянии друг от друга и от края чашки не менее 25 мм. Чашки помещают в термостат при температуре 37°C на 24 часа. Учет производят по диаметру зоны задержки роста микроорганизмов вокруг дисков.

- 25 мм и более – чувствительность высокая;
- 15-25 мм - чувствительность средняя;
- 15 мм и менее - чувствительность низкая.

## **2. Определение чувствительности *S. albus* к фитонцидам.**

Оснащение:

- 1) пробирка с культурой *S. albus* в мясопептонном бульоне
- 2) чашка Петри с мясопептонным агаром
- 3) свежие растения
- 4) бактериологическая петля
- 5) шпатель
- 6) скальпель
- 7) пинцет
- 8) спиртовка, спички
- 9) линейка
- 10) банка с дезинфицирующим раствором
- 11) маркер

### Методика

***а) определение чувствительности *S. albus* к фитонцидам методом «лунки» («колодца»)***

### Методика

Культуру *S. albus* засевают в чашку Петри с МПА методом газона (шпателем). На засеянной поверхности питательной среды вырезают скальпелем и удаляют пинцетом кусочек агара площадью 1 см<sup>2</sup>. В образовавшуюся лунку помещают кашицу мелко нарезанного растения. Посевы помещают в термостат на 24 часа при температуре 37°.

Учет производят по диаметру зоны задержки роста микроорганизмов вокруг дисков:

- 25 мм и более – чувствительность высокая;
- 15-25 мм - чувствительность средняя;
- 15 мм и менее - чувствительность низкая.

***б) определение чувствительности *S. albus* к фитонцидам методом «летучих фракций»:***

### Методика

Культуру *S. albus* засевают в чашку Петри с МПА методом газона (шпателем). Кашицу мелко нарезанного растения помещают в виде компактной кучки на внутреннюю поверхность крышки чашки Петри (чашка не переворачивается). Посевы помещают в термостат на 24 часа при температуре 37°.

Учет производят по диаметру зоны задержки роста микроорганизмов напротив кучки нарезанного растения:

- 25 мм и более – чувствительность высокая;
- 15-25 мм - чувствительность средняя;
- 15 мм и менее - чувствительность низкая.

**3. Ознакомиться с различными противомикробными химиотерапевтическими препаратами по демонстрационным образцам.**

### **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Устойчивость микроорганизмов к действию антибиотиков.
2. Основные этапы промышленного получения антибиотиков.

#### ***1. Устойчивость микроорганизмов к действию антибиотиков.***

При воздействии ряда антибиотиков на чувствительные к ним микроорганизмы нередко возникают формы, устойчивые к их действию.

В связи с широким использованием антибиотиков в различных сферах практической деятельности решение проблемы возникновения устойчивых форм микроорганизмов имеет важное значение. Резистентность микроорганизмов проявляется не только к антибиотикам, но и к химически синтезированным лечебным препаратам. Так, в связи с широким и активным применением в лечебной практике фторхинолонов наблюдается появление и распространение устойчивых к ним микроорганизмов. При этом необходимо подчеркнуть, что чем активнее применяются антибиотики в качестве химиотерапевтических веществ, тем больше возникает устойчивых к ним форм бактерий.

Применение антибиотиков в клинике и особенно выбор того или иного препарата для назначения больному должны учитывать его эффективность в отношении возбудителя заболевания и индивидуальные особенности больного.

*Факторы, приводящие к устойчивости микроорганизмов к антибиотикам.*

1. Состояние клеточной стенки, при котором антибиотик задерживается на поверхности клетки и не проникает внутрь в результате ухудшения проницаемости антибиотиков через пориновые каналы внешней мембраны или по другим причинам.

2. Способность клетки разрушать лекарственный препарат раньше, чем он сможет проявить биологическое действие посредством ферментов, усиленно синтезируемых клеткой в присутствии антибиотика или модифицировать антибиотик.

3. Изменение клеточных структур (рибосом, мембран и др.) или модификация активных центров антибиотика, находящегося в клетке, под действием ряда факторов.

4. Способность бактерий снижать концентрацию антибиотика внутри клетки в результате активного выноса антибиотика.

5. Нарушение в микробной клетке мишени, ответственной за чувствительность микроорганизма к антибиотику.

6. Перенос генов антибиотикорезистентности от устойчивых штаммов микроорганизмов к чувствительным.

*Виды устойчивости:*

1) природная (врожденная) – характеризуется отсутствием у микроба мишени действия антибиотика. Природная резистентность является постоянным видовым признаком. При наличии у бактерий природной устойчивости антибиотики не эффективны. Например, пенициллин не действует на микоплазмы, т. к. у них нет пептидогликана – мишени, на которую этот антибиотик влияет.

2) приобретенная – возникает, когда в популяции микроорганизмов появляются особи, устойчивые к терапевтическим концентрациям антибиотика. Виды приобретенной устойчивости:

а) хромосомная – когда возникновение антибиотикорезистентности связано с изменением бактериальной хромосомы в результате мутаций. В этом случае обычно возникает устойчивость к одному виду антибиотика. Передается хромосомная устойчивость при всех видах генетического обмена.

б) внехромосомная (плазмидная) устойчивость – связана с наличием **R-плазмиды** – фактора множественной лекарственной резистентности.

R-плазида, или R-фактор, представляет собой внехромосомную кольцевую двуспиральную молекулу ДНК. В ней заключены гены, ответственные за механизм репликации и перенос свойств резистентности в клетку-реципиент (фактор переноса устойчивости, или RTF (от англ. resistance transfer factor)), а также гены, определяющие устойчивость к конкретному антибиотику (обозначаются r (от англ. resistance)).

R-фактор передаётся при трансдукции и обычном делении клетки. Некоторые R-плазмиды могут передаваться при конъюгации бактерий, то есть являются конъюгативными. Возможна передача R-плазмид между бактериями различных видов, родов и даже семейств.

Механизм превращения R<sup>+</sup>-клетками антибиотиков в неактивную форму связан с действием на них специфических ферментов, кодируемых R-плазмидой.

С действием R-плазмид часто бывает связан тот факт, что некоторые бактериальные заболевания с трудом поддаются лечению при помощи известных на данный момент антибиотиков.

В медицинской практике в целях сдерживания процесса возникновения форм микроорганизмов, устойчивых к используемым антибиотикам, наметились следующие основные пути.

1. Резкое сокращение использования антибиотиков в качестве профилактических средств и запрещение свободной (без рецепта врача) продажи антибиотических препаратов.

2. Исключение из практики применения в течение многих лет одних и тех же антибиотиков и периодическая замена антибиотиков с возвратом к старым препаратам через 10-15 лет, а также применение антибиотиков при лечении больного не более пяти суток.

3. Повышение лечебных доз антибиотика. Однако это необходимо делать очень осторожно. Для создания в очаге поражения высоких концентраций антибиотиков их вводят непосредственно в эти очаги (внутриплеврально, внутрисуставно, внутрочерепно, внутрисосудисто и т.п.).

4. Применение антибиотиков в сочетании с другими препаратами, например, сульфаниламидами, нитрофуранами, гормонами, а также с некоторыми другими биологически активными веществами (лизоцимом,  $\gamma$ -глобулином и др.) способствует повышению их физиологического действия.

5. Применение иммобилизованных на определенных носителях или инкапсулированных в липосомы антибиотиков.

6. Применение ингибиторов ферментов, инактивируемых используемых антибиотиков.

Так, эффективно используется в медицинской практике препарат аугментин, состоящий из ампициллина и клавулановой кислоты.

## **2. Основные этапы промышленного получения антибиотиков.**

Современное промышленное получение антибиотиков – это сложная многоступенчатая биотехнологическая система, состоящая из ряда последовательных стадий.

1. Стадия **биосинтеза** (образования) антибиотика, основной задачей которой является создание оптимальных условий для развития продуцента и максимально возможного биосинтеза антибиотика. Высокая результативность этой стадии зависит от уровня биосинтетической активности продуцента, времени его максимального накопления, стоимости сред для культивирования организма.

Для максимального выхода антибиотика при культивировании продуцента используют комплекс мер, включающий подбор наиболее благоприятных для этих целей питательных сред и режимов культивирования микроорганизма. Все это входит в понятие управляемый синтез.

2. Стадия **предварительной обработки культуральной жидкости**, клеток (мицелия) микроорганизма и фильтрации (отделения культуральной жидкости от биомассы продуцента), эффективность которой определяется составом среды для выращивания продуцента антибиотика, характером его роста, местом основного накопления антибиотика (в культуральной жидкости или внутриклеточно).

3. Стадия **выделения и очистки** антибиотика, особенностью которой является достигаемое увеличение концентрации антибиотика (примерно от 1 до 20–30 %). В качестве основных методов используются экстракция, осаждение, сорбция на ионообменных материалах, выпаривание, сушка.

4. Стадия получения готовой продукции, изготовление **лекарственных форм, расфасовка**, основное требование к которой – высокое качество конечного продукта.

5. Готовый антибиотик подвергается тщательному **контролю**: биологическому и фармакологическому. В первом случае ставится задача выяснения стерильности готового препарата, которая обеспечивается соблюдением стериль-

ных условий работы на всех стадиях процесса развития продуцента, выделения и очистки препарата. При фармакологическом контроле предполагается исследование токсичности, пирогенности, аллергенности и других свойств препарата, определенных Государственной фармакопеей. Расфасованный и упакованный препарат с указанием биологической активности, даты выпуска и срока годности поступает в продажу. Выход антибиотиков обычно составляет несколько десятков граммов на 1 л.

Помимо прямой ферментации, существует также способ получения полусинтетических производных антибиотиков. Такое производство было разработано в 1960 году, а первым полусинтетическим антибиотиком явился метициллин.

## **Занятие №9**

### **Тема: ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ**

**Цель занятия:** изучить видовой состав микрофлоры объектов окружающей среды и организма человека, роль нормальной микрофлоры в жизнедеятельности человека, причины возникновения и принципы диагностики дисбактериоза, средства пробиотической коррекции микрофлоры, основы санитарной микробиологии: санитарно-показательные микроорганизмы, общее микробное число воды, воздуха и почвы; научиться определять санитарно-показательные микроорганизмы и общее микробное число воды, воздуха.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Качественный и количественный состав микрофлоры почвы. Санитарно-бактериологического исследования почвы.
2. Роль микроорганизмов в круговороте азота и углерода в природе.
3. Качественный и количественный состав микрофлоры воды. Санитарно-гигиенические требования к качеству питьевой воды.
4. Микрофлора воздуха, методы исследования.
5. Роль микрофлоры внешней среды в работе фармацевта, в возникновении и передаче инфекций.
6. Микрофлора организма человека. Понятия эубиоза, дисбиоза. Препараты для лечения дисбиоза.

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

##### **1. Определение общего микробного числа воды систем централизованного питьевого водоснабжения.**

Оснащение:

- 1) проба воды
- 2) стерильные чашки Петри
- 3) мясопептонный агар в пробирках
- 4) водяная баня
- 5) пипетки на 1 мл, груши
- 6) спиртовка, спички
- 7) маркер

#### Методика

Посев исследуемых образцов воды осуществляется в двух повторах. Стерильной пипеткой забирают 1 мл исследуемой пробы воды и вносят в стерильную чашку Петри, слегка приоткрывая крышку. Затем той же пипеткой снова забирают 1 мл воды исследуемой пробы воды, помещают во вторую чашку Петри. После внесения воды в каждую чашку вливают 8 - 12 мл расплавленного и остуженного до 45-49°C питательного агара после фламбирования (обжигания над пламенем спиртовки) края посуды, в которой он содержится. Затем быстро смешивают содержимое чашек, равномерно распределяя по всему дну,

избегая образования пузырьков воздуха, попадания агара на края и крышку чашки. Эту процедуру производят на горизонтальной поверхности, где чашки оставляют до застывания агара.

После застывания агара чашки с посевами помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре 37°C в течение 24ч.

Результаты учитывают путем подсчитывания всех выросших на обеих чашках колоний. Находят среднее арифметическое, что и будет являться общим микробным числом воды (количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в 1 мл исследуемой пробы воды).

## **2. Определение общего микробного числа воздуха седиментационным методом (по Коху)**

Оснащение:

- 1) чашка Петри с мясопептонным агаром
- 2) маркер

### Методика

Чашку Петри с мясопептонным агаром (МПА) оставляют открытой на столе в течение 10 мин. Микроорганизмы из воздуха оседают, при росте образуются колонии. Чашки с посевами помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре 37°C в течение 24ч.

Учет результатов: объем исследуемого воздуха неизвестен, поэтому, согласно правилу В.Л. Омелянского, количество выросших колоний умножают на коэффициент, который рассчитан с учетом диаметра чашки Петри:

$$\text{ОМЧ} = n \times k,$$

где: n - количество колоний,

k - коэффициент пересчета (см. таблицу 1).

Таблица 1

Коэффициенты пересчета для учета результата исследования общего микробного числа воздуха седиментационным методом (по Коху)

№	Диаметр чашки, см	Коэффициент
1	8	100
2	9	80
3	10	60

## **3. Исследование микрофлоры воздуха аспирационным методом (по Кротову).**

Прибор Кротова позволяет протягивать определенный объем исследуемого воздуха над вращающейся чашкой Петри с питательной средой (аспирация). При этом струя воздуха ударяется о поверхность питательной среды, и микроорганизмы принудительно оседают на нее.

Оснащение:

- 1) прибор Кротова
- 2) чашка Петри с мясопептонным агаром

- 3) чашка Петри с агаром Сабуро
- 4) чашка Петри с желточно-солевым агаром
- 5) маркер

***а) определение общего микробного числа воздуха аспирационным методом (по Кротову)***

Методика

Чашку с мясопептонным агаром (МПА) в открытом виде помещают в аспиратор, на приборе устанавливают объем воздуха – 100 л. Чашку с посевом помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре 37°C в течение 24ч.

Учет результатов: общее микробное число воздуха находят по формуле:

$$\text{ОМЧ} = n \times k,$$

где: n - количество выросших колоний,  
k - коэффициент пересчета на 1000 л (k=10 для общего микробного числа).

***б) определение *S. aureus* в воздухе аспирационным методом (по Кротову)***

Методика

Чашку с желточно-солевым агаром (ЖСА) в открытом виде помещают в аспиратор, на приборе устанавливают объем воздуха – 250 л. Чашку с посевом помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре 37°C в течение 24ч.

Учет результатов: количество *S. aureus* в воздухе находят по формуле:

$$\text{МЧ} = n \times k,$$

где: n - количество выросших колоний,  
k - коэффициент пересчета на 1000 л (k=4 для *St. aureus*).

***в) определение количества грибов в воздухе аспирационным методом (по Кротову)***

Методика

Чашку с агаром Сабуро в открытом виде помещают в аспиратор, на приборе устанавливают объем воздуха – 250 л. Чашку с посевом помещают в термостат вверх дном и инкубируют при температуре 25°C в течение 24ч.

Учет результатов: количество грибов в воздухе находят по формуле:

$$\text{МЧ} = n \times k,$$

где: n - количество выросших колоний,  
k - коэффициент пересчета на 1000 л (k=4 для грибов).



## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Понятие аутохтонной и аллохтонной микрофлоры.
2. Группы санитарно-показательных микроорганизмов.
3. Функции нормальной микрофлоры организма человека.
4. Понятие дисбиоза, препараты коррекции.

### *1. Понятие аутохтонной и аллохтонной микрофлоры*

Микроорганизмы распространены повсеместно: в окружающей среде, организме животных и человека. В зонах обитания микроорганизмы образуют **биоценозы** [от греч. *bios*, жизнь, + *koinos*, сообщество] — сложные ассоциации со специфическими и часто необычными взаимоотношениями. Каждое микробное сообщество в конкретном биоценозе образуют специфичные **аутохтонные микроорганизмы** [от греч. *autos*, свой, + *chthon*, страна, местность], то есть микроорганизмы, присущие конкретной области. В состав этих сообществ могут внедряться **аллохтонные микробы** [от греч. *allos*, чужой, + *chthon*, страна; буквально — чужестранец] (например, паразитические), обычно в них не встречающиеся. Естественные среды обитания большей части микроорганизмов — вода, почва и воздух. Число микроорганизмов, обитающих на растениях и в организме животных, значительно меньше.

### *2. Группы санитарно-показательных микроорганизмов*

*I группа, свидетельствующая о фекальном загрязнении:*

1. Бактерии группы кишечной палочки (БГКП) - условно выделяемая по морфологическим и культуральным признакам группа бактерий семейства *Enterobacteriaceae*.

Общие колиформные бактерии (ОКБ) - это грамотрицательные палочки, не обладающие ферментом цитохромоксидазой, которые способны сбразивать до кислоты и газа глюкозу и лактозу при температуре 37°C за 48 часов.

Термотолерантные колиформные бактерии (ТКБ) - это грамотрицательные палочки, не обладающие цитохромоксидазой, которые способны сбразивать лактозу до кислоты и газа температуре 37°C за 48 ч, а также при температуре 44°C за 24 часа.

2. Энтерококки.
3. Сульфотредуцирующие клостридии.
4. *Proteus mirabilis*.

*II группа, свидетельствующая о воздушно-капельном загрязнении:*

1. Стафилококки.
2. Зеленышце (а-стрептококки).
3. Гемолитические (в-стрептококки).

*III группа, свидетельствующая о загрязнении разлагающимися органическими субстратами:*

1. Группа протей (*Proteus vulgaris*).
2. Термофильные бактерии.
3. Нитрифицирующие бактерии.

Представители I и II групп санитарно-показательных микроорганизмов являются обитателями естественных полостей организма человека и теплокровных животных. Представители III группы санитарно-показательных микроорганизмов обитают в естественных условиях вне организма человека и животных.

### ***3. Функции нормальной микрофлоры организма человека***

Микрофлора животных и человека способствует поддержанию здорового статуса организма хозяина. Термин «нормальная микрофлора» объединяет микроорганизмы, более или менее часто выделяемые из организма здорового человека. Существует облигатная (резидентная), постоянная часть, сложившаяся в процессе эволюции, и факультативная или транзиторная.

Нормальная микрофлора обеспечивает колонизационную резистентность организма, т.е. невозможность размножения условно-патогенных и патогенных микроорганизмов на коже и слизистых оболочках. Нормофлора и, прежде всего, микрофлора кишечника оказывает существенное влияние на все стороны жизнедеятельности организма человека, участвуя в поддержании гомеостаза, механизмах адаптации к неблагоприятным факторам окружающей среды. Антагонистические свойства представителей нормальной флоры кишечника по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам являются одним из факторов естественной невосприимчивости к инфекционным заболеваниям. Основным механизмом – избирательное связывание нормальной микрофлорой рецепторов эпителиальных клеток. Антибиотическое действие возникает в результате секреции кислот, спиртов, лизоцима и других веществ. Кроме того, высокая концентрация указанных продуктов замедляет метаболизм и выделение токсинов патогенными видами. Особенно ярко выражены антагонистические свойства у бифидо- и лактобактерий. Доказана защитная роль микрофлоры кишечника, ее антагонистическая, витаминообразующая, ферментативная и др. функции. Кроме того, нормальная микрофлора – неспецифический стимулятор («раздражитель») иммунной системы. Отсутствие нормального микробного биоценоза вызывает многочисленные нарушения в иммунной системе.

### ***4. Понятие дисбиоза, препараты коррекции***

Состав микробных сообществ полостей организма зависит от различных факторов: состава и качества пищи, наличия вредных привычек, образа жизни, нормальной перистальтики и своевременного опорожнения кишечника и мочевого пузыря, качества пережёвывания пищи и даже характера трудовой деятельности (сидячей или иной). Наибольшее воздействие оказывают заболевания, связанные с изменениями физико-химических свойств эпителиальных поверхностей и приём антимикробных препаратов широкого спектра действия. В результате выживают более устойчивые виды — стафилококки, кандиды и грамотрицательные палочки (энтеробактерии, псевдомонады). Следствие этого — стойкие нарушения микробных биоценозов — дисбактериозы (дисбиозы), ко-

торые, в свою очередь, могут привести к развитию инфекционных заболеваний (стафилококковый сепсис, системный кандидоз и псевдомембранозный колит).

Основными клиническими проявлениями дисбиоза кишечника являются: нарушение общего состояния (интоксикация, обезвоживание), снижение массы тела, симптомы поражения слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, нарушения пищеварения. Спектр клинических синдромов и патологических состояний, патогенез которых, связан с изменением состава и функции микрофлоры кожи и слизистых, следующий: диарея, запор, колиты, гастрит, дуодениты, язвенная болезнь, ишемия, гипо- и гиперхолестеринемия, ревматоидный артрит, некоторые злокачественные образования, кариес, мочекаменная болезнь, дерматиты, аллергии, поражения печени, суперинфекция, сепсис и др.

Лечение дисбиоза должно осуществляться в составе и с учетом особенностей основного заболевания. Оно включает: 1) устранение избыточного бактериального обсеменения кишечника условно-патогенной микрофлорой (селективная деконтаминация); 2) восстановление нормальной микрофлоры; 3) стимулирование реактивности организма.

Коррекция кишечного дисбиоза осуществляется такими путями, как:

- использование живых микроорганизмов, относящихся к нормальным обитателям кишечника (пробиотики);
- использование селективных стимуляторов роста нормальной микрофлоры (пребиотики);
- создание благоприятных условий среды обитания микробиоценоза.

**Пробиотики** – это живые микроорганизмы и вещества микробного происхождения, которые оказывают при естественном способе введения позитивные эффекты на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма хозяина через восстановление функции его нормальной микрофлоры. Пробиотики не имеют противопоказаний к применению, не вызывают побочных реакций и предназначены для коррекции микрофлоры хозяина и лечения ряда заболеваний. Основоположником концепции пробиотиков является И.И. Мечников, который еще в 1903 году предложил практическое использование микробных культур-антагонистов для борьбы с болезнетворными бактериями.

*Выделяют 5 поколений пробиотиков*

1. Монокомпонентные препараты - состоят из штамма одного микроорганизма — представителя нормальной микрофлоры кишечника (бифидумбактерин, лактобактерин, колибактерин).

2. Препараты, не заселяющие кишечник, а конкурентно вытесняющие условно-патогенные и патогенные микроорганизмы на основе *B.subtilis* и *B.cereus* (споробактерин, бактисубтил, субтилин).

3. Поликомпонентные препараты или симбиотики - состоят из нескольких штаммов бактерий (линекс, ацилакт сухой, бификол)

4. Синбиотики - содержат штаммы бактерий нормальной флоры кишечника, с добавлением стимуляторов роста и метаболитов (пребиотиков) (бифиформ, биовестин-лакто, бифидобак, ламинолакт, аципол).

5. Комбинированные препараты (бифилиз).

**Пребиотики** - не перевариваемые в кишечнике ингредиенты различного происхождения, способные избирательно стимулировать рост и активность представителей микробиоценоза (селективный субстрат). Пребиотическими свойствами обладают следующие группы соединений:

- 1) олигосахариды (глюкоза, галактоза, лактулоза);
- 2) полисахариды (декстрин, инулин);
- 3) моносахариды (ксилит, раффиноза);
- 4) аминокислоты (валин, аргинин);
- 5) пищевые волокна (пектин, целлюлоза, лигнин) и др.

На основе указанных соединений созданы лекарственные препараты (дюфалак, эубикор, хилак-форте, лактофильтрум), детские смеси (Нутрилон-Омнео, Мамекс), биологически активные добавки к пище (пептидол-ПЭГ).

## **Занятие №10**

### **Тема: ОСНОВЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

**Цель занятия:** ознакомиться с общей характеристикой типовых источников и путей микробной контаминации в фармации, микробиотой лекарственных средств, понятием стерильных лекарственных препаратов, условиями производства и изготовления стерильных лекарственных препаратов, а так же методами микробиологического контроля стерильных лекарственных средств; научиться определять стерильность глазных капель и раствора для инъекций методом прямого посева.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Микробная контаминация лекарственных препаратов, источники и пути загрязнения, признаки негодности. Мероприятия по снижению и предупреждению микробного загрязнения лекарственных препаратов.
2. Стерильные лекарственные формы: понятие, условия производства. Требования ГФ РФ.
3. Источники микробного загрязнения стерильных лекарственных средств.
4. Мероприятия по предупреждению микробного загрязнения стерильных лекарственных препаратов.
5. Испытания на стерильность.
6. Понятие пирогенов, бактериальных эндотоксинов.
7. Испытание на апиrogenность, бактериальные эндотоксины.

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

**1. Определение стерильности инъекционного раствора/глазных капель, не обладающих антимикробным действием, методом прямого посева.**

Оснащение:

- 1) инъекционный раствор/глазные капли
- 2) пробирки с тиогликолевой средой
- 3) пробирки с жидкой средой Сабуро
- 4) стерильные пипетки на 1 мл, груши
- 5) спиртовка, спички
- 6) спиртовые ватные тампоны
- 7) банка с дезинфицирующим раствором
- 8) маркер

#### Методика

а) соблюдая условия асептики, переносят стерильной пипеткой по 1 мл инъекционного раствора/глазных капель в пробирку с тиогликолевой средой (выявление бактерий). Посевы перемешивают и инкубируют в течение 14 суток при температуре  $(32 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

Учет результатов производится визуально по наличию или отсутствию роста микроорганизмов. Лекарственное средство считается удовлетворяющим

требованиям ГФ при сохранении прозрачности среды, что свидетельствует об отсутствии роста микроорганизмов.

б) соблюдая условия асептики, переносят стерильной пипеткой по 1 мл инъекционного раствора/глазных капель в пробирку с жидкой средой Сабуро (выявление грибов). Посевы перемешивают и инкубируют в течение 14 суток при температуре  $(22\pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

Учет результатов производится визуально по наличию или отсутствию роста микроорганизмов. Лекарственное средство считается удовлетворяющим требованиям ГФ при сохранении прозрачности среды, что свидетельствует об отсутствии роста микроорганизмов.

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Микробиологический контроль стерильных лекарственных средств.
2. Испытание на пирогенность.

### ***1. Микробиологический контроль стерильных лекарственных средств.***

***Стерильные лекарственные средства (СЛС)*** не содержат жизнеспособных микроорганизмов. СЛС готовят в асептических условиях с последующей стерилизацией в конечной упаковке. СЛС проходят испытание ***стерильности***.

#### ***Методы определения стерильности***

Испытание стерильности проводят в асептических условиях в ламинарных установках, чистых помещениях или изоляторах класса чистоты А. Меры, предотвращающие контаминацию, не должны оказывать губительного влияния на микроорганизмы, которые могут содержаться в испытуемых образцах. Условия проведения испытания регулярно контролируют в соответствии с соблюдением надлежащих правил производства и лабораторной практикой.

#### **Этапы испытания стерильности**

##### ***1) Определение антимикробного действия.***

Во избежание неправильной оценки полученных результатов перед испытанием на стерильность необходимо определить возможность проявления лекарственным средством антимикробного действия в отношении определенных видов микроорганизмов. В основе метода определения антимикробного действия лежит сравнение интенсивности роста тест-штаммов микроорганизмов в присутствии и без испытуемого препарата.

При выявлении противомикробной активности ее устраняют одним из методов:

- а) увеличением разведения лекарственного препарата;
- б) применением метода мембранной фильтрации;
- в) использованием стерильной нейтрализующей жидкости в качестве разбавителя;
- г) применением специфических и неспецифических инактиваторов.

##### ***2) Определение стерильности:***

а) ***методом прямого посева***, который применяют для испытания лекарственных средств, не обладающих антимикробным действием или антимикроб-

ное действие которых можно устранить разведением или инактивированием, а также для испытания лекарственных препаратов, испытание которых невозможно выполнить методом мембранной фильтрации;

*б) методом мембранной фильтрации, который* используют во всех случаях, когда природа препарата, его физико-химические свойства позволяют фильтровать его через мембранные фильтры.

Для испытания на стерильность используют жидкие среды – тиогликолевую, соево-казеиновую или Сабуро. Тиогликолевую среду применяют для выявления аэробных и анаэробных бактерий. Жидкую соево-казеиновую среду – для выявления грибов и аэробных бактерий. Жидкую среду Сабуро используют для выявления грибов.

## **2. Испытание на пирогенность**

Испытания на пирогенность осуществляют в отношении инъекционных растворов и субстанций, из которых они производятся и определение бактериальных эндотоксинов в лекарственных препаратах, предназначенных для парентерального применения и фармацевтических субстанциях, используемых для их изготовления.

*Испытание на пирогенность инъекционных растворов и субстанций, из которых они производятся*

*Пирогены* — вещества, вызывающие повышение температуры тела. Источниками пирогенов являются компоненты микробных клеток, сохранившихся после стерилизации (липополисахариды (эндотоксины) клеточных стенок грамотрицательных бактерий).

Испытание на пирогенность основано на измерении температуры тела у кроликов до и после инъекции путем введения испытуемого лекарственного средства или субстанции в ушную вену животного.

*Определение бактериальных эндотоксинов в лекарственных препаратах, предназначенных для парентерального применения и фармацевтических субстанциях, используемых для их изготовления*

Определение содержания бактериальных эндотоксинов проводят с помощью реактива, представляющего собой лизат амебоцитов из крови мечехвоста (*Limulus polyphemus* или *Tachypleus tridentatus*). Лизат амебоцитов специфически реагирует с бактериальными эндотоксинами. В результате ферментативной реакции происходит изменение реакционной смеси, пропорциональное концентрации эндотоксина.

Существуют три основных методологических подхода для проведения данного испытания: гель-тромб метод, основанный на образовании геля; турбидиметрический метод, основанный на помутнении реакционной смеси после расщепления субстрата, содержащегося в лизате амебоцитов; и хромогенный метод, основанный на появлении окрашивания после расщепления синтетического пептид-хромогенного комплекса.

## *Занятие №11*

### **Тема: ОСНОВЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

**Цель занятия:** ознакомиться с понятием нестерильных лекарственных средств, методами микробиологического контроля нестерильных лекарственных средств; научиться определять микробиологическую чистоту капель назальных, производить предварительный учет стерильности глазных капель и раствора для инъекций.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Микрофлора нестерильных лекарственных форм.
2. Требования Государственной Фармакопеи Российской Федерации к микробиологической чистоте лекарственных препаратов.
3. Испытание на микробиологическую чистоту.

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

##### **1. Предварительный учет результатов определения стерильности инъекционного раствора/глазных капель.**

Оснащение:

- 1) пробирки с результатами посевов глазных капель (жидкая среда Сабуро и тиогликолевая среда)
- 2) пробирки с результатами посевов инъекционного раствора (жидкая среда Сабуро и тиогликолевая среда)

##### Методика

Учет результатов производится визуально по наличию или отсутствию роста микроорганизмов. Лекарственное средство считается удовлетворяющим требованиям ГФ при сохранении прозрачности среды, что свидетельствует об отсутствии роста микроорганизмов. При таком результате пробирки подлежат дальнейшей инкубации еще в течение 7 суток. При наличии роста микроорганизмов – делается отрицательное заключение.

##### **2. Определение микробиологической чистоты капель назальных, не обладающих антимикробным действием.**

Оснащение:

- 1) капли назальные
- 2) пробирки с фосфатным буфером с рН=7
- 3) пробирки со средой №1 (или мясопептонный агар)
- 4) пробирки со средой №2 (или агар Сабуро)
- 5) пробирки со средой №8
- 6) водяная баня
- 7) стерильные чашки Петри
- 8) стерильные пипетки на 1 мл, груши
- 9) спиртовка, спички



- 10) спиртовые ватные тампоны
- 11) банка с дезинфицирующим раствором
- 12) маркер

### Методика

Готовят исходное разведение (ИР): 1 мл каплею назальных переносят в 9 мл буферного раствора, перемешивают и проводят количественное и качественное определение микроорганизмов (разведение  $10^{-1}$ ).

*1. Количественное определение общего числа аэробных микроорганизмов чашечным агаровым (глубинным) методом.*

В стерильную чашку Петри стерильной пипеткой вносят 1 мл ИР ( $10^{-1}$ ) каплею назальных. Добавляют 8-12 мл расплавленной и охлажденной до температуры  $(42,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$  стерильной агаризованной среды №1 (или мясопептонного агара (МПА)) и быстро перемешивают вращательными движениями. После застывания агара чашки переворачивают и инкубируют посеы в течение 5 суток при температуре  $(32 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

*2. Количественное определение общего числа дрожжевых и плесневых грибов чашечным агаровым (глубинным) методом.*

В стерильную чашку Петри стерильной пипеткой вносят 1 мл ИР ( $10^{-1}$ ) каплею назальных. Добавляют 8-12 мл расплавленной и охлажденной до температуры  $(42,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$  стерильной агаризованной среды №2 (или агара Сабуро) и быстро перемешивают вращательными движениями. После застывания агара чашки переворачивают и инкубируют посеы в течение 5 суток при температуре  $(22 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

*3. Испытание на отсутствие бактерий *Pseudomonas aeruginosa*.*

ИР ( $10^{-1}$ ) переносят стерильной пипеткой в количестве 1 мл в 10 мл жидкой питательной среды №8. Перемешивают и инкубируют в течение 24 – 48 ч при температуре  $(32 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

*4. Испытание на отсутствие бактерий *Staphylococcus aureus*.*

ИР ( $10^{-1}$ ) переносят стерильной пипеткой в количестве 1 мл в 10 мл жидкой питательной среды №8. Перемешивают и инкубируют в течение 24 – 48 ч при температуре  $(32 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Питательные среды для испытания микробиологической чистоты и стерильности.
2. Микробиологический контроль нестерильных лекарственных средств.

### ***1. Питательные среды для испытания микробиологической чистоты и стерильности***

Для испытания качества лекарственных средств на микробиологическую чистоту и на стерильность используют питательные среды отечественного или зарубежного производства.

При приготовлении питательных сред в лаборатории необходимо строго придерживаться приведенной рецептуры, а при использовании коммерческих сухих питательных сред – инструкции предприятия-изготовителя.

Если нет других указаний в нормативной документации, среды стерилизуют в автоклаве при температуре 121°C в течение 15 мин.

**Оценку качества** питательных сред, применяемых с целью испытания **микробиологической чистоты** проводят по следующим показателям:

- стерильность
- ростовые свойства
- селективные свойства
- диагностические свойства

**Оценку качества** питательных сред, применяемых с целью испытания **стерильности** проводят по следующим показателям:

- стерильность
- ростовые свойства
- нейтрализующие свойства тиогликолевой среды при проведении испытаний иммунобиологических препаратов, содержащих мертиолят (тиомерсал)

Ростовые свойства питательной среды – это способность питательной среды обеспечивать эффективный и типичный рост соответствующих тест-штаммов микроорганизмов.

Селективные свойства питательной среды – это способность питательной среды подавлять ростсопутствующих микроорганизмов из микробной ассоциации.

Диагностические свойства питательной среды – это способность питательной среды обеспечивать типичный рост соответствующих тест-штаммов микроорганизмов при полном отсутствии роста штаммов-ассоциантов.

## **2. Микробиологический контроль нестерильных лекарственных средств**

**Нестерильные лекарственные средства (НЛС)** (фармацевтические субстанции, различные лекарственные формы препаратов - таблетки, капсулы, гранулы, растворы, суспензии, сиропы, мази, суппозитории и др.), а также вспомогательные вещества могут быть контаминированы микроорганизмами. В НЛС, а также во вспомогательных веществах, допускается лимитированное количество микроорганизмов при отсутствии определенных видов, представляющих опасность для здоровья человека. НЛС проходят испытание **микробиологической чистоты**.

### *Методы определения микробиологической чистоты в нестерильных лекарственных средствах*

Испытание микробиологической чистоты лекарственных средств проводят в асептических условиях с помощью методов и питательных сред, приведенных в действующей фармакопее.

Испытание включает способы подготовки различных лекарственных форм препаратов и фармацевтических субстанций, отбор образцов для анализа, методы количественного определения жизнеспособных микроорганизмов, выявление и идентификацию отдельных видов бактерий, наличие которых недопустимо или ограничено в лекарственных средствах, а также питательные среды, растворы и реактивы, необходимые для проведения испытаний.

Для инкубации посевов на питательных средах для бактерий стандартной температурой является  $(32,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ , для грибов –  $(22,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

#### Этапы испытания микробиологической чистоты

##### *1) Определение антимикробного действия.*

Во избежание неправильной оценки полученных результатов перед испытанием на микробиологическую чистоту необходимо определить возможность проявления лекарственным средством антимикробного действия в отношении определенных видов микроорганизмов. В основе метода определения антимикробного действия лежит сравнение интенсивности роста тест-штаммов микроорганизмов в присутствии и без испытуемого препарата.

При выявлении противомикробной активности ее устраняют одним из методов:

- а) увеличением разведения лекарственного препарата;
- б) применением специфических и неспецифических инактиваторов;
- в) применением метода мембранной фильтрации.

##### *2) Качественное и количественное определение микроорганизмов:*

а) *определение аэробных микроорганизмов*, в зависимости от природы лекарственного средства и его физико-химических свойств, проводят одним из чашечных агаровых методов (глубинным, двухслойным, поверхностным, модифицированным глубинным), методом мембранной фильтрации или пробирочным методом наиболее вероятных чисел; для культивирования микроорганизмов используют агаризованные питательные среды: соево-казеиновый агар или среду №1 сухую для контроля микробной загрязненности – для выращивания бактерий, агар Сабуро с глюкозой или среду №2 сухую для контроля микробной загрязненности – для выращивания дрожжевых и плесневых грибов;

б) *определение отдельных видов микроорганизмов* включает использование селективных и диагностических питательных сред (цетилпиридиний хлорид агар, маннитно-солевой агар, висмут-сульфитный агар и др.), а также, в некоторых случаях, биохимические тесты для идентификации микроорганизмов (оксидазный тест, тест на наличие индола, реакция плазмокоагуляции).

## **Занятие №12**

### **Тема: ОСНОВЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

**Цель занятия:** ознакомиться с микробиологическими показателями качества воды очищенной и воды для инъекций; научиться определять микробиологическую чистоту капель назальных, производить окончательный учет стерильности глазных капель и раствора для инъекций.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Микробиологические требования к воде очищенной.
2. Микробиологические требования к воде для инъекций.

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

##### **1. Окончательный учет результатов определения стерильности инъекционного раствора/глазных капель.**

Оснащение:

- 1) пробирки с результатами посевов глазных капель (жидкая среда Сабуро и тиогликолевая среда)
- 2) пробирки с результатами посевов инъекционного раствора (жидкая среда Сабуро и тиогликолевая среда)

##### Методика

Учет результатов производится визуально по наличию или отсутствию роста микроорганизмов. Лекарственное средство считается удовлетворяющим требованиям ГФ при сохранении прозрачности среды, что свидетельствует об отсутствии роста микроорганизмов.

##### **2. Определение микробиологической чистоты капель назальных, не обладающих антимикробным действием.**

Оснащение:

- 1) чашки Петри со средой №1, содержащей посев капель назальных
- 2) чашки Петри со средой №2, содержащей посев капель назальных
- 3) пробирки со средой №8, содержащей посевы капель назальных
- 4) чашки Петри со средой цетилпиридиний хлорид агар – среда №16
- 5) чашки Петри со маннитно-солевым агаром (или средой №10)
- 6) бактериологические петли
- 7) спиртовка, спички
- 8) спиртовые ватные тампоны
- 9) маркер

##### Методика

*1. Количественное определение общего числа аэробных микроорганизмов чашечным агаровым (глубинным) методом.*

Учет результатов производится по формуле:

$$N = \sum C/n * d,$$

где:  $c$  – количество колоний на всех чашках Петри;

$n$  – число чашек Петри;

$d$  – коэффициент разведения образца.

2. *Количественное определение общего числа дрожжевых и плесневых грибов чашечным агаровым (глубинным) методом.*

Учет результатов производится по формуле:

$$N = \sum C/n * d,$$

где:  $c$  – количество колоний на всех чашках Петри;

$n$  – число чашек Петри;

$d$  – коэффициент разведения образца.

3. *Испытание на отсутствие бактерий *Pseudomonas aeruginosa*.*

После окончания инкубации при наличии роста в среде №8 (помутнение, поверхностный рост в виде пленки) производят пересев бактериологической петлей на селективную питательную среду – цетилпиридиний хлорид (ЦПХ) агар – среда №16. Посевы инкубируют в течение 24 – 48 ч при температуре  $(32 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

4. *Испытание на отсутствие бактерий *Staphylococcus aureus*.*

После окончания инкубации при наличии роста в среде №8 (равномерное помутнение) пересевают петлей на маннитно-солевой агар (или среду №10) и инкубируют в течение 24 – 48 ч при температуре  $(32 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Микробиологическая чистота воды очищенной.
2. Микробиологическая чистота воды для инъекций.

### *1. Микробиологическая чистота воды очищенной*

В соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации, вода очищенная – это вода, получаемая из воды питьевой методами дистилляции, ионного обмена, обратного осмоса, комбинацией этих методов или другим способом, и предназначенная для производства или изготовления лекарственных средств, получения воды для инъекций, а также для проведения испытаний лекарственных средств.

Для приготовления лекарственных средств, изготавливаемых в асептических условиях, воду очищенную необходимо подвергать стерилизации.

Вода очищенная не должна содержать антимикробных консервантов или других добавок.

*Требования к микробиологической чистоте:*

1) Общее число аэробных микроорганизмов (бактерий и грибов) – не более 100 КОЕ в 1 мл. 2) Не допускается наличие *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* в 100 мл.

Для определения микробиологической чистоты воды очищенной используют образец объёмом не менее 1000 мл.

Исследование проводят методом мембранной фильтрации в асептических условиях.

*Хранение и распределение:*

Вода очищенная хранится и распределяется в условиях, предотвращающих рост микроорганизмов и исключая возможность любой другой контаминации. Хранение воды очищенной осуществляют в специальных сборниках, оно не должно превышать 3 суток.

## **2. Микробиологическая чистота воды для инъекций**

В соответствии с Государственной фармакопеей Российской Федерации, вода для инъекций – это вода, получаемая из воды питьевой методами дистилляции, ионного обмена, обратного осмоса, комбинацией этих методов или другим способом, или из воды очищенной методом дистилляции и предназначенная для производства или изготовления парентеральных и других лекарственных средств.

При использовании воды для инъекций в технологии парентеральных и других лекарственных средств, получаемых непосредственно перед применением, в условиях, исключая последующую стерилизацию лекарственных препаратов, вода для инъекций должна быть стерильной.

Вода для инъекций должна быть апиrogenной и не должна содержать антимикробных консервантов или других добавок.

*Требования к микробиологической чистоте:*

1) Общее число аэробных микроорганизмов (бактерий и грибов) – не более 10 КОЕ в 100 мл. 2) Не допускается наличие *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* в 100 мл.

Для определения микробиологической чистоты воды для инъекций используют образец объёмом не менее 1000 мл.

Исследование проводят методом мембранной фильтрации в асептических условиях.

*Хранение и распределение:*

Воду для инъекций хранят и распределяют в условиях, предотвращающих рост микроорганизмов и исключая возможность любой другой контаминации. Хранение воды для инъекций осуществляют в специальных сборниках при условии постоянной циркуляции при температуре не ниже 85 °С, в течение не более 1 суток.

### **Занятие №13**

## **Тема: ОСНОВЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ**

**Цель занятия:** ознакомиться с микрофлорой лекарственных растений и лекарственного растительного сырья, фитопатогенными микроорганизмами; научиться определять микробиологическую чистоту капель назальных, производить окончательный учет микробиологической чистоты капель назальных.

### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Источники, пути распространения и входные ворота фитопатогенных заболеваний.
2. Болезни лекарственных растений, вызываемые фитопатогенными бактериями, грибами, вирусами.
3. Наследственные и приобретенные механизмы защиты растений. Специфическая устойчивость.
4. Меры борьбы с болезнями растений (карантинные, физико-химические и биологические).
5. Роль микрофлоры в порче лекарственного растительного сырья, признаки негодности.
6. Меры предупреждения и условия хранения лекарственного растительного сырья.

### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ**

#### **1. Определение микробиологической чистоты капель назальных, не обладающих антимикробным действием.**

Оснащение:

- 1) чашки Петри со средой цетилпиридиний хлорид агар – среда №16, содержащей посевы назальных капель
- 2) чашки Петри со агаром для выявления сине-зеленого пигмента пиоцианина (или среда №9), среда №16
- 3) чашки Петри со маннитно-солевым агаром (или средой №10), среда №16, содержащей посевы назальных капель
- 4) 1% раствор N,N-диметил-*пара*-фенилендиамина дигидрохлорид
- 5) кроличья плазма
- 6) микроскоп
- 7) водяная баня
- 8) УФ-лампа
- 9) бактериологические петли
- 10) стеклянные палочки
- 11) флакон с водой
- 12) обезжиренные предметные стекла
- 13) набор красителей для окраски по методу Грама
- 14) фильтровальная бумага

- 15) иммерсионное масло
- 16) спиртовка, спички
- 17) спиртовые ватные тампоны
- 18) маркер

### Методика

#### *1. Испытание на отсутствие бактерий *Pseudomonas aeruginosa*.*

После окончания инкубации выделенные колонии на среде №16 (зеленоватые колонии, зеленые в УФ свете) микроскопируют, изучая морфологические и тинкториальные свойства.

В случае обнаружения при микроскопии грамотрицательных палочек, не имеющих спор, выделенные колонии на ЦПХ агаре пересевают на агар для выявления сине-зеленого пигмента пиоцианина (или среду №9). Посевы инкубируют в течение 24 – 48 ч при температуре  $(32\pm 2,5)^{\circ}\text{C}$ .

Параллельно подтверждают видовую принадлежность выделенных бактерий к *P. aeruginosa* - определяют способность выделенных микроорганизмов расти на среде №8 при температуре  $(42\pm 1)^{\circ}\text{C}$  в течение 18 – 24 ч, а так же проводят оксидазный тест (определяют наличие фермента цитохромоксидазы): полоску фильтровальной бумаги смачивают реактивом – 1% раствором N,N-диметил-*para*-фенилендиамина дигидрохлоридом, стеклянной палочкой наносят 24-часовую чистую культуру исследуемых бактерий, выросших на среде №1 (или МПА). Темно-красное окрашивание, появляющееся в течение 1 мин, свидетельствует о положительной оксидазной реакции (наличии фермента цитохромоксидазы).

Если в образце обнаружены бактерии, типичные для псевдомонад по своим морфологическим и тинкториальным свойствам (граммотрицательные палочки, не имеющие спор), образующие сине-зеленый пигмент пиоцианин, содержащие фермент цитохромоксидазу и растущие при температуре  $(42\pm 1)^{\circ}\text{C}$ , считают, что лекарственное средство контаминировано *P. aeruginosa*.

#### *2. Испытание на отсутствие бактерий *Staphylococcus aureus*.*

Появление после окончания инкубации на среде №10 типичных золотисто-желтых колоний, окруженных желтыми зонами, на среде с маннитом, свидетельствует о росте *S. aureus*, ферментирующем маннит. Проводят микроскопическое исследование колоний. При обнаружении в мазках грамположительных кокков, расположенных в виде виноградных гроздей, производят посев на среду №1 (или МПА) для накопления культуры. Инкубируют в течение 18 – 24 ч при температуре  $(32\pm 2,5)^{\circ}\text{C}$ .

После инкубации проводят тест на наличие коагулазы с целью идентификации: в пробирку с 0,5 мл кроличьей плазмы вносят 1 петлю чистой культуры, выращенной на среде №1. Пробирку инкубируют в течение 24 ч при температуре  $(32\pm 2,5)^{\circ}\text{C}$ . Реакцию плазмокоагуляции отмечают, слегка наклоняя пробирку, не встряхивая ее. Тест на наличие коагулазы считается положительным при обнаружении сгустка плазмы.

Если в образце обнаружены типичные по культуральным (золотисто-желтые колонии, окруженные желтыми зонами) морфологическим и тинктори-



альным (грамположительные кокки, расположенные в виде виноградных гроздей) свойствам, содержащие коагулазу, ферментирующие маннит, считают, что лекарственное средство контаминировано *S. aureus*.

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Микрофлора растений.
2. Фитопатогенные микроорганизмы.

### 1. Микрофлора растений

Микроорганизмы являются постоянными «спутниками» не только человека и животных, но и высших растений. Они встречаются как на поверхности, так и внутри надземных и подземных органов растений (стеблей и листьев, семян, плодов, корней).

**Эпифитная микрофлора** находится на поверхности надземной части растения на протяжении всей его жизни. Она однообразна и не зависит ни от вида растений, ни от их места произрастания. Для микроорганизмов эпифитной микрофлоры растение – основное место обитания. Эпифитная микрофлора сохраняется на семенах и при их прорастании переходит на поверхность растений. Чаще всего встречаются *Bacterium herbicola aureum* и *Pseudomonas fluorescens*, реже – *Bacteria mesentericus*, *Bacteria vulgaris*, грибы, *Escherichia coli*. Исследования показали, что, выделяя антимикробные вещества, эпифитные бактерии тем самым действуют губительно на возбудителей заболеваний растений. Наряду с этим высказываются предположения, что возбудители заболеваний растений – фитопатогенные бактерии произошли в процессе эволюции от эпифитных бактерий.

**Микрофлора ризосферы.** Зона почвы, находящаяся в контакте с корневой системой растений, называется ризосферой, а микроорганизмы, развивающиеся в ней – ризосферными. Выделяют два типа ризосферы: *ближнюю (ризоплану)* и *отдаленную*.

Ризоплана располагается непосредственно на поверхности корней, отдаленная ризосфера – в радиусе 50 см от них. Количество микроорганизмов в ризосфере в 100 раз больше, чем в почве, где растения не произрастают. Скопление микробов вокруг корней связано с выделением последними различных питательных веществ. Кроме корневых выделений, микроорганизмы ризосферы используют для питания отмершие корневые волоски эпидермиса.

Основная масса прикорневой ризосферы представлена различными неспорообразующими бактериями. Качественный состав микрофлоры ризосферы зависит от вида растений.

Максимальное количество микроорганизмов наблюдается в период кущения, цветения, плодоношения. Бактерии ризосферы благоприятно воздействуют на растения:

- стимулируют его развитие за счет увеличения в ризосфере минеральных элементов питания (минерализация органических веществ, остатков растений, трупов животных), образования витаминов, ростовых веществ;
- улучшают структуру почвы;

- проявляют антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным микроорганизмам.

Наряду с пользой, приносимой растениям эпифитными и ризосферными бактериями, они способны вызывать и заболевания. Например, *Pseudomonas fluorescens* при проникновении через поврежденные ткани может вызвать загнивание растения.

**Микориза** – единое морфологическое образование, состоящее из грибов и корней растений. При этом гриб и растение находятся в симбиотических взаимоотношениях. В настоящее время известно около 2000 видов растений, способных к образованию микоризы. Различают экзотрофные и эндотрофные микоризы. *Экзотрофная микориза* – это ассоциация, при которой гриб не проникает вглубь корней, а поселяется на его поверхности, образуя чехол из мицелия. При *эндотрофных микоризах* мицелий гриба располагается в клетках коры корней растений. *Перитрофная микориза*, когда грибница не связана с корнями растений, не оказывает влияние на развитие растения.

Значение микоризы:

- микориза увеличивает поглощающую поверхность корней растений за счет разветвления гиф гриба, создавая тем самым благоприятные условия для питания растений;
- растения в свою очередь выделяют ряд ростовых веществ, стимулирующих развитие гриба.

## 2. Фитопатогенные микроорганизмы

Бактерии, вызывающие заболевания растений, называются **фитопатогенными**. Они обладают различной степенью патогенности и относятся к различным родам: *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Agrobacterium*, *Pectobacterium*, *Rhizobium* и др. (таблица 1).

Заболевания растений, вызываемые бактериями, называются бактериозами, которые подразделяются на 3 группы:

- общие или сосудистые
- местные паренхиматозные
- опухоли.

При общем поражении возбудитель проникает в сосудистую систему корней, болезнь сопровождается увяданием листьев, стеблей и приводит к гибели растения.

При паренхиматозных поражениях бактерии проникают в ткани, где с помощью особых ферментов приводят к мацерации и отслаиванию тканей растения.

Опухолевые образования на растениях бывают раковые и туберкулезные. При раковых опухолях наблюдается разрастание ткани, при туберкулезных – в разрастающейся ткани образуются полости, заполненные бактериальной слизью.

Таблица 1. Основные фитопатогенные бактерии

РОД БАКТЕРИЙ	ВИД	ВЫЗЫВАЕМЫЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ
<i>Erwinia</i>	<i>E. amylovora</i>	Ожог, увядание
<i>Pseudomonas</i>	<i>P. syringae</i>	Пятнистость
<i>Xanthomonas</i>	<i>X. heterocea</i>	Пятнистость, увядание
<i>Corynebacterium</i>	<i>C. insidiosum</i> , <i>C. fasciens</i>	Увядание
<i>Pectobacterium</i>	<i>P. phetophtorum</i> , <i>P. aroidae</i>	Гнили
<i>Rhisobium</i>	<i>R. leguminosorum</i>	Язвы
<i>Agrobacterium</i>	<i>A. tumefaciens</i>	Опухоли

Наблюдаются и смешанные типы поражения растений. В пораженных растениях нарушается нормальный ход физиологических процессов и, прежде всего, фотосинтез и дыхание. Нарушаются также углеводный и белковый обмен. Все это в конечном итоге приводит к снижению продуктивности растений и их гибели. Изменение химического состава тканей растений и снижение содержания активных веществ приводит к невозможности использования их в качестве сырья для изготовления и производства лекарственных средств.

Растения могут поражаться не только бактериями, но и грибами, и вирусами.

К *микозам* относятся гнили, фузариозы, аскохитозы и другие болезни (таблица 2).

Таблица 2 Фитопатогенные грибы

КЛАСС ГРИБОВ	ВЫЗЫВАЕМОЕ ЗАБОЛЕВАНИЕ
Оомицеты	черная гниль яблок фитофтороз картофеля
Аскомицеты	Мучнистая роса рак каштана Увядание (вилт) хлопчатника, томатов, картофеля, капусты
Базидиомицеты	Головня и ржавчина зерновых культур
Несовершенные грибы	Некоторые поражения стеблей и листьев

К вирусным инфекциям относятся мозаичная болезнь, карликовость, желтуха, увядание. Они могут быть локальными и системными.

*Фитопатогенные вирус* вызывают более 20% болезней растений. Основные – представители семейства *Reoviridae*, родов *Phytoreovirus* и *Fujivirus*.

### **Проявления болезней растений**

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 участки 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 *Rhizobium*), грибы (класс *Ascomycetes*) и вирусы.

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

## Занятие №14

### Тема: ОСНОВЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

**Цель занятия:** ознакомиться с системой правил GMP, микробиологическим контролем на фармацевтическом производстве; научиться определять микробиологическую чистоту капель назальных; научиться производить смывы с кожи рук и оборудования.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Мероприятия по снижению и предупреждению микробного загрязнения лекарственных препаратов.
2. Правила организации производства и контроля качества лекарственных средств (GMP).
3. Санитарный режим в аптечных учреждениях.

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ЛАБОРАТОРНОЙ РАБОТЫ

**1. Санитарно-микробиологическое исследование смывов с рук и объектов внешней среды (аптечной посуды, оборудования, поверхности стола, халата и т.д.) с целью выявления санитарно-показательных микроорганизмов.**

Оснащение:

- 1) пробирки с изотоническим раствором хлорида натрия
- 2) стерильные ватные тампоны
- 3) чашка Петри со средой Эндо
- 4) чашка Петри с желточно-солевым агаром
- 5) спиртовка, спички
- 6) маркер

**а) санитарно-микробиологическое исследование смывов с целью выявления санитарно-показательного микроорганизма *E. coli***

#### Методика

Смыв производят стерильным ватным тампоном, помещенным в пробирку с изотоническим раствором хлорида натрия (до работы тампон не должен касаться жидкости).

Перед взятием смыва тампон слегка погружают в изотонический раствор и делают смыв без учета площади. Материал, находящийся на тампоне, слегка втирают в поверхность среды Эндо. Каждый смыв делают новым тампоном. Чашку инкубируют в термостате при температуре  $(32 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

Для подтверждения наличия *E.coli* из колонии готовят окрашенный по Граму препарат и исследуют под микроскопом. В препаратах должна обнаруживаться грамотрицательная палочка.

**б) санитарно-микробиологическое исследование смывов с целью выявления санитарно-показательного микроорганизма *S. aureus*.**

#### Методика

Смыв производят стерильным ватным тампоном, помещенным в пробирку с изотоническим раствором хлорида натрия (до работы тампон не должен касаться жидкости).

Перед взятием смыва тампон слегка погружают в изотонический раствор и делают смыв без учета площади. Материал, находящийся на тампоне, слегка втирают в поверхность желточно-солевого агара. Каждый смыв делают новым тампоном. Чашку инкубируют в термостате при температуре  $(32 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ .

Для подтверждения наличия *S. aureus* из колонии готовят окрашенный по Граму препарат и исследуют под микроскопом. В препаратах должны обнаруживаться грамположительные кокки в виде виноградных гроздей.

### **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Понятие о системе правил GMP
2. Правила производства и изготовления нестерильных лекарственных средств
3. Правила производства и изготовления стерильных лекарственных средств

#### ***1. Понятие о системе правил GMP***

Качество фармацевтических препаратов регламентировано международными стандартами. Специальное законодательство является унифицированным и отвечает имеющимся во всем мире нормативным правилам доклинических испытаний (**GLP**), фармацевтических исследований, клинической оценки (**GCP**), организации производства и последующего контроля качества лекарственных средств (**GMP**). Именно на этих документах основывается нормативная база оценки эффективности, безопасности и обеспечения контроля качества лекарственных средств в таких высокоразвитых странах, как США, Канада, Япония, страны ЕС.

Организация производства и обеспечение качества лекарственных средств должны соответствовать «Правилам надлежащего производства» (Good Manufacturing Practices), сокращенно GMP. Данный свод документов носит системный и профилактический характер. Он направлен на предотвращение ошибок и отклонений путем учета всех факторов, способных повлиять на качество готовой продукции с самого начала и до окончания производственного цикла. Осуществление этих правил невозможно без должного внимания к санитарии и личной гигиене на производстве, к технологической и контрольной документации, без современного оборудования.

Правила распространяются на исходные материалы, помещения, оборудование, подготовку персонала, личную гигиену, методы контроля качества, реактивы и т.д. Таким образом, процесс производства ЛС на каждом его этапе сопровождается контролем качества исходного сырья, упаковочных, вспомогательных и других материалов, полупродуктов и конечного продукта.

Контроль качества является неотъемлемой частью производственного процесса, должен иметь предупредительный характер и не допускать появления на фармацевтическом рынке неэффективных и небезопасных лекарственных средств, которые представляют серьезную угрозу здоровью и жизни человека. В структуре каждого фармацевтического предприятия работает отдел контроля качества (ОКК), который осуществляет **внутренний контроль**, в том числе, и постоянный микробиологический контроль (мониторинг). **Микробиологический мониторинг** проводится постадийно в соответствии с принципами GMP и действующими отраслевыми документами. В ходе постадийного контроля проверяется:

- соответствие используемых сырья, вспомогательных, упаковочных, маркировочных материалов и полупродуктов требованиям нормативной документации;
- санитарное состояние цехов, рабочих мест, оборудования, рук и одежды персонала;
- выполнение регламентированных технологических операций и соблюдение технологических режимов работы (например, оценка эффективности дезинфекции, стерилизации).

## ***2. Правила производства и изготовления нестерильных лекарственных средств***

Нестерильными называются лекарственные средства, в которых допускается определенное количество непатогенных микроорганизмов.

Процесс производства и изготовления лекарственных препаратов должен осуществляться в строгом соответствии с требованиями нормативной документации. Условия проведения технологического процесса должны обеспечивать его поточность, согласованность, безопасность и безаварийность работы технологического оборудования, оптимальную загрузку. Необходимо исключить или свести к минимуму контакты персонала с сырьем, упаковочным материалом, готовым продуктом в процессе его получения.

*Источники микробной контаминации ЛП:*

- |                    |            |                   |
|--------------------|------------|-------------------|
| - воздух           | - рецепты  | - технологическое |
| - посуда, упаковка | - персонал | оборудование      |

Предупреждение микробной порчи готовых лекарственных средств возможно при соблюдении условий, снижающих их микробное загрязнение:

- технология производства;
- правила эксплуатации оборудования;
- правила получения, транспортировки и хранения воды очищенной;
- использование сырья и субстанций, соответствующих нормативам по микробиологической чистоте;
- режим хранения субстанций, сырья, промежуточных продуктов и т.п.;
- соответствующее санитарное состояние помещений и оборудования, качественное обеззараживание воздуха аптечных помещений;
- правила личной гигиены работников.

Загрязнение микроорганизмами может происходить на разных стадиях производства и изготовления: при нарушении технологии, контроля качества, хранения.

Большое значение придается качеству *исходного сырья*. Все компоненты, входящие в состав лекарственного средства, подвергаются проверке на микробную контаминацию.

### ***3. Правила производства и изготовления стерильных лекарственных средств***

Стерильные лекарственные средства не содержат жизнеспособных микроорганизмов.

Правила изготовления и производства стерильных лекарственных средств основаны на принципах асептики - предупреждении попадания микроорганизмов в объект. Процессу производства и изготовления стерильных лекарственных средств требуют специального комплекса мероприятий:

- организация асептических условий производства и изготовления;
- соблюдение правил асептики;
- выбор методов и режимов стерилизации.

Стерильные лекарственные формы в аптечных учреждениях готовят в асептическом блоке, который отделен от остальных помещений шлюзом. В условиях заводского производства асептические условия создаются путем организации чистых зон или помещений.

Подготовка производственных помещений включает комплекс мероприятий, состоящий из влажной уборки и дезинфекции стен, полов, рабочих поверхностей не реже 1 раза в смену, и направлен на достижение соответствующего уровня чистоты помещений. Технологический и вентиляционный воздух перед подачей в производственные помещения проходит специальную подготовку. Для обеззараживания воздуха в помещении используют бактерицидные ультрафиолетовые лампы.

Попадание микроорганизмов в стерильные лекарственные средства может происходить от работника в процессе технологического производства с выделениями из верхних дыхательных путей, контактным путем с рук, волос, одежды. Работники должны быть здоровыми; прохождение мед. осмотров осуществляется не реже 1 раза в год. К изготовлению и производству стерильных лекарственных средств не допускаются носители патогенных микроорганизмов, лица, страдающие кожными и аллергическими заболеваниями. Временно отстраняются от производства и изготовления стерильных лекарственных средств сотрудники, имеющие загар. Персонал обязан соблюдать правила личной гигиены, санитарный режим.

Выбор способа стерилизации лекарственного препарата определяется степенью устойчивости компонентов растворов к нагреванию. Некоторые инъекционные растворы не выдерживают термической стерилизации. При заводском производстве таких растворов используют стерилизацию фильтрованием или гамма-лучами. В случае аптечного изготовления лекарственную форму с термолабильным компонентом готовят в асептических условиях.



*Занятие №15*  
**ЗАЧЕТ ПО РАЗДЕЛУ «ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ.  
ОСНОВЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ МИКРОБИОЛОГИИ»**

**Цель занятия:** сдать зачет по разделу «Общая микробиология. Основы фармацевтической микробиологии»

Примеры типовых тестовых заданий (один правильный вариант ответа):

1. Риккетсии:

- 1) относятся к вирусам
- 2) имеют септированный мицелий
- 3) имеют форму барабанной палочки
- 4) полиморфны (имеют разнообразную форму)

2. При приготовлении мазка

- 1) высушивание предшествует фиксации
- 2) фиксация предшествует высушиванию
- 3) окрашивание следует после высушивания
- 4) окрашивание предшествует фиксации

3. Генная инженерия -

- 1) наука о микроорганизмах
- 2) наука о химическом синтезе антибиотиков
- 3) совокупность приёмов, методов и технологий получения рекомбинантных РНК и ДНК, выделения генов из организма (клеток), осуществления манипуляций с генами
- 4) изучает биохимические свойства микробов

4. Актиномицеты размножаются:

- 1) спорами
- 2) репродукцией
- 3) фрагментацией
- 4) почкованием

5. Дезинфекция — это:

- 1) комплекс профилактических мероприятий, направленный на предупреждение попадания микроорганизмов на объект
- 2) процесс полного освобождения объекта от микроорганизмов, находящихся на всех стадиях развития
- 3) комплекс профилактических мероприятий, направленный на уничтожение микроорганизмов, попавших на объекты окружающей среды с целью прерывания путей передачи инфекции
- 4) комплекс профилактических мероприятий, направленный на уничтожение насекомых переносчиков инфекционных заболеваний

6. К противомикробным химиотерапевтическим препаратам относят:

- 1) фторхинолоны
- 2) антигистаминные препараты
- 3) бактериофаги
- 4) иммуномодуляторы

7. Микробиологические показатели качества воздуха производственных помещений аптеки:

- 1) общее микробное число
- 2) гемофильная палочка
- 3) синегнойная палочка
- 4) кишечная палочка

8. Растворы для инъекций проходят следующие испытания:

- 1) определение анаэробных бактерий (посевом на МПА)
- 2) определение плесневых и плесневых грибов (посевом на агар Сабуро)
- 3) выявление бактерий группы кишечной палочки
- 4) исследование на стерильность

9. Четвертый день бактериологического исследования включает:

- 1) посев исследуемого материала и выделение чистой культуры микробов
- 2) изучение свойств выросших колоний и высев на скошенный агар для накопления чистой культуры
- 3) определение вида микроорганизма по совокупности изученных свойств
- 4) изучение подвижности микроорганизмов

## РАЗДЕЛ 2. ОСНОВЫ УЧЕНИЯ ОБ ИНФЕКЦИИ И ИММУНИТЕТЕ

### Занятие №1

#### Тема: ОСНОВЫ УЧЕНИЯ ОБ ИНФЕКЦИИ

**Цель занятия:** ознакомиться с особенностями инфекционных заболеваний, закономерностями инфекционного процесса, факторами инфекционного процесса, формами инфекций, научиться определять наличие отдельных факторов вирулентности микроорганизмов.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Определение понятий «инфекция», «инфекционный процесс», «инфекционная болезнь».
2. Особенности инфекционного процесса. Периоды инфекционного процесса.
3. Роль микроба в возникновении заболевания. Патогенность. Понятие об облигатно-патогенных, условно-патогенных, непатогенных микроорганизмах.
4. Вирулентность. Факторы вирулентности микроорганизма, единицы вирулентности.
5. Токсины бактерий. Белковые токсины, классификация основные свойства и механизм действия.
6. Роль макроорганизма и внешней среды в развитии инфекции.
7. Виды инфекции. Эпидемиологическое значение носительства патогенных микробов.
8. Формы инфекций (по происхождению, по длительности течения, по степени выраженности симптомов, по характеру локализации, по распространению).
9. Облигатный внутриклеточный паразитизм вирусов. Патогенетические особенности вирусных инфекций.

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

#### 1. Определение наличия факторов вирулентности бактерий (демонстрационные мазки):

а) выявление капсулы у пневмококков (демонстрация).

Оснащение:

- 1) микроскоп
- 2) иммерсионное масло
- 3) демонстрационные препараты капсульных микроорганизмов (*S. pneumoniae*)
- 4) таблица, слайды «Капсулы у бактерий»
- 5) мультимедийный проектор, ноутбук.

### Методика

Промикроскопировать (просмотреть) и зарисовать в рабочую тетрадь микроскопическую картину капсульных бактерий при окраске по методу Гинса-Бурри.

б) *выявление корд-фактора микобактерий* (демонстрация).

Оснащение:

- 1) микроскоп
- 2) иммерсионное масло
- 3) демонстрационные препараты микобактерий
- 4) таблица, слайды «Корд-фактор *M. tuberculosis*»
- 5) мультимедийный проектор, ноутбук.

### Методика

Промикроскопировать (просмотреть) и зарисовать в рабочую тетрадь микроскопическую картину корд-фактора микобактерий.

## **2. Выявление токсинов и ферментов - факторов вирулентности стафилококков:**

а) *определение наличия гемолизина.*

Оснащение:

- 1) спиртовка, спички
- 2) бактериологическая петля
- 3) скошенный агар с чистой культурой *S. aureus*
- 4) чашка Петри с кровавым агаром
- 5) термостат
- 6) слайд «Рост *S. aureus* на кровавом агаре»
- 7) мультимедийный проектор, ноутбук.

### Методика

Сделать посев испытуемой культуры «бляшками» в чашки Петри с кровавым агаром. Чашки поместить в термостат при 37°C на 24 часа. В случае наличия гемолитической активности (гемолизина) вокруг «бляшек» образуются прозрачные зоны гемолиза.

Либо оценить результаты посева по слайду.

Зарисовать результат. Сделать заключение.

б) *определение наличия лецитиназы.*

Оснащение:

- 1) спиртовка, спички
- 2) бактериологическая петля
- 3) скошенный агар с чистой культурой *S. aureus*
- 4) чашка Петри с агаром с лецитином
- 5) термостат
- 6) слайд «Рост *S. aureus* на желточно-солевом агаре»
- 7) мультимедийный проектор, ноутбук.

## Методика

Сделать посев испытуемой культуры «бляшками» в чашки Петри с агаром с лецитином. Чашки поместить в термостат при 37°C на 24 часа. В случае наличия лецитиназной активности (лицитиназы) вокруг «бляшек» образуются прозрачные зона помутнения с перламутровым блеском.

Либо оценить результаты посева по слайду.

Зарисовать результат. Сделать заключение

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Ферменты агрессии и микробные токсины
2. Факторы инфекционного процесса. Условия окружающей среды.

### ***1. Ферменты агрессии и микробные токсины***

Ферменты агрессии микроорганизмов способствуют инвазивности микробов (от лат. *invasum* – нападать, вторгаться) - это способность микробов проникать в ткани, находящиеся за пределами входных ворот инфекции. Наиболее часто микробы обладают следующими ферментами: *плазмокоагулаза* (обуславливает свертывание плазмы, образование фибринового сгустка вокруг микробов, что способствует экранированию от иммунокомпетентных клеток), *фибринолизин* (вызывает разрушение фибринового сгустка, способствует продвижению микробов по тканям), *гиалуронидаза* - разрушает гиалуроновую кислоту, входящую в состав соединительной ткани, что способствует инвазивности микробов, *коллагеназа* разрушает коллагеновые волокна, вызывая расплавление тканей, *нейраминидаза* способствует преодолению слоя слизи, отщепляя от различных гликопротеидов, гликолипидов, полисахаридов сиаловую (нейраминовою) кислоту, повышая проницаемость различных тканей, *ДНК-аза* (разрушение структуры ДНК клеток), *липазы* (способствуют разрушению салных «пробок» в устье волосяных фолликулов), *β-лактамазы* (нарушают структуру β-лактамных антибиотиков), *протеазы*, действие которых в первую очередь направлено на разрушение антител; *лецитовителлаза* (лецитиназа) - разрушает лецитин, входящий в состав оболочек клеток.

Микробные токсины. В зависимости от мишени действия выделяют: *нейротоксины* - поражают клетки нервной ткани, *гемолизины* - вызывают цитолиз, разрушают эритроциты, клетки эндотелия сосудов, тромбоциты, гепатоциты, а также дермонекротический, нейротоксический и кардиотоксический эффекты, *энтеротоксины* - поражают эпителий тонкого кишечника, *дерматонекротоксины* - вызывают некротические поражения кожных покровов, *лейкоцидины* - повреждают фагоциты (лейкоциты).

По механизму действия выделяют цитотоксины (например, энтеротоксины или дерматонекротоксины), мембранотоксины (например, гемолизины и лейкоцидины), функциональные блокаторы (например, холероген), эксфолиатины (вызывают разрушение десмосом зернистого слоя эпидермиса и «листовидную» отслойку рогового слоя) и эритрогенины (обладают цитотоксичным, пирогенным действием, вызывает расширение мелких сосудов), *летальный токсин* вызывает гибель лабораторных животных. Нередко патогенные бакте-

рии синтезируют несколько экзотоксинов, проявляющих различное действие (летальное, гемолитическое, цитотоксическое и т.д.).

## ***2. Факторы инфекционного процесса. Условия окружающей среды***

В реализации инфекционного процесса участвуют три фактора: патогенный микроорганизм, восприимчивый макроорганизм и условия окружающей среды. На развитие и распространение инфекционного процесса могут оказывать влияние климат и сезонность, высокая или низкая температура, высушивание, ультрафиолетовое облучение, радиация, а также социальные и экологические факторы.

Так при инфекциях дыхательных путей наиболее значимыми социальными факторами оказываются: создание крупных городских поселений; изменения естественных демографических процессов: формирование крупных постоянных (производственных, детских) и временных коллективов, удлинение внутригородских транспортных магистралей и увеличение объема внутригородских пассажирских перевозок, интенсификация миграции населения. Экологическими последствиями реализации этих факторов является активизация капельного

механизма передачи инфекции; активизация обмена возбудителями между жителями различных районов города и жителями различных населенных мест, снижение неспецифической резистентности городского населения к инфекциям.

Все это приводит к изменениям в проявлениях эпидемического процесса: сокращение интервалов между периодическими подъемами заболеваемости, сдвиг возрастной заболеваемости вправо, стирание различий в эпидемиологических особенностях инфекций в крупных городах и мелких населенных пунктах, возникновение локальных вспышек в коллективах.

При кишечных инфекциях к социальным факторам относят: централизация водоснабжения и питания, общее благоустройство населенных мест, в том числе централизованное удаление нечистот, повышение общей и санитарной культуры населения. Экологическими последствиями действия этих социальных факторов являются: общее улучшение микробиологического качества питьевой воды и пищевых продуктов при сохранении возможности аварий на водопроводной сети; возможность централизованного микробного загрязнения пищевых продуктов; повышение загрязненности воды открытых водоемов и затруднение процессов ее самоочищения.\*

\*Куприянова Н.Ю. Методические рекомендации для студентов к практическому занятию по теме: «Учение об эпидемическом процессе», ФГБОУ ВО ИГМУ, 2017 [https://irkgm.ru/src/downloads/3fb27c1f\\_0db28a64\\_mr\\_dlyastud\\_epidemicheskiiy\\_protsess.pdf](https://irkgm.ru/src/downloads/3fb27c1f_0db28a64_mr_dlyastud_epidemicheskiiy_protsess.pdf)

## Занятие №2

### Тема: ОСНОВЫ УЧЕНИЯ ОБ ИНФЕКЦИИ

**Цель занятия:** ознакомиться с основами эпидемиологии, элементами эпидемиологического процесса, видами источников инфекции, механизмами и путями передачи инфекции, с понятием и видами медицинской профилактики, научиться определять интенсивный показатель заболеваемости

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Понятие об эпидемиологии, эпидемиологическом процессе.
2. Источники инфекции, виды, характеристика.
3. Механизмы и пути передачи, характеристика.
4. Входные ворота инфекции.
5. Восприимчивый макроорганизм, характеристика.
6. Противоэпидемические мероприятия в очаге инфекции. Профилактика инфекционных заболеваний. Значение вакцинации.
7. Понятие об особо опасных инфекциях.
8. Понятие о спорадической заболеваемости, эпидемии, пандемии.

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

##### **1. Определение уровня первичной заболеваемости населения Приволжского Федерального округа социально-значимыми инфекциями:**

а) *Определение уровня первичной заболеваемости населения ВИЧ-инфекцией.*

##### Методика

Определить уровень первичной заболеваемости населения Приволжского Федерального округа (ПФО) ВИЧ-инфекцией, по данным за 2022 г.: количество впервые зарегистрированных случаев 14 141 (приложение 1), средняя численность населения ПФО 28 823 776.

Уровень первичной заболеваемости относится к интенсивным показателям. Для удобства сопоставления обычно вычисляют заболеваемость на 100, 1000, 10 000, 100 000 населения, для чего численность явления умножают на круглое число (100, 1000, 10 000, 100 000 и т. д.), называемое основанием. В результате полученные коэффициенты приобретают форму «процентов» (%), «промилле» (‰), «продецимилле» (‱) и т. д.

Первичная заболеваемость инфекционными заболеваниями за год рассчитывается, как правило, на 100 000 населения по формуле:

$$P = \frac{\text{количество впервые зарегистрированных случаев}}{\text{средняя численность населения}} \times 100\,000$$

Сравнить полученные данные с показателями по Российской Федерации – 38,3 на 100 000 населения, сделать вывод.

а) *Определение уровня первичной заболеваемости населения туберкулезом.*

#### Методика

Определить уровень первичной заболеваемости населения Приволжского Федерального округа (ПФО) туберкулезом, по данным за 2022 г.: количество впервые зарегистрированных случаев 7393 (приложение 1), средняя численность населения ПФО 28 823 776.

Первичная заболеваемость инфекционными заболеваниями за год рассчитывается, как правило, на 100 000 населения по формуле:

$$P = \frac{\text{количество впервые зарегистрированных случаев}}{\text{средняя численность населения}} \times 100\,000$$

Сравнить полученные данные с показателями по Российской Федерации – 29,3 на 100 000 населения, сделать вывод.

## **2. Сравнительная оценка интенсивных показателей заболеваемости (уровень первичной заболеваемости) социально-значимыми инфекциями (ВИЧ-инфекция, туберкулез) по субъектам ПФО.**

Оснащение:

1. слайды «Информационный бюллетень Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях населения Приволжского федерального округа за 2022 год»
2. мультимедийный проектор, ноутбук.

#### Методика

Изучить уровень первичной заболеваемости социально-значимыми инфекциями (ВИЧ-инфекция, туберкулез) за 2022 г. по данным Информационного бюллетеня Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях населения Приволжского федерального округа за 2022 год (приложение 1, слайды), сравнить данные по субъектам ПФО, сделать вывод.

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Проявления эпидемического процесса.
2. Особо опасные инфекции.
3. Дезинфекционные мероприятия в очаге инфекции. Требования к осуществлению дезинфекционной деятельности.

### ***1. Проявления эпидемического процесса.***

Известны следующие степени интенсивности эпидемического процесса: спорадическая заболеваемость; эпидемическая вспышка; эпидемия; пандемия\*.

*Спорадическая заболеваемость* выражает такой уровень заболеваемости, какой сложился в данной местности, при данных исторических условиях. Многие заболевания при

этом обычно проявляются в виде единичных случаев.



*Эпидемическая вспышка* – кратковременный подъем заболеваемости инфекционной болезнью в ограниченной группе населения заболевания в которой связаны между собой общим источником инфекции или общими факторами передачи.

*Эпидемией* называется такое состояние, когда заболеваемость значительно (в 5-10 раз) превышает уровень спорадической заболеваемости для данной местности за аналогичный период.

*Пандемия* - необычайно сильная эпидемия, распространившаяся на территории стран, континентов.

В эпидемиологии принято различать экзотические, эндемические, энзоотические болезни. *Экзотическими* называют такие болезни, которые в данной стране или области не встречаются и могут возникать лишь в результате завоза из других стран. *Эндемическими* называют болезни, постоянно встречающиеся среди населения данной местности. Если резервуаром возбудителя является животное, говорят об *энзоотических* болезнях.

\*Куприянова Н.Ю. Методические рекомендации для студентов к практическому занятию по теме: «Учение об эпидемическом процессе», ФГБОУ ВО ИГМУ, 2017 [https://firkgmu.ru/src/downloads/3fb27c1f\\_0db28a64\\_mr\\_dlyastud\\_epidemicheskiiy\\_protsess.pdf](https://firkgmu.ru/src/downloads/3fb27c1f_0db28a64_mr_dlyastud_epidemicheskiiy_protsess.pdf)

## **2. Особо опасные инфекции**

*Особо опасные инфекции\** - группа инфекционных заболеваний, представляющих исключительную эпидемическую опасность. Перечень и меры профилактики распространения ООИ были закреплены в Международных медико-санитарных правилах (ММСП), принятых 22-й сессией Всемирной ассамблеи здравоохранения ВОЗ 26 июля 1969 года. С поправками 1981 года список включал лишь три заболевания: чуму, холеру и сибирскую язву. В этот же период была исключена натуральная оспа в связи с её искоренением, но в ММСП-2005 она снова возвращена, подразумевая, что в мире возможно остался вирус натуральной оспы в арсенале биологического оружия некоторых стран, а ещё может потенциально естественным путём распространиться так называемая оспа обезьян. Она имеет клинические проявления, сравнимые с таковыми при натуральной оспе и может тоже гипотетически дать высокую смертность и инвалидизацию. В настоящее время согласно приложению № 2 ММСП-2005, список особо опасных инфекций разделён на две группы. Первая группа — «болезни, которые являются необычными и могут оказать серьёзное влияние на здоровье населения»: оспа, полиомиелит, вызванный диким полиовирусом, человеческий грипп, вызванный новым подтипом, тяжёлый острый респираторный синдром (ТОРС) или SARS. Вторая группа — это «болезни, любое событие с которыми всегда оценивается как опасное, поскольку эти инфекции обнаружили способность оказывать серьёзное влияние на здоровье населения и быстро распространяться в международных масштабах»: холера, лёгочная форма чумы, жёлтая лихорадка, геморрагические лихорадки — лихорадка Ласса, Марбург, Эбола, лихорадка Западного Нила. Сюда же ММСП-2005 относят инфекционные болезни, «которые представляют особую национальную и региональную проблему», например лихорадку денге, лихорадку Рифт-Валли, менингококковую болезнь (менингококковую инфекцию). К примеру, для стран тропического пояса лихорадка денге является серьёзной проблемой, с возник-

новением тяжёлых геморрагических, нередко смертельных форм среди местного населения, тогда как европейцы переносят её менее тяжело, без геморрагических проявлений, а в странах Европы эта лихорадка не может распространиться из-за отсутствия переносчика. Менингококковая инфекция в странах Центральной Африки имеет значительную распространённость тяжёлых форм и высокую смертность (так называемый «менингитный африканский по-яс»), тогда как в других регионах эта болезнь имеет меньшее распространение именно тяжелых форм, а поэтому и меньшую смертность. ВОЗ включила в ММСП-2005 только одну форму чумы — лёгочную, подразумевая, что при такой форме поражения распространение этой грозной инфекции идёт крайне быстро от больного человека к здоровому воздушно-капельным механизмом передачи, что может привести к очень скорому поражению многих людей и развитию громадной по объёму эпидемии, если вовремя не принять адекватные противоэпидемические меры. В России к ООИ также причисляется сибирская язва.

[\\*https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%81%D0%BE%D0%B1%D0%BE\\_%D0%BE%D0%BF%D0%B0%D1%81%D0%BD%D0%B0%D1%8F\\_%D0%B8%D0%BD%D1%84%D0%B5%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%9E%D1%81%D0%BE%D0%B1%D0%BE_%D0%BE%D0%BF%D0%B0%D1%81%D0%BD%D0%B0%D1%8F_%D0%B8%D0%BD%D1%84%D0%B5%D0%BA%D1%86%D0%B8%D1%8F)

### ***3. Дезинфекционные мероприятия в очаге инфекции. Требования к осуществлению дезинфекционной деятельности***

*Дезинфекция* – (от франц. отрицательной приставки des и латинского слова infection – инфекция) — это уничтожение патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в окружающей человека среде, на объектах оборудования и медицинского инструментария в медицинской организации.

Дезинфекционные мероприятия в очаге инфекции представлены текущей дезинфекцией (осуществляется систематически в очаге инфекции для предупреждения распространения инфекции) и заключительной (проводится в очаге однократно, после удаления источника инфекции) и направлены на пресечение путей передачи инфекционного заболевания.

Дезинфекция проводится в соответствии с нормативным документом СанПиН 3.3686-21 Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», предъявляющим ряд требований:

- Дезинфекционные, дезинсекционные и дератизационные мероприятия на объектах, транспортных средствах, рекреационных территориях населенных пунктов проводятся персоналом организаций, в соответствии с учредительными документами которых одним из видов экономической деятельности является осуществление дезинфекционной, дератизационной и дезинсекционной деятельности.

- Деятельность, связанная с использованием дезинфекционных средств, включает: приготовление, хранение, транспортировку, реализацию, применение средств, оборудования и материалов для дезинфекции, стерилизации, дезинсекции, дератизации, уничтожение дезинфекционных средств, контроль за эффективностью дезинфекционных средств и безопасным их применением, а также за проведением дезинфекционных мероприятий и их эффективностью.

- Средства, оборудование, материалы для дезинфекции, предстерилизационной очистки, стерилизации, дезинсекции, дератизации (далее – дезинфекционные средства) должны быть эффективны в отношении целевых объектов и безопасны для человека и окружающей среды.

- К использованию допускаются дезинфекционные средства, на которые имеются разрешительные документы, выданные в порядке и в случаях, установленных правом Евразийского экономического союза.

- Обеззараживание объектов проводят орошением, протиранием, обработкой аэрозолями, погружением и другими способами.

- Не допускается применение дезинфицирующих средств, обладающих только бактериостатическим действием.

- В жилых домах, гостиницах, общежитиях при проведении дезинфекционной деятельности должны выполняться следующие санитарно-эпидемиологические требования:

- очаговую дезинфекцию в квартирах жилых домов, а также в гостиницах, общежитиях осуществляют по эпидемиологическим показаниям. В присутствии больного проводят текущую дезинфекцию, а после его эвакуации - заключительную;

- для текущей дезинфекции не допускается применение дезинфицирующих средств I - III класса опасности при ингаляционном пути поступления в концентрациях, превышающих гигиенические нормативы для атмосферного воздуха городских и сельских поселений;

- заключительную дезинфекцию в квартире, жилой комнате, номере гостиницы проводят специалисты организаций, осуществляющих дезинфекционную деятельность.

### **Занятие №3**

#### **Тема: ОСНОВЫ УЧЕНИЯ ОБ ИММУНИТЕТЕ. НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ**

**Цель занятия:** изучить понятие «иммунитет», механизмы неспецифической защиты организма (механические, физико-химические, иммунобиологические), факторы, поддерживающие функционирование неспецифических факторов защиты, научиться оценивать завершённый и незавершённый фагоцитоз, фагоцитарный индекс.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Определение понятия «иммунитет». Виды иммунитета, их характеристика.
2. Неспецифические и специфические факторы защиты, их сравнительная характеристика.
3. Понятие о механических неспецифических факторах защиты (кожные и слизистые барьеры, физиологические рефлексы)
4. Понятие о физико-химических неспецифических факторах защиты (температурная реакция, факторы с кислой реакцией среды)
5. Понятие о клеточных иммунобиологических неспецифических факторах защиты (нормальная микрофлора, фагоцитоз, нормальные киллеры, клеточная реактивность).
6. Понятие о гуморальных иммунобиологических неспецифических факторах защиты (комплемент, лизоцим, интерферон и др.).
7. Факторы, поддерживающие функционирование неспецифических факторов защиты (закаливание, сбалансированное питание, рациональный режим труда и отдыха и др.)

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ**

##### **1. Просмотреть и зарисовать стадии фагоцитоза стафилококка (завершённый фагоцитоз) и гонококка (незавершённый фагоцитоз).**

Оснащение:

1. демонстрационные препараты завершённого и незавершённого фагоцитоза

2. микроскоп/мультимедийный проектор, ноутбук

3. Таблицы:

«Фагоцитоз стафилококков», «Стадии завершённого фагоцитоза»,

##### Методика

Оценить и зарисовать в рабочую тетрадь микроскопическую картину завершённого и незавершённого фагоцитоза.

## 2. Определение фагоцитарной активности лейкоцитов в периферической крови человека.

Оснащение:

- 1) Слайд с фагоцитами периферической крови человека, фагоцитирующими частицы латекса.
- 2) Мультимедийный проектор, ноутбук.

### Методика

Определение фагоцитарного индекса (% фагоцитирующих лейкоцитов) проводят по формуле: количество фагоцитирующих лейкоцитов/общее количество лейкоцитов в препарате

Определение фагоцитарного числа (среднее число частиц, поглощенных одним фагоцитом):

$$A = (a_1 + a_2 + a_3 + a_4 + \dots + a_n) / n,$$

где А – фагоцитарное число,

а – число частиц, поглощенных одним лейкоцитом,

n – количество фагоцитирующих лейкоцитов.

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Клеточные факторы неспецифической защиты. Лимфоидные клетки.
2. Гуморальные факторы неспецифической защиты. Система комплемента.

### *1. Клеточные факторы неспецифической защиты. Лимфоидные клетки*

Клеточное звено НФЗ включает мононуклеарные фагоциты (моноциты, тканевые макрофаги), гранулоциты — нейтрофилы, эозинофилы, базофилы (микрофаги), а также киллерные клетки — естественные (ЕК-клетки).\*

*Мононуклеарные фагоциты* выполняют в организме двоякую функцию: они участвуют в непосредственной защите организма от чужеродных веществ за счет фагоцитоза и антителозависимого киллинга («клетки-мусорщики», «клетки тревоги»). С другой стороны, моноциты и макрофаги способны взаимодействовать с лимфоидными клетками, «включая» и регулируя механизмы специфического иммунитета («клетки-диспетчеры»). Эту функцию они выполняют за счет способности презентировать (представлять) чужеродный антигенный материал для распознавания Т-лимфоцитам и продуцировать цитокины.

Моноциты периферической крови и тканевые макрофаги происходят из полипотентной стволовой клетки. Попав в кровяное русло, моноциты в течение суток расселяются в ткани, где они превращаются в тканевые макрофаги. Т.е. тканевые макрофаги - производные моноцитов. К ним относят: плевральные и перитонеальные макрофаги, купферовские клетки печени, альвеолярные макрофаги, макрофаги вилочковой железы (тимические), остеокласты, глиальные макрофаги мозга, дендритные клетки лимфатических узлов и селезенки, клетки Лангерганса кожи и слизистых оболочек и др.

Подсчитано, что суточная порция моноцитов, покидающих кровяное русло, в тканях распределяется следующим образом: 56,4% - печень; 14,9 - легкие;

7,6 - брюшная полость; 21,1% - другие ткани. Длительность жизни тканевых макрофагов от 40 до 60 суток.

Особенностью тканевых макрофагов является наличие гранул - лизосом, в которых содержатся различные ферменты: гидролазы, фосфатаза, липаза, лизоцим, коллагеназа и др.

Одной из основных функций тканевых макрофагов является фагоцитоз - процесс поглощения чужеродного материала, его разрушение и выведение из организма. Клетками, ответственными за эту функцию, являются моноциты и нейтрофилы.

Процесс завершеного фагоцитоза включает несколько этапов: 1) хемотаксис, т. е. ее продвижение по направлению к объекту, который вызвал ее активацию; 2) прикрепление к данному объекту (адгезия); 3) собственно заглатывание этого объекта; 4) переваривание, или процессинг, поглощенного объекта. При отсутствии последнего этапа фагоцитоз нарушается и носит название незавершеного. При этом фагоцитированные микроорганизмы выживают и могут длительно оставаться во вторичных лизосомах. Многие факультативные и облигатные внутриклеточные паразиты не только сохраняют жизнеспособность внутри клеток, но и способны размножаться, т.е. *персистировать* в организме. Персистирование патогенов опосредуют три основных механизма:

- *Блокада фагосома-лизосомального слияния.*

Этот феномен обнаружен у вирусов (например, у вируса гриппа), бактерий (например, у микобактерий) и простейших (например, у токсоплазм).

- *Резистентность к лизосомальным ферментам* (например, гонококки и стафилококки).

- *Способность патогенных микроорганизмов* быстро покидать фагосомы после поглощения и длительно пребывать в цитоплазме (например, риккетсии).

Процесс фагоцитоза значительно усиливается при *опсонизации* антигена - адсорбции на поверхности антигенов опсонин, которые стимулирует и облегчает фагоцитоз (рис.1). К опсонинам относят комплемент, иммуноглобулины, фибронектин - гликопротеин, который связывается с микроорганизмами, и к которому на поверхности нейтрофилов и макрофагов имеется рецептор, за счет чего происходит связывание микроорганизмов, обработанных фибронектином.

Наряду с моноцитами и тканевыми макрофагами, в реализации клеточных реакций врожденного иммунитета принимают участие гранулоциты.

*Гранулоциты* - это полиморфноядерные лейкоциты, циркулирующие в крови. Различают три типа гранулоцитов - нейтрофильные, эозинофильные и базофильные.

Нейтрофильные гранулоциты (нейтрофилы) составляют наибольшую часть популяции полиморфноядерных лейкоцитов. Основные функции нейтрофилов - хемотаксис, фагоцитоз и секреция.

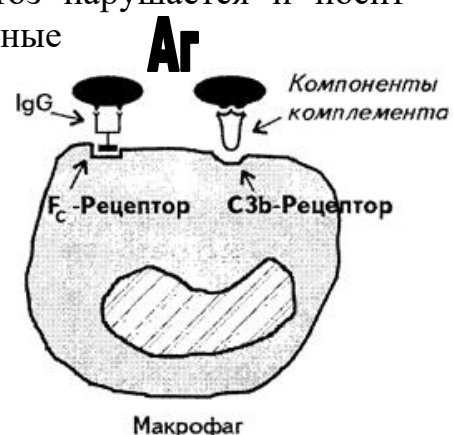


Рис.1. Фагоцитоз опсонированных антигенов

Эозинофильные гранулоциты (эозинофилы) помогают организму избавиться от крупных паразитов типа гельминтов, которые физически не могут быть фагоцитированы.

Базофилы имеют меньшее значение в процессе фагоцитоза. Они выделяют гепарин, серотонин и гистамин, которыми и обусловлены функции базофилов в воспалительном процессе.

Еще одну группу клеточных факторов составляют *киллерные клетки*. Особенностью ЕК (естественных киллеров)-клеток является способность лизировать клетки-мишени без предварительной сенсibilизации, что отличает их от цитотоксических Т-лимфоцитов-киллеров. Морфологически естественные киллерные клетки большого размера, с зернистостью и низкой плотностью, на основании чего их относят к большим гранулярным лимфоцитам. Клетками-мишенями для ЕК-клеток являются практически все ядродержащие клетки, однако наибольшую активность ЕК-клетки проявляют по отношению к опухолевым и пораженным вирусом клеткам.

\*<https://www.eurolab-portal.ru/encyclopedia/immunology-and-allergy/47652/>

## **2. Гуморальные факторы неспецифической защиты. Система комплемента\***

*Система комплемента* — комплекс защитных белков, постоянно присутствующих в крови. Это каскадная система протеолитических ферментов, предназначенная для гуморальной защиты организма от действия чужеродных агентов, она участвует в иммунном ответе организма. Каскадная система подразумевает последовательную активацию компонентов (белков)-предшественников в активную форму. Выделяют три основных пути активации системы комплемента: классический, альтернативный и лектиновый. Для запуска классического пути комплемента необходима опсонизация чужеродной клетки антителами, а альтернативный и лектиновый пути могут активироваться в отсутствие антител. Поздние стадии у всех трёх путей активации системы комплемента одинаковы и включают образование мембраноатакующего комплекса, который нарушает целостность мембраны клетки-патогена и приводит к её гибели.

Система комплемента состоит из поверхностных белков и белков плазмы крови, которые взаимодействуют друг с другом и с другими молекулами иммунной системы строго регулируемым образом, давая продукты, убивающие клетки патогенов. Белки комплемента являются белками плазмы крови, которые в состоянии покоя неактивны и активируются лишь при определённых условиях.

Функции системы комплемента в составе врождённого и адаптивного иммунного ответа состоят в стимуляции фагоцитоза микробных клеток, на поверхности которых активировался комплемент, воспаления и запуске лизиса клеток патогена. Фрагменты белков комплемента, образующиеся при его активации, облегчают активацию В-клеток и образование антител

\*[https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BC%D0%B0\\_%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%BB%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B0](https://ru.wikipedia.org/wiki/%D0%A1%D0%B8%D1%81%D1%82%D0%B5%D0%BC%D0%B0_%D0%BA%D0%BE%D0%BC%D0%BF%D0%BB%D0%B5%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B0)

## **Занятие №4**

### **Тема: СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ЗАЩИТЫ ОРГАНИЗМА. СЕРОЛОГИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ**

**Цель занятия:** изучить механизмы специфического приобретенного иммунитета: клеточные и гуморальные, характеристику иммунной системы, ее центральных и периферических органов, иммунокомпетентных клеток, характеристику антигенов, антител, форм иммунного ответа, основы иммунодиагностики. Научиться учитывать результаты реакции кольцепреципитации.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Механизмы специфического приобретенного иммунитета.
2. Иммунная система. Центральные и периферические органы. Иммунокомпетентные клетки: макрофаги, Т- и В- лимфоциты.
3. Виды и свойства антигенов. Антигенное строение микробной клетки.
4. Антитела, классы, строение, виды фазы антителообразования.
5. Виды иммунного ответа. Механизмы гуморального и клеточного иммунитета.
6. Иммунологическая память и иммунологическая толерантность.
7. Иммунопрофилактика, иммунотерапия и иммунокоррекция.
8. Основы иммунодиагностики. Реакции иммунитета, определение, компоненты, фазы.

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ**

##### **1. Ознакомиться с презентацией «Иммунодиагностические реакции»**

Оснащение:

- 1) презентация «Иммунодиагностические реакции»
- 2) мультимедийный проектор, ноутбук

##### Методика

Ознакомиться по слайдам с классификацией серологических реакций, характеристикой реакций I-III поколения, молекулярными методами диагностики.

##### **2. Поставить реакцию преципитации по Асколи с шерстью животного с подозрением на сибирскую язву. Сделать заключение.**

Оснащение:

- 1) штатив;
- 2) пробирка с преципитирующей сывороткой;
- 3) пробирка с шерстью животного;
- 4) пробирка с изотоническим раствором хлорида натрия,
- 5) водяная баня;
- 6) пипетки на 1 и 2 мл



### Методика

а) Приготовление раствора антигена. Шерсть заливают изотоническим раствором хлорида натрия и выдерживают на водяной бане 15-20 мин., после чего фильтруют и охлаждают.

б) В пробирку наливают неразведенную преципитирующую противосибирязвенную сыворотку в количестве 0,5-1,0 мл. Антиген наслаивают пипеткой осторожно по стенкам (пробирка в наклонном положении). Пробирку осторожно ставят вертикально.

Учет результатов через 5-10 мин. При положительной реакции на границе между сывороткой и исследуемым материалом появляется преципитат в виде белого кольца. Т. е. шерсть исследуемого животного содержит сибирязвенный антиген.

**3. Изучить демонстрационные диагностические препараты, ознакомиться с рекомендациями по их применению.**

Оснащение:

- 1) Набор демонстрационных диагностических препаратов.
- 2) Набор рекомендаций по применению диагностических препаратов.

### Методика

Ознакомиться с образцами демонстрационных диагностических препаратов, изучить возможности их применения.

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Понятие об иммунном статусе человека.
2. Иммунодефицитные состояния человека.
3. Иммунобиологические препараты, применяемые с диагностической целью.

### ***1. Понятие об иммунном статусе человека***

*Иммунный статус* - совокупность специфических и неспецифических показателей иммунитета. Эти показатели могут быть измерены и выражены количественно.

Показатели специфического звена иммунной системы:

- уровень Ig всех классов
- кол-во и активность Т и В лимфоцитов и их субпопуляций
- выраженность клеточного и гуморального иммунитета
- состояние системы иммуноцитоклинов
- активность иммунного фагоцитоза и др.

Показатели естественной резистентности:

- содержание макрофагов и их фагоцитарной активности
- функционирование НК
- содержание комплемента, интерферона, лизоцима и др.

В период новорожденности иммунная система ребенка подавлена. Иммунитет имеет пассивный характер и обеспечивается материнскими антителами. Новорожденный проявляет слабую резистентность к различным возбудителям. Очень высока чувствительность ребенка к вирусным инфекциям. К 5-6 годам средняя концентрация IgG и IgM в крови соответствует уровню взрослых, од-

нако уровень IgA в крови еще не достигает окончательных значений. В подростковом периоде окончательно формируется тип иммунного ответа. После начала полового созревания подвергается значительной атрофии и инволюции тимус. Дополнительное уменьшение размеров тимуса происходит при старении организма, с чем отчасти связывают понижение иммунитета у пожилых людей, повышается восприимчивость к инфекционным агентам.

Иммунный статус находится в динамическом равновесии, т.к. на него действуют климатические (температура, влажность), социально-биологические (питание, условия труда и быта), экологические (близость крупных промышленных объектов) и эндогенные факторы (хронические, в т.ч. инфекционные заболевания, нарушение гормонального фона). Под влиянием инфекции, излучения, химических веществ, лекарств и др., а также в результате врожденных генетических дефектов иммунный статус может нарушаться. Эти изменения изучает клиническая иммунология.

## 2. Иммунодефицитные состояния

**Иммунодефициты** - нарушение иммунного статуса и способности к нормальному иммунному ответу. Эти нарушения обусловлены дефектами одного или нескольких звеньев иммунной системы.

Классификация иммунодефицитов:

### I. по происхождению:

1.

#### Врожденные

##### *Первичные*

это дефекты фагоцитов, системы комплемента, В-лимфоцитов и др.

##### *Вторичные*

гормональные дисфункции, последствия внутриутробных инфекций (краснухи, ЦМВИ), дефекты Т и В - звеньев как следствия лимфопролиферативных заболеваний.

### 2. Приобретенные

##### *Первичные*

(СПИД, лимфогранулематоз, приобретенные дефекты фагоцитов)

##### *Вторичные*

дефекты, связанные с инфекциями и интоксикациями, метаболическими нарушениями

(диабет, истощение и др.), дефекты, вызванные лечебными воздействиями (облучение, хирургическое вмешательство и др.)

### II. по уровню дефекта иммунной системы:

- дефекты Т-системы,

- дефекты В-системы,
- комбинированные дефекты Т и В систем.

### ***III. по причинам возникновения:***

1) размножение возбудителей в клетках иммунной системы (вирусы, риккетсии, грибы, простейшие, бактерии). Например, ВИЧ – размножается в Т-лимфоцитах, вирус Эпштейна – Барр - в В-лимфоцитах.

- 2) дефекты метаболизма (диабет, атеросклероз и др.).
- 3) иммунопролиферативные заболевания.
- 4) использование иммунодепрессантов и др.

### ***3. Иммунобиологические препараты, применяемые с диагностической целью***

- |                                       |                 |
|---------------------------------------|-----------------|
| 1. Диагностические иммунные сыворотки | 4. Аллергены    |
| 2. Диагностикумы                      | 5. Бактериофаги |
| 3. Комплемент                         |                 |

1. Диагностические иммунные сыворотки содержат известные антитела, используются для определения неизвестных антигенов. К ним относятся:

- агглютинирующая
- преципитирующая
- гемолитическая сыворотки

- Агглютинирующая сыворотка содержит антитела агглютинины, которые склеивают корпускулярные антигены (микробные и другие клетки). *Применяется* при диагностике брюшного тифа (реакция Видаля), дизентерии, холеры, бруцеллеза (реакция Райта) и др.

- Преципитирующая сыворотка содержит антитела преципитины, которые осаждают растворимые антигены (микробные белки, экстракты из пищевых продуктов и т. д.).

*Применяется* при диагностике сибирской язвы (реакция Асколи), чумы, туляремии, судебной медицине, санитарной практике, легкой и пищевой промышленности.

- Гемолитическая сыворотка содержит антитела гемолизины, растворяющие эритроциты. Используется в реакциях лизиса (РСК), входит в состав гемосистемы. Применяется при диагностике гонореи (реакция Борде-Жангу), сифилиса (реакция Вассермана), сыпного тифа, многих вирусных заболеваний, токсоплазмоза, туберкулеза и др.

2. Диагностикумы – известные антигены, убитые микроорганизмы определенного вида. Иногда используются диагностикумы из отдельных антигенов (О-, Н-, V-) микробной клетки. *Используются* в диагностике для определения неизвестных антител в серологических реакциях.

3. Комплемент содержится в любой свежей сыворотке, обычно используют сыворотку морской свинки, у которой берут кровь из сердца накануне опыта (у 3-4 свинок). Используют и лиофилизированный препарат.

Комплемент *применяют* в РСК (и других реакциях лизиса) в качестве неспецифического компонента.

Эти три препарата используют при серологическом методе диагностики.

4. Аллергены условно делят на *инфекционные* (бактериальные и грибковые) и *неинфекционные* (бытовые, пищевые, эпидермальные, пыльцевые и др.)

Инфекционные аллергены - это убитые микробы (неочищенные аллергены) или экстракты из соответствующих микроорганизмов (очищенные). Выпускают в ампулах в жидком и лиофилизированном виде.

Инфекционные аллергены используются для выявления инфекционной аллергии (при бруцеллезе, токсоплазмозе, туберкулезе и др.) – повышенной чувствительности к патогенным микробам или иммунологической перестройки в результате вакцинации.

Название аллергенов происходит от наименования инфекционного заболевания (бруцеллин, токсоплазмин, туберкулин и др.).

Аллергологическая диагностика осуществляется с помощью постановки внутрикожных или накожных аллергических проб в сгибательную поверхность предплечья (реакция Манту – при туберкулезе, Бюрне – при бруцеллезе и т. д.). При наличии микробов в организме развивается воспаление, гиперемия, инфильтрация по типу ГЗТ. При отсутствии возбудителя в организме воспаления и других явлений нет.

5. Бактериофаг. Фагодиагностика основана на свойстве строгой специфичности фагов. Она используется для внутривидовой идентификации бактерий. С целью диагностики выделяют чистую культуру возбудителей и используют принцип совместного культивирования выделенного микроба и соответствующего фага. Положительная реакция – наличие хорошо выраженного лизиса. В настоящее время разработана фагодиагностика бактерий р. *Salmonella*, *Vibrio*, *Staphylococcus* и др.

## ***Занятие №5***

### **Тема: АЛЛЕРГИЯ. ВИДЫ АЛЛЕРГИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ, МЕХАНИЗМЫ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ. ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЯ И ПРОФИЛАКТИКИ АЛЛЕРГИИ**

**Цель занятия:** изучить основные типы аллергических реакций и клинические проявления; основные способы диагностики аллергии, направления лечения и профилактики; освоить методы учета результатов аллергопроб (на примере реакции Манту).

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Аллергия: понятие, условия, необходимые для возникновения аллергии.
2. Аллергены, свойства и виды.
3. Основные виды аллергических реакций
4. РГНТ, механизм, клинические проявления.
5. РГЗТ, механизм, клинические проявления.
6. Основные направления диагностики аллергии.
7. Основные направления лечения и профилактики аллергии.

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ**

**1. Изучить методики постановки аллергических проб по демонстрационным слайдам. Записать характеристику методов в рабочую тетрадь.**

Оснащение:

- 1) слайды с методиками постановки аллергопроб при инфекционной и неинфекционной аллергии
- 2) мультимедийный проектор
- 3) ноутбук

#### Методика

Изучить по слайдам основные способы диагностики аллергии: аллергопробы (аппликационные, скарификационные пробы, прик-тест), серологический метод диагностики.

**2. Описать схему выявления инфекционной аллергии на примере постановки реакции Манту.**

Оснащение:

- 1) слайды с результатами выявления неинфекционной аллергии (реакции Манту)
- 2) мультимедийный проектор
- 3) ноутбук

### Методика

Учет результатов постановки реакции Манту:

- отрицательной проба считается, если отсутствует папула или есть уколочная реакция 0-1 мм.
- сомнительной проба считается при размере инфильтрата 2-4 мм и при гиперемии (увеличение кровенаполнения ткани, покраснение) любого размера.
- положительной проба считается при наличии инфильтрата от 5 до 16 мм.
- гиперергическая реакция фиксируется при диаметре инфильтрата 17 мм и больше или пузырьке, некрозе любого размера.

### **3. Ознакомиться с препаратами, используемыми для лечения аллергических заболеваний.**

Оснащение:

- 1) Набор демонстрационных препаратов для лечения аллергии.
- 2) Набор рекомендаций по применению препаратов для лечения аллергии.

### Методика

Ознакомиться с образцами демонстрационных препаратов для лечения аллергии, изучить возможности их применения.

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Классификация аллергических реакций по Джеллу и Кумбсу.
2. Методы выявления инфекционной аллергии при туберкулезе.

### ***1. Классификация аллергических реакций по Джеллу и Кумбсу***

Согласно классификации аллергических реакций по патогенетическому принципу (по механизму иммунной реакции) по Джеллу и Кумбсу выделяют 4 основных типа (таблица 1).

Таблица 1

Классификация по Джеллу и Кумбсу:

Тип реакции	Фактор патогенеза	Механизм патогенеза	Клинический пример
анафилактический (РГНТ)	IgE IgG4	Образование рецепторного комплекса IgE (G4)-АсК тучных клеток и базофилов → Взаимодействие эпитопа аллергена с рецепторным комплексом → Активация тучных клеток и базофилов → Высвобождение медиаторов	Анафилаксия, анафилактический шок, поллинозы

		воспаления и других биологически активных веществ	
цитотоксический (РГНТ)	IgM IgG	Выработка цитотоксических антител → Активация антителозависимого цитолиза	Лекарственная волчанка, аутоиммунная гемолитическая болезнь, аутоиммунная тромбоцитопения
иммунокомплексный (РГНТ)	IgM IgG	Образование избытка иммунных комплексов → Отложение иммунных комплексов на базальных мембранах, эндотелии и в соединительнотканной строме → Активация антителозависимой клеточноопосредованной цитотоксичности → Запуск иммунного воспаления	Сывороточная болезнь, системные заболевания соединительной ткани
клеточно-опосредованный (РГЗТ)	Т-лимфоциты	Сенсибилизация Т-лимфоцитов → Активация макрофага → Запуск иммунного воспаления	Контактная аллергия

## 2. Методы выявления инфекционной аллергии при туберкулезе

В настоящее время используют следующие методы выявления инфекционной аллергии при туберкулезе:

*Реакция Манту* (туберкулиновая проба) – на сегодняшний день в России основной метод профилактического обследования детей на инфицирование туберкулезом. Реакция Манту – это ответ организма на введение туберкулина. После введения в кожу препарата возникает небольшое специфическое воспаление в виде папулы, диаметр которой соответствует напряженности иммунитета к туберкулезной палочке. Измерение проводят через 72 часа.

Туберкулин — общее название экстрактов микобактерий *M. tuberculosis*, *M. bovis*, используемых для проведения внутрикожных диагностических проб на туберкулез у человека и животных. Разработано несколько различных типов туберкулина, из которых наиболее важен PPD (англ. purified protein derivative).

Очищенный туберкулин в стандартном разведении является фильтратом убитой нагреванием культуры туберкулезных микобактерий человека и бычьего вида, очищенным ультрафильтрацией или другими способами,

осажденным трихлоруксусной кислотой, обработанным этиловым спиртом и наркозным эфиром и растворенным в фосфатно-буферном растворе с твином-80 в качестве стабилизатора и фенолом в качестве консерванта. Действующая субстанция препарата – аллерген-туберкулопротеин. Он способен вызывать у лиц, инфицированных туберкулёзной палочкой или сохранивших иммунитет к вакцине БЦЖ, аллергическую реакцию в виде гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ). Туберкулин не содержит живых или убитых микобактерий туберкулеза, а только продукты их жизнедеятельности, элементы микробной клетки и часть среды, на которой росли микобактерии туберкулеза.

*Диаскинтест* является дополнительным методом диагностики туберкулеза. Он позволяет определить наличие или отсутствие микобактерий туберкулеза в организме. Диаскинтест является более специфичным тестом, поскольку в его состав входят белки, вызывающие иммунную реакцию в организме только на микобактерии, вызывающие туберкулез. Одна доза (0,1 мл) препарата содержит: рекомбинантный (генномодифицированный) белок CFP10-ESAT6 (0,2 мкг), фенол (0,25 мг) в качестве консерванта, полисорбат 80 (твин 80) в качестве стабилизатора, натрий фосфорно-кислый двузамещенный 2-водный, натрия хлорид, калий фосфорно-кислый однозамещенный, воду для инъекций – до 0,1 мл. Таким образом, препарат содержит два связанных между собой с помощью генной инженерии антигена - CFP10 и ESAT6. Именно эти антигены присутствуют в вирулентных штаммах микобактерий туберкулёза, в том числе *M.tuberculosis* и *M.bovis*. При этом данные антигены отсутствуют в штаммах вакцины БЦЖ *M.bovis*.

Этот тест по сравнению с реакцией Манту позволяет определить не только наличие возбудителя, но и активность микобактерий, вызывающих само заболевание. Диаскинтест не исключает и не заменяет реакцию Манту, а только дополняет ее, либо проводится по назначению фтизиатра в тех случаях, когда нельзя сделать Манту, например, при подтвержденной аллергии на компоненты пробы.



## Занятие №6

### Тема: ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ. ВАКЦИНЫ

**Цель занятия:** познакомиться с понятием, видами, методами получения и контроля вакцинных препаратов; освоить методику изучения состава ассоциированных вакцин.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Определение понятий вакцины, вакцинопрофилактика, вакцинотерапия.
2. Классификация вакцин, характеристика, методы получения.
3. Контроль вакцин при производстве.
4. Методы введения вакцин. Побочные эффекты вакцинации.
5. Условия хранения иммунобиологических препаратов.

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

##### 1. Изучить состав ассоциированных вакцин «АКДС», «Инфанрикс», «Пентаксим».

Оснащение:

- 1) Упаковки вакцин «АКДС», «Инфанрикс», «Пентаксим»
- 2) Инструкции по использованию вакцин «АКДС», «Инфанрикс», «Пентаксим»

#### Методика

Изучить состав ассоциированных вакцин «АКДС», «Инфанрикс», «Пентаксим» по информации, указанной в инструкции, заполнить таблицу «Компоненты ассоциированных вакцин» в рабочей тетради.

Компоненты ассоциированных вакцин

Название вакцины	Протективный антиген	Тип формируемого иммунитета	Консервант	Стабилизатор	Адьювант
АКДС	1) 2) 3)				
Инфанрикс	1) 2) 3) 4) 5)				
Пентаксим	1) 2) 3) 4)				

	5)				
	6)				
	7)				
	8)				

## **2. Изучить демонстрационные препараты, ознакомиться с рекомендациями по применению вакцин.**

Оснащение:

- 1) Набор демонстрационных вакцин.
- 2) Набор рекомендаций по применению медицинских иммунобиологических препаратов.

### Методика

Ознакомиться с образцами демонстрационных вакцинных препаратов. Классифицировать представленные образцы по видам протективного антигена, обосновать принадлежность к той или иной группе вакцин.

## **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Предпосылки эффективной вакцинации.
2. Национальный календарь профилактических прививок.

### ***1. Предпосылки эффективной вакцинации***

*1. Характер иммунитета в естественных условиях.* Ожидать высокую эффективность вакцинации следует при острых инфекциях, протекающих циклически и быстро заканчивающихся выздоровлением в связи с выработкой иммунитета (натуральная оспа, туляремия, полиомиелит и др.). Значительно менее эффективна вакцинация при затяжных инфекциях, при которых иммунитет формируется длительно (малярия, бруцеллез). При хронических инфекциях (трахома, сифилис, проказа) эффективный иммунологический ответ не запрограммирован, и поэтому вакцинация бесперспективна. Бесперспективны и работы по конструированию вакцин при прионных инфекциях, ВИЧ-инфекциях. При туберкулезе, занимающему промежуточное место между острыми и хроническими инфекциями, вакцинация способствует снижению заболеваемости, но не в состоянии радикально решить проблему.

*2. Длительность естественного иммунитета.* При инфекциях, оставляющих длительный или пожизненный иммунитет после естественной встречи с возбудителем можно ожидать эффект от вакцинации (корь, полиомиелит и др.), тогда как при инфекциях с кратковременным иммунитетом (1-2 года при гриппе А) не стоит полагаться на вакцинацию, как ведущую меру.

*3. Антигенная стабильность возбудителя.* При натуральной оспе, кори, туляремии этиологический агент обладает выраженной антигенной стабильностью, и с этих позиций вакцинация оправдана.

*4. Степень патогенности возбудителя для человека.* Иммунизация теоретически не обоснованна и мало эффективна при заболеваниях, вызываемых условно-патогенными агентами, когда генетически не запрограммирован сильный иммунный ответ. Так, не ожидаема высокая

эффективность при стафилококковой, клебсиеллезной, протейной, синегнойной инфекциях.

5. Вакцинация эффективна при антропонозах с легко свершающимся аэрозольным механизмом передачи. При инфекциях, передающихся трансмиссивным механизмом (желтая лихорадка), природно-очаговых инфекциях с множественными механизмами передачи (клещевой энцефалит) вакцинация дает ограниченный эффект. При сапронозах, возбудители которых сохраняются как биологические виды за счет абиотических факторов окружающей среды, при некоторых из них (столбняк, газовая гангрена) вакцинация обеспечивает высокую степень защиты, не влияя на массив резервуара в природе.

Эффективность использования вакцины складывается из показателей иммуногенности (способности вызывать адекватный иммунный ответ в виде образования протективных антител и Т-лимфоцитов) и реактогенности (способности оказывать побочное действие). Наиболее эффективна вакцина, обладающая высокой иммуногенностью и низкой реактогенностью.

## ***2. Национальный календарь профилактических прививок***

Иммунопрофилактика – использование иммунобиологических препаратов с профилактической целью, введение протективных антигенов, создающих активный искусственный иммунитет (вакцин).

Национальный календарь профилактических прививок – это нормативный правовой акт, устанавливающий сроки и порядок проведения гражданам страны профилактических прививок. Прививочный календарь разрабатывается с учетом эпидемиологической ситуации и всех возрастных особенностей, в том числе с учетом и наиболее опасных инфекционных заболеваний у детей первого года жизни и утверждается федеральным органом исполнительной власти.

Прививки, которые делаются в рамках Национального календаря, позволяют значительно снизить риск заболевания у детей и взрослых. А если человек все же заболевает, то сделанная прививка будет способствовать протеканию болезни в более легкой форме и избавит от тяжелых осложнений, многие из которых крайне опасны для жизни.

В настоящее время плановая вакцинация осуществляется в соответствии с приказом Министерство Здравоохранения Российской Федерации от 6 декабря 2021 г. N 1122н «Об утверждении национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показателям и порядка проведения профилактических прививок» (рис.1).

# Национальный календарь профилактических прививок



(утвержден приказом Минздрава России от 06.12.2021 N 1122н)

	0	1 мес.	2 мес.	3 мес.	4,5 мес.	6 мес.	12 мес.	15 мес.	18 мес.	20 мес.	6 лет	6-8 лет	14 лет
Гепатит В	V1 (1 сутки)	V2				V3							
Туберкулез	V (3-7 день)											RV	
Пневмококковая инфекция			V1		V2			RV1					
Дифтерия				V1	V2	V3			RV1			RV2	RV3
Коклюш				V1	V2	V3			RV1				
Столбняк				V1	V2	V3			RV1			RV2	RV3
Полиомиелит				V1	V2	V3			RV1	RV2	RV3		
Гемофильная инфекция типа b				V1	V2	V3			RV				
Корь							V					RV	
Краснуха							V					RV	
Эпидемический паротит							V					RV	
Грипп													Ежегодно

Рисунок 1. Национальный календарь профилактических прививок (V- вакцинация, RV - ревакцинация) <http://www.cgbgukovo.ru/images/news23/10-03-2023-1.jpg>

Профилактические прививки взрослым и детям в рамках Национального календаря проводятся в медицинских организациях при наличии у таких организаций лицензии, предусматривающей выполнение работ по вакцинации. Вакцинацию осуществляют медицинские работники, прошедшие обучение по вопросам применения иммунобиологических лекарственных препаратов для иммунопрофилактики инфекционных болезней, организации проведения вакцинации, техники проведения вакцинации.

Для вакцинации используются только сертифицированные российские и импортные препараты, которые зарегистрированы в соответствии с законами Российской Федерации.

Все лица, которым должны проводиться профилактические прививки, предварительно подвергаются осмотру врачом с целью выявления противопоказаний.

Кроме плановых прививок, Национальный календарь профилактических прививок регламентирует проведение прививок по эпидемиологическим показаниям в случае высокого риска заражения какими-либо инфекциями определенных групп населения, или в случае угрозы массового распространения заразных болезней.\*

\*<http://46cge.rospotrebnadzor.ru/content/%D0%BE-%D0%BD%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BE%D0%BD%D0%B0%D0%BB%D1%8C%D0%BD%D0%BE%D0%BC-%D0%BA%D0%B0%D0%BB%D0%B5%D0%BD%D0%B4%D0%B0%D1%80%D0%B5-%D0%BF%D1%80%D0%BE%D1%84%D0%B8%D0%BB%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B8%D1%87%D0%B5%D1%81%D0%BA%D0%B8%D1%85-%D0%BF%D1%80%D0%B8%D0%B2%D0%B8%D0%B2%D0%BE%D0%BA>

## Занятие №7

### Тема: ИММУНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ. ИММУННЫЕ СЫВОРОТКИ И ИММУНОГЛОБУЛИНЫ

**Цель занятия:** познакомиться с понятием, видами, методами получения и контроля иммунных сывороток и иммуноглобулинов; освоить методику изучения состава ИЛП и особенности их хранения.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Понятия серопротекции и серотерапии инфекционных заболеваний.
2. Иммунные сыворотки, понятие. Виды лечебно-профилактических сывороток, цель применения.
3. Антитоксические сыворотки: этапы получения, методы очистки иммунных сывороток.
4. Контроль лечебно-профилактических иммунных сывороток.
5. Пути введения иммунных сывороток. Осложнения серотерапии, способы их предупреждения.
6. Иммуноглобулины, понятие. Виды иммуноглобулинов, цель применения.
7. Этапы получения иммуноглобулинов. Контроль иммуноглобулинов на производстве.
8. Хранение и транспортировка медицинских иммунобиологических препаратов. Понятие о «холодовой цепи».

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

**1. Изучить демонстрационные препараты, ознакомиться с рекомендациями по применению иммунных сывороток, иммуноглобулинов. Заполнить таблицу 1.**

Оснащение:

1) Набор демонстрационных лечебно-профилактических сывороток, иммуноглобулинов.



Таблица 1

## Характеристика демонстрационных препаратов

Название препарата	Назначение (диагностический, лечебно-профилактический препарат)	Основной действующий компонент	Тип формируемого иммунитета
Противодифтерийная лошадиная сыворотка			
Противостолбнячная лошадиная сыворотка			
Иммуноглобулин против клещевого энцефалита			
Иммуноглобулин человека нормальный			

**2. Решить ситуационную задачу по хранению иммунобиологических лекарственных препаратов (ИЛП). Данные внести в таблицу 2.**

При проведении внутренней проверки аптеки было обнаружено, что в холодильнике хранятся Иммуноглобулин против клещевого энцефалита, Иммуноглобулин человека нормальный, капли назальные Изофра, Амоксициллин в таблетированной форме. В Журнале контроля температурного режима холодильника зафиксирована температура +10С.

Имеются ли замечания по хранению препаратов? Какие рекомендации будут целесообразны.

Таблица 2

## Результаты внутренней проверки аптеки

Название препарата	Необходимость соблюдения особых условий хранения (холодовая цепь)	Соответствие температурного режима	Рекомендации
Иммуноглобулин против клещевого энцефалита			
Иммуноглобулин человека нормальный			
Таблетки Ампициллина			

Капли назальные Изофра			
---------------------------	--	--	--

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

### *Понятие о «холодовой цепи»*

*Холодовая цепь* – это набор правил и процедур, обеспечивающих систематическую координацию действий по обеспечению контроля температуры лекарственных препаратов во время хранения и транспортировки. Целью холодной цепи является сохранение качества фармацевтической продукции.\*

Одним из основных требований по обеспечению качества ИЛП является соблюдение требований холодной цепи от момента выпуска препарата до введения в организм пациента. Нарушение правил доставки и хранения, в т. ч. и складирования, приводит к качественному изменению биопрепаратов: уменьшению иммуногенности, увеличению реактогенности\*\*.

Холодовая цепь состоит из трёх *компонентов*:

- Обученный персонал, обеспечивающий хранение, погрузку и транспортировку с соблюдением температуры
- Оборудование и материалы, предназначенные для создания и поддержания температурных условий
- Система контроля за соблюдением температуры

Необходимо различать уровни холодной цепи и элементы холодной цепи\*\*\*.

Под *уровнями холодной цепи* понимаются отдельные завершённые этапы движения лекарственных препаратов от производителя к потребителю. Всего насчитывается четыре уровня холодной цепи (рис. 1):

*первый уровень* холодной цепи: от предприятия-изготовителя фармацевтического препарата до аптечных складов в субъектах Российской Федерации;

*второй уровень* холодной цепи: от аптечных складов и складов центров Госсанэпиднадзора в субъектах РФ до городских и районных (городских и сельских) аптечных складов, а также складов организаций здравоохранения;

*третий уровень* холодной цепи: от городских и районных (городских и сельских) аптечных складов до лечебно-профилактических организаций (поликлиник, больниц, амбулаторий и т.д.);

*четвёртый уровень* холодной цепи: внутри лечебно-профилактических организаций (поликлиник, больниц, амбулаторий и т.д.).

## УРОВНИ ХОЛОДОВОЙ ЦЕПИ



Рисунок 1. Уровни холодовой цепи\*\*.

В рамках холодовой цепи можно выделить следующие *элементы системы*:

- изотермические транспортные средства. Сюда необходимо относить все транспортные средства (автомобильные, железнодорожные, контейнерные, морские, речные, воздушные), обеспечивающие соблюдение необходимого температурного режима в процессе перевозки термолабильных лекарственных препаратов. Также в данную группу следует относить различные термоконтейнеры и медицинские сумки-холодильники.
- стационарные холодильники. Сюда относятся все виды холодильников, используемые в хранении лекарственных препаратов: производственные, накопительные, распределительные, реализационные. Также в данную группу в системе холодовой цепи входят: холодильные комнаты (камеры) и морозильники.
- вспомогательное оборудование. Данное оборудование предназначено для контроля температурного режима, обеспечения работы холодильного оборудования и транспортных средств: термоиндикаторы, терморегистраторы, термографы, термометры и т.п.

*Контроль холодовой цепи* осуществляется на всех этапах движения лекарственных препаратов. На всех уровнях холодовой цепи проводится регистрация поступления и отправления лекарственных препаратов с указанием наименования препаратов, их количества и серии, контрольного номера, срока годности, даты поступления (отправления), показания термоиндикаторов, ФИО ответственного сотрудника. При регистрации лекарственного препарата необходимо также указывать поставщика и условия транспортирования.

В аптеке ИЛП хранятся в отдельном холодильнике при температуре +2–8<sup>0</sup>С. Показания термометров или термоиндикаторов 2 раза в день фиксирует в специальном журнале назначенный приказом сотрудник. ИЛП отпускается гражданам по рецепту врача, на упаковке обязательно проставляются дата и время продажи. ИЛП должен быть доставлен до места использования в термоконтейнере или термосе со льдом в сроки до 48 часов. ИЛП, транспортировавшиеся или хранившиеся при нарушении температурного режима, применению

не подлежат\*\*. [\\*\\*https://en.wikipedia.org/wiki/Cold\\_chain](https://en.wikipedia.org/wiki/Cold_chain) \*\*Организация работы по проведению профилактических прививок: пособие для студентов и клинических ординаторов / Марунич Н.А., Матеишен Р.С., Романцова Е.Б., Фигурнова Е.В., — Благовещенск: ФГБОУ ВО Амурская ГМА Минздрава России, 2020г. – 96с. \*\*\*<https://relsib.com/articles/holodovaya-tsep-osnovnye-ponyatiya-urovni-holodovoj-tsepi-sistema-holodovoj-tsepi-kontrol-holodovoj-tsepi-holodovaya-tsep-immunobiologicheskikh-preparatov-vaktsin->



### *Занятие №8*

## **Тема: ЗАЧЕТ ПО РАЗДЕЛУ «ОСНОВЫ УЧЕНИЯ ОБ ИНФЕКЦИИ И ИММУНИТЕТЕ»**

**Цель занятия:** Сдать зачет по разделу «Основы учения об инфекции и иммунитете».

Примеры типовых тестовых заданий (один правильный вариант ответа):

1. Признаки инфекционных болезней:

- 1) вызываются патогенными микробами
- 2) наступают сразу после попадания возбудителя
- 3) встречаются только в виде отдельных случаев
- 4) после заболевания иммунитет не формируется

2. Пандемия:

- 1) это высокий уровень заболеваемости с охватом стран и континентов
- 2) это отдельные случаи заболевания на данной территории
- 3) это осложнение основного заболевания
- 4) это заболевания, встречающиеся на определенной территории

3. Активный иммунитет:

- 1) создается без участия организма
- 2) возникает быстро
- 3) формируется медленно
- 4) непродолжительный

4. Серологические реакции:

- 1) характеризуются взаимодействием антигена и антитела
- 2) применяются для лечения инфекционных заболеваний
- 3) используются для определения глюкозы крови
- 4) используются для определения микробиологической чистоты ЛС.

5. К аллергическим болезням относятся:

- 1) бешенство
- 2) грипп
- 3) дифтерия
- 4) анафилактический шок

6. Наиболее важным этапом получения живых вакцин является:

- 1) получение вакцинного штамма
- 2) культивирование
- 3) определение титра
- 4) получение маточной взвеси

7. Иммунные сыворотки содержат:

- 1) антигены
- 2) антитела
- 3) живую культуру эубиотических микроорганизмов
- 4) комплемент

## РАЗДЕЛ 3. ОСНОВЫ ГИГИЕНЫ

### Занятие №1

#### Тема: САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К АПТЕЧНЫМ ОРГАНИЗАЦИЯМ

**Цель занятия:** ознакомиться с основными санитарно-гигиеническими требованиями к условиям работы и режиму эксплуатации аптечных организаций.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Понятие асептики, дезинфекции, стерилизации.
2. Методы дезинфекции и стерилизации
3. Микрофлора лекарственных средств, значение.
4. Источники и причины микробного загрязнения аптечных помещений
5. Понятие стерильных и нестерильных лекарственных средств

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

**1. Изучить санитарно-противоэпидемические требования к аптечным организациям (приложение 2).**

**2. Записать ответы на поставленные вопросы**

- 1) Дать определение асептики, дезинфекции, стерилизации.
- 2) Указать, какие лекарственные препараты можно готовить только в асептических условиях
- 3) Перечислить способы и этапы проведения уборки производственных помещений аптеки и оборудования:

	способ проведения	объекты	периодичность
текущая			
генеральная			

- 4) Перечислить оборудование, необходимое для хранения лекарственных средств и веществ в аптечной организации. Указать требования к его размещению и содержанию.
- 5) Изучить санитарные требования к получению, транспортировке и хранению воды очищенной и воды для инъекций, заполнить таблицу

	вода очищенная (ФС.2.2.0020)	вода для инъекций (ФС.2.2.0019)
Цель использования		
Название помещения, в котором полу-		

чают		
Методы получения		
Условия получения		
Требования к сборникам		
Транспортировка		
Время хранения		
Микробиологическая чистота		

б) Заполнить таблицы

### Методы и режимы дезинфекции

	Дезинфицирующий агент	Концентрация действующего вещества в растворе, %	Объект дезинфекции	Время обработки, мин	Частота и приём обработки
<b>Физический метод</b>					
1	УФЛ				
<b>Химический метод</b>					
1	Хлорамин Б	1			
2	Водорода пероксид	3			

### Методы и режимы стерилизации

стерилизующий агент	Величина стерилизующего агента	Объект стерилизации	Время обработки, мин	Название оборудования, приём обработки
<b>1. Термические методы (физический)</b>				
<b>Воздушный метод</b>				
Горячий воздух	160°C			
	180°C			
Острый пар	100°C			
<b>Паровой метод</b>				
Насыщенный водяной пар под давлением	1 атм., 120–122 °C			
	2 атм., 130 – 132°C			
<b>2. Химический метод</b>				
Водорода пероксид	6			

### **3. Изучить функциональное назначение производственных помещений аптечной организации**

#### **ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК**

1. Комплексные мероприятия по борьбе с микроорганизмами
2. Требования к получению воды очищенной и воды для инъекций в условиях аптечной организации
3. Помещения аптечной организации и их функциональное назначение

Надлежащее качество лекарственных препаратов аптечного изготовления обеспечивается комплексом мероприятий по выполнению требований, рекомендаций и т.д., установленных правилами изготовления и отпуска и другими действующими нормативными документами, составляющими систему качества изготовления лекарственных препаратов каждой аптечной организации, в том числе, требованиями, рекомендациями по отношению к персоналу, помещениям и оборудованию, документации, технологическому процессу, контролю качества, упаковке, маркировке, сроку годности [11].

#### ***1. Комплексные мероприятия по борьбе с микроорганизмами***

Важнейшим аспектом обеспечения санитарно-эпидемиологических требований к организации оптовой и розничной торговли лекарственными средствами и товарами аптечного ассортимента является дезинфекция и стерилизация различных объектов. Дезинфекция представляет собой комплекс специальных мер, направленных на уничтожение патогенных микроорганизмов в различных объектах внешней среды (поверхности предметов, мебели, оборудования, инвентаря, инструментария, кожных покровов рук и лица, воздуха, воды и др.) [7]. Дезинфекция проводится с профилактической целью и при возникновении очагов инфекционных заболеваний. Существует три метода дезинфекции: механический (проветривание помещения, влажная уборка, стирка); физический (термический (горячий воздух, влажный пар, кипячение), УФ-лучи, ультразвук); химический. Химический метод является основным, применяются дезинфекционные средства, допущенные к применению в установленном порядке. Способ проведения дезинфекции зависит от характеристик объектов, подлежащих обработке, и свойств дезинфицирующего агента. При химическом методе дезинфекции - это протирание, орошение и погружение (по отдельности или в комбинации). Протирание применяется для обработки различных поверхностей (пола, стен, потолка, дверей, мебели, спортивного инвентаря), санитарно-технического оборудования: ветошь (возможно также использование щетки, ерша) погружается в раствор, слегка отжимается, после чего ею протирают поверхности. Обычно проводится однократно или двукратно. Орошение используется для дезинфекционной обработки поверхностей помещений, преимущественно, стен, проводится с помощью гидропульта: стены помещения орошаются сверху (слева направо по горизонтали) с последующим постепенным перемещением вниз, после чего избыток влаги собирается с пола ветошью. Погружение применяется для обеззараживания посуды (она должна быть уложена на ребро и полностью погружена в раствор), белья (вещи погружаются поштуч-

но полностью), уборочного инвентаря и ветоши, изделий медицинского назначения.

Растворы средства «Хлорамин Б»<sup>1</sup> используют для профилактической, текущей и заключительной дезинфекции поверхностей в помещениях, санитарно-технического оборудования, белья, посуды столовой, посуды лабораторной, предметов ухода за больными, игрушек, уборочного материала и инвентаря, изделий медицинского назначения, в лечебно-профилактических, детских учреждениях, в клинических, микробиологических, вирусологических лабораториях и проч. Дезинфекцию объектов проводят способами протирания, орошения, погружения и замачивания.

Средство «Перекись водорода 3 % - МБФ»<sup>2</sup> предназначено для дезинфекции поверхностей в помещениях, жесткой мебели, санитарно-технического оборудования, белья, посуды, игрушек, предметов ухода за больными, уборочного материала при инфекциях бактериальной (включая особо опасные инфекции – чуму, сап, мелиоидоз, холеру, туляремию) этиологии в медицинских организациях, на объектах коммунального хозяйства, в детских учреждениях и населением в быту (в соответствии с этикеткой). Для придания средству моющих свойств возможно добавление синтетических моющих средств в количестве 5 г/л. Поверхности в помещениях, жесткую мебель, поверхности аппаратов и приборов, санитарно-техническое оборудование (ванны, раковины и др.) протирают ветошью, смоченной в растворе средства, или орошают из гидропульта, автомакса, распылителя типа «Квазар». Норма расхода раствора средства при протирании – 200 мл/м<sup>2</sup> поверхности, при использовании раствора с моющим средством – 100 мл/м<sup>2</sup>, при орошении - 300 мл/м<sup>2</sup> (гидропульт, автомакс), - 150 мл/м<sup>2</sup> (распылитель типа «Квазар»). По окончании дезинфекции санитарно-техническое оборудование промывают водой, помещение проветривают.

Стерилизация – процесс умерщвления на изделиях или в изделиях или удаление из объекта микроорганизмов всех видов, находящихся на всех стадиях развития, включая споры [10]. Стерилизация лекарственных форм в аптечных организациях и на фармацевтическом производстве может быть проведена одним из следующих методов или их комбинацией. Термические методы: - насыщенным водяным паром под давлением (автоклавирование); - горячим воздухом (воздушная стерилизация). Химические методы: - растворами стерилизующих веществ, газами. Стерилизация фильтрованием (через фильтры с требуемым размером пор) и радиационный метод применяются на фармацевтическом производстве. Стерилизация насыщенным паром под давлением осуществляют при температуре 120 – 122 °С под давлением 120 кПа (1,1 атм.) и при температуре 130 – 132 °С под давлением 200 кПа (2 атм.). Стерилизацию проводят в паровых стерилизаторах (автоклавах). Этот метод чаще всего применяют для водных растворов и других жидких лекарственных форм в герметично закупоренных, предварительно простерилизованных флаконах, ампулах или других видах упаковки. Стандартными условиями являются нагревание при температуре 120

<sup>1</sup> [https://www.vekha.ru/f/khloramin\\_b\\_instruksiya\\_po\\_primeneniyu.pdf?ysclid=lv9m8won2i285183291](https://www.vekha.ru/f/khloramin_b_instruksiya_po_primeneniyu.pdf?ysclid=lv9m8won2i285183291)

<sup>2</sup> <https://marbiopharm.ru/catalog/disinfectants/perekis-vodoroda/?ysclid=lv9m76awrl868262873>

– 122 °С в течение 8–15 мин. Изделия из стекла, фарфора, металла, перевязочные и вспомогательные материалы, при необходимости санитарную технологическую одежду, стерилизуют при температуре 120 – 122 °С – в течение 45 мин, при 130 – 132 °С – в течение 20 мин. Для стерилизации изделий из резины следует использовать первый из указанных режимов. Стандартными условиями стерилизации горячим воздухом являются нагревание при температуре не менее 160°С в течение не менее 2 ч. Для стерилизации термостойких порошкообразных веществ (натрия хлорида, цинка оксида, талька, белой глины и др.) или минеральных и растительных масел, жиров, ланолина, вазелина, воска и др. температуру и время стерилизации устанавливают в зависимости от массы образца. Воздушную стерилизацию при температуре более 220 °С обычно применяют для стерилизации и депирогенизации стеклянной упаковки. Метод уступает паровой стерилизации по надежности. Известно, что воздух является плохим проводником тепла, поэтому в стерилизационной камере, загруженной объектами, имеют место значительные температурные перепады, особенно при неравномерной загрузке. Применение циркуляции горячего воздуха значительно снижает перепады температур. Химическую стерилизацию проводят растворами стерилиантов (водорода пероксид и надкислоты, альдегиды). Эффективность стерилизации растворами зависит от концентрации активно действующего вещества, времени стерилизации и температуры стерилизующего раствора. При стерилизации 6 % раствором водорода пероксида температура стерилизующего раствора должна быть не менее 18 °С, время стерилизации – 6 ч; при температуре 50 °С – 3 ч. При стерилизации 1 % раствором дезоксона-1 (по надуксусной кислоте) температура стерилизующего раствора должна быть не менее 18°С, время стерилизации 45 мин. В случаях, когда стерилизация в окончательной упаковке невозможна, используют метод стерилизующей фильтрации или изготовление/производство в асептических условиях. Во всех случаях упаковка и укупорочные средства должны обеспечивать стерильность препарата в течение всего срока годности. Предварительную фильтрацию осуществляют через мембранные фильтры с размером пор не более 0,45 мкм. Затем растворы пропускают через мембранные фильтры с номинальным размером пор не более 0,22 мкм, способные задерживать не менее 10<sup>7</sup> микроорганизмов на квадратный сантиметр поверхности.

## ***2.Получение воды очищенной и воды для инъекций в условиях аптечной организации***

В помещениях, предназначенных для получения воды очищенной и воды для инъекций, запрещено выполнять какие-либо иные работы, не связанные с получением воды надлежащего качества [ОФС.1.8.0001 Лекарственные препараты аптечного изготовления]. Получение воды очищенной и воды для инъекций производят с использованием оборудования, разрешённого для этой цели. Работы на нём осуществляют в соответствии с руководством по эксплуатации.

Полученную воду очищенную и воду для инъекций собирают в чистые простерилизованные или обработанные паром сборники, стеклянные баллоны, имеющие маркировку: «Вода очищенная», «Вода для инъекций» и дополни-

тельные данные о дате получения воды, номера анализа и подписи ответственного лица. В случае одновременного использования двух и более сборников для воды, они должны быть пронумерованы. Для соединения сборников с оборудованием для получения воды используют индифферентный к воде материал, разрешенный к применению, выдерживающий обработку паром.

Подачу воды на рабочие места осуществляют по трубопроводам или в баллонах. Трубопроводы должны быть изготовлены из материалов, разрешённых к применению и не влияющих на свойства воды. Обработку, дезинфекцию трубопровода производят перед сборкой, в процессе эксплуатации не реже 1 раза в 14 дней, а также при неудовлетворительных результатах микробиологических анализов.

Для обеззараживания трубопроводов из термостойких материалов через них пропускают острый пар из парогенератора или автоклава в течение 30 мин. Отсчёт времени обработки ведут с момента выхода пара с концевой участка трубопровода. Трубопроводы из полимерных материалов и стекла можно обеззараживать с использованием раствора пероксида водорода 6 %; обработку проводят в течение 6 ч с последующим тщательным промыванием водой очищенной и проведением контроля промывных вод на отсутствие восстанавливающих веществ.

Стеклянные трубки и ёмкости, используемые при получении воды, для очистки от пирогенных веществ обрабатывают подкислённым раствором калия перманганата в течение 25–30 мин, затем тщательно промывают свежеперегретой водой для инъекций.

### ***3. Помещения аптечной организации и их функциональное назначение***

Аптечные организации должны иметь помещения и (или) зоны, в которых осуществляется изготовление лекарственных препаратов в соответствии с требованиями настоящих Правил. [11]. Изготовление лекарственных препаратов осуществляется в помещениях и зонах, доступных только для работников аптечной организации, перечень которых определяется руководителем аптечной организации. Лекарственные препараты разных лекарственных форм препаратов (далее - лекарственная форма) изготавливаются в разных зонах. В случае невозможности разделения зон под конкретные лекарственные формы, необходимо принять предусмотренные стандартной операционной процедурой меры, минимизирующие риск загрязнения лекарственного препарата, в том числе перекрестного.

В зависимости от назначения выделяют несколько групп помещений.

- 1 Производственные.
- 2 Административные.
- 3 Вспомогательные.
- 4 Санитарно-бытовые.

В первую группу входят ассистентская, торговый зал, контрольно-аналитическая, асептический блок, дистилляционно-стерилизационная, фасовочная, моечная, распаковочная. Ко второй относятся: кабинет заведующей аптекой, кабинет заместителей заведующей и бухгалтерия; к третьей - ма-

териальные комнаты; к санитарно-бытовым помещениям – комната персонала, служебный гардероб, туалет, душевая, прачечная.

1.1. Зал обслуживания населения (торговый зал) предназначен для размещения рабочих мест аптечного персонала и организации функциональных зон для обслуживания населения. Рабочие места должны быть расположены таким образом, чтобы они имели непосредственную связь с кладовыми текущего запаса лекарственных средств и изделий медицинского назначения.

1.2. Помещения для изготовления лекарственных форм в асептических условиях (асептический блок) отделены от остальных производственных помещений шлюзом и предназначены для изготовления стерильных лекарственных форм. Асептические условия предупреждают попадание микроорганизмов на различные объекты. Основным помещением блока является асептическая, в которой происходит непосредственное изготовление стерильных форм. Стерилизационная предназначена для выполнения работ по паровой стерилизации лекарственных форм, изготовленных в асептических условиях, с учетом требований стерильности. Воду для инъекций, необходимую для изготовления стерильных лекарственных форм, получают в дистилляционной. Дефектарская предназначена для проведения технологических работ: изготовления полуфабрикатов лекарств, растворов-концентратов, поступающих на ассистентские столы, внутриаптечной заготовки, представляющей собой заранее приготовленные смеси двух или нескольких препаратов, систематически повторяющихся в рецептуре для последующей расфасовки.

1.3. Ассистентская - основное производственное помещение для изготовления нестерильных лекарственных форм. Ассистентская должна иметь непосредственную взаимосвязь с рецептурным отделом в зале обслуживания и с кладовой рецептурно-производственного отдела.

1.4. Фасовочная предназначена для расфасовки внутриаптечной заготовки и фасовки.

1.5. В контрольно-аналитической производится внутриаптечный химический контроль качества изготавливаемых лекарственных форм и используемых для этого лекарственных средств и воды очищенной.

1.6. Дистилляционная предназначена для получения воды очищенной, необходимой для изготовления нестерильных лекарственных форм и ополаскивания аптечной посуды.

1.7. Стерилизационная предусмотрена для воздушной стерилизации аптечной посуды, для хранения текущего запаса чистой посуды, укупорочных средств и инвентаря.

1.8. Моечная предназначена для выполнения работ по санитарной обработке медицинской стеклотары, укупорочных средств и производственного инвентаря, используемых при изготовлении лекарственных форм. Моечная должна иметь непосредственную или близкую взаимосвязь с дистилляционно-стерилизационной, кладовой текущего запаса медицинской стеклотары и с дезинфекционной.



## Занятие №2

### Тема: ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МИКРОБНОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ ПОМЕЩЕНИЙ АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

**Цель занятия:** освоить методику оценки уровня бактериального загрязнения воздуха аптечных организаций. Научиться рассчитывать необходимое количество бактерицидных ламп для обеззараживания воздуха помещений аптечных организаций.

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Эпидемиологическое значение воздушной среды
2. Микрофлора воздушной среды и факторы на нее влияющие
3. Микрофлора лекарственных средств, значение.
4. Источники и причины микробного загрязнения воздуха аптечных помещений
5. Методы обнаружения микроорганизмов в воздухе и их сравнительная характеристика

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

##### 1. Решить ситуационную задачу

В соответствии с номером варианта сделать заключение об уровне бактериального загрязнения воздуха производственного помещения аптеки. С этой целью рассчитать:

- 1) общее микробное число (ОМЧ) по формуле:

$$ОМЧ = \frac{C \times 1000}{T \times V}, \text{ где}$$

C – число колоний, выросших на чашке Петри

V – скорость пропускания воздуха (л/мин), V= 25 л/мин

T – время отбора пробы воздуха (мин)

- 2) определить уровень бактериального загрязнения воздуха, сравнив ОМЧ с предельным значением содержания общего количества микроорганизмов (табл. 2)
- 3) Рассчитать необходимое количество бактерицидных облучателей для данного помещения, используя технические характеристики (табл. 1) и формулу:

$$N_0 = \frac{V \cdot N_v \cdot K_3}{N_l \cdot \Phi_{бк.л} \cdot K_f \cdot t_э}, \text{ где}$$

N<sub>0</sub> – необходимое число бактерицидных облучателей,

V – объем помещения, м<sup>3</sup>

N<sub>v</sub> - объемная доза, Дж/куб. м, равная

для помещений I категории – 385,

для помещений II категории – 256,

для помещений III категории – 167,

для помещений IV категории – 130,

Кз - коэффициент запаса, равен 1,1

Нл - число ламп в облучателе

Фбк.л - бактерицидный поток лампы, Вт

Кф - коэффициент использования бактерицидного потока

для открытой конструкции – 0,8,

для закрытой конструкции – 0,4

tэ - длительность эффективного облучения, с

**Варианты ситуационной задачи по оценке  
микробного загрязнения воздуха**

№ ва р	Название помещения, категория	S по- ме- ще- ния, м <sup>2</sup>	h по- ме- ще- ния, м	Условия взятия пробы	Время отбо- ра про- бы, мин	КОЕ в 1м <sup>3</sup>	Время облу- чения, мин	Кон- струк- ция ламп
1	Торговый зал, IV	36	4	Во вре- мя рабо- ты	4	162	15	Откры- тая
2	Ассистент- ская., II	48	4	Во вре- мя рабо- ты	2	96	30	Закры- тая
3	Асептиче- ская, I	15	3,3	Во вре- мя рабо- ты	2	65	60	Откры- тая
4	Моечная, III	24	3,3	Во вре- мя рабо- ты	4	105	15	Закры- тая
5	Расфасовоч- ная, II	12	3,5	До ра- боты	4	152	30	Откры- тая
6	Стерилиза- ционная асептич. блока, I	8	3,5	До ра- боты	2	36	60	Откры- тая
7	Дистилляци- онная, II	12	3,5	Во вре- мя рабо- ты	4	124	30	Закры- тая
8	Моечная, III	25	3	До ра- боты	2	102	20	Откры- тая
9	Дефектар- ская, II	12	3	До ра- боты	2	73	20	Откры- тая
10	Ассистент- ская, II	22	3	Во вре- мя рабо- ты	3	78	60	Закры- тая

Таблица 1. Технические характеристики бактерицидных облучателей

Параметр	Тип облучателя					
	ОББ 2x15	ОБН 01	ОБН 150	ОБНП 15	ОБНП 30	ОБП 01-30
Количество ламп, шт	2	1	2	2	2	1
Способ крепления	стена	стена / потолок	стена	стена / потолок	стена / потолок	стена / потолок
Исполнение	экранир.	открытый	экранир. / открытый	открытый	открытый	открытый
Бактерицидный поток, Вт	4,7	11,2	11,2	4,7	11,2	11,2
Производительность, м <sup>3</sup> /час	155	84	124	86	206	103
Сеть питания	220 В, 50 Гц					
Габаритные размеры (В x Г x Д), мм	150 x 70 x 470	60 x 70 x 930	100 x 70 x 930	100 x 70 x 470	100 x 70 x 930	110 x 50 x 940

3) Сделать заключение об уровне бактериального загрязнения воздуха производственного помещения аптеки. Дать гигиенические рекомендации и предложения по снижению бактериального загрязнения воздуха в данном помещении аптеки.

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Микробная контаминация воздушной среды помещений
2. Использование ультрафиолетового излучения для обеззараживания воздуха в помещениях

### **1. Микробная контаминация воздушной среды помещений**

Воздушная среда помещений аптечной организации имеет большое эпидемиологическое значение, т.к. содержащиеся в ней микроорганизмы могут вызывать инфекционные заболевания сотрудников аптеки и ухудшать качество лекарственных средств [1]. В воздухе закрытых помещений накапливается микрофлора, которая обитает в носоглотке и верхних дыхательных путях организма человека и передается воздушно-капельным путем: гемолитический и зеленящий стрептококки, золотистый стафилококк, возбудители гриппа, кори, краснухи, дифтерии, коклюша, ветряной оспы, туберкулеза и др. Контактным путем через загрязненные руки могут передаваться возбудители бактериальных кишечных инфекций, условно-патогенная микрофлора кожи человека, представленная родами бактерий *Staphylococcus spp*, *Corynebacterium spp.*, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum*, *Propionibacterium*. Попавшая в лекарственные препараты микрофлора приводит к изменению их физико-химических свойств, снижению терапевтической активности, уменьшению сроков хранения, может явиться причиной развития заболеваний и осложнений у больного. Наиболее интенсивное бактериальное загрязнение воздуха отмечается в торговом зале, моечной аптеки.

Источники микробного загрязнения воздуха аптечных помещений:

- Посетители.
- Сотрудники (при нарушении санитарных требований).
- Инфицированный материал (рецепты, упаковочный материал, тара).

Уровень микробной обсеменённости патогенной или условно-патогенной микрофлорой в воздухе определяется несколькими причинами: наличием в помещении носителей инфекций и их число; эффективностью работы системы приточно-вытяжной вентиляции и кондиционирования воздуха; характером микробного загрязнения воздуха, забираемого из атмосферного воздуха. При наличии конструктивных недостатков или неправильной эксплуатации система приточно-вытяжной вентиляции и кондиционирования воздуха может сама являться местом размножения и источником распространения инфекции.

Нормативы бактериальной чистоты производственных помещений аптек разработаны в зависимости от их функционального назначения с учетом интенсивности бактериальной обсемененности и риска возникновения инфекций. Критерии оценки микробного загрязнения воздуха в производственных помещениях аптек указаны в табл. 2. [16]. Определение количества бактерий осуществляется седиментационным или аспирационным методами.

Борьба с бактериальным загрязнением предусматривает:

- 1) рациональную планировку на стадии строительства;
- 2) оборудование искусственной общеобменной вентиляцией;
- 3) строгое соблюдение санитарно-противоэпидемических мероприятий;
- 4) рациональное использование бактерицидных ламп - источников ультрафиолетовой радиации.

## ***2.Использование ультрафиолетового излучения для обеззараживания воздуха в помещениях***

Бактерицидное действие проявляет ультрафиолетовое излучение с диапазоном длин волн 205 - 315 нм, которое проявляется в способности вызывать димеризацию тимина в молекулах ДНК клеточного ядра микроорганизма, что приводит к гибели микробной клетки в первом или последующем поколении. Установлено, что более чувствительны к воздействию ультрафиолетового излучения вирусы и бактерии в вегетативной форме. Менее чувствительны грибы и простейшие микроорганизмы. Наибольшей устойчивостью обладают споровые формы бактерий.

Номенклатура ультрафиолетовых ламп для установок фотобиологического действия весьма широка и разнообразна. В зависимости от области применения различают:

- эритемные лампы ( $\lambda=280-320$  нм) для компенсации ультрафиолетовой недостаточности естественного излучения и, в частности, интенсификации процесса фотохимического синтеза витамина D<sub>3</sub> в коже человека («антирахитное действие»),
- бактерицидные лампы ( $\lambda=205-315$  нм) используют для обеззараживания воздушной среды или поверхностей в помещении.

***Бактерицидная лампа*** - искусственный источник излучения, в спектре которого имеется бактерицидное излучение. Наибольшее распространение по-

лучили разрядные ртутные лампы низкого давления, у которых в процессе электрического разряда в аргонно-ртутной смеси более 60 % излучения переходит в излучение с длиной волны 253,7 нм. Такие лампы имеют большой срок службы (5000 - 8000 ч) и мгновенную способность к работе после их зажигания.

**Бактерицидный облучатель** - это электротехническое устройство, в котором размещены: бактерицидная лампа (лампы), отражатель, пускорегулирующий аппарат, конденсаторы для повышения коэффициента мощности сети и подавления радиопомех, приспособления для крепления и монтажа. По месту расположения подразделяются на потолочные, подвесные, настенные и передвижные.

Облучатели по конструкции подразделяются на открытые, закрытые, комбинированные. У открытых и комбинированных облучателей прямой бактерицидный поток от ламп и отражателя охватывает широкую зону в пространстве вплоть до телесного угла 4π. Открытые и комбинированные облучатели предназначены для процесса обеззараживания помещения только в отсутствии людей или при кратковременном их пребывании в помещении. У закрытых облучателей (рециркуляторов) бактерицидный поток от ламп, расположенных в небольшом замкнутом пространстве корпуса облучателя, не имеет выхода наружу. В этом случае обеззараживание воздуха осуществляется в процессе его прокачки через вентиляционные отверстия, имеющиеся на корпусе, с помощью вентилятора. К этому типу облучателей относятся и камеры с блоком бактерицидных ламп, устанавливаемые после пылеуловительных фильтров в воздуховодах приточной вентиляции. Такие облучатели применяют для обеззараживания воздуха в присутствии людей.

**Бактерицидная установка** - группа бактерицидных облучателей или приточно-вытяжная вентиляция с бактерицидными лампами, расположенная в помещении, для обеспечения заданного уровня бактерицидной эффективности в соответствии с медико-техническим заданием на проектирование бактерицидной установки.

Длительность эффективного облучения  $t_{\text{э}}$  воздуха в помещении во время непрерывной работы бактерицидной установки, при которой достигается заданный уровень бактерицидной эффективности, должна находиться для закрытых облучателей в пределах 1 - 2 ч, а для открытых и комбинированных - 0,25 - 0,5 ч и для приточно-вытяжной вентиляции  $\leq 1$  ч (или при кратности воздухообмена -1 Кр  $\geq 1$  ч). При этом расчет бактерицидной установки производится с учетом минимального значения длительности эффективного облучения  $t_{\text{э}}$ , т.е. для открытых и комбинированных облучателей 0,25 ч, а для закрытых облучателей 1 ч.

Закрытые облучатели и приточно-вытяжная вентиляция в присутствии людей должны работать непрерывно в течение всего рабочего времени. Бактерицидные установки с открытыми и комбинированными облучателями могут использоваться в повторно-кратковременном режиме тогда, когда на время облучения ( $t_{\text{э}}$ ) в пределах 0,25 - 0,5 ч люди из помещения удаляются. При этом повторные сеансы облучения должны проводиться через каждые 2 ч в течение

рабочего дня. Выключатель располагается перед входом в производственное помещение и оборудуется сигнальной надписью «Работают бактерицидные лампы» или «Не входить, включен бактерицидный облучатель».

Бактерицидные установки с приточно-вытяжной вентиляцией и дополнительными закрытыми облучателями применяются тогда, когда существующая приточно-вытяжная вентиляция обеспечивает заданный уровень бактерицидной эффективности за время  $t_3$  более 1 ч.

Все помещения, где размещены бактерицидные установки, должны быть оснащены обще-обменной приточно-вытяжной вентиляцией либо иметь условия для интенсивного проветривания через оконные проемы, обеспечивающие однократный воздухообмен не более чем за 15 минут [13]. Высота помещения, в котором предполагается размещение бактерицидной установки, должна быть не менее 3 м.

На помещения с бактерицидными установками должен быть оформлен акт ввода их в эксплуатацию, и заведен журнал регистрации и контроля работы бактерицидной лампы. В журнале должна быть таблица регистрации очередных проверок бактерицидной эффективности установок, концентрации озона, а также данные учета продолжительности работы бактерицидных ламп. Для определения окончания срока службы могут быть использованы электрические счетчики, суммирующие общую наработку ламп в часах или замеры радиометров, свидетельствующие о падении бактерицидного потока лампы ниже номинального. Бактерицидные лампы, отработавшие гарантированный срок службы, указанный в паспорте, должны заменяться на новые.

Эксплуатация бактерицидных облучателей должна осуществляться в строгом соответствии с требованиями, указанными в паспорте и инструкции по эксплуатации. К эксплуатации бактерицидных установок не должен допускаться персонал, не прошедший необходимый инструктаж в установленном порядке, проведение которого следует задокументировать.

### Оценка эффективности работы бактерицидных установок

Эффективность ультрафиолетового облучения помещения оценивается по степени снижения микробной обсемененности воздуха, поверхностей ограждений и оборудования на основе оценки уровня микробной обсемененности (ОМЧ) до и после облучения. Оба показателя сопоставляются с нормативами (табл. 2).

**Таблица 2. Предельные значения содержания общего количества микроорганизмов с учетом температуры и кратности воздухообмена**

[Приложение 3 СП 2.1.3678-20]

Помещения	Класс чистоты помещений	Условия отбора воздуха	ОМЧ в 1 м <sup>3</sup> не более
Асептический блок	А	до работы во время работы	200 500
Ассистентская, фасовочная, контрольно-маркировочная, стерилизационная, дистилляционная	Б	до начала работы во время работы	500 750
Зал облуживания		Во время работы	1500
Моечная		во время работы	1000

### Занятие №3

## Тема: ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ИСКУССТВЕННОЙ ВЕНТИЛЯЦИИ ПОМЕЩЕНИЙ АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

**Цель занятия:** ознакомиться с гигиеническими требованиями, предъявляемыми к вентиляции помещений, изучить методы ее оценки и нормирования воздухообмена.

### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Химический состав воздушной среды
2. Влияние технологического процесса изготовления и отпуска лекарств в аптеке на качество воздушной среды
3. Искусственная вентиляция. Виды, схема, преимущества .
4. Гигиенические требования к искусственной вентиляции аптечных организаций

### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

#### 1. Записать ответы на поставленные вопросы

1. Указать цели организации приточно-вытяжной вентиляции в помещениях аптеки
2. Перечислить производственные помещения аптеки, в которых преобладает приток или вытяжка.

#### 2. Решить ситуационную задачу

В соответствии с номером варианта оценить эффективность работы искусственной приточно-вытяжной вентиляции в помещении аптеки путем сравнения с соответствующими нормами (табл. 1). Кратности воздухообмена рассчитываются по формуле 1.

Дать гигиенические рекомендации по улучшению условий труда в данном производственном помещении аптеки.

#### Варианты ситуационной задачи по оценке вентиляции помещений аптеки

№ вар.	Название помещения	S помещения, м <sup>2</sup>	h помещения м	S сечения приточ. вент. канала, м <sup>2</sup>	V движения воздуха в приточ. вент. канале, м/с	S сечения вытяж. вент. канала, м <sup>2</sup>	V движения воздуха в вытяж. вент. канале, м/с
1	Стерилизационная	10	3,6	0,12	0,4	0,1	0,9
2	Дистилляционная	10	3,5	0,1	0,55	0,015	0,35
3	Рецептурная	15	3,3	0,06	0,7	0,08	0,3
4	Ассистентская	24	3	0,08	0,9	0,06	0,2
5	Моечная	18	3,0	0,04	0,6	0,02	0,55
6	Асептическая	15	3,2	0,03	0,75	0,09	0,1
7	Фасовочная	20	3,3	0,08	0,3	0,04	0,2
8	Дефектарская	12	3	0,05	0,25	0,025	0,1
9	Зал обслуживания населения	126	3,1	0,09	0,85	0,05	0,6
10	Контрольно-аналитическая	10	3,3	0,05	0,5	0,03	0,8

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Гигиенические требования к искусственной вентиляции аптечных организаций
2. Оценка эффективности работы вентиляционных систем

### *1. Гигиенические требования к искусственной вентиляции аптечных организаций*

Вентиляция необходима для обеспечения в помещениях аптечных организаций комфортных условий труда и надлежащей чистоты воздуха в целях поддержания нормального физиологического состояния и высокой трудоспособности. Она является наиболее эффективным средством в борьбе с загрязнением воздуха различными лекарственными препаратами, микроорганизмами и избыточным тепло- и влаговыделением [1].

По способу организации вентиляцию разделяют на приточную и вытяжную. Наиболее часто в помещениях одновременно оборудуют приточно-вытяжную вентиляцию. По характеру побудителя различают вентиляцию естественную и искусственную (механическую). В основу естественной вентиляции положен обмен воздуха за счет разности температур наружного воздуха и воздуха помещений (тепловой напор) и ветрового напора. С целью повышения эффективности естественной вытяжной вентиляции на специальных вентиляционных каналах, выходящих на крышу зданий, устанавливают дефлекторы различной конструкции.

Искусственная вентиляция (приток и вытяжка) осуществляется за счет искусственных средств побуждения (вентиляторов). Она не зависит от температуры воздуха, скорости и направления ветра. Эта система управляемая, обеспечивает постоянство воздухообмена, возможность очистки, увлажнения, подогрева подаваемого воздуха.

Источниками загрязнения воздуха аптечных помещений могут быть различные процессы, связанные с изготовлением лекарственных форм. Так, в ассистентской, фасовочной, в комнате провизора-аналитика возможно загрязнение воздуха лекарственными веществами при развешивании, дозировке, пересыпке, расфасовке, химическом анализе лекарственных препаратов и др. В мочной, дистилляционно-стерилизационной воздух помещений может содержать избыточное тепло и влагу.

Длительное пребывание людей в помещении приводит к существенному изменению физических свойств и химического состава воздуха. В помещении повышается влажность, температура, возрастает количество микроорганизмов, содержание оксида углерода (IV), появляются летучие дурно-пахнущие вещества органического происхождения. Все это требует необходимости оборудования во всех аптечных организациях искусственной системы вентиляции (табл. 1).



Таблица 1. Предельные значения кратности воздухообмена (класс чистоты)  
[Приложение 3 СП 2.1.3678-20]

Наименование помещений	Класс чистоты помещений	Нормируемый воздухообмен в 1 час, не менее		Кратность вытяжки при естественном воздухообмене
		приток	вытяжка	
Помещения для приготовления лекарственных форм в асептических условиях	А	4	2	Не допускается
Ассистенская, дефектарская, заготовочная и фасовочная, закаточная и контрольно-маркировочная, стерилизационная, дистилляционная	Б	4	2	1
Моечная, контрольно-аналитическая, распаковочная	Г	2	3	1
Залы обслуживания населения		3	4	3
Помещения хранения основного запаса:	Г			
а) лекарственных веществ, готовых лекарственных препаратов, в том числе и термолабильных, и предметов мед. назначения, перевязочных средств		2	3	1
б) минеральных вод, медицинской стеклянной и оборотной транспортной тары, очков и других предметов оптики, вспомогательных материалов, чистой посуды		-	1	1
Помещения для приготовления и фасовки ядовитых препаратов и наркотиков	Г	-	3	3

Количество воздуха, необходимое для вентиляции помещений аптек в единицу времени, зависит от объема, числа людей и характера работы, а также содержания вредных факторов, которые выделяются при изготовлении и выдаче лекарств и химическом анализе приготовленных лекарственных препаратов.

### 1. Оценка эффективности работы вентиляционных систем

Оценку вентиляции следует осуществлять по необходимой и фактической величине кратности воздухообмена [1].

**Кратность воздухообмена (P)** — это величина, показывающая, сколько раз воздух в помещении обменивается в течение часа, определяется по формуле:

$$P = L / V \quad (1)$$

где: P — кратность воздухообмена; L — количество воздуха, подаваемого или удаляемого из помещения, м<sup>3</sup>/ч; V — объем помещения, м<sup>3</sup>.

*Пример:* из фасовочной объемом 60 м<sup>3</sup> с помощью вытяжной вентиляции удаляется 180 м<sup>3</sup> воздуха в час. Кратность воздухообмена составляет:

$$P = 180 / 60 = 3$$

Перед показателями кратности вентиляции ставят знаки (+) или (—). В первом случае это означает воздухообмен по притоку, а во втором — по вытяжке. Например, кратность воздухообмена в асептической должна быть +4 — 2, то есть в асептическую в течение часа подается четырехкратное, а удаляется двукратное к объему данного помещения количество воздуха.

Эффективность работы вентиляционных систем определяют по результатам объективных замеров отдельно по притоку и вытяжке воздуха.

С этой целью определяют объем воздуха, подаваемого или удаляемого данной системой в единицу времени. Он определяется по формуле:

$$L = S \cdot U \cdot t, \text{ (м}^3\text{/ч)} \quad (2)$$

где:  $L$ —искомое количество воздуха,  $\text{м}^3$ ;  $U$  — скорость движения воздуха в вентиляционном отверстии,  $\text{м/с}$ ;  $S$  — площадь сечения вентиляционного отверстия,  $\text{м}^2$ ;  $t$  – время работы вентиляционного устройства,  $\text{с}$ .

Скорость движения воздуха в вентиляционных отверстиях измеряется с помощью крыльчатого анемометра в течение 3 мин. Во время измерения анемометр устанавливается так, чтобы лопасти прибора были обращены навстречу воздушному потоку, при этом ось крыльчатки должна быть параллельна направлению движения воздуха. Полученные данные сравнивают с установленными нормами кратности или необходимым объемом вентиляции.

*Пример.* Дистилляционно-стерилизационная аптеки площадью  $12 \text{ м}^2$  и высотой  $3,6 \text{ м}$  оборудована искусственной вытяжной вентиляцией. Воздух из помещения удаляется через вентиляционное отверстие прямоугольной формы  $30 \text{ см}$  х  $20 \text{ см}$  со скоростью  $0,7 \text{ м/с}$ . Необходимо определить объем удаляемого воздуха ( $L$ ) из данного помещения в течение  $1 \text{ ч}$ , рассчитать фактическую кратность воздухообмена.

Решение. Необходимый объем определяем по формуле:  $L = S \cdot U \cdot 3600$ .  
Площадь сечения ( $S$ ) равна:  $0,3 \text{ м} \cdot 0,2 \text{ м} = 0,06 \text{ м}^2$ ;  $L = 0,7 \cdot 0,06 \cdot 3600 = 151 \text{ м}^3\text{/ч}$ .  
Кратность по вытяжке равна:  $151/43,2 = 3,5$ , что не соответствует требованиям.

## Занятие №4

### Тема: ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА МИКРОКЛИМАТА ПОМЕЩЕНИЙ АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ

**Цель занятия:** изучить влияние микроклиматических факторов на организм человека и методы их определения

#### ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ

1. Влияние климата и погоды на здоровье и работоспособность
2. Физиолого-гигиеническое значение температуры и влажности воздуха производственных помещений аптечных организаций и методы определения
3. Физиолого-гигиеническое значение скорости движения воздуха в производственных помещениях аптечных организаций и методы ее определения.
4. Понятие о микроклимате, его виды, влияние на организм

#### ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ

##### 1. Определение температуры воздуха

Оснащение:

- 1) термометр ртутный

##### Методика

Для определения температурного режима помещения измеряют температуру воздуха в трех точках: у наружной стены (в 10 см от нее), в центре и у внутренней стены (в 10 см от нее). Измерения проводят на уровне 0,1—1—1,5 м от пола. Полученные данные заносят в протокол и анализируют перепады температуры по вертикали и горизонтали. Среднюю температуру помещения вычисляют по трем значениям измерений в различных точках по горизонтали, проведенным на высоте 1,5 м.

##### 2. Определение влажности воздуха

Оснащение:

- 1) психрометр Ассмана
- 2) штатив

##### Методика

**а) расчет абсолютной влажности** производят по формуле: 
$$K = F - 0,5(t - t_1) \cdot \frac{B}{755}$$
 (3)

где: K— искомая абсолютная влажность, мм рт. ст.; F— максимальная влажность при температуре влажного термометра (определяется по табл. 1), мм рт. ст.; t — температура сухого термометра, °С;  $t_1$  — температура влажного термометра, °С; B — барометрическое давление в момент исследования, мм рт. ст.

**б) расчет относительной влажности** производят по формуле:

$$R = \frac{K}{F} \cdot 100$$
 (4)

где: R — относительная влажность, %; K— абсолютная влажность, мм рт. ст.; F— максимальная влажность при температуре сухого термометра ( табл. 1).

### 3. Определение скорости движения воздуха

Оснащение:

- 1) кататермометр
- 2) штатив
- 3) стакан с горячей водой

#### Методика

Для определения скорости движения воздуха по цилиндрическому кататермометру (на шкале имеются деления от 35 до 38°С) вначале определяют его охлаждающую способность. С этой целью резервуар кататермометра нагревают в стакане с водой (температура 70—80°С) до тех пор, пока спирт не заполнит 1/2 верхнего расширения капилляра. Затем прибор насухо вытирают и подвешивают в том месте, где необходимо определить показатель. По секундомеру отмечают время, в течение которого спиртовой столбик опустился с отметки 38° до 35°С.

*а) расчет охлаждающей способности воздуха* находят по формуле:

$$H = \frac{F}{t}$$

где: F— фактор прибора, постоянная величина, показывающая количество тепла, теряемого с 1 см<sup>2</sup> поверхности прибора за время его охлаждения с 38 до 35°С, мкал/см<sup>2</sup> • с (величина, постоянная для каждого прибора); t — время охлаждения прибора, с.

*б) расчет скорости движения воздуха* производят по формуле:

$$V = \left[ \frac{\frac{H}{Q} - 0,2}{0,4} \right]^2 \quad (5)$$

где: V— скорость воздуха, м/с; H— величина охлаждающей способности воздуха, мкал/см<sup>2</sup> • с, Q — разность между средней температурой кататермометра (36,5°С) и температурой окружающего воздуха; 0,2 и 0,4 — эмпирические коэффициенты.

**4. Сделать вывод о типе микроклимата в помещении, дать гигиенические рекомендации по его улучшению.**

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Гигиеническое значение микроклимата помещений
2. Определение параметров микроклимата

### *1. Гигиеническое значение микроклимата помещений*

Микроклимат производственных помещений — метеорологические условия внутренней среды помещений, которые определяются действующими на организм человека сочетаниями температуры, влажности, скорости движения

воздуха и теплового излучения. Микроклимат помещений характеризуется совокупностью таких факторов, как температура, влажность, скорость движения воздуха и тепловое излучение [14]. Данный комплекс физических факторов оказывает влияние на теплообмен человека с окружающей средой и определяет самочувствие, работоспособность, здоровье и производительность труда.

Влияние микроклимата на организм человека определяется характером отдачи тепла в окружающую среду [1]. Отдача тепла человеком в комфортных условиях происходит за счет теплоизлучения (до 45 %), теплопроводения — конвекции, кондукции (30 %), испарения пота с поверхности кожи (25 %). Наиболее часто неблагоприятное влияние микроклимата обусловлено повышением или понижением температуры, влажности или скорости движения воздуха.

Высокая температура воздуха в сочетании с повышенной влажностью и малой скоростью воздуха резко затрудняет отдачу тепла путем конвекции и испарения, в результате чего возможно перегревание организма. При низкой температуре, высокой влажности и скорости воздуха наблюдается противоположная картина — переохлаждение. При высокой или низкой температуре окружающих предметов, стен снижается или увеличивается отдача тепла путем излучения. Возрастание влажности, т. е. насыщенности воздуха помещения водяными парами, приводит к снижению отдачи тепла испарением.

Неблагоприятный микроклимат производственного помещения может отрицательно влиять на самочувствие и работоспособность человека, а в определенных случаях может привести к расстройству здоровья. Особенно чувствительны к изменению микроклиматических условий лица с сердечно-сосудистыми, нервно-психическими и другими заболеваниями. Гигиеническая оценка микроклимата производственного помещения позволяет установить класс условий труда на рабочем месте [14].

Таким образом, сведения о микроклимате помещений необходимы для оценки условий труда в аптечных организациях, для оценки эффективности вентиляции и характеристики производственной среды, в которой хранятся, изготавливаются и выдаются лекарственные препараты. Показатели микроклимата в производственных помещениях аптеки должны соответствовать требованиям гигиенических нормативов: допустимая температура воздуха (расчетная) 18°C, относительная влажность воздуха 40-60% [14,16].

## ***2. Определение параметров микроклимата***

1. Температуру воздуха в помещениях измеряют термометрами, которые по своему назначению разделяются на измеряющие (определение температуры в момент наблюдения) и фиксирующие (максимальное или минимальное значение температуры за определенный период контроля (сутки, неделя, месяц)) [4].

К измеряющим термометрам относятся спиртовые, ртутные и электрические, к фиксирующим — максимальный и минимальный термометры. Максимальный (ртутный) термометр предназначен для регистрации самой высокой температуры. Это обеспечивается за счет специальной конструкции ртутного

резервуара, в дно которого впаян стеклянный штифт, последний одним концом входит в капиллярную трубку, сужая ее просвет. При повышении температуры воздуха ртуть, расширяясь, поднимается вверх через суженный просвет капилляра. При понижении температуры воздуха находящаяся в капилляре ртуть из-за его сужения не в состоянии возвратиться в резервуар. Перед началом измерения, чтобы вернуть ртуть в резервуар, термометр несколько раз встряхивают. Измерение температуры воздуха проводят при горизонтальном положении термометра.

Минимальный термометр (спиртовой) используется для определения самой низкой температуры воздуха. Внутри его капиллярной трубки, в спирту, находится стеклянный штифт с утолщениями в виде булавоочных головок на концах. При повышении температуры воздуха спирт, расширяясь, свободно обтекает штифт, не изменяя его положения. В свою очередь при понижении температуры спирт, сжимаясь, силами поверхностного натяжения мениска перемещает штифт в сторону резервуара, устанавливая в положение, соответствующее минимальной температуре в данный момент. Перед измерением температуры штифт необходимо привести в соприкосновение с мениском спирта, подняв резервуар вверх, и затем установить термометр в рабочее строго горизонтальное положение.

2. При гигиенической оценке влажности воздуха используются следующие ее характеристики: абсолютная, максимальная, относительная влажность; физический дефицит влажности; точка росы и др. Влажность воздуха зависит от содержания в нем водяных паров.

**Абсолютная влажность** — упругость (парциальное давление) водяных паров, находящихся в данное время в воздухе, выраженное в миллиметрах ртутного столба. **Максимальная влажность** — упругость водяных паров при полном насыщении воздуха влагой при данной температуре. **Относительной влажностью** называется отношение абсолютной влажности к максимальной, выраженное в процентах. **Дефицит насыщения** (физический дефицит) — разность между максимальной и абсолютной влажностью. **Точка росы** — температура, при которой воздух максимально насыщен водяными парами. Для ее определения вначале рассчитывают величину абсолютной влажности для данных условий, затем по табл. 1 определяют величину, близкую к этому значению, и находят соответствующую температуру, при которой величина абсолютной влажности равна максимальной.

Таблица 1. Максимальная упругость водяных паров при разных температурах (мм рт. ст.)

Целые градусы	Десятые доли градусов									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10	9,21	9,27	9,33	9,40	9,46	9,52	9,58	9,65	9,71	9,78
11	9,84	9,91	9,98	10,04	10,11	10,18	10,24	10,31	10,38	10,45
12	10,52	10,59	10,66	10,73	10,80	10,87	10,94	11,01	11,08	11,16
13	11,23	11,30	11,38	11,45	11,53	11,60	11,68	11,76	11,83	11,91
14	11,99	12,06	12,14	12,22	12,30	12,38	12,46	12,54	12,62	12,71
15	12,79	12,87	12,95	13,04	13,12	13,20	13,29	13,38	13,46	13,55

16	13,63	13,72	13,81	13,90	13,99	14,08	14,17	14,26	1435	14,14
17	14,53	14,62	14,72	14,81	14,90	15,00	15,09	15,19	15,28	15,38
18	15,48	15,58	15,67	15,77	15,87	15,07	16,07	16,17	16,27	1637
19	16,48	16,58	16,67	16,79	16,89	17,00	17,10	17,21	17,32	17,43
20	17,54	17,64	17,75	17,86	17,97	18,08	18,20	18,31	18,42	18,54
21	18,65	18,76	18,88	19,00	19,11	19,23	1935	19,47	19,59	19,71
22	19,83	19,95	20,07	20,19	2032	20,44	20,56	20,69	20,82	20,94
23	21,07	21,20	21,32	21,45	21,58	21,71	21,84	21,98	22,10	22,24
24	22,38	22,51	22,65	22,78	22,92	23,06	23,20	23,34	23,48	23,62
25	23,76	23,90	24,04	24,18	24,33	24,47	24,62	24,76	24,91	25,06
26	25,21	25,36	25,51	25,66	25,81	25,96	26,12	26,27	26,43	26,58
27	26,74	26,90	27,06	27,21	27,37	27,54	27,70	27,86	28,02	28,18
28	28,35	28,51	28,68	28,85	29,02	29,18	29,35	29,52	29,70	29,87
29	30,04	30,22	30,39	30,57	30,74	30,92	31,10	31,28	31,46	31,64
30	31,82	32,01	32,19	32,38	32,56	32,75	32,93	33,12	33,31	33,50

На практике чаще всего для характеристики влажности воздуха пользуются значениями относительной влажности и дефицита насыщения воздуха водяными парами. Относительную влажность воздуха определяют приборами, которые называются психрометрами. Они бывают двух видов: психрометр Ассмана и психрометр Августа (рис 1).

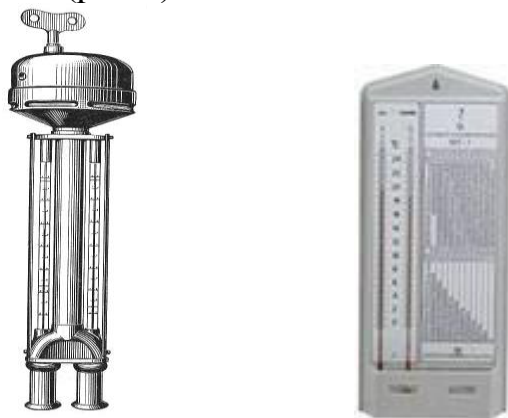


Рис.1. Аспирационный психрометр Ассмана и психрометр Августа.

(<https://yandex.ru/images/>)

Психрометр Ассмана (аспирационный) используется для нахождения абсолютной влажности расчетным методом. Прибор дает более точные показания, так как его корпус заключен в металлический футляр, предохраняющий резервуары термометров от воздействия теплового излучения, а механическое аспирационное устройство- вентилятор - обеспечивает постоянную скорость движения воздуха около термометров, что позволяет проводить измерения при постоянных условиях. Прибор имеет два ртутных термометра, резервуар одного из них покрыт материей (батист). Перед определением температуры батист на резервуаре влажного термометра смачивают водой. Затем заводят ключом часовой механизм вентилятора. Отсчет показаний термометров проводят через 3-4 мин после включения прибора, т. е. в момент, когда температура влажного термометра станет минимальной.

3.Определение скорости движения воздуха от 0,1 до 1,0 м/с осуществляется с помощью кататермометра. Оно основано на оценке интенсивности охлаждения нагретого прибора. В гигиенических исследованиях могут использоваться кататермометры с цилиндрическим или шаровым резервуаром.

## *Занятие №5*

### **Тема: ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ОСВЕЩЕНИЯ ПОМЕЩЕНИЙ АПТЕЧНЫХ ОРГАНИЗАЦИЙ**

**Цель занятия:** изучить влияние естественного и искусственного освещения на организм человека и санитарные условия жизни. Ознакомиться с гигиеническими требованиями к освещению помещений аптек, методами его оценки.

#### **ВОПРОСЫ ДЛЯ ОБСУЖДЕНИЯ ПРИ ВЫЯВЛЕНИИ ИСХОДНОГО УРОВНЯ ЗНАНИЙ**

1. Влияние солнечной радиации на здоровье и работоспособность
2. Естественное освещение и гигиенические требования к нему
3. Факторы, влияющие на естественное освещение в помещениях
4. Гигиеническая характеристика источников искусственного освещения
5. Гигиенические требования к искусственному освещению производственных помещений аптеки
6. Методы оценки освещенности.

#### **ОРИЕНТИРОВОЧНАЯ ОСНОВА ДЕЙСТВИЯ СТУДЕНТОВ К ВЫПОЛНЕНИЮ ПРАКТИЧЕСКОЙ РАБОТЫ**

##### **1. Определение коэффициента естественной освещенности (КЕО)**

Оснащение:

- 1) люксметр
- 2) сантиметровая лента

##### Методика

Определение уровней освещенности проводят при помощи люксметра. Величина КЕО – это процентное отношение естественной освещенности в внутри помещения ( $E_v$ ) на самом удаленном от окна рабочем столе к освещенности (в тот же момент) на горизонтальной плоскости ( $E_n$ ) под открытым небом (при рассеянном свете):

$$КЕО = (E_v \cdot 100) / E_n (\%), \quad (6)$$

При измерениях фотозащитный прибор устанавливают горизонтально на поверхности и с помощью переключения достигают необходимого диапазона измерения (начинать нужно с большего). При высоком уровне освещенности необходимо использовать специальные светопоглощающие фильтры, показания гальванометра соответственно умножают на их коэффициент. По окончании работы фотозащитный прибор следует отключить от гальванометра и закрыть его светофильтром с целью предупреждения загрязнения и действия света.

##### **2. Определение светового коэффициента (СК)**

Оснащение:

- 1) сантиметровая лента

##### Методика



Световой коэффициент – это отношение площади застекленной поверхности окон к площади пола. Он выражается дробью, числитель которой – единица, а знаменатель – частное от деления площади помещения на площадь поверхности стекол. Рекомендуемая величина СК для ассистентской, асептической, контрольно-аналитической, расфасовочной - 1/ 4.

### 3. Определение коэффициента заглубления (КЗ)

Оснащение:

- 1)сантиметровая лента

#### Методика

Коэффициент заглубления – отношение расстояния от верхнего края окна до пола к расстоянию от окна до самого удаленного стола. Выражается дробью.

### 4. Определение угла падения (УП)

Оснащение:

- 1)сантиметровая лента

#### Методика

Угол падения  $\alpha$  (ВАС) образуется двумя линиями, одна из которых (АВ) горизонтальная, проводится от места определения (рабочее место) к плоскости окна, другая (АС) – от рабочего места (из той же точки) к верхнему наружному краю окна (рис. 1).

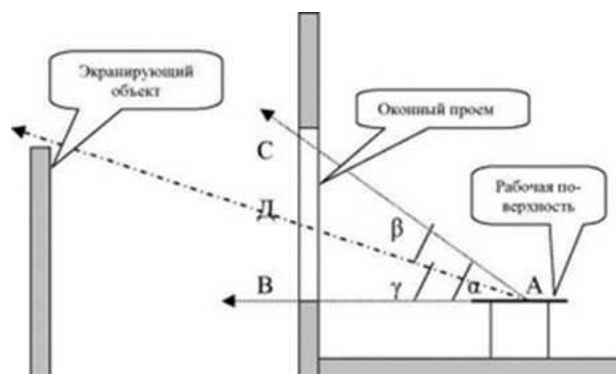


Рис. 1. Углы освещения: ВАС — угол падения; DAC — угол отверстия (<https://yandex.ru/images/>)

Он показывает, под каким углом падают из окна световые лучи на данную горизонтальную поверхность в помещении. Для его определения можно воспользоваться таблицей натуральных значений тригонометрических функций (табл. 1).

Учитывая, что треугольник ABC является прямоугольным,

$$BC / AB = \operatorname{tg} \alpha,$$

Величина катета BC определена расстоянием по вертикали от точки (B) пересечения горизонтальной линии с плоскостью окна и до верхнего края окна (C). Катет AB – расстояние от центральной точки поверхности рабочего стола (A) до окна (B). Угол падения на рабочем месте должен быть не менее 27°.

**Таблица 1. Таблица натуральных тригонометрических значений тангенсов**

tg α	α°	tg α	α°	tg α	α°	tg α	α°
0,017	1	0,249	14	0,510	27	0,839	40
0,035	2	0,268	15	0,532	28	0,869	41
0,052	3	0,287	16	0,554	29	0,900	41
0,070	4	0,306	17	0,577	30	0,933	43
0,087	5	0,325	18	0,601	31	0,966	44
0,105	6	0,344	19	0,625	32	1,000	45
0,123	7	0,364	20	0,649	33	1,15	49
0,141	8	0,384	21	0,675	34	1,39	53
0,158	9	0,404	22	0,700	35	1,60	58
0,176	10	0,424	23	0,727	36	2,05	64
0,194	11	0,445	24	0,754	37	2,47	68
0,213	12	0,466	25	0,781	38	3,07	72
0,231	13	0,488	26	0,810	39	4,01	76

**5. Сделать вывод о достаточности естественного освещения в помещении и на рабочем столе, дать гигиенические рекомендации по его улучшению**

**6. Определение достаточности искусственного освещения**

Оснащение:

1) люксметр

Методика

Уровень искусственной освещенности определяют с помощью люксметра (объективный метод) на горизонтальной поверхности на рабочем месте. Полученные данные сравнивают с установленными нормами (табл. 2) [14]. В случае если изменение освещенности проводится в дневное время, то уровень искусственной освещенности рассчитывается по разности величин, полученных при включенном и выключенном искусственном освещении.

Таблица 2. Требования к освещению рабочих мест в помещениях общественных зданий, а также сопутствующих им производственных помещениях

Наименование помещения	Естественное освещение, КЕО, %	Искусственное освещение освещенность всего, лк	
		При комбинированном освещении	При общем освещении
Ассистентская, асептическая, аналитическая, фасовочная, заготовочная концентратов и полуфабрикатов, контрольно-маркировочная	1,8	600	500
Моечная			200
Рецептурный отдел, отделы ручной продажи, оптики, готовых лекарственных средств			300

**7. Определение равномерности освещенности**

Оснащение:

1) люксметр

Методика

Равномерность оценивают по отношению наименьшей освещенности к наибольшей освещенности в одной плоскости, измеренными люксметром в

двух точках. Освещение считается равномерным, если отношение минимальной освещенности к максимальной (коэффициент неравномерности) на протяжении 5 м не ниже 1:3 или на протяжении 0,75 м не ниже 1:2.

**8. Составить заключение о достаточности и равномерности искусственного освещения на рабочем столе и в помещении. Дать гигиенические рекомендации по его улучшению.**

## ИНФОРМАЦИОННЫЙ БЛОК

1. Факторы, влияющие на естественное освещение в помещениях
2. Гигиеническая характеристика источников искусственного освещения

Помещения аптек должны иметь естественное и искусственное освещение [СП]. Естественное освещение может отсутствовать в складских помещениях (без постоянного рабочего места), кладовых, туалетах, гардеробных, душевых, бытовых и вспомогательных помещениях. Общее искусственное освещение должно быть предусмотрено во всех помещениях.

При отсутствии естественного освещения в торговых залах аптек должны быть обеспечены компенсационные мероприятия (нормируемые показатели искусственной освещенности принимаются на ступень выше).

### **1. Факторы, влияющие на естественное освещение в помещениях**

- Световой климат местности, который определяется географической широтой, высотой стояния солнца, погодными условиями.
- Ориентация окон по странам света.
- Высота напротив стоящих зданий (на расстоянии не менее двух высот наиболее высокого здания).
- Количество окон, величина оконных проемов, их форма и расположение (прямоугольная форма, площадь переплетов должна быть не более 25% от площади окна).
- Размещение окон (верхний край окна должен быть расположен на расстоянии не более 15 – 20 см от потолка; нижний край на расстоянии не более 85-90 см от уровня пола, ширина простенков между окнами не более 1,5 ширины окна).
- Чистота, толщина и цвет стекол.
- Облицовка и цвет напротив стоящих зданий. Окраска оборудования, стен, потолка в помещении
- Глубина помещения.

### **2. Гигиеническая характеристика источников искусственного освещения**

Рациональное искусственное освещение обеспечивается правильным выбором системы освещения, источников света, светильников, их размещением и правильной эксплуатацией осветительных установок [2]. Искусственное освещение – освещение, при котором используются исключительно искусственные

источники света, которые могут быть лампами накаливания, газоразрядными лампами, светодиодными лампами. Оно разделяется на местное, общее и комбинированное. Местное освещение обеспечивается светильниками, концентрирующими световой поток непосредственно на рабочих местах. При общем освещении светильники размещаются равномерно в верхней зоне помещения. Комбинированным принято считать освещение, создаваемое источниками, расположенными местно и в общей системе освещения.

В лампах накаливания свечение возникает в результате нагрева нити вольфрама до высоких температур. Ввиду низкой световой отдачи (от 7 до 20 лм/Вт), небольшого срока службы (срок службы самых мощных ламп накаливания 1000 кВ – 1500 ч), преобладания в спектре желтовато-красных лучей, что искажает цветовое восприятие, применение ламп накаливания ограничивается.

Лампы накаливания применяют для освещения на производстве в помещениях с кратковременным пребыванием людей; в помещениях со взрывоопасными зонами и тяжелыми условиями среды; для местного освещения; в случаях, если применение газоразрядных ламп невозможно по технологическим причинам (высокая температура воздуха, вибрация).

Действующими нормами искусственного освещения в качестве основных источников света для производственного освещения приняты газоразрядные лампы низкого давления (люминесцентные) и высокого давления. Причиной этого являются такие их достоинства, как значительная световая отдача (что позволяет создать высокие уровни освещенности), экономичность, благоприятный спектральный состав света, диффузность светового потока и сравнительно невысокая яркость (3500-10 000 кд/кв. м).

Выпускаются люминесцентные лампы низкого давления нескольких типов:

- лампы дневного света ЛД с голубоватым цветом излучения;
- лампы белого цвета ЛБ (цвет свечения имеет несколько желтоватый оттенок из-за преобладания в их спектре оранжево-желтой части);
- лампы холодного и теплого белого света типа ЛХБ и ЛТБ (по спектру излучения занимают промежуточное положение между лампами ЛБ и ЛД).
- лампы белого света типа ЛЕ с улучшенной цветопередачей предназначены для освещения помещений, где нужна хорошая цветопередача человеческого лица, главным образом это помещения жилых и общественных зданий.

Наряду с положительными свойствами люминесцентные лампы обладают некоторыми недостатками. К ним относятся зависимость световых характеристик ламп от температуры окружающего воздуха, сложность их включения, пульсации светового потока при работе на переменном токе (стробоскопический эффект), иногда - шумовое воздействие. Люминесцентные лампы работают только в ограниченном диапазоне температуры окружающей среды от 5 до 50 °С; на работе ламп сказываются колебания напряжения в питающей сети: снижение напряжения сети более чем на 10% приводит к отказу в зажигании.

Создание в помещениях высококачественного и экономичного освещения обеспечивается применением рациональных светильников. Светильник состоит из двух частей – источника света и осветительной арматуры. Главнейшей зада-

чей осветительной арматуры является перераспределение светового потока ламп в необходимом направлении. Назначение светильника состоит также в защите глаз от слепящего действия источника света. С этой целью могут быть использованы конструкции светильников, обеспечивающие защитный угол и ослабление яркости источников света с помощью рассеивателей из молочного, опалового или матированного стекла.

С точки зрения перераспределения светового потока различают светильники прямого, отраженного и рассеянного света. Светильники прямого света направляют в нижнюю полусферу не менее 80% всего светового потока. При этом большая часть светового потока концентрируется на рабочих поверхностях. Светильники местного освещения должны иметь защитную арматуру, обеспечивающую защитный угол не менее 30°. Соблюдение данного условия необходимо с целью предупреждения слепящего действия. В помещении также регламентируется высота подвеса светильников – не менее 2,8 м.

В помещениях аптечной организации светильники общего и местного освещения должны иметь защитную арматуру, позволяющую осуществить их влажную очистку. Светильники общего освещения должны иметь сплошные (закрытые) рассеиватели [16].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Архангельский, В. И. Гигиена и экология человека : учебник / В. И. Архангельский, В. Ф. Кириллов. - 2-е изд., перераб. и доп. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 176 с. - ISBN 978-5-9704-7654-3, DOI: 10.33029/9704-7654-3-ННЕ-2023-1-176. - Электронная версия доступна на сайте ЭБС "Консультант студента" : [сайт]. URL: <https://www.studentlibrary.ru/book/ISBN9785970476543.html>. - Режим доступа: по подписке. - Текст: электронный
2. Измеров Н.В., Суворов Г.А. «Физические факторы производственной и природной среды. Гигиеническая оценка и контроль. — М.: Медицина, 2003.
3. Медицинская микробиология / Под ред. В. И. Покровского. - М.: ГОЭТАР МЕДИЦИНА, 2001. – 768 с.
4. Методы исследования и гигиеническая оценка параметров микроклимата жилых помещений и общественных зданий : учебно-методическое пособие / Т. И. Борщевская [и др.]. – Минск : БГМУ, 2021. – 30 с.
5. Микробиологические методы: учеб. пособие / Г. К. Давлетшина, М. М. Туйгунов, Ю. З. Габидуллин, А. А. Ахтариева, А. К. Булгаков, Т. А. Савченко. – Уфа: Изд-во ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, 2018. – 119 с.
6. Микробиология: Учебник для фармацевтических вузов / Олешко Г.И., Одегова Т.Ф., Новикова В.В. – Пермь: ГОУ ВПО ПГФА, 2009. – 377 с.
7. МР 3.5.0071-13 Организация и проведение дезинфекционных мероприятий на различных объектах в период подготовки и проведения массовых мероприятий. Методические рекомендации
8. МУК 4.3.2756-10 «Методические указания по измерению и оценке микроклимата производственных помещений»
9. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие / Под ред. А. С. Лабинской, Л. П. Блинковой, А. С. Ещиной. — СПб.: Издательство «Лань», 2016. — 588 с.
10. ОФС 1.1.0016.15 Стерилизация - Режим доступа: <https://pharmacopoeia.ru/ofs-1-1-0016-15-sterilizatsiya/?ysclid=lv9mdwke58855321931>
11. Приказ МЗ РФ от 2023 г. № 249н «Об утверждении Правил изготовления и отпуска лекарственных препаратов для медицинского применения аптечными организациями, имеющими лицензию на фармацевтическую деятельность» - Режим доступа: <https://normativ.kontur.ru/document?moduleId=1&documentId=449637&ysclid=lr97087zmr445966228>
12. Приказ МЗ РФ от 2016 г. № 647н «Об утверждении Правил надлежащей аптечной практики лекарственных препаратов для медицинского применения»
13. Руководство Р 3.5.1904-04 Дезинфектология. Использование ультрафиолетового излучения для обеззараживания воздуха в помещениях
14. СанПиН 1.2.3685-21 Гигиенические нормативы и требования к обеспечению безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания

15. СанПиН 2.1.3684-21 Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий

16. СП 2.1.3678-20 Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг (с изменением, внесенным постановлением Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 14 апреля 2022 г. N 12)

17. СП 52.13330.2011. Естественное и искусственное освещение

18. Фармацевтическая микробиология/ В. А. Галынкин, Н. А. Заикина, В. И. Кочеровец, Т.С. Потехина. – М.: Арнебия, 2003. – 352 с.

19. ФС.2.2.0019 Вода для инъекций - Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/2/2-2/voda-dlya-inektsiy/?ysclid=lr98j5ir32462342307>

20. ФС.2.2.0020 Вода очищенная - Режим доступа: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/2/2-2/voda-ochishchennaya/?ysclid=lr98g4045r532306047>

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ  
ПОТРЕБИТЕЛЕЙ И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА



ФЕДЕРАЛЬНОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
«НИЖЕГОРОДСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ  
ИМ. АКАДЕМИКА И. Н. БЛОХИНОЙ»

**Информационный бюллетень № 13**

**Сведения об инфекционных и паразитарных заболеваниях  
населения Приволжского федерального округа за 2022 год**

Нижний Новгород, 2023 г.

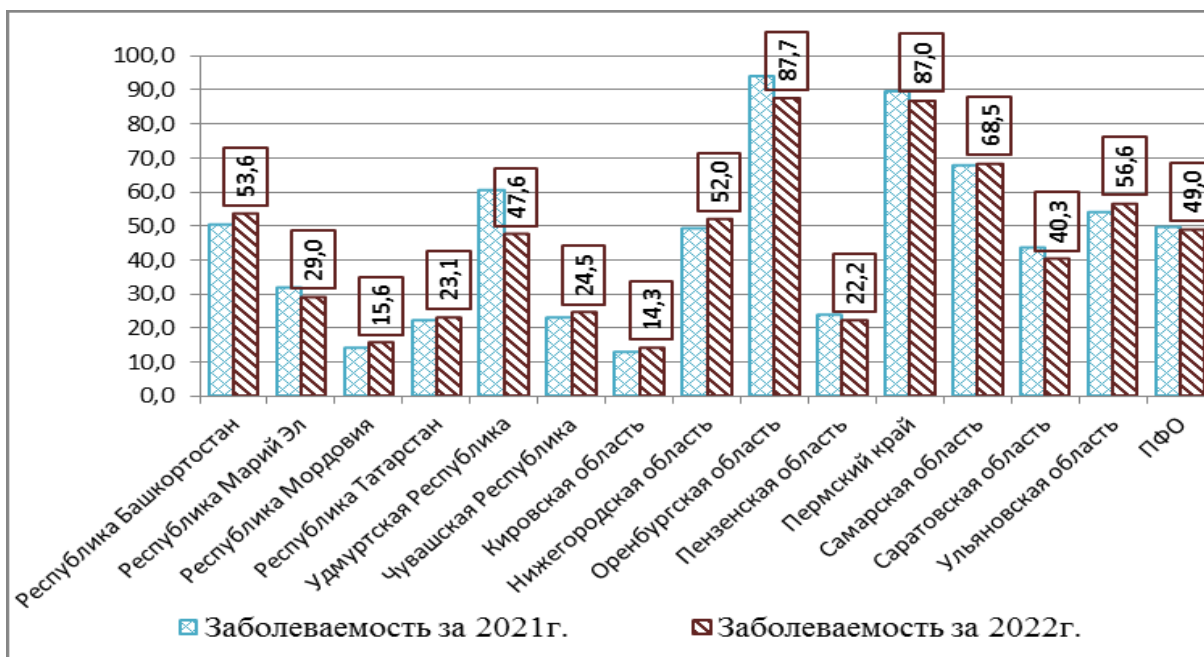


### III. Анализ заболеваемости инфекционными и паразитарными болезнями, представленными в государственных докладах о санитарно-эпидемиологическом благополучии населения

#### 3.1 Социально обусловленные болезни

В 2022 г. в Приволжском федеральном округе по данным территориальных центров по профилактике и борьбе со СПИД в ПФО выявлено 14 141 новых случаев **ВИЧ-инфекции**, в том числе 77 у детей. Среднеокружной показатель заболеваемости в 2022г. остался на уровне прошлого года, с незначительными колебаниями (49,00/0000 против 49,60/0000). Наибольшие значения данного показателя отмечены в Оренбургской области (87,70/0000) и Пермском крае (87,00/0000), значения выше среднеокружного показателя зарегистрированы также в Самарской (68,50/0000), Ульяновской (56,60/0000) областях, Республике Башкортостан (53,60/0000) и Нижегородской области (52, 00/0000). Наименьшие значения показателя заболеваемости зафиксированы, как и прежде, в Республике Мордовия (15,60/0000) и Кировской области (14,30/0000).

Показатель инцидентности в 2022г. незначительно превысил уровень 2021 г. в шести субъектах (республики Башкортостан и Мордовия, Чувашская Республика, Кировская, Нижегородская и Ульяновская области), на остальных территориях наблюдалось снижение или сохранение данного показателя на



уровне прошлого года (рис.5).

Рисунок 5 – Сравнительная характеристика показателей инцидентности ВИЧ-инфекции в субъектах ПФО в 2021-2022 гг., 0/0000

Случаи заболевания ВИЧ-инфекцией в ПФО регистрировались среди жителей всех возрастов. В 2022г. в возрастной структуре вновь выявленных ВИЧ-инфицированных преобладали лица 31 - 40 лет (38,0% и 40,0%) и 41 - 50 лет (31,0% и 29,5%).

Основным путем передачи ВИЧ-инфекции остается половой (83,2%). Доля инфицированных при употреблении инъекционных ПАВ продолжает снижаться и в 2022 г. составила 16,1%. С подробной информацией по эпидемиологической ситуации ВИЧ-инфекции в субъектах ПФО за 2022г. можно ознакомиться на сайте института, раздел, Приволжский окружной центр по профилактике и борьбе со СПИД.

В 2022 г. активная форма **туберкулеза** зарегистрирована у 7393 постоянно проживающих в ПФО жителей, что на 3,7% меньше показателя 2021 г. Стоит отметить, что наблюдается устойчивая многолетняя тенденция к снижению заболеваемости данной инфекцией (величина достоверности  $R^2 = 0,79$ ) (рис. 6).

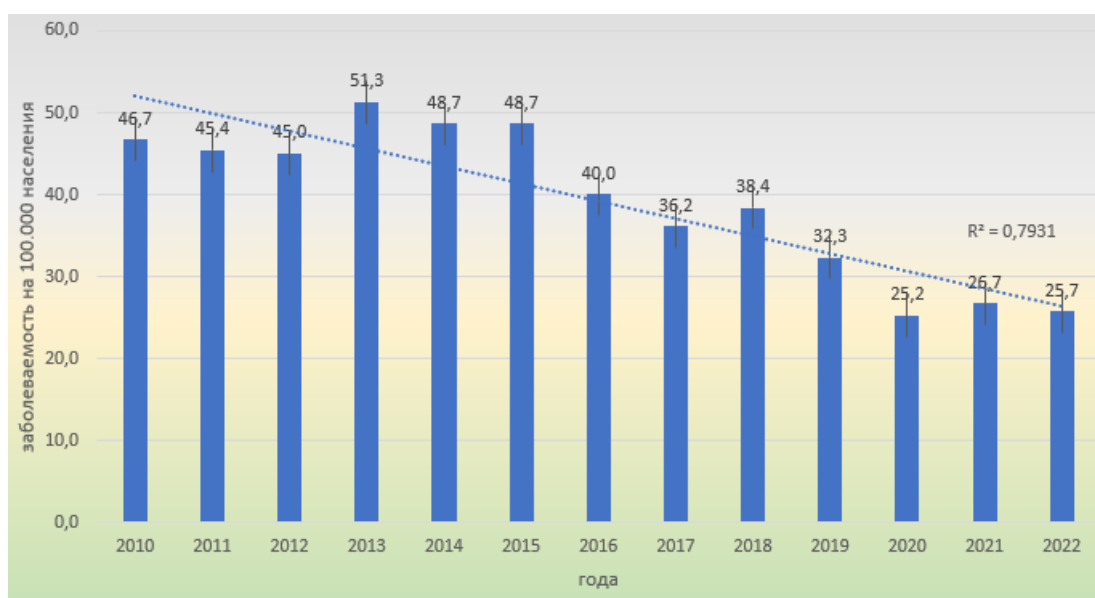


Рисунок 6 – Заболеваемость туберкулезом в ПФО, 2010- 2022 гг.,0/0000

Показатель заболеваемости активной формой туберкулеза в округе в 2022 г. составил 25,70/0000 (заболеваемость в РФ в 2022г. – 29,30/0000). Наиболее высокие показатели инцидентности, превышающие среднеокружной, отмечаются в следующих регионах: Республика Мордовия (92,10/0000 больше среднеокружного значения в **3,5** раза), Оренбургская область (37,90/0000, в **1,5** раза), Чувашская Республика (35,50/0000, в **1,4** раза), Самарская область (33,80/0000, в **1,3** раза), Республика Марий Эл (30,20/0000), Ульяновская область (26,40/0000) и Республика Башкортостан (26,20/0000) (рис. 7).

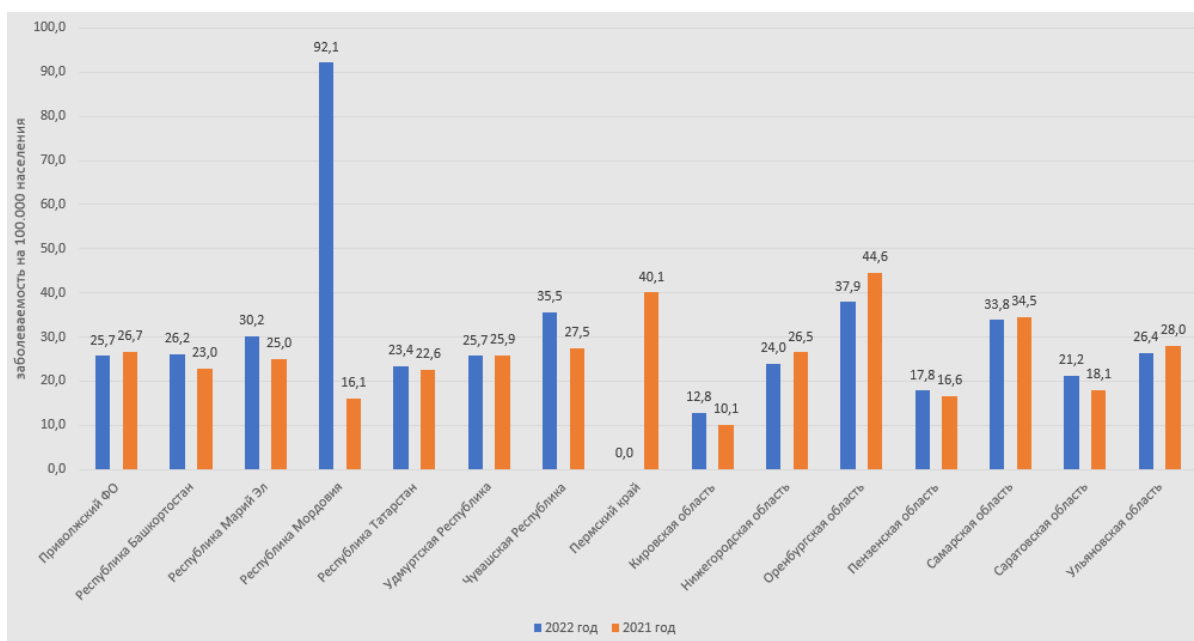


Рисунок 7 – Заболеваемость туберкулезом в субъектах ПФО в 2021-2022 гг.,  $\frac{0}{0000}$

Были нарушены правила хранения ЛС, а именно иммунобиологические лекарственные препараты ( иммуноглобулины) должны храниться отдельно от других ЛП при температуре от +2°C до +8°C. Антибиотики хранятся при комнатной температуре, капли назальные Изофра – при температуре от +5°C до +25°C. Целесообразно обеспечить раздельное хранение данных ЛП. В случае хранения ИЛП именно в этом холодильнике необходимо откорректировать его температурный режим в соответствии с требованиями НД.

**СП 2.1.3678-20 "Санитарно-эпидемиологические требования к эксплуатации помещений, зданий, сооружений, оборудования и транспорта, а также условиям деятельности хозяйствующих субъектов, осуществляющих продажу товаров, выполнение работ или оказание услуг"**

Настоящие санитарные правила (далее - правила) направлены на охрану жизни и здоровья населения, обеспечение безопасности и (или) безвредности для человека факторов среды обитания, предотвращение возникновения и распространения инфекционных, неинфекционных заболеваний и устанавливают санитарно-эпидемиологические требования к выполнению работ и предоставлению гостиничных, медицинских, бытовых, социальных услуг, услуг в области культуры, спорта, организации досуга, развлечений, продаже товаров производственно-технического назначения для личных и бытовых нужд (далее - услуги), а также к используемым хозяйствующими субъектами зданиям, сооружениям, помещениям, оборудованию и транспортным средствам.

2.1. Хозяйствующий субъект в соответствии с осуществляемой им деятельностью по предоставлению услуг населению должен осуществлять производственный контроль за соблюдением санитарных правил и гигиенических нормативов, санитарно-противоэпидемические (профилактические) мероприятия, с проведением лабораторных исследований и измерений с привлечением испытательных лабораторных центров, аккредитованных в национальной системе аккредитации в соответствии с законодательством РФ.

2.2. Здания, строения, сооружения, помещения, используемые хозяйствующими субъектами, должны быть оборудованы системами холодного и горячего водоснабжения, водоотведения.

2.3. Вода, используемая в хозяйственно-питьевых и бытовых целях, должна соответствовать гигиеническим нормативам.

2.4. В помещениях обеспечиваются параметры микроклимата, воздухообмена, определенные требованиями гигиенических нормативов.

2.5. Уровни естественного и искусственного освещения, инсоляции, шума, вибрации, электромагнитных полей в помещениях хозяйствующих субъектов должны соответствовать гигиеническим нормативам.

2.6. Помещения, в которых установлено оборудование, являющееся источником выделения пыли, химических веществ, избытков тепла и влаги, должны быть обеспечены местной системой вытяжной вентиляции. Обследование технического состояния системы вентиляции проводится перед вводом здания (помещения) в эксплуатацию или его реконструкцией, затем через 2 года после ввода в эксплуатацию, в дальнейшем не реже 1 раза в 10 лет. При обследовании технического состояния вентиляции должны осуществляться инструментальные измерения объемов вытяжки воздуха.

2.7. Покрытия пола и стен помещений, используемых хозяйствующими субъектами, не должны иметь дефектов и повреждений, следов протеканий и

признаков поражений грибком и должны быть устойчивыми к уборке влажным способом с применением моющих и дезинфицирующих средств. В помещениях с повышенной влажностью воздуха потолки должны быть влагостойкими.

2.11. Уборочный инвентарь, используемый для уборки помещений, маркируется в зависимости от назначения помещений и видов работ. Инвентарь для уборки туалетов должен иметь иную маркировку и храниться отдельно от другого инвентаря.

По окончании уборки весь инвентарь промывается с использованием моющих средств, ополаскивается проточной водой и просушивается. Инвентарь для туалетов после использования обрабатывается дезинфицирующими средствами.

2.12. В помещениях не должно быть насекомых, грызунов и следов их жизнедеятельности.

## **V. Санитарно-эпидемиологические требования при предоставлении услуг аптечными организациями**

5.1. В аптечной организации (далее - аптека), осуществляющей, наряду с другими лекарственными средствами, реализацию иммунобиологических лекарственных препаратов, должны быть обеспечены учет, хранение, а также обезвреживание вакцин, непригодных к использованию.

5.2. Аптека должна располагать помещениями, оборудованием, инвентарем, позволяющими обеспечить хранение иммунобиологических лекарственных препаратов и других лекарственных средств, а также сохранение качества, эффективности и безопасности лекарственных средств, при транспортировании (в случае осуществления аптекой данного вида деятельности), хранении и реализации.

5.3. Высота потолков производственных помещений вновь строящихся и реконструируемых зданий определяется габаритами оборудования и должна быть не менее 2,4 метра.

5.4. В аптеке должно быть обеспечено хранение лекарственных средств в соответствии с инструкцией производителя лекарственного препарата.

5.5. Аптека должна размещаться в изолированном блоке помещений в многоквартирных домах, общественных зданиях или в отдельно стоящих зданиях.

Не допускается размещение в аптеке организаций, функционально с ней не связанных.

При размещении аптеки в многоквартирном доме необходимо наличие входа, изолированного от жилых помещений.

5.6. Погрузку и разгрузку материалов, продукции, товаров для аптеки, встроенной, встроено-пристроенной в многоквартирный дом, пристроенной к многоквартирному дому следует выполнять: с торцов жилых зданий, из подземных тоннелей или закрытых дебаркадеров, со стороны автомобильных дорог. Не допускается загрузка материалов, продукции, товаров со стороны двора многоквартирного дома, где расположены входы в квартиры.

5.7. Расположение помещений для изготовления лекарственных средств должно обеспечивать технологическую поточность производственного процесса изготовления стерильных и не стерильных форм

5.8. В шлюзе асептического блока должны быть условия для надевания стерильной спецодежды и гигиенической обработки рук. Подводка водопровода и канализации в асептическом боксе не допускается.

5.9. Для мытья рук работников в шлюзах асептического блока и ассистентской устанавливаются раковины с локтевыми смесителями (либо автоматические смесители). В моечной должны быть выделены и промаркированы отдельные раковины для мытья посуды и рук работников.

5.10. В производственных помещениях аптек не допускается разведение цветов, использование текстильных штор, ковровых покрытий.

5.11. Помещения аптек должны иметь естественное и искусственное освещение. Естественное освещение может отсутствовать в складских помещениях (без постоянного рабочего места), кладовых, туалетах, гардеробных, душевых, бытовых и вспомогательных помещениях.

Общее искусственное освещение должно быть предусмотрено во всех помещениях.

5.12. При отсутствии естественного освещения в торговых залах аптек должны быть обеспечены компенсационные мероприятия (нормируемые показатели искусственной освещенности принимаются на ступень выше).

5.13. Светильники общего и местного освещения должны иметь защитную арматуру, позволяющую осуществить их влажную очистку. Светильники общего освещения должны иметь сплошные (закрытые) рассеиватели

5.14. Помещения аптек оборудуются общеобменной вентиляцией с естественным или механическим побуждением. В аптеках, не осуществляющих изготовление лекарственных средств, система вентиляции с механическим побуждением может отсутствовать. Не допускается отсутствие систем вентиляции с механическим побуждением в помещениях с постоянными рабочими местами, не имеющих естественного проветривания. Помещения асептического блока оборудуются системой вентиляции с механическим побуждением с преобладанием притока над вытяжкой. Подача чистого воздуха осуществляется ламинарными потоками. Помещения, в которых осуществляется фасовка летучих токсичных веществ, оборудуются автономными системами общеобменной вентиляции с механическим побуждением.

5.15. Не допускается использование вентиляционных камер для других целей (складирования, использование в качестве бытовых помещений).

5.16. Поверхности мебели и оборудования должны быть устойчивы к воздействию моющих и дезинфицирующих средств.

5.17. Помещения аптек должны подвергаться ежедневной влажной уборке с применением моющих и дезинфицирующих средств. Аптеки должны быть обеспечены запасом на 3 дня моющими и дезинфицирующими средствами, который рассчитывается с учетом площади обрабатываемых поверхно-

стей, количества обрабатываемого оборудования, наличием хозяйственного инвентаря для обеспечения санитарного режима.

5.18. Для уборки различных помещений (производственные помещения, туалеты, гардеробные и душевые) и оборудования выделяется отдельный уборочный инвентарь, который маркируется и используется по назначению. Хранение его осуществляется в выделенном месте (помещения или шкафы). Ветошь, предназначенная для уборки производственного оборудования, после дезинфекции и сушки хранится в чистой промаркированной закрытой таре.

5.19. Уборка шкафов, стеллажей в помещениях хранения лекарственных средств проводится по мере необходимости, но не реже одного раза в месяц.

5.20. Уборка всех помещений с обработкой стен, полов, оборудования, инвентаря, светильников с применением моющих и дезинфицирующих средств, проводится не реже 1 раза в месяц, а в помещениях изготовления лекарственных средств в асептических условиях - еженедельно.

5.21. Хранение верхней одежды и обуви работников осуществляется отдельно от спецодежды.

5.22. Смена санитарной одежды должна производиться по мере загрязнения, но не реже 1 раза в неделю. В производственных аптеках в помещениях изготовления лекарственных средств раковины для мытья рук оснащаются дозаторами мыла, кожных антисептиков, одноразовыми полотенцами или электросушителями.

5.23. Стирка санитарной одежды осуществляется в прачечной (стиральной машине) самой организации, либо по договору со специализированной организацией.

5.24. Должна быть организована административно-бытовая зона для приема пищи и хранения личных вещей работников.

### **Приказ МЗ РФ от 2016 г. № 646н «Об утверждении Правил надлежащей практики хранения и перевозки лекарственных препаратов для медицинского применения»**

#### **1.4. Санитарно-гигиенические требования к помещениям и оборудованию для хранения лекарственных препаратов**

20. В помещениях для хранения лекарственных препаратов запрещается хранение пищевых продуктов, табачных изделий, напитков, за исключением питьевой воды, а также лекарственных препаратов, предназначенных для личного использования работниками субъекта обращения лекарственных препаратов.

21. В помещениях и (или) зонах должны поддерживаться температурные режимы хранения и влажность, соответствующие условиям хранения, указанным в нормативной документации, составляющей регистрационное досье лекарственного препарата, инструкции по медицинскому применению лекарственного препарата и на упаковке лекарственного препарата.

24. Субъект обращения лекарственных препаратов разрабатывает и утверждает комплекс мер, направленных на минимизацию риска контаминации

материалов или лекарственных препаратов, при условии соблюдения защиты от воздействия факторов внешней среды.

25. Процедуры по уборке помещений (зон) для хранения лекарственных препаратов проводятся в соответствии со стандартными операционными процедурами.

Отделка помещений (внутренние поверхности стен, потолков) для хранения лекарственных препаратов должна допускать возможность проведения влажной уборки и исключать накопление пыли.

Оборудование, инвентарь и материалы для уборки (очистки), а также моющие и дезинфицирующие средства должны храниться в отдельных зонах (шкафах).

26. Помещения для хранения лекарственных препаратов должны быть спроектированы и оснащены таким образом, чтобы обеспечить защиту от проникновения насекомых, грызунов или других животных.

27. В помещения (зоны) для хранения лекарственных препаратов не допускаются лица, не имеющие права доступа, определенного стандартными операционными процедурами.

29. Стеллажи (шкафы) для хранения лекарственных препаратов должны быть маркированы, иметь стеллажные карты, находящиеся в видимой зоне, обеспечивать идентификацию лекарственных препаратов в соответствии с применяемой субъектом обращения лекарственных препаратов системой учета.

36. Оборудование, оказывающее влияние на хранение и (или) перевозку лекарственных препаратов, должно проектироваться, размещаться и обслуживаться согласно документации по его использованию (эксплуатации).

37. К оборудованию, используемому в процессе хранения и (или) перевозки лекарственных препаратов, относятся в том числе:

- а) системы кондиционирования;
- б) холодильные камеры и (или) холодильники;
- в) охранная и пожарная сигнализация;
- г) системы контроля доступа;
- д) вентиляционная система;
- е) термогигрометры (психрометры) или иное оборудование, используемое для регистрации температуры и влажности.

38. Оборудование, относящееся к средствам измерений, до ввода в эксплуатацию, а также после ремонта подлежит первичной поверке и (или) калибровке, а в процессе эксплуатации - периодической поверке и (или) калибровке в соответствии с требованиями законодательства Российской Федерации об обеспечении единства измерений.