

**ПОСТРОЕНИЕ ПРОЦЕССА
МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО
МОНИТОРИНГА В РАЗРЕЗЕ АНАЛИЗА
МИКРОБИОМА ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ
(ВКЛЮЧАЯ ДАННЫЕ РЕЗУЛЬТАТОВ
ИДЕНТИФИКАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ,
В ТОМ ЧИСЛЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ)**

ГОЛУБЕВ ИЛЬЯ СЕРГЕЕВИЧ



**X Всероссийская
GMP-конференция**

МОНИТОРИНГ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ



Производственная система водоподготовки и распределения может быть **источником заражения** оборудования, персонала и даже АФС и ГЛФ

Воздух является **одним из основных** способов распространения микроорганизмов по чистым помещениям.



Мониторинг поверхностей **наиболее важная часть** всего микробиологического мониторинга.

Персонал является основным источником контаминации чистых помещений.

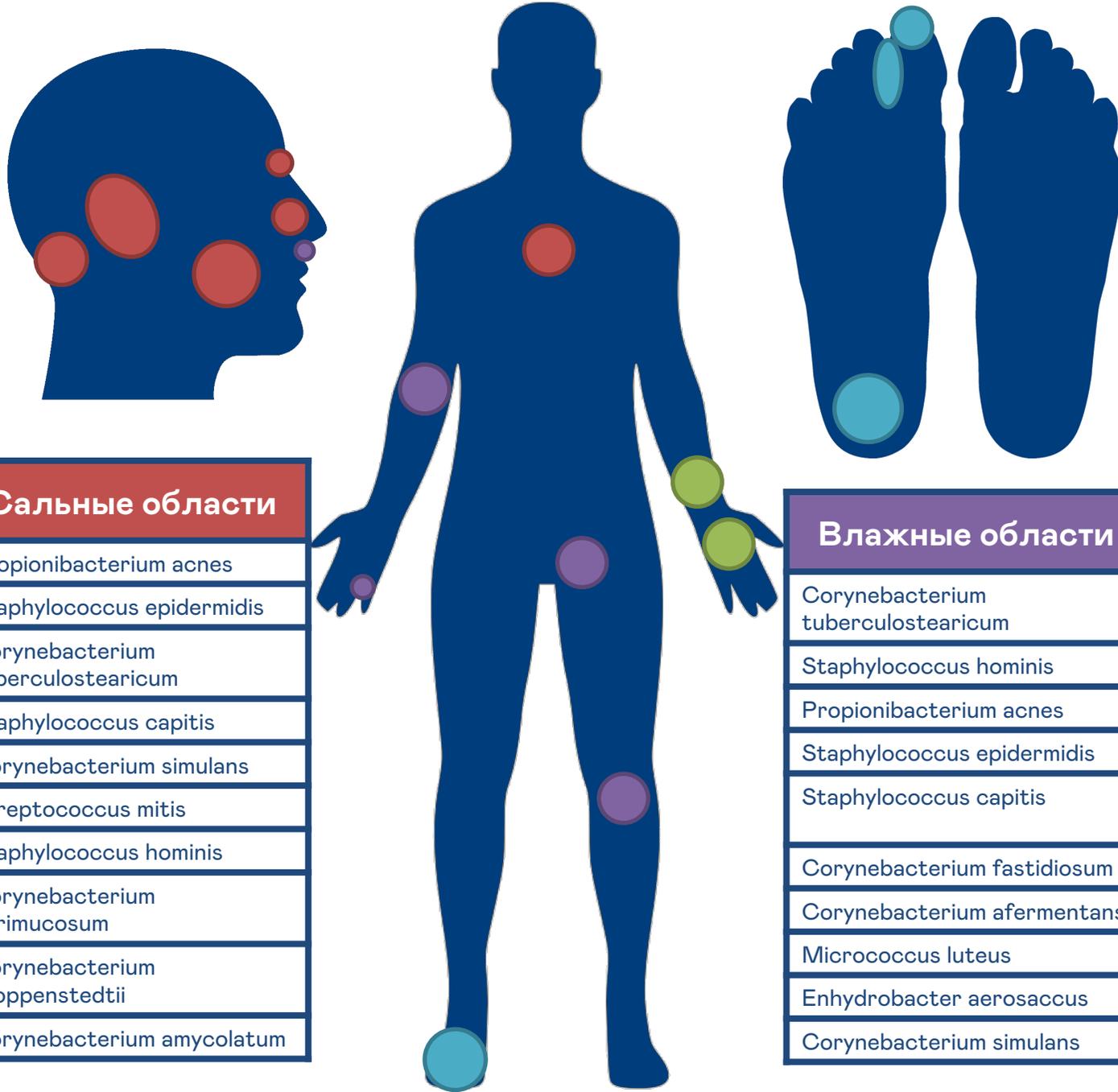
70% всех микроорганизмов попадают в чистые помещения с персоналом.

Ступни
Corynebacterium tuberculostearicum
Staphylococcus hominis
Staphylococcus warneri
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus capitis
Staphylococcus haemolyticus
Micrococcus luteus
Corynebacterium afermentans
Corynebacterium simulans
Corynebacterium resistens

Сальные области
Propionibacterium acnes
Staphylococcus epidermidis
Corynebacterium tuberculostearicum
Staphylococcus capitis
Corynebacterium simulans
Streptococcus mitis
Staphylococcus hominis
Corynebacterium aurimucosum
Corynebacterium kroppenstedtii
Corynebacterium amycolatum

Влажные области
Corynebacterium tuberculostearicum
Staphylococcus hominis
Propionibacterium acnes
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus capitis
Corynebacterium fastidiosum
Corynebacterium afermentans
Micrococcus luteus
Enhydrobacter aerosaccus
Corynebacterium simulans

Сухая кожа
Propionibacterium acnes
Corynebacterium tuberculostearicum
Streptococcus mitis
Streptococcus oralis
Streptococcus pseudomoniae
Streptococcus sanguinis
Micrococcus luteus
Staphylococcus epidermidis
Staphylococcus capitis
Veillonella parvula



The human skin microbiome *Allyson L. Byrd, Yasmine Belkaid and Julia A. Segre (2018)*



СОВПАДЕНИЯ МЕЖДУ МИКРОБИОТОЙ КОЖИ И ЧИСТЫМИ ПОМЕЩЕНИЯМИ



№	Поверхности чистых помещений	СТУПНИ	САЛЬНЫЕ ОБЛАСТИ	ВЛАЖНЫЕ ОБЛАСТИ	СУХАЯ КОЖА
1	Micrococcus luteus	Corynebacterium tuberculostearicum	Propionibacterium acnes	Corynebacterium tuberculostearicum	Propionibacterium acnes
2	Micrococcus lylae	Staphylococcus hominis	Staphylococcus epidermidis	Staphylococcus hominis	Corynebacterium tuberculostearicum
3	Staphylococcus spp.	Staphylococcus warneri	Corynebacterium tuberculostearicum	Propionibacterium acnes	Streptococcus mitis
4	Micrococcus spp.	Staphylococcus epidermidis	Staphylococcus capitis	Staphylococcus epidermidis	Streptococcus oralis
		Staphylococcus capitis	Corynebacterium simulans	Staphylococcus capitis	Streptococcus pseudomoniae
5	Bacillus sphaericus/ fusiformis	Staphylococcus haemolyticus	Streptococcus mitis	Corynebacterium fastidiosum	Streptococcus sanguinis
6	Staphylococcus epidermidis	Micrococcus luteus	Staphylococcus hominis	Corynebacterium afermentans	Micrococcus luteus
		Corynebacterium afermentans	Corynebacterium aurimucosum	Micrococcus luteus	Staphylococcus epidermidis
7	Staphylococcus capitis	Corynebacterium simulans	Corynebacterium kroppenstedtii	Enhydrobacter aerosaccus	Staphylococcus capitis
8	Staphylococcus hominis	Corynebacterium resistens	Corynebacterium amycolatum	Corynebacterium simulans	Veillonella parvula
9	Bacillus spp.				
10	Staphylococcus haemolyticus				

Зеленым выделены совпадения между микроорганизмами кожи и микроорганизмами, чаще всего выявляемых на поверхностях

МИКРООРГАНИЗМЫ СИСТЕМЫ ВОДОПОГОТОВКИ



№	ВОДОПРОВОДНАЯ ВОДА	ОЧИЩЕННАЯ ВОДА	ВОДА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ
1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Ralstonia picketti</i>	<i>Ralstonia picketti</i>
2	<i>Brevundimonas vesicularis</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
3	<i>Ralstonia picketti</i>	<i>Moraxella spp.</i>	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>
4	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Moraxella spp.</i>
5	<i>Sphingomans sp.</i>	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
6	-	<i>Flavimonas oryzihabitans</i>	<i>Chryseobacterium indologenes</i>
7	-	-	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
8	-	-	<i>Brevundimonas vesicularis</i>

Characterizing the Microbiota of a Pharmaceutical Water System-A Metadata Study, Tim Sandle (2015)



ФАРМАКОПЕЙНЫЙ ШТАММ

- Имеет установленную скорость восстановления на питательных средах
- Стабильные и известные характеристики
 - Известная степень устойчивости к консервантам и дезинфектантам
- Предсказуемая степень устойчивости к условиям окружающей среды

ПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ ИЗОЛЯТ И ДОМАШНИЙ ШТАММ

- Неизвестная скорость восстановления на питательных средах
 - Нестабильные и малоизученные характеристики культуры
- Неустановленная степень устойчивости к консервантам и дезинфектантам
- Неустановленная степень устойчивости к условиям окружающей среды

РАЗНИЦА МЕЖДУ ФАРМАКОПЕЙНЫМИ ШТАММАМИ, ПРОИЗВОДСТВЕННЫМИ ИЗОЛЯТАМИ И ДОМАШНИМИ ШТАММАМИ В БИОВАРИАНТЕ



Пример разницы результатов идентификации:

St. epidermidis:

Эталонный штамм - 030000076620211

Домашний штамм - 070400076621211

Производственный изолят - 000000072420211

Bacillus cereus:

Эталонный штамм - 0261004411566611

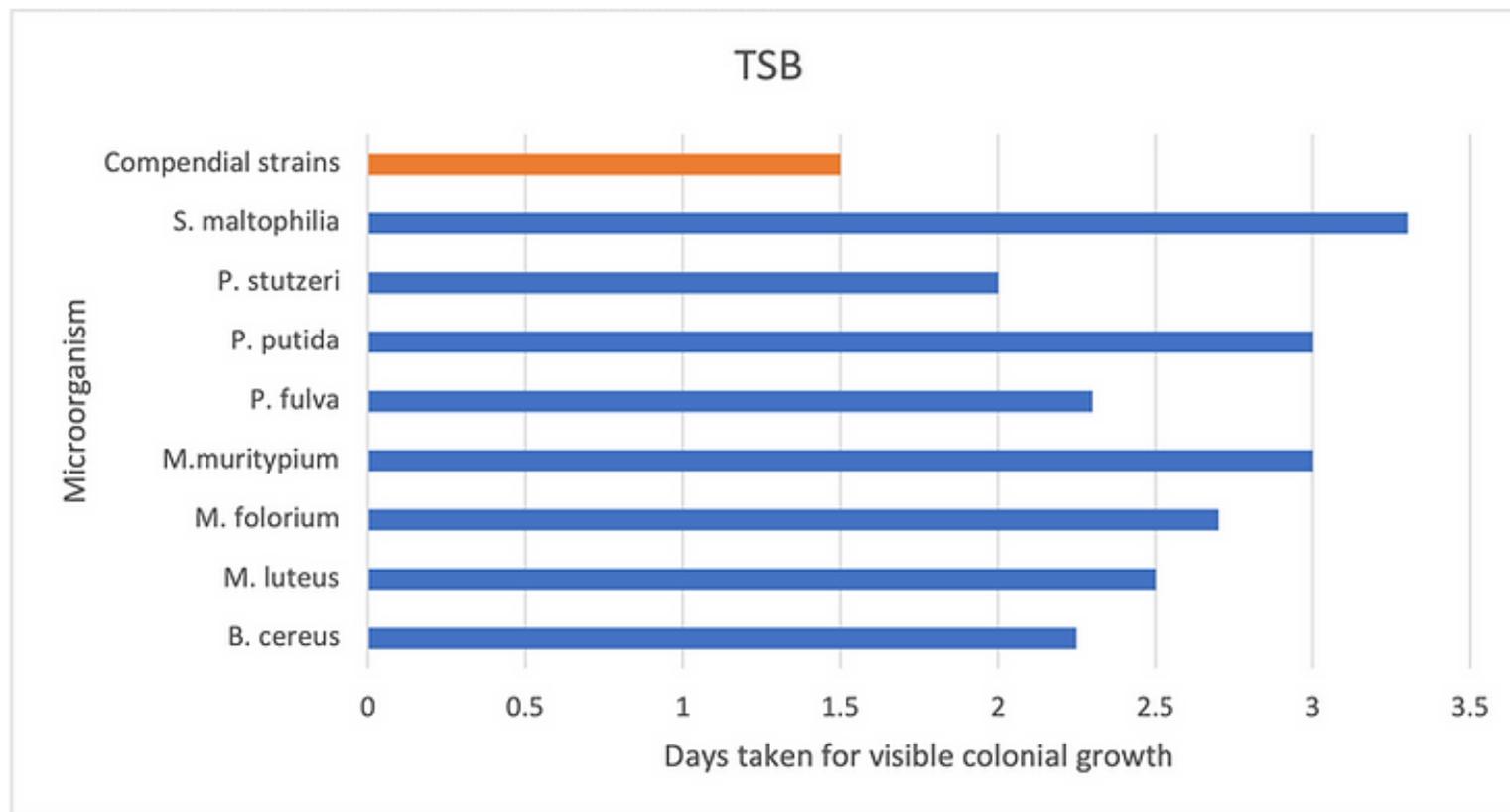
Домашний штамм - 4327101144456661

Производственный изолят - 0266001144456621

Полученные результаты вследствие идентификации с помощью автоматического анализатора микроорганизмов, который может дифференцировать по биоварианту исследуемые культуры микроорганизмов.

Биовариант микроорганизма (биовар, биотип) — внутривидовая систематическая категория, разновидность штамма прокариот, которая отличается от других штаммов внутри определённого вида биологическими свойствами.

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ И ДОМАШНИХ ШТАММОВ

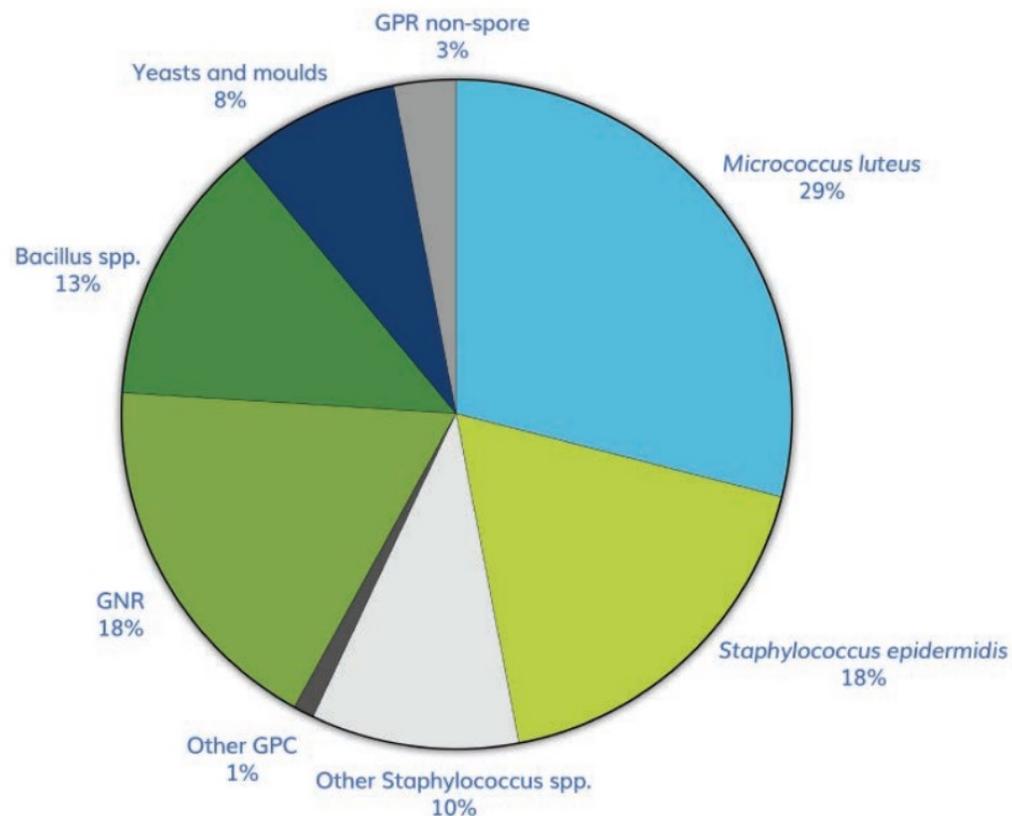


Examination of the growth rates of environmental isolates compared with compensial strains, Tim Sandle (2022)

Исследования показывают, что **изоляты, выделенные из окружающей среды, имеют меньшую скорость восстановления в сравнении с коллекционными тест-штаммами.**

- Для тестирования **ростовых свойств питательных сред**
- Для проведения тестов на **антимикробные свойства**
- Для проведения испытаний на **эффективность дезинфицирующих средств**
- Для валидации и верификации **производственных и лабораторных процессов**, наравне с эталонными штаммами

ПРИМЕНЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ИЗОЛЯТОВ И ДОМАШНИХ ШТАММОВ



Мировые производства при формировании банка производственных изолятов и домашних штаммов пользуются услугами компаний-производителей тест-микробов для депонирования собственных образцов в формат готовых к использованию культур с известным количеством КОЕ*.

*КОЕ – колониобразующая единица микроорганизмов

Распределение производственных изолятов, преобразованных в формат BIOBALL® (2019–2023).

Role of in-house isolates in pharmaceutical quality control, Dr Megha Baja; European Pharmaceutical Review (2023)

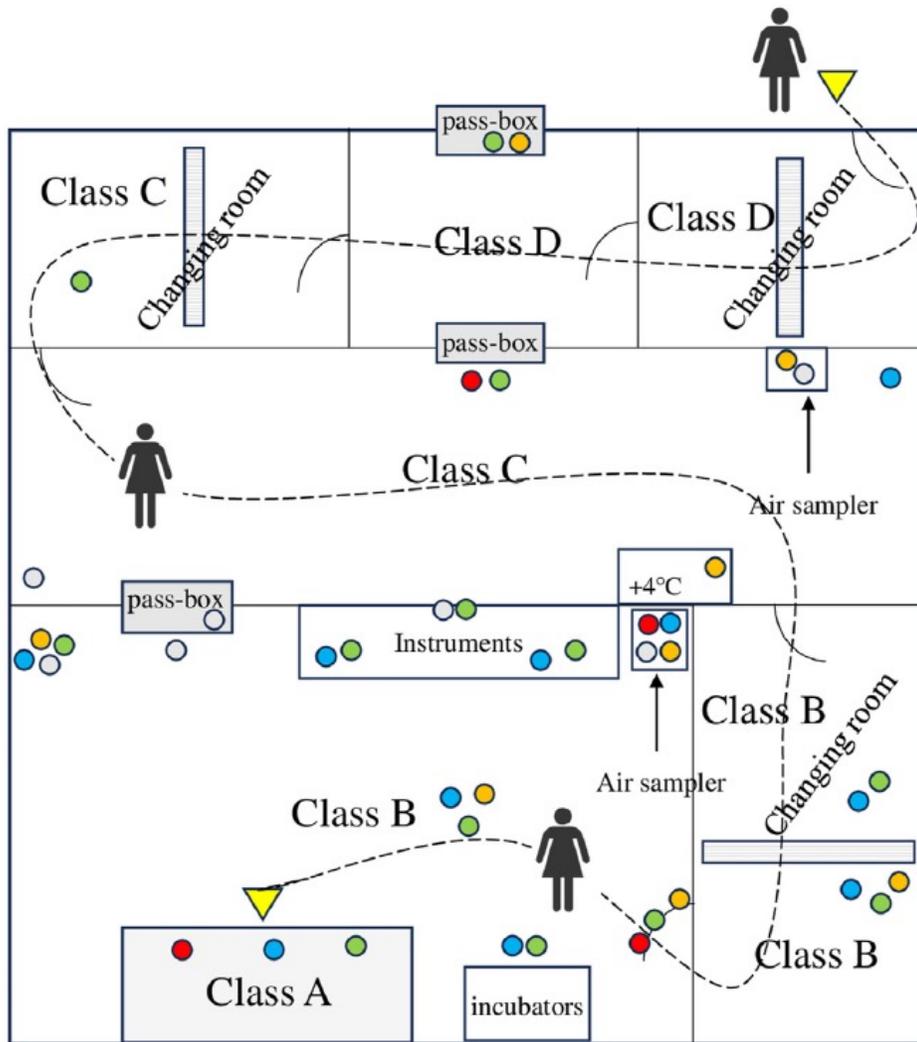
СОЗДАНИЕ БАЗЫ ДАННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ЧИСТЫХ ПОМЕЩЕНИЙ



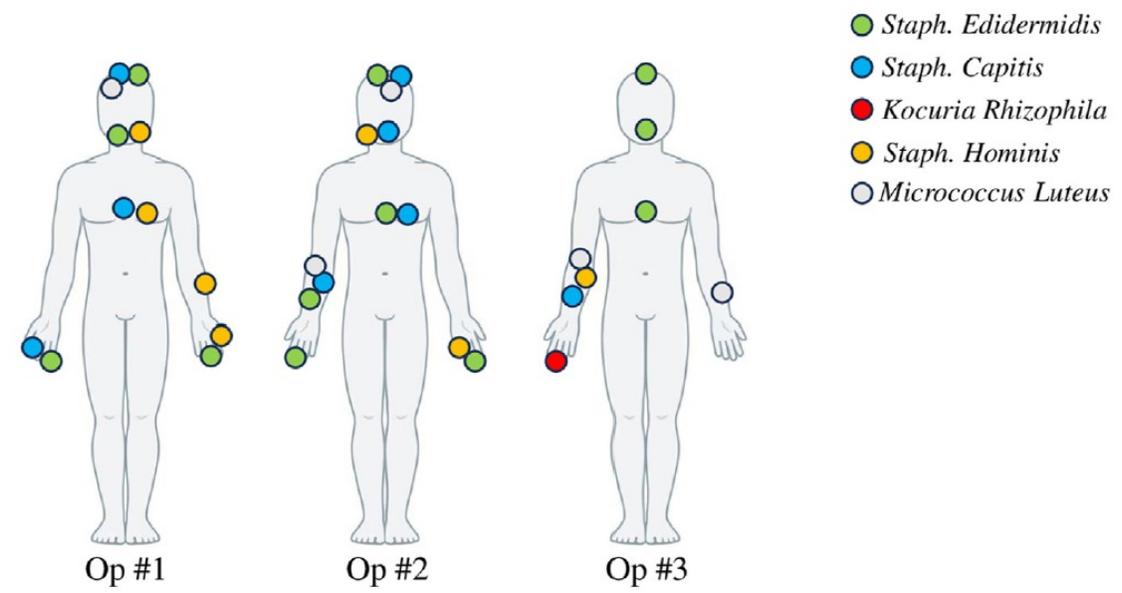
Genus/Species/Strain	Кислород	Реакция на окраску по Граму	Форма	Споры	Источник выделения
<i>Achromobacter denitrificans</i>	Аэробы	Отрицательная	Палочки	нет	*****
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Аэробы	Отрицательная	Коккобациллы	нет	*****
<i>Acremonium spp.</i>	Аэробы	н/п	Гифы	Да	*****
<i>Aeribacillus pallidus</i>	Аэробы	Положительная	Палочки	Да	*****
<i>Aeromonas salmonicida</i>	Факультативно-анаэробный	Отрицательная	Палочки	нет	*****
<i>Aeromonas sobria</i>	Факультативный анаэроб	Отрицательная	Палочки	Нет	*****
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Аэробный	Отрицательная	Палочки	Нет	*****
<i>Alcaligenes faecalis</i>	Облигатный аэробы	Отрицательная	Палочки	нет	*****
<i>Alcaligenes xylosoxidans</i>	Облигатный аэробы	Отрицательная	Палочки	нет	*****
<i>Alicyclobacillus acidocaldarius</i>	Аэробы	Положительная	Палочки	Да	*****
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i>	Аэробы	Положительная	Палочки	Да	*****
<i>Alloiococcus otitis</i>	Аэробы	Положительная	Коккобациллы	нет	*****
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	Аэробы	н/п	Гифы	Да	*****
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Аэробы	н/п	Гифы	Да	*****

Для понимания всей картины контаминации чистых помещений – необходимо создание собственной базы результатов идентификации результатов мониторинга для разделения на производственные изоляты и домашние штаммы.

КАРТИРОВАНИЕ ТОЧЕК ВЫЯВЛЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ



Визуальное и табличное картирование позволяет **выявлять** проблемные точки на предприятии и **определять** пути распространения микроорганизмов.

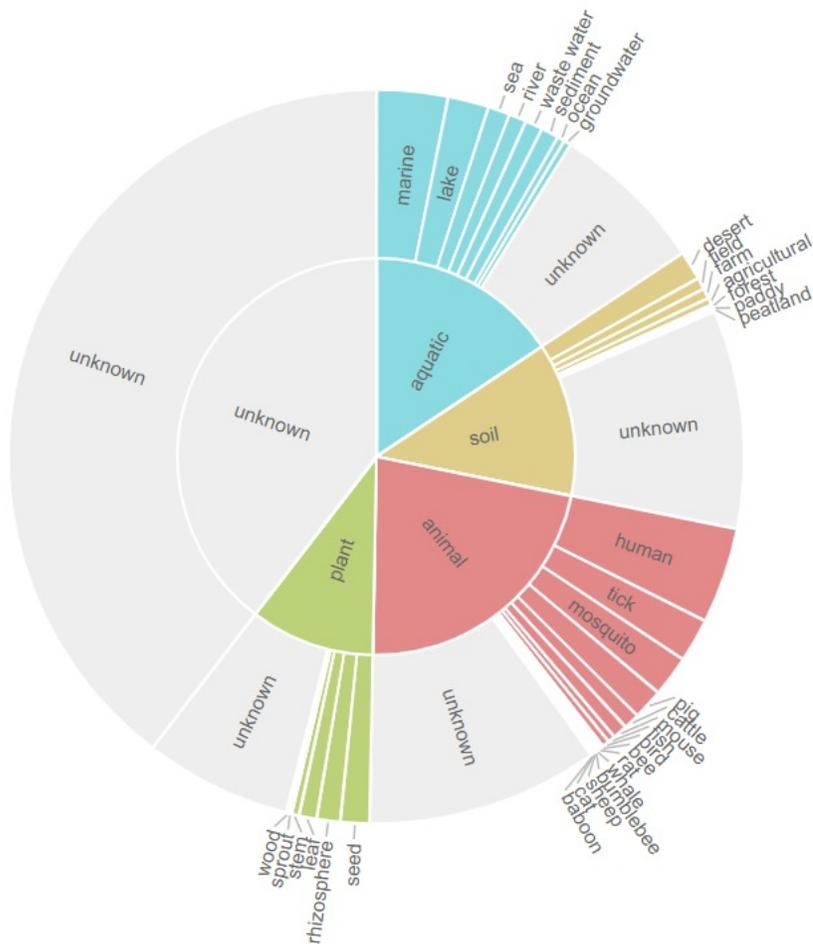


Microbes identified from monitoring cell manipulations in 5-year life of the Cell Factory G. Gaslini Fabio Morandi, Martina Della Lastra et. AlI (2024)

АНАЛИЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИСТОЧНИКОВ НА ПРИМЕРЕ: SRINGOMONAS RAUCIMOBILIS



Environments



aquatic: 244 samples (15.70%)

- marine: 49 (3.14%)
- lake: 28 (1.80%)
- sea: 15 (0.96%)
- river: 12 (0.77%)
- waste water: 12 (0.77%)
- sediment: 12 (0.77%)
- ocean: 5 (0.32%)
- groundwater: 5 (0.32%)

animal: 345 samples (22.10%)

- human: 66 (4.23%)
- tick: 30 (1.92%)
- mosquito: 28 (1.80%)
- pig: 21 (1.35%)
- cattle: 11 (0.71%)
- mouse: 10 (0.64%)
- fish: 5 (0.32%)
- bird: 5 (0.32%)

soil: 195 samples (12.50%)

- desert: 20 (1.28%)
- field: 8 (0.51%)
- farm: 7 (0.45%)
- agricultural: 5 (0.32%)
- forest: 2 (0.13%)
- paddy: 2 (0.13%)
- peatland: 1 (0.06%)

plant: 158 samples (10.10%)

- seed: 20 (1.28%)
- rhizosphere: 16 (1.03%)
- leaf: 12 (0.77%)
- stem: 5 (0.32%)
- sprout: 2 (0.13%)
- wood: 2 (0.13%)
- unknown: 101 (6.40%)

unknown: 617 samples (39.60%)

- unknown: 617 (39.60%)

ПРОЦЕНТЫ ПО РАЗНЫМ ГРУППАМ ПАТОГЕННОСТИ



Приблизительно
200 видов

54 семейства

Бактерии

93,17%

Грибы

6,83%

Палочки

23,60%

Кокки

69,57%

Споровые

29,81%

Учитывая условия в чистых помещениях, используемые дезинфектанты, оборудование - список изолятов, которые могут обитать в чистых помещениях, оценивается **в несколько сотен видов.**

Создание базы идентификации с делением на производственные изоляты и домашние штаммы, а также понимание их распространения в чистых помещениях позволяет:

- **Определить источник контаминации, что важно при расследовании отклонений**
- **Позволяет выявить контаминацию, потенциально опасную для производственного процесса или для человека**
- **Даёт возможность составить более полную картину состояния производства**
- **Углубляет понимание производственных процессов и их слабых сторон**
- **Позволяет проводить качественный анализ рисков**
- **Сокращает расходы производства, связанные с контаминацией АФС, готовых ЛС**



**БЛАГОДАРЮ ВАС
ЗА ВНИМАНИЕ!**

ГОЛУБЕВ ИЛЬЯ СЕРГЕЕВИЧ



**X Всероссийская
GMP-конференция**