

Counting, Detecting and identifying microorganisms

Chapter 15&18

Key Facts

- **Bioburden**: the number and type of microorganisms (MO) present in or on a pharmaceutical raw material, medicine, or medical device
- **Pharmacopeias describe procedures for:**
 - Procedures for counting microorganisms
 - Procedures for confirming the absence of named objectionable MO
 - Specifications for the max permitted levels of bacteria and fungi for the different categories of **nonsterile medicine**
 - Requirements for the absence of one or more of the major objectionable MO: **E.coli, Salmonella species, Staph aureus, Pseudomonas aeruginosa, and Candida albicans**

Bioburden: عبء حيوي

وهو عبارة عن (عدد) و(نوع) المخلوقات الدقيقة الموجودة في أو على المواد الخام التي بصنع منها الأدوية، أو الأدوية بشكلها النهائي، أو الأجهزة التي يستخدمها طبيا مثل السرنجات وابر الأنسولين والشبكات.

الفارماكوبيا أو دستور الأدوية بتعطيني وصف لكيفية عمل عدّ للمخلوقات الدقيقة، والتأكد من عدم وجود بعض الـ MO داخل مستحضر معين (ممنوع تكون موجودة فيه) ، كم مسموح يكون عندي MO داخل المستحضر في حال ما كان sterile لانه المستحضر المعقم ممنوع تكون فيها اي بكتيريا .

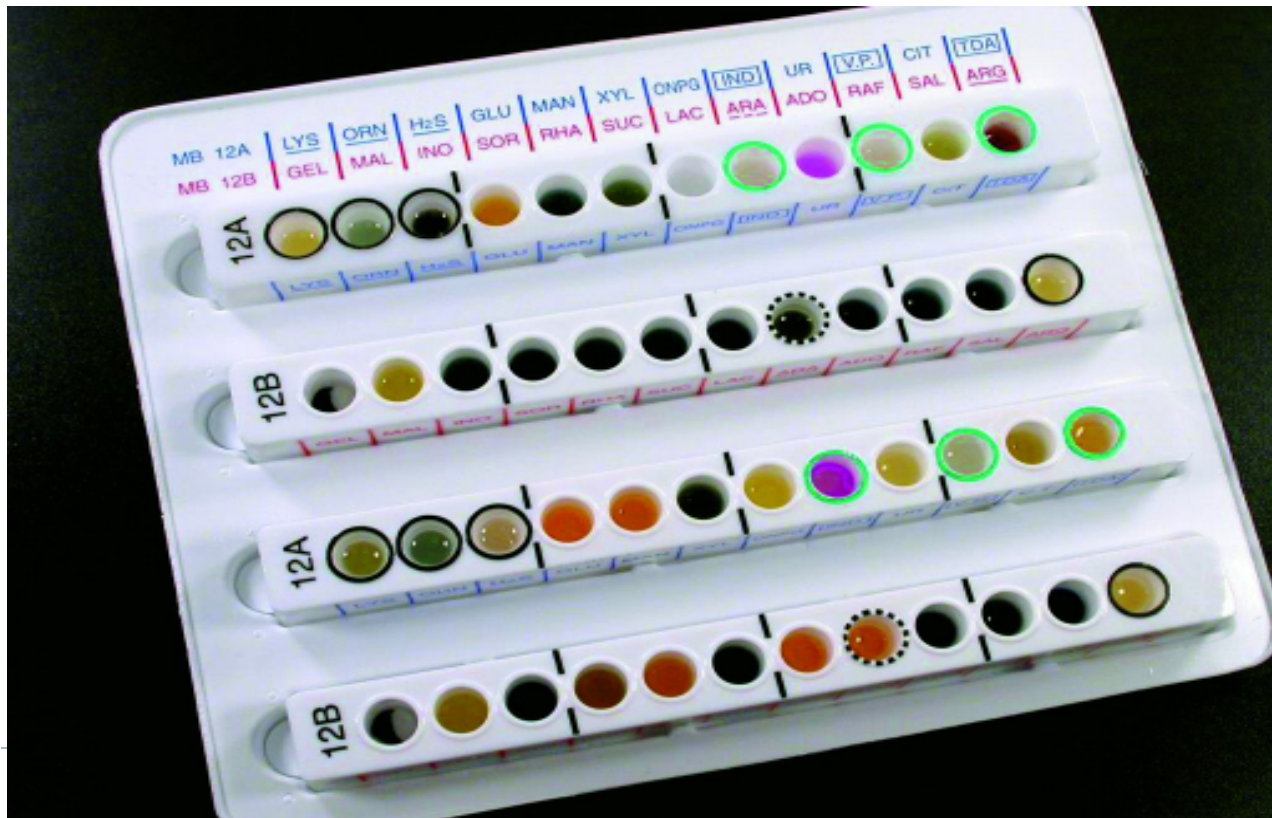
مثلا عندي ال vaginal products ممنوع تكون فيها candida يعني ممكن nonsterile بس ممنوع يكون فيها نوع محدد من الـ MO

وبرضه ممكن يكون sterile product زي قطرة العين بس برضه ممنوع يكون فيها Pseudomonas aeruginosa لانها رح تسبب عمى

Key Facts

- Commercially available test kits and automated instruments are available for identifying different categories of bacteria and yeasts

بستخدموا هاي الأجهزة لتسهل عليهم
عمل كشف عن ال MO وأنواعها



Key Facts

معترض عليه (غير مسموح)

□ Objectionable:

- Because it is a **pathogen** so its presence in a medicine may cause an infection (E.coli & Staph aureus are pathogens □ health hazards) وجودهم بالأكل ليسبب تسمم
- Its presence may be indicative of poor-quality raw materials or poor manufacturing procedures

يعني البكتيريا سبب وجودها إما تلوث المواد الخام أو خلل بطريقة الصنع

Gelatin: test for absence of E. coli and Salmonella

هاد مثال ٨٨

Bioburden

- Determination of bioburden quantitatively: ^{يعني بنعد} to count the organisms present □ Total Viable Count (TVC)
- Bioburden test □ the most common microbiological test undertaken in the pharmaceutical industry:
 - Raw material (including water) ^{هاد أكثر تيست مستخدم في MICROBIOLOGICAL industry}
 - Finished products
 - Various stages during manufacturing process

مش بس أول خطوة وآخر برودكت بعملهم تيست
كمان لازم خلال مراحل التصنيع اخذ عينات وأحللهم كويس
عشان أتأكد من عدم وجود MO

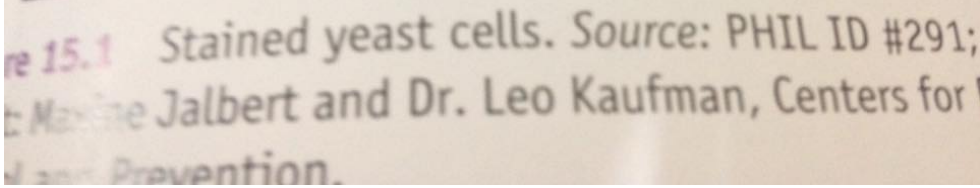
Traditional counting methods:

- Place a sample of the material to be tested onto or into gelled culture medium in a petri dish (plate) and counting the visible colonies that arise after incubation
- A single colony may develop from an individual cell or from a group of cells attached or clumped together □ count is expressed as colony forming unit (CFU) and not cells per ml or gram
- USP states that petri dishes containing between 25-250 colonies produce reliable bioburden results
- **High Bioburden materials:** اي شي مصدره طبيعي بتكون bioburden تبعه كبيرة
 - Mined minerals (talc, kaolin, bentonite)
 - Vegetable origin (starches, gums, thickening agents)
 - Animal origin (gelatin)



بعمل زراعة داخل petri dish وبحط العينة إما على سطحه أو جواته، وبعدين يحطه داخل incubater بدرجة حرارة معينة مناسبة لنمو MO ، رح تطلع colony اللي هي مستعمرات بتكون مجموعة خلايا بلزق بعض وبكون مصدرهم إما خلية وحدة وتكاثرت او أكثر من خلية تكاثرت، والمطلوب إنه نعد هاي المستعمرات (مش الخلايا) لأنه أنا ما بعرف مصدر المستعمرة بالزبط

لو عدد المستعمرات طلع عندي مثلا ٤٠٠ فلازم أعمل تخفيف للعينة لبينما يطلع عندي عدد بين 25_250 عشان أقدر احدد منه ال bioburden،



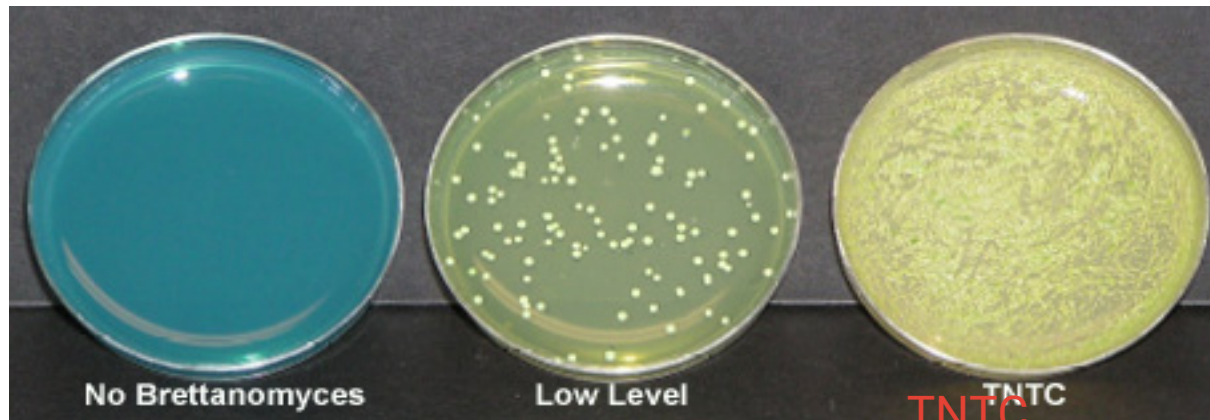
ضروري لما أعد أستخدم مصطلح CFU مش cells
لأنه زي مو شايفين بالصورة إحنا ما عنا عدد محدد
من الخلايا + احنا بدون الصبغة رح نشوف بس
مستعمرات مش خلايا.

Traditional counting methods

- Dilution is necessary for material with a high bioburden, why?

to achieve a countable number of colonies on the plate

Perform a series of dilution (tenfold increments)



ما فيه MO

اقل من 250 مقبول

يعني ما too numerous to count
بغلب حالي وبعده عشان هيك لازم
dilution اعمل

sarah khader



Artery Academy