Original Article

Iranian Journal of Medical Microbiology

Iran J Med Microbiol: Volume 8, Number 4 (12-2014)

Journal homepage: www.ijmm.ir

Identification of Microbial Agents Indifferent Parts of the Gastric Juice Company

Rohollah Hosseyni[1], Ali Raefi[1], Masoud Hashemi Karoyi[2], Ayatollah-Nasrollahi Omran[1],

1. Department of Microbiology, Faculty of Biology Sciences, Islamic Azad University of Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran
2. Department of Microbiology, Faculty of Biology Sciences, Islamic Azad University of Babol Branch, Babol, Iran

Article Information

Article history:
Received:2014/03/26
Accepted:2014/05/12
Available online:2014/12/29

Article Subject:
Antimicrobial Substance

IJMM 1393; 8(4): P 44-49

Corresponding author at:

Mr. Ali Raefi

Department of Microbiology, Faculty of Biology Sciences, Islamic Azad University of Tonekabon Branch, Tonekabon, Iran.

Email:
alito.raefi@yahoo.com

Abstract

Background and Aim: The main principle of ensuring the health and pharmaceutical medicine.In accordance with its combination of drugs can be the perfect environment for growth of microorganisms.The aim this research was to identify microorganisms in raw materials, water and environment, and other antimicrobial disinfectant effect of in eliminating them.

Materials and Methods: In this descriptive study, 5 step 52 series production of gastric juice manufacturing factory sampling was performed before and after sterilization.Plate count method was used to measure microorganisms. If there is contamination of the culture media and biochemical tests for the detection of specific microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *E.coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger* and Salmonella spp. were used.

Results: The result showed that Micrococcus in 3 cases, 2 cases of Serratia spp., *Bacillus subtilis*, in two instances, in one instance, Salmonella spp., *S. aureus* and *A.niger* in one sample were present in one sample.

Conclusions: The experiments showed that the infected samples 19.2% are. 13.5%, which includes microorganisms, non-pathogenic, with over 100 CFU/ml are 5/7% of the sample remained, including microorganisms, virulence such as *S. aureus*, 1.1%, Salmonella 1.1% the *A.niger* and 1.1% respectively.

Key Words: Micrococcus, Cultured,Colony Counting, Pharmaceuticals

Copyright © 2014 Iranian Journal of Medical Microbiology. All rights reserved.

How to cite this article:

Hosseyni R, Raefi A, Hashemi M, Nasrolahi omran A. Identification of Microbial Agents Indifferent Parts of the Gastric Juice Company. Iran J Med Microbiol. 2014; 8 (4) :44-49

مقاله پژوهشی

مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران

سال ۸ – شماره ۴ – زمستان ۱۳۹۳

Journal homepage: www.ijmm.ir

شناسایی عوامل میکروبی موجود در بخش‌های مختلف شرکت تولید شربت معده

روح ا... حسینی[۱]، علی رائفی[۱]، مسعود هاشمی کروئی[۲]، آیت‌الله نصرالهی عمران[۱]

۱. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران.
۲. گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بابل، بابل، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخچه مقاله
دریافت:۱۳۹۳/۰۳/۲۶
پذیرش:۱۳۹۳/۰۵/۱۲
انتشار آنلاین:۱۳۹۳/۱۰/۱۰
موضوع:
مواد ضد میکروبی

IJMM 1393; 8(4): P 44-49

نویسنده مسئول:
آقای علی رائفی

گروه میکروب‌شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، تنکابن، ایران

تلفن: ۰۹۱۱۶۶۳۷۵۳۲

پست الکترونیک:
alito.raefi@yahoo.com

چکیده

زمینه و اهداف: مهم‌ترین اصل در داروسازی حصول اطمینان از سلامت دارو است. داروها متناسب با عوامل ترکیبی خود می‌توانند محیط مناسب برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های گوناگون باشند. هدف از این تحقیق شناسایی میکروارگانیسم‌های مواد اولیه ، آب و محیط اطراف و از طرف دیگر بررسی تأثیر ضد میکروبی مواد ضدعفونی کننده در حذف آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش کار: در این مطالعه توصیفی از ۵ مرحله ۵۲ سری تولید کارخانه تولید شربت معده قبل و بعد از ضدعفونی کردن نمونه‌برداری انجام گردید.از روش شمارش در پلیت برای اندازه‌گیری میکروارگانیسم‌ها استفاده شد. در صورت وجود آلودگی از محیط کشت‌های اختصاصی و تست‌های بیوشیمیایی برای تشخیص میکروارگانیسم‌هایی مثل *استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیا کلی، سودوموناس آئروژینوزا ،آسپرژیلوس نایجر* و گونه های *سالمونلا* استفاده گردید

یافته‌ها: نتیجه آزمایش‌ها نشان داد که میکروکووس در ۳ نمونه، *سراشیا* در ۲ نمونه، *باسیلوس سوبتیلیس* در ۲ نمونه، *سالمونلا* در ۱ نمونه، *استافیلوکوکوس اورئوس* در ۱ نمونه و *آسپرژیلوس نایجر* در ۱ نمونه حضور داشتند .

نتیجه‌گیری: آزمایش‌ها نشان داد نمونه‌های آلوده ۱۹/۲٪ می‌باشند. ۱۳/۵٪ از آن‌ها شامل میکروارگانیسم‌های غیر بیماری‌زا، با بیش از CFU ۱۰۰ در هر میلی‌لیتر می‌باشند. ۵/۷٪ از نمونه‌های باقی‌مانده شامل میکروارگانیسم‌های بیماری‌زایی مانند *استافیلوکوکوس اورئوس* ۱/۱٪ ، *سالمونلا* ۱/۱٪ و *آسپرژیلوس نایجر* ۱/۱٪ بوده‌اند.

کلمات کلیدی : میکروکوک، کشت، کلنی کانت، داروسازی

کپی‌رایت ©: حق چاپ، نشر و استفاده علمی از این مقاله برای مجله میکروب‌شناسی پزشکی ایران محفوظ است.

مقدمه

تولید فراورده‌های داروئی با کیفیت مطلوب و اطمینان از سلامت و اثر بخشی آن‌ها نیاز به استقرار سیستم تضمین کیفیت را در هر سازمان یا واحد تولیدی الزامی ساخته است. نیاز به شرایط پاک و تا حد امکان عاری از میکروب به دنبال نیاز به فرآورده‌های استریل در جوامع شکل‌گرفته است. به طوری که همراه با پیشرفت‌های علمی به خصوص در زمینه حفظ بهداشت و کنترل و مهار انواع بیماری‌ها نیاز به ابزار و شرایط برای دستیابی به این هدف گسترش یافته است. مهم‌ترین دستور کار صنعت داروسازی حصول اطمینان از سلامت دارو می‌باشد، از همین رو نقش شناسایی عوامل میکروبی در داروها حائز اهمیت می‌باشد. داروها هر یک متناسب با عوامل ترکیبی آن می‌توانند محیط مناسب برای رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های گوناگون باشند. وجود میکروارگانیسم‌ها در دارو ممکن است سبب آلودگی بیماران به میکروارگانیسم بیماری‌زا و ایجاد عفونت و همچنین سبب تغییرات فیزیکوشیمیایی، کاهش پایداری، پیدایش اثرات نامطلوب، بوی ناخوشایند و بدرنگ شدن فرآورده‌ها گردد (۱).

فرآورده‌های داروئی نباید به میکروارگانیسم‌های مثل *اشریشیا کلی، سالمونلا، سودموناس آئروژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس* آلوده باشند چراکه صورت داروی مورد نظر از لحاظ میکروبی قابل مصرف نمی‌باشد (**۲و۳**). مسئله مهم در کارخانه‌های داروسازی برای ساخت فرآورده‌های استریل مطمئن شدن از عدم وجود میکروارگانیسم در محصول می‌باشد. اگر محصول به طور انتهایی استریل شود این مسئله نسبتاً ساده می‌باشد. اما اگر این امر امکان‌پذیر نباشد آلودگی محصول اجتناب‌ناپذیر خواهد بود. آلودگی میکروبی به طرق مختلف وارد محصول و باعث آلودگی تولیدات نهایی می‌گردد (**۳و۴**). بدون تردید خطرناک‌ترین اثرات آلودگی مربوط به فرآورده‌های تزریقی می‌باشد، زیرا در مورد فرآورده‌هایی که مستقیماً به بدن واردشده، راه‌های دفاعی بدن مانند پوست، مخاط و دستگاه گوارش قادر به مقاومت نمی‌باشند و مصرف این‌گونه فرآورده‌ها ممکن است عامل عفونت در محل تزریق و یا عفونت‌های باکتریایی عمومی و مرگ باشد (**۵**). با توجه به اعلام مبنی بر خودکفا بودن کشور در تولید اکثر داروها لزوم تحقیق در زمینه کنترل آلودگی میکروبی محصولات داروئی و سلامت آن‌ها احساس شد. حد مجاز آلودگی میکروبی در ماده اولیه شربت معده $Al(OH)_3$ و $Mg(OH)_2$ به ترتیب CFU ۱۰۰> و CFU ۴۰۰> می‌باشد. و داروی مورد نظر باید عاری از *استافیلوکوکوس اورئوس، اشریشیاکلی*، سودوموناس و سالمونلا باشد در غیر این صورت محصول غیرقابل مصرف می‌باشد (**۶**). فرایند تولید ماده اولیه شربت معده در ۵ مرحله شامل الف) مخلوط نمودن مواد خام سولفات آلومینیوم و کربنات سدیم داخل راکتور واکنش اول. ب) اضافه نمودن مقداری آب به آن تا کاملاً به حالت محلول درآید. ج) انتقال آن به‌وسیله پمپ به راکتور واکنش دوم و اضافه نمودن آب به آن .د) انتقال به فیلتر پرس که به صورت کیک جامد سفید درمی‌آید. ذ) انتقال به هموژن توسط ظرف انتقال‌دهنده و اضافه نمودن آب اسمز معکوس (Reverse Osmosis) تا محصول یکنواخت خمیری شکل و با درصد خلوص معین به دست آید. محصول نهائی آلومینیوم هیدروکسید هموژن است. هدف از این تحقیق شناسایی عوامل میکروبی در بخش‌های مختلف خط تولید شربت معده $AL(OH)_3$ و $Mg(OH)_2$، تعیین میزان آلودگی در نمونه‌ها، شناسایی شایع‌ترین میکروارگانیسم‌ها و همچنین تأثیر مواد ضدعفونی‌کننده مختلف در حذف آن‌ها می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نوع مطالعه توصیفی و نمونه‌گیری به روش غیر تصادفی بود. در اردیبهشت ۹۳ از ۵۲ سری تولید (Batch) در ۵ مرحله از خط تولید شرکت سازنده شربت معده عمل نمونه‌برداری انجام گرفت. نمونه‌گیری از مراحل اول تا پنجم به ترتیب به‌طور جداگانه از ماده خام سولفات آلومینیوم و کربنات سدیم، ترکیبات داخل راکتور، آب مصرفی، ماده جامد (کیک سفیدرنگ) و با سوآپ از جداره داخلی ظرف انتقال‌دهنده (ترولی)، ماده آلومینیم هیدروکسید $Al(OH)_3$ داخل هموژن و آب مصرفی صورت گرفت، همچنین از محیط اطراف با عمل سوآپ کشی و پلیت گذاری نمونه تهیه شد(**۷و۸**). پس از ضدعفونی کردن محیط توسط پرمنگنات پتاسیم و فرمالین و مه پاشی با الکل ۷۰٪ مجدداً عمل پلیت گذاری و سواپ کشی انجام گردید، ولی در مرحله دوم و چهارم به ترتیب به علت انتقال محلول از طریق لوله‌ها به مرحله ۳ و محصول در داخل هموژن در بسته نیازی به پلیت گذاری نبوده است. الف) نمونه مورد آزمایش را با توجه به ماهیت آن با کمک یک مایع مناسب مانند بافر فسفات با اسیدیته ۷/۲، محلول بافر شده کلرید سدیم – پپتون با اسیدیته ۷/۰، محیط مایع سوی بین – کازئین دایجست یا در صورت لزوم با محیط سوی بین – کازئین دایجست پلی سوربات ۲۰ رقیق (مرک، آلمان)، حل و سپس سوسپانسیون تهیه شد، به نحوی که تعداد و نوع میکروارگانیسم‌هایی که از ابتدا در آن حضور داشته‌اند تغییر نکرد. ب) اثر ضد میکروبی فرآورده مورد آزمایش با رقیق‌سازی، خنثی‌سازی یا صاف کردن حذف شد. نمونه آماده‌شده طی یک ساعت مورد آزمایش قرار گرفت (**۹**). مواد جامد و غیرقابل انحلال به‌صورت پودر نسبتاً نرمی درآورده و در حامل پراکنده شدند. سوسپانسیون حاصل به روش مکانیکی همگن گردید (**۱۰**). نمونه‌های جامد نا محلول در آب با کمک عامل فعال در سطح مانند پلی سوربات ۸۰ تسرون به میزان ۱ گرم در لیتر سوسپانسیون تهیه گردید و محصول به روش مکانیکی همگن شد (**۴**). ج) تعیین تعداد کلی میکروارگانیسم‌های هوازی زنده در مواد خام و محصولات نهایی با روش‌های شمارش در پلیت یا لوله متعدد صورت گرفت (**۱۱و۱۲**). در روش شمارش در پلیت، پلیت هایی با قطر ۱۰-۹ سانتی‌متر مورد استفاده قرار گرفت. ۱ میلی‌لیتر از رقت نهایی را به پلیت سترون انتقال داده و بلافاصله به هر کدام ۲۰-۱۵ میلی‌لیتر محیط سوی بین – کازئین

دایجست آگار و در مورد قارچها به محیط سابورود – دکستروز آگار (حاوی آنتی‌بیوتیک) که قبلاً ذوب و تا حدود ۴۵ درجه سلسیوس خنک شده اضافه شد (**۱۳**) نمونه‌ها به مدت ۵ روز در گرمخانه ۳۵-۳۰ درجه سلسیوس در مورد باکتری‌ها و ۲۵-۲۰ درجه سلسیوس برای قارچها قرار داده شد (**۱۴-۱۶**). تعداد کلنی‌ها را شمارش کرده و میانگین دو پلیت را در عکس فاکتور رقت ضرب نموده تا تعداد میکروارگانیسم‌ها در هر گرم یا میلی‌لیتر نمونه به دست آید. تست‌های بیوشیمیایی و افتراقی برای تشخیص و شناسایی میکروارگانیسم‌های جداشده از بخش‌های مختلف بکار برده شد.

اعداد به دست آمده مربوط به هر نمونه را با میزان استاندارد مقایسه شد که طبق ضوابط کتاب مرجع داروسازی آمریکا (USP) و وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی ایران، نباید بیشتر از ۱۰۰ میکروارگانیسم بیماری‌زا در هر گرم از نمونه آلومینیم هیدروکسید باشد و در صورتی که بیشتر از ۱۰۰ بود نمونه را غیرقابل مصرف اعلام شد (**۴**).

یافته‌ها

پس از انجام آزمایش میکروبی شمارش در پلیت و تست‌های تشخیصی که بر اساس USP بر روی نمونه‌های ۵ مرحله از ۵۲ سری تولید آلومینیوم هیدروکسید (ماده اولیه شربت معده) نتایج ۵ مرحله شامل: ۱. سولفات آلومینیوم و کربنات سدیم ۲.ترکیبات داخل رآکتور و آب مصرفی اصلی ۳.آزمایش نمونه ماده جامد (کیک سفید) ۴.ظرف انتقال‌دهنده (ترولی) ۵.محصول داخل هموژن و آب مصرفی اسمز معکوس نشان داد که در مرحله اول هیچ میکروارگانیسمی مشاهده نشد و آلودگی میکروبی شامل ۲ سراشیا و یک سالمونلا در مرحله دوم و۲ میکروکوکوس، ۱ *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۱ *آسپرژیلوس نایجر* در مرحله سوم و ۲ باسیلوس *سوبتیلیس* در مرحله چهارم و در مرحله پنجم ۱میکروکوکوس شناسایی شد. میکروارگانیسم‌های آلوده کننده جدا شده با پلیت گذاری و سوآپ کشی قبل و بعد از ضدعفونی کردن توسط فرمالین و پرمنگنات پتاسیم طی مراحل مختلف شناسایی و مشخص شدند.

آلودگی هوای فضای بسته‌بندی در آلودگی محصول در هنگام بسته‌بندی نقش نداشته، اما آلودگی جداره داخل ظرف بسته‌بندی باعث آلودگی محصول نهایی شده است. با پلیت گذاری قبل و بعد از عمل ماده ضدعفونی‌کننده (مه پاشی با الکل ۷۰٪) در سالن تولید نشان داده‌شده است که به‌طور متوسط میکروکوکوس از تعداد ۹ به ۳ و قارچ *آسپرژیلوس نایجر* از تعداد ۱۲ کلنی به ۸ کلنی کاهش پیدا کرد. بررسی و آنالیز میکروبی ۵ مرحله از ۵۲ سری تولید داروی آلومینیم هیدروکسید ۴۲ سری از تولید (۸۰/۸٪) هیچ میکروارگانیسمی جدا نگردید اما از ۱۰ سری تولید باقی‌مانده (۱۹/۲٪) تعداد میکروارگانیسم بیش‌تر از ۱۰۰ CFU را دارا بوده‌اند. در ارتباط با عوامل بیماری‌زا، از کل نمونه‌های غیرقابل‌مصرف ۳ نمونه (۵/۷٪) حاوی میکروارگانیسم بیماری‌زا بوده‌اند، که شامل *استافیلوکوکوس اورئوس*، *سالمونلا* و *آسپرژیلوس نایجر* بود در صورتی که هیچ نمونه‌ای حاوی *اشریشیاکلی* و سودوموناس نبودند. ۷ نمونه (۱۳/۵٪) دیگر شامل میکروارگانیسم‌های مثل ۳ نمونه *میکروکوک* (۵/۷٪)، ۲نمونه *باسیلوس سوبتیلیس* (۳/۸٪) و ۲ نمونه *سراشیا* (۳/۸٪) به عنوان پاتوژن فرصت طلب محسوب می شوند.

بحث

اهمیت تولید و مصرف بالای داروی شربت معده که در داخل کشور به دست متخصصین داخلی فرموله و تهیه می‌گردد ، ما را بر آن داشت که از ماده اولیه این دارو میزان آلودگی میکروبی، نوع میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا، روش‌های کنترل آلودگی میکروبی و ماده ضدعفونی‌کننده مناسب را برای ماده اولیه شربت معده مورد ارزیابی قرار دهیم. شایع‌ترین میکروارگانیسم جداشده میکروکوکوس بوده‌اند (۳ مورد). در بررسی و آنالیز میکروبی از ۲۳ سری تولید داروی منیزیم هیدروکسید هیچ میکروارگانیسمی جدا نگردید است زیرا:

pH ساخت داروی منیزیم هیدروکسید در محدوده ۱۰ بوده که بیشتر میکروارگانیسم‌ها قابلیت رشد در این pH را ندارند.

دمای ساخت داروی منیزیم هیدروکسید در محدوده ۵۵ تا ۶۰ درجه سلسیوس بوده، که باعث عدم رشد خیلی از میکروارگانیسم‌ها شده است.

housseiny و همکاران در مصر بر روی ۱۶۵ نمونه بلعیدنی و ۱۱۵ نمونه پماد پوستی مطالعه نمودند. نمونه‌های خوردنی و پمادهای پوستی به ترتیب ۳۲/۷۵٪ و ۱۹/۱٪ آلودگی را نشان دادند. ۳۰/۸٪ از کل نمونه‌ها به باسیل گرم مثبت آلوده بودند. از ۶۰ نمونه باکتری و ۳۱ نمونه قارچی فقط ۸ (۱۵٪) نمونه بر اساس USP به‌عنوان پاتوژن تلقی شدند. *استافیلوکوکوس اورئوس*

با ۵ نمونه (۵/۵٪) از کرم، ژل، کپسول و شربت جداسازی شد. *اشریشیاکولی* با ۱ (۱/۱٪) و *کاندیدا آلبیکانس* با ۱ (۱/۱٪) از شربت و سودوموناس با ۱ (۱/۱٪) از کپسول جدا گردید (**۱**). به نظر می‌رسد اکثر میکروارگانیسم‌های جداشده در این تحقیق به‌نوعی با عوامل کارکنانی کارخانه در ارتباط باشند یا به عبارتی جز فلور منتقل‌شده کارکنان به بخش تولید باشند. در مطالعه حاضر *استافیلوکوکوس اورئوس* به مراتب کمتری جدا شد.

Seifashour و همکاران در سال ۲۰۱۲ در مصر تحقیقی انجام دادند که نتیجه آن جداسازی ۲۱ میکروارگانیسم بود که شامل ۳۸/۴٪ استافیلوکوکوس، ۲۲/۴٪ میکروکوکوس، *باسیلوس سوبتیلیس* ۳۵٪، *کاندیدا آلبیکانس* ۱/۳٪، کلبسیلا ۱٪، *استنو تروفوموناس* ۰۱٪ و بیشترین درصد مربوط به باسیلوس، استافیلوکوکوس و میکروکوکوس بود (**۱۶**). که در بررسی انجام‌شده ما از ۵۲ سری تولید آنالیز شده ماده اولیه شربت معده از این نظر بیشترین میکروارگانیسم جدا گردیده میکروکوکوس و گونه‌های باسیلوس مشابه هم بوده‌اند اما در بقیه میکروارگانیسم‌ها تفاوت داشته‌اند.

مطالعه گروه میکروبیولوژی کالج پزشکی ناکپور واقع در هند تولید دارویی به شکل قرص مورد آزمایش کنترل کیفی میکروبی قرار گرفت در ۳۵٪ از نمونه‌ها هیچ‌گونه رشد میکروبی ملاحظه نگردید و در ۶۵٪ باقی‌مانده از نمونه‌ها آلودگی نشان دادند که تنها ۱۰ نمونه شدیداً بیماری‌زا بودند که شامل سودوموناس بوده‌اند (**۱۷**). درحالی‌که در بررسی انجام‌شده حاضر از ۵۲ سری تولید آنالیز شده ماده اولیه شربت معده (۱۹/۲٪) از کل سری تولید ما آلوده بوده که تعداد آلودگی پایین‌تری را نشان داد و همچنین از نظر نوع میکروارگانیسم بیماری‌زا هیچ‌گونه آلودگی با سودوموناس جدا نگردید و آلودگی از نوع *استافیلوکوکوس اورئوس* و سالمونلا بوده است که تفاوت عمده و قابل‌توجهی را نشان داد.

هیچ میکروارگانیسمی در مواد خام (سولفات آلومینیوم و کربنات سدیم) وجود نداشت و در سوآپ کشی و پلیت گذاری آلودگی‌هایی مثل میکروکوکوس ها، *استافیلوکوکوس اورئوس*، *باسیلوس سوبتیلیس* و قارچ *آسپرژیلوس نایجر* مشاهده گردید. سنجش بار میکروبی قبل و بعد از گندزدایی با مواد ضدعفونی کننده پرمنگنات پتاسیم و فرمالین نشان‌دهنده کاهش میکروارگانیسم‌ها بود و می‌توان نتیجه گرفت: الف) عملکرد ماده ضدعفونی‌کننده (پرمنگنات پتاسیم و فرمالین) خوب بوده است. ب) آلودگی هوا محوطه و اطراف تأثیری در آلودگی مواد خام نداشته است زیرا pH ۲ در سولفات آلومینیوم و pH ۱۱ در کربنات سدیم اجازه رشد و تکثیر را به میکروارگانیسم‌ها نمی‌دهد.

از آب مصرفی مخازن سالن، میکروارگانیسم‌های سالمونلا و سراشیا، جدا گردید که با میکروارگانیسم‌ها محصول مطابقت داشت. حد متوسط آلودگی آب مصرفی و محصول ۶۰۰CFU بوده است، اما در سواپ کشی آلودگی مشاهده نشد. الف) علت آلودگی این مرحله مربوط به آلودگی آب اصلی (خام) مخازن سالن تولید بوده است و عوامل دیگری غیر آب تأثیری در آلودگی نداشته‌اند. ب) با توجه به درصد بالای آب محصول (۸۲٪) آلودگی‌ها محصول با منشأ آب، بالاترین میزان آلودگی‌ها ۶۰۰ CFU را دارا بودند. ج) بیشترین آلودگی مورد از نظر منشأ آلودگی مربوط به آب مصرفی در تولید بوده است (۴ مورد).

در مرحله سوم ۴ بار آلودگی جدا گردید که شامل ۲ بار میکروکوکوس حدود ۲۰۰ CFU ۱ بار *استافیلوکوکوس اورئوس* حدود ۱۰۰ CFU و ۱ بار قارچ *آسپرژیلوس نایجر* بوده اند. سوآپ کشی از جداره داخلی ظرف انتقال‌دهنده (ترولی) آلودگی میکروکوکی جدا شد که با آلودگی محصول مطابقت داشته است. آلودگی *آسپرژیلوس نایجر* حاصل از پلیت گذاری با آلودگی محصول مطابقت داشته است و این نشان‌دهنده ارتباط زیاد کیک (ماده سفیدرنگ مرحله سوم) با هوای فضای تولید است. الف) آلودگی هوای محوطه سالن تولید بر روی آلودگی این مرحله تأثیرگذار بوده است. ب) آلودگی ظرف انتقال‌دهنده در آلودگی این مرحله نقش داشته است . ج) کارکنان در آلودگی این مرحله نقش دارند، زیرا آلودگی *استافیلوکوکوس اورئوس* به احتمال بالا مربوط به آلودگی کارکنان می‌باشد که وارد کیک‌های مرحله سوم شده است. بیشترین ارتباط مستقیم بین کارکنان خط تولید و محصول در این مرحله می‌باشد. د) سنجش بار میکروبی قبل و بعد از گندزدایی با مواد ضدعفونی‌کننده پرمنگنات پتاسیم و فرمالین نشان‌دهنده کاهش میکروارگانیسم‌ها و عملکرد مناسب ماده ضدعفونی کننده بود.

در مرحله چهارم ۲ بار *باسیلوس سوبتیلیس* جدا گردیده است. آنالیز آب مصرفی اسمز معکوس وجود باسیل گرم مثبت موکوئیدی که با میکروارگانیسم محصول مطابقت داشته است را

ثابت کرد. حد متوسط میزان آلودگی آب مصرفی و محصول برابر CFU ۴۰۰ بوده است. الف) علت آلودگی مربوط به آب آلوده‌ای که از قسمت فیلتر کربنی بخش اسمز معکوس به این مرحله ارسال گردید می‌باشد. ب) نمونه‌برداری با سوآپ، وجود آلودگی میکروکوکوس در اطراف این مرحله را ثابت کرده است که در آلودگی محصول این مرحله تأثیری نداشته است.

در مرحله پنجم ۱ بار میکروکوکوس از محصول نهائی و یا بعد از بسته‌بندی جدا گردید. از سوآپ کشی جداره ظرف بسته‌بندی و پلیت گذاری از اطراف محیط بسته‌بندی آلودگی میکروکوکوس و قارچی جدا گردید. الف) آلودگی جداره داخلی ظرف بسته‌بندی در آلودگی محصول نهایی نقش داشته است. ب) آلودگی هوای فضای بسته‌بندی، در آلوده شدن محصول در هنگام بسته‌بندی نقش نداشته است ج) سنجش بار میکروبی قبل و بعد از گندزدایی با مواد ضدعفونی‌کننده پرمنگنات پتاسیم و فرمالین نشان‌دهنده کاهش میکروارگانیسم‌ها و عملکرد مناسب ماده ضدعفونی‌کننده است. برای اینکه میکروارگانیسم‌های سالن تولید به ماده ضدعفونی‌کننده پرمنگنات فرمالین سازگار نشوند از ماده ضدعفونی‌کننده (مه پاشی با الکل ۷۰٪) استفاده‌شده است. با پلیت گذاری قبل و بعد از عمل ماده ضدعفونی‌کننده (مه پاشی با الکل ۷۰٪) در سالن تولید نشان داده‌شده که به‌طور متوسط میکروکوکوس از ۹ به ۴ کلنی و قارچ *آسپرژیلوس نایجر* از ۱۲ به ۸ کلنی کاهش پیدا کرد. از نظر بیماری‌زایی و منشأ آلودگی می‌توان نتیجه گرفت: (۵/۷٪) میکروارگانیسم‌های جداشده دارای عامل بیماری‌زا *استافیلوکوکوس اورئوس*، سالمونلا و *آسپرژیلوس نایجر* بوده‌اند و (۱۳/۵٪) باقی‌مانده جز عوامل غیر بیماری‌زا، اما با تعداد بیش از CFU ۱۰۰ بوده است. آلودگی محصول با منشأ آب، بیشترین تعداد از آلودگی (۵۰٪) و بالاترین میزان آلودگی CFU ۶۰۰ را دارا بودند. برای گندزدایی منشأ آلودگی آب اسمز معکوس باید از شستشو به روش "بک واش" در هرروز از تولید و برای گندزدایی منشأ آلودگی آب مخازن سالن (اصلی) از هیپو کلرید سدیم PPM ۲۰ استفاده شود. آلودگی محصول با منشأ هوا شامل ۱/۹٪ از کل آلودگی‌ها بوده است که برای گندزدایی هوا از ماده پرمنگنات پتاسیم و فرمالین استفاده شود البته از ماده ضدعفونی‌کننده الکل ۷۰٪ به‌صورت مه پاشی استفاده می‌شود که عملکرد خوبی بر روی قارچ‌ها نداشته است. همچنین آلودگی‌های میکروکوکوسی مربوط به آلوده بودن سطوح وسایل، تجهیزات، دستگاه‌ها و ظروف بسته‌بندی در خط تولید بوده که برای گندزدایی آب، از هیپوکلرید سدیم PPM ۱۰۰ استفاده شود. آلودگی محصول با منشأ کارکنانی شامل ۱/۹٪ از کل آلودگی‌ها بوده است که برای از بین بردن آن باید کارکنان خط تولید نکات بهداشتی پوششی را بر اساس SOP و GMP رعایت کنند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مراتب احترام و قدردانی خود را نسبت به کلیه اعضای هیئت‌علمی گروه میکروب‌شناسی و کارکنان آزمایشگاه میکروب‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن به دلیل همکاری‌های انجام‌یافته در رابطه با اجرای این تحقیق، اعلام می‌دارند.

تعارض منافع:

بین نویسندگان هیچ تعارضی وجود ندارد.

References

1. Housseiny RE,Aboulwafa MM,Elkhatib W,Hassouna N.Recovery and Detection of Microbial Contaminants in some non-sterile pharmaceutical products. J clin microbiol .2013;4(6):736-742.
2. USP. united states pharmacopeia and national formulary 1116 microbiological evaluation of clean rooms and other controlled environments. 2001; 31(2):5240.
3. Clesceri LS, Greenberg AE, Eaton AD. Standard Method for the examination of water and wast-water .20th ed. Washington DC: American Public Health Association: 1998.
4. JimenezL.Microbial diversity in Pharmaceurical product recalls and enmoments .PDA J Pharm Sci Technol. 2007; 61(5):383-399.
5. Pasquaralla C, Pitzurrat O, Savino A. The index of microbial air contamination .J Hosp infect. 2000;46(4):241-256.
6. Lateef A. The microbiology of a pharmaceutical effluent and its public health implications. world j microbiol Biotech. 2004;20(2):167-171.
7. Easter MC. Rapid microbiological methods in the pharmaceutical industry .1rd ed. New York: CRC Press; 2003.

8. Penna VTC, Martins SAM, Mazzola PG. Identification of bacteria in drinking and purified water during the monitoring of a typical water Purification System . Bmc Public health. 2002; 2(13):1-25.

9. Brodner R, Winter J, Scarpino P, Microbiological Methods for Monitoring the Environment: Water and Wastes. EPA-600/B-78/017.Environmental laboratory office of Research and Development.1rd Ed. Cincinnati Ohio: US Environmental Protection Agency;1978.

10. Kastango ES, Douglass K.Quality Assurance for Sterile Products . Intl J Pharma Compd.2001;5(4):246-253.

11. FahlgranC,Hagstorm A, Zwifel UL. Annual Variations in the Diversity,Viability, and origin of airborn Bacteria. Appl Environ Microbiol. 2010; 76(9):3015-3025.

12. Al-mamari A, Al-buryhi M, Al-heggami M, Al-hag S. Identification and sensitivity to Antifungal drug of candida species causing vaginits isolated from valvovaginal infected patients in sanaa city .Der pharma chemical. 2014;6(1):336-342.

13. Murray PR, Baron EJ. Manual Of Clinical Microbiology.9th ed. Washington DC: ASM Press; 2007.

14. Koneman EW. The non-fermentative gram negative bacilli.Color atlas and Textbook of diagnostic microbiology .Koneman EW, Stephan D.A, Elmer WK, William M.J, Paul CS,Washington CW.6th ed.L ippincot:Williams& Wilkins Publisher; Baltimore: 1997. 303-391.

15. Ha TA, Pham T. Study of salmonella ,campylobacter and E.coli contamination in raw food available factories ,schools and hospital canteens in Hanoi , Vietnam. Ann N Y Acad Sci.2006;1081(1):262-265.

16. SeifAshourM.E, SalahMansy M, EssamEissa M.Microbiological Environmental Monitoring in pharmaceutical facility .Acad j biology Sci. 2011;3(1): 63-74.

17. Sandle T.Characterization of microbial contamination in pharmaceutical facilities Global Biopharmaceutical resources. antimicrobial agents and chemiotherapy. 2011;5: 60-89.