

## Дослідження активності антимікробних консервантів в дитячому сиропі на основі соку смородини чорної та етамзилату

О.П.Гудзенко, О.Д.Немятих, К.В.Кулдиркаєва

ДЗ «Луганський державний медичний університет», кафедра технології ліків, організації та економіки фармації  
Луганськ, Україна

Вивчена активність ряду антимікробних консервантів в оригінальному сиропі на основі соку смородини чорної та етамзилату. Встановлено, що введення до складу сиропу сорбінової кислоти в концентрації 0,1% забезпечує належний захист лікарського препарату від мікробної контамінації.

**Ключові слова:** антимікробні консерванти, сироп, сік смородини чорної, етамзилат.

### ВСТУП

Ефективна фармакотерапія вазопатій, обумовлених порушеннями цілісності та проникності судинної стінки, останнім часом набуває все більшої актуальності для педіатричної практики. Геморагічні прояви виступають ключовою ланкою патогенезу численних дитячих захворювань, зокрема шоківих та термінальних станів, інфекційно-септичних, алергічних, імунних, неопластичних процесів, а також супроводжують травми, ускладнюють хірургічні втручання, лікарську та трансфузійну терапію. У 20% дітей в Україні відмічаються рецидивні носові кровотечі. У неонатології геморагічний синдром є найтяжчим ускладненням, частота якого коливається від 15% до 25% і призводить до ранньої смертності та інвалідизації дітей [2, 3, 7].

Багатовекторність факторів, що сприяють виникненню та розвитку захворювань і патологічних станів, спричинених підвищеною проникністю кровоносних судин, потребує наявності у педіатра широкого арсеналу лікарських засобів у вигляді специфічних лікарських форм, в яких були враховані індивідуальні

особливості функціонування та регуляції органів і систем зростаючого організму [6, 8].

Незважаючи на значне розширення номенклатури препаратів цієї фармакотерапевтичної групи, на фармацевтичному ринку України відмічається повна відсутність лікарських форм для дітей [4].

На цій підставі актуальним і вельми перспективним напрямом сучасної фармацевтичної науки і практики є розробка та впровадження в клінічну медицину високоефективних і безпечних препаратів для профілактики та лікування вазопатій геморагічного генезу для педіатрії.

Проведеними раніше дослідженнями розроблений оригінальний лікарський препарат у вигляді сиропу та встановлений його оптимальний склад, що містить сік смородини чорної, етамзилат, сахарозу, лимонну та сорбінову кислоти.

Виходячи з того, що вода є сприятливим середовищем для росту і розмноження численних мікроорганізмів, а цукор являє собою класичний субстрат для росту і розвитку грибів, важливим завданням на етапі розробки лікарського препарату є вивчення мікробіологічного профілю його безпечності.

Метою дослідження було вивчити активність антимікробних консервантів у дитячому сиропі на основі соку смородини чорної та етамзилату.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

У роботі використовували живильні середовища виробництва Махачкалінського (Дагестанського) заводу живильних середовищ, а саме: тіогликолеве напіврідке середовище, рідке середовище Сабуро, тверді — живильний агар та середовище Сабуро, середовище Чистовича, кров'яний агар, середовища Ендо та Мюль

ТАБЛИЦЯ 1

Результати дослідження активності антимікробних консервантів

Консервант	Концентрація, %	Логарифм зменшення числа мікроорганізмів				
		Первинний посів	2 доби	7 діб	14 діб	28 діб
<b>Staphylococcus aureus</b>						
Кислота сорбінова	0,1	0,59	2,95	НВ	НВ	НВ
Кислота сорбінова	0,05		2,91	4,44	НВ	НВ
Калію сорбат	0,1		3,17	НВ	НВ	НВ
Ніпагін+ніпазол (3:1)	0,1		2,91	3,97	НВ	НВ
Натрію бензоат	0,1		3,10	3,54	НВ	НВ
Натрію саліцилат	0,1		3,08	НВ	НВ	НВ
<b>Escherichia coli</b>						
Кислота сорбінова	0,1	0,94	3,22	НВ	НВ	НВ
Кислота сорбінова	0,05		3,13	НВ	НВ	НВ
Калію сорбат	0,1		3,16	НВ	НВ	НВ
Ніпагін+ніпазол (3:1)	0,1		3,20	НВ	НВ	НВ
Натрію бензоат	0,1		3,32	НВ	НВ	НВ
Натрію саліцилат	0,1		3,39	НВ	НВ	НВ
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>						
Кислота сорбінова	0,1	0,67	2,51	4,44	НВ	НВ
Кислота сорбінова	0,05		2,30	4,44	НВ	НВ
Калію сорбат	0,1		2,38	3,97	НВ	НВ
Ніпагін+ніпазол (3:1)	0,1		3,09	3,84	НВ	НВ
Натрію бензоат	0,1		2,33	3,28	НВ	НВ
Натрію саліцилат	0,1		2,36	3,79	НВ	НВ
<b>Candida albicans</b>						
Кислота сорбінова	0,1	0,69	1,95	3,92	НВ	НВ
Кислота сорбінова	0,05		1,07	3,31	НВ	НВ
Калію сорбат	0,1		1,90	3,16	3,70	НВ
Ніпагін+ніпазол (3:1)	0,1		1,90	3,25	3,55	НВ
Натрію бензоат	0,1		1,80	3,79	НВ	НВ
Натрію саліцилат	0,1		1,95	3,35	3,79	НВ

**Примітка:** НВ – мікроорганізми або гриби не виділялись.

лера-Хінтона. Кожна серія, що використовувалась в експерименті, перевірялась на ростові властивості. Відповідність ростових властивостей живильних середовищ визначали інюляцією невеликою ( $10 \cdot 10^2$  КУО/мл) кількістю відповідних тест-штамів мікроорганізмів з наступною експозицією 24-72 год. [1].

В якості критерію оцінки антибактеріальної ефективності консервантів використовували логарифм зменшення числа колоній мікроорганізмів за певний період після контамінації [5]. Для цього кожний досліджуваний зразок інюлювали ( $10^6$  КУО/мл) тест-штамами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 885/653. Після контамінації препарат висівали на агар для визначення числа життєздатних

клітин. Дослідження проводили в динаміці: через 0, 2, 7, 14, 28 діб з моменту внесення мікроорганізмів в модельну систему.

Визначення активності консервантів дифузійною в агар (метод колодязів та метод дисків) проводили у відповідності з рекомендаціями ВООЗ з використанням наступних тест-штамів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 4636, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Basillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 885/653. Мікробне навантаження ( $10^6$  мікробних клітин на 1 мл середовища) встановлювали за стандартами мутності ПСК ім. Л.А.Тарасевича та MacFarland.

Методом колодязів дослідження проводили на двох шарах щільного живильного середовища, розлитого в чашки Петрі. На нижній шар

ТАБЛИЦЯ 2

## Результати дослідження антибактеріальної активності консервантів методом колодязів

Консервант	Концентрація, %	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм					
		Staphylococcus aureus	Escherichia coli	Proteus vulgaris	Pseudomonas aeruginosa	Basillus subtilis	Candida albicans
Кислота сорбінова	0,1	25,0±0,32	17,4±0,5	15,0±0,32	20,0±0,7	26,2±0,58	17,6±0,51
Кислота сорбінова	0,05	24,0±0,45	14,4±0,24	13,2±0,37	18,0±0,32	25,0±0,32	13,8±0,37
Калію сорбат	0,1	18,4±0,7	17,2±0,37	12,8±0,37	19,4±0,51	21,2±0,37	12,2±0,2
Ніпагін+ніпазол (3:1)	0,1	25,2±0,58	16,0±0,32	13,4±0,2	18,4±0,51	23,6±0,51	13,8±0,37
Натрію бензоат	0,1	21,6±0,51	18,0±0,32	14,4±0,2	19,8±0,37	24,4±0,51	12,8±0,37
Натрію саліцилат	0,1	23,8±0,58	20,8±0,37	15,6±0,4	20,2±0,37	25,8±0,37	13,2±0,37

висотою 10 мм з незасіяного середовища (агар-агар, вода, солі) встановлювали горизонтально 3-6 тонкостінних циліндрів з нержавіючої сталі діаметром 8 мм та висотою 10 мм. Навкруги циліндрів заливали верхній шар (14-16 мл), що складався з розплавленого та охолодженого до 40°C поживного агаризованого середовища з відповідним стандартом добової культури тест-мікроба. Попередньо верхній шар ретельно перемішувався до утворення однорідної маси. Після застигання циліндри обережно виймали стерильним пінцетом і в утворені лунки вносили досліджувані зразки сиропів. Чашки підсушували 30-40 хв. при кімнатній температурі та поміщали в термостат (37°C) на 18-24 год. При оцінці антибактеріальних властивостей визначали діаметр зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунки.

Методом дисків активність визначали на щільному живильному середовищі, розлитому в один шар по чашці Петрі. На поверхню агару наносили 1 мл мікробної зависі, яку розподіляли стерильним шпательом по поверхні чашки. Через 30 хвилин на поверхню агару розміщували диски, які попередньо готували з фільтрувального паперу діаметром 0,5 см, сте-

рилізували при температурі 170°C 1,5 години, просочували відповідним зразком та підсушували. На поверхню однієї чашки Петрі поміщали 7-8 дисків.

Статистичну обробку експериментальних даних проводили згідно з вимогами ДФУ, Довповнення 1, п. 5.3.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Отримані дані свідчать, що всі досліджувані зразки відповідають критеріям оцінки ефективності антимікробних консервантів, рекомендованим ДФУ щодо лікарських засобів для орального застосування (табл. 1).

Так, у відношенні *Staphylococcus aureus* найбільш виражену активність проявили кислота сорбінова (0,1%), калію сорбат, натрію саліцилат, на фоні уведення яких через 7 діб з моменту початку культивування колонії даного штаму не реєструвались.

Дослідженнями встановлено, що максимальну активність у моделюємих умовах консерванти реалізують у частині зменшення числа життєздатних клітин *Escherichia coli*, коли

ТАБЛИЦЯ 3

## Результати дослідження антибактеріальної активності консервантів методом дисків

Консервант	Концентрація, %	Діаметри зон затримки росту мікроорганізмів, мм					
		Staphylococcus aureus	Escherichia coli	Proteus vulgaris	Pseudomonas aeruginosa	Basillus subtilis	Candida albicans
Кислота сорбінова	0,1	19,70±0,33	11,30±0,33	14,00±0,58	12,30±0,33	20,70±0,88	12,30±0,67
Кислота сорбінова	0,05	17,00±0,58	14,70±0,33	11,30±0,33	11,00±0,58	17,70±0,33	10,30±0,30
Калію сорбат	0,1	17,00±0,58	16,30±0,33	13,70±0,33	13,30±0,67	20,30±0,33	9,70±0,33
Ніпагін+ніпазол (3:1)	0,1	14,30±0,90	13,00±0,58	10,30±0,30	11,70±0,33	18,70±0,90	9,30±0,33
Натрію бензоат	0,1	14,70±0,33	17,30±0,33	13,00±0,58	15,30±0,88	20,30±0,33	11,00±0,58
Натрію саліцилат	0,1	19,30±0,33	18,00±0,58	10,33±0,30	13,30±0,33	15,30±0,66	9,33±0,33

вже на 7-добовій відмітці відмічається відсутність колоній.

Порівняльна характеристика антимікробної дії стосовно впливу на ріст колоній *Pseudomonas aeruginosa* свідчить, що натрію бензоат за умов, що вивчалися, реалізував більш низьку здатність зменшувати кількість життєздатних клітин через 7 діб дослідження. При цьому варто виділити антимікробну активність кислоти сорбінової в концентрації 0,1%, логарифм зменшення числа мікроорганізмів якої набуває високих показників, порівняно з іншими консервантами.

Як видно з табл. 1, через 14 діб з моменту контамінації величини логарифму зменшення числа життєздатних клітин *Candida albicans* найбільш активними виявилася кислота сорбінова (0,1%), суміш ніпагіну та ніпазолу (3:1), а в останніх зразках значення перевищили 3.

Результати дослідження антимікробної активності досліджуваних консервантів методом колодязів вказують на особливу чутливість культур *Candida albicans*, *Bacillus subtilis* до сорбінової кислоти в концентрації 0,1%, на що вказує зона затримки росту діаметра понад 17 та 26 мм відповідно. Слід зазначити, що в моделюємих умовах виявлена також висока чутливість мікроорганізмів роду *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* до кислоти сорбінової (0,1%), в умовах уведення якої діаметр зон затримки росту досліджуваних штампів бактерій знаходиться в межах від 15 до 25 мм (табл. 2).

Вивчення антимікробної активності консервантів більш чутливим методом дисків дозволило виділити сорбінову кислоту: відповідний досліджуваний зразок володіє порівняно високою антибактеріальною активністю у відношенні *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis* та *Candida albicans* (табл. 3).

## ВИСНОВКИ

Проаналізувавши результати проведених мікробіологічних досліджень, можна дійти висновку, що найбільш прийнятним консервантом для оригінальної лікарської форми представляється кислота сорбінова в концентрації 0,1%, що передусім обумовлено її високою антимікробною активністю, фізіологічною безпечністю, органолептичною нейтральністю, а також особливістю повної утилізації в організмі з утворенням енергії.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Бактеріологічний контроль поживних середовищ. Інформаційний лист МОЗ України №05.4.1/1670. — К., 2001.
2. Баркаган З.С. Нарушение гемостаза у детей / З.С.Баркаган. — М.: Медицина, 1993. — С. 36-39.
3. Гудзенко О.П. Дослідження гемостатичних властивостей сиропу «Фітоетавіт» / О.П.Гудзенко, О.Д.Немятых, К.В.Кулдіркаєва // Запорозький медичинський журнал. — 2010. — Т. 12, №6. — С. 68-71.
4. Гудзенко О.П. Маркетинговий аналіз вітчизняного ринку антигеморагічних препаратів / О.П.Гудзенко, К.В.Кулдіркаєва // Вісник фармації. — 2009. — Т. 4, №60. — С. 64-67.
5. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Доп. 1. — Харків: PIPEG, 2001. — 2004. — 520 с.
6. Коваль Н.Н. Геморрагические заболевания и синдромы: методология скрининговой лабораторной и клинической диагностики / Н.Н.Коваль // Український журнал гематології та трансфузіології. — 2003. — Т. 3, №4. — С. 39-43.
7. Alan B. Capillary fragility as cause of subdural haemorrhage in infants / C.Alan, B.Clemetson // Med. Hypotheses Res. — 2004. — Vol. 2-3, №1. — P. 121-129.
8. Melvyn R. Nutritional influences on capillary fragility / R.Melvyn // Townsend Letter for Doctors and Patients. — 2005. — Vol. 10. — P. 28-30.

**А.П.Гудзенко, О.Д.Немятых, Е.В.Кулдіркаєва. Исследование активности антимикробных консервантов в детском сиропе на основе сока смородины черной и этамзилата. Луганск, Украина.**

**Ключевые слова:** антимикробные консерванты, сироп, сок смородины черной, этамзилат.

*В работе изучена активность ряда консервантов в оригинальном сиропе на основе сока смородины черной и этамзилата. Установлено, что введение в состав сиропа сорбиновой кислоты в концентрации 0,1% обеспечивает надлежащую защиту лекарственного препарата от микробной контаминации.*

**О.П.Gudzenko, O.D.Nemyatykh, K.V.Kuldyrkaeva. Research of the activity of antimicrobial preservatives in a syrup etamsylate and black currant juice for children. Lugansk, Ukraine.**

**Key words:** antimicrobial preservatives, syrup, currant black juice, etamsylate.

*The activity of a number of antimicrobial preservatives incorporated into a syrup etamsylate and black currant juice for children has been investigated. A high antimicrobial activity of sorbic acid has been found in the concentration of 0,1% prevent drug contamination by microorganism.*

Надійшла до редакції 19.08.2012 р.