

УДК 615.076: 615.31

ВИЗНАЧЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ КОНЦЕНТРОВАНИХ РОЗЧИНІВ НЕОРГАНІЧНИХ СОЛЕЙ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ

Штрімайтіс О.В., Здорик О.А., Стрілець О.П.,
Георгіянц В.А.

Національний фармацевтичний університет

Складовою частиною системи забезпечення якості лікарських засобів (ЛЗ) аптечного виготовлення є вивчення стабільності, під якою розуміють здатність ЛЗ зберігати фізико-хімічні властивості і фармакологічну активність протягом визначеного терміну зберігання [1]. При дослідженні стабільності, як правило, вивчають наступні параметри: опис фізичних властивостей, прозорість, відсутність часток, колір, запах, смак, плинність, розпадання, розчинність, вологість, розмір часток, рН, чистота упаковки, утворення продуктів розкладу, кількісне визначення, взаємодія компонентів упаковки з препаратом, втрата консервантів, стерильність, ріст мікроорганізмів в нестерильних засобах та ін. Важливим завданням при дослідженні стабільності та встановленні терміну зберігання для ЛЗ аптечного виготовлення є визначення мікробіологічної чистоти, оскільки до складу переважної більшості прописів екстемпоральної рецептури не входять стабілізатори та консерванти. Це питання набуває особливої актуальності, коли мова йде про ЛЗ, виготовлені виробничою аптекою про запас, концентровані розчини, напівфабрикати, які в подальшому використовуються для виготовлення екстемпоральних ЛЗ [2-4]. Для нестерильних екстемпоральних ЛЗ мікробне забруднення так само не бажане, як і для стерильних, але є можливим, оскільки регламент їх виготовлення не потребує підтримання умов стерильності. Основними джерелами мікробіологічного забруднення ЛЗ є: сировина, технічна вода, виробничі обладнання, повітря у виробничих приміщеннях, робочий персонал, контейнери і упаковка продукції.

Тому метою роботи було проведення досліджень мікробіологічної чистоти концентрованих розчинів аптечного виготовлення протягом їх терміну зберігання у відповідності з методиками Державної фармакопеї України (ДФУ).

Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були субстанції калію броміду (ООО «Хімлаборреактив», партія № 11031022, виробник Німеччина), натрію броміду (ООО «Хімлаборреактив», партія № 804, виробник Україна), кальцію хлориду гексагідрату (ООО «Лабораторний мир ЛТД», партія № 100, виробник Росія), з яких готували по три серії зразків концентрованих розчинів солей кальцію хлориду 50 %, калію броміду 20 % і натрію броміду 20 % відповідно до правил виготовлення ЛЗ в умовах

аптеки [3]. Концентровані розчини кальцію хлориду 50 % були приготовані з використанням свіжопрокип'яченої води очищеної і води для ін'єкцій (ТОВ «Юрія-Фарм», серія № 090913), зразки розчинів солей калію броміду 20 % і натрію броміду 20 % були приготовані на воді для ін'єкцій.

Приготовані зразки зберігали в умовах холодильника (5 ± 3 °С) і за кімнатної температури (25 ± 2 °С). Мікробіологічну чистоту визначали відразу після приготування, через 7, 14, 21, 30 днів. Усі дослідження виконували у суворох асептичних умовах, з використанням ламінарного боксу (кабінет біологічної безпеки АС2-4Е1 «Esco», Індонезія).

При аналізі мікробіологічної чистоти використовували метод, що пропонується ДФУ 1 вид.: визначення загального числа життєздатних аеробних мезофільних бактерій і грибів – метод двошарового посіву (національна частина), визначення наявності бактерій *Escherichia coli* [5, 6, 7]. Додатково були проведені дослідження на наявність у розчинах солей бактерій *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* [6, 8].

Для перевірки придатності методик визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів у якості тест-штамів використовували такі мікроорганізми з американської колекції культур: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404.

У відповідності з рекомендаціями ДФУ використовували наступні щільні та рідкі живильні середовища: соєво-казеїновий агар (для визначення кількості живих бактерій), сабуро-декстрозний агар (для визначення кількості грибів), соєво-казеїновий бульйон (для попереднього інкубування при визначенні наявності певних видів мікроорганізмів), манітно-сольовий агар (для ідентифікації *Staphylococcus aureus*), агар для виявлення пігменту піоціаніну (для ідентифікації *Pseudomonas aeruginosa*), агар Мак-Конки (ідентифікація *Escherichia coli*) [5, 6, 7, 8].

Під час дослідження використовували не менше 6 чашок Петрі з кожним живильним середовищем, і результат визначали як середнє арифметичне значення числа колоній, які виросли на усіх паралельних чашках. Чашки із соєво-казеїновим агаром інкубували при температурі 30-35 °С протягом 5 діб, чашки із сабуро-декстрозним агаром – при температурі 20-25 °С – 7 діб.

Відібрані зразки розчинів солей (10 мл) розводили буферним розчином з натрію хлоридом і пептоном (рН 7,0), отримуючи розведення 1:10, які і використовували для посівів.

Результати та обговорення

У відповідності з вимогами ДФУ 1 вид., 1 г (мл) готової водної лікарської речовини для орального застосування повинен містити не більше 10^2 аеробних мікроорганізмів (ТАМС) і 10^1 дріжджових і пліснявих грибів (ГУМС). Також повинні бути відсутні бактерії *Escherichia coli* [6]. З

метою попередження помилок, які можливі при виявленні антимікробної активності розчинами солей, попередніми дослідженнями було встановлено, що розчини досліджуваних солей неорганічних кислот можна охарактеризувати як «ті, що не проявляють антимікробної дії» [5, 9].

Результати визначення мікробіологічної чистоти зразків концентрованих розчинів неорганічних солей відразу після приготування і в процесі зберігання за різних температурних режимів наведені у табл. 1 і 2.

Таблиця 1 - Результати контролю мікробіологічної чистоти розчину кальцію хлориду 50%

Назва показника/ Умови зберігання		Термін зберігання, дні					
		0	7	14	21	30	
ТАМС, КУО/мл	5±3 °С	Вода св.	До 10	10	10	10	10
		Вода д/і	До 10	До 10	До 10	10	10
ТАМС, КУО /мл	25±2 °С	Вода св.	До 10	20	20	20	25
		Вода д/і	До 10	До 10	До 10	10	20
ТУМС, КУО /мл	5±3 °С	Вода св.	До 10	До 10	До 10	До 10	До 10
		Вода д/і	До 10	До 10	До 10	До 10	До 10
ТУМС, КУО /мл	25±2 °С	Вода св.	До 10	До 10	До 10	До 10	До 10
		Вода д/і	До 10	До 10	До 10	До 10	До 10
Наявність бактерій							
Escherichia coli	5±3 °С	Вода св.	-	-	-	-	-
		Вода д/і	-	-	-	-	-
	25±2 °С	Вода св.	-	-	-	-	-
		Вода д/і	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	5±3 °С	Вода св.	-	-	-	-	-
		Вода д/і	-	-	-	-	-
	25±2 °С	Вода св.	-	-	-	-	-
		Вода д/і	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	5±3 °С	Вода св.	-	-	-	-	-
		Вода д/і	-	-	-	-	-
	25±2 °С	Вода св.	-	-	-	-	-
		Вода д/і	-	-	-	-	-

Примітки: КУО/мл – колонієутворюючі одиниці в 1 мл препарату; «-» означає повну відсутність бактерій у зразку; вода д/і – вода для ін'єкцій, вода св. – свіжопрокип'яченої вода очищена.

Таблиця 2 - Результати контролю мікробіологічної чистоти розчинів калію броміду 20% і натрію броміду 20%

Назва показника/ Умови зберігання		Термін зберігання, дні					
		0	7	14	21	30	
ТАМС, КУО/мл	5±3 °С	KBr	30	30	30	30	35
		NaBr	10	10	20	20	20
ТАМС, КУО/мл	25±2 °С	KBr	30	50	50	50	55
		NaBr	10	20	30	30	30
ТУМС, КУО/мл	5±3 °С	KBr	До 10	До 10	До 10	До 10	До 10
		NaBr	До 10	До 10	До 10	До 10	До 10
ТУМС, КУО/мл	25±2 °С	KBr	До 10	До 10	До 10	До 10	До 10
		NaBr	До 10	До 10	До 10	До 10	До 10
Наявність бактерій							
Escherichia coli	5±3 °С	KBr	-	-	-	-	-
		NaBr	-	-	-	-	-
	25±2 °С	KBr	-	-	-	-	-
		NaBr	-	-	-	-	-
Staphylococcus aureus	5±3 °С	KBr	-	-	-	-	-
		NaBr	-	-	-	-	-
	25±2 °С	KBr	-	-	-	-	-
		NaBr	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	5±3 °С	KBr	-	-	-	-	-
		NaBr	-	-	-	-	-
	25±2 °С	KBr	-	-	-	-	-
		NaBr	-	-	-	-	-

Примітки: КУО/мл – колонієутворюючі одиниці в 1 мл препарату; «-» означає повну відсутність бактерій у зразку.

Результати представлені у табл. 1 свідчать про те, що в аналізованих зразках 50% розчину кальцію хлориду, приготованого на різних видах води (свіжопрокип'ячена і для ін'єкцій) при зберіганні за різних температурних умов (5 ± 3 °C, 25 ± 2 °C) не виявлено бактерій *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Загальна кількість бактерій максимально не перевищує 25 КУО/мл при зберіганні в умовах кімнатної температури, кількість грибів у всіх зразках менше 10 КУО/мл. Отримані результати свідчать про те, що ці зразки розчину кальцію хлориду 50% відповідають вимогам ДФУ за показником «Мікробіологічна чистота».

Аналіз отриманих результатів (табл. 2) дослідження мікробної контамінації розчинів солей калію броміду 20% і натрію броміду 20% показав, що у всіх аналізованих зразках не виявлено бактерій *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Кількість грибів складає у всіх аналізованих зразках – менше 10 КУО/мл протягом всього терміну зберігання за різних температурних режимів. Слід зазначити, що досліджувані розчини солей калію броміду 20% і натрію броміду 20% відповідають вимогам ДФУ по показнику мікробіологічної чистоти. Однак при зберіганні розчинів в умовах кімнатної температури є більша тенденція до збільшення кількості бактерій (калію бромід – максимальне КУО/мл 55, натрію бромід – 30 КУО/мл). Отже, зберігання розчинів неорганічних солей калію броміду і натрію броміду в холодильнику (5 ± 3 °C) є більш прийнятним для зберігання мікробіологічної чистоти досліджуваних зразків.

Висновки

Експериментально проведені дослідження мікробіологічної чистоти досліджуваних зразків концентрованих розчинів неорганічних солей методом двошарового висівання у відповідності з вимогами ДФУ. На основі проведених досліджень стосовно визначення мікробіологічної чистоти аналізованих концентрованих розчинів солей неорганічних кислот кальцію хлориду 50 %, калію броміду 20 % і натрію броміду 20 % приготованих в умовах аптеки було встановлено, що під час зберігання за різних температурних умов усі зразки відповідають вимогам ДФУ, які висувають до готових водних лікарських засобів для орального застосування стосовно вмісту загального числа життєздатних аеробних мезофільних бактерій і грибів та відсутності бактерій *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

References

1. Zdoryk O.A. World experience of the expiration date determination of compounding preparations / O.A. Zdoryk // Pharmaceutical journal. – 2013. – № 6. – P. 42–47.
2. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Scientific and Expert Pharmacopoeial Centre». – 1st ed. Appendix 2. – Kharkov: RIREH, 2008. – 608 p.

3. Requirements for the preparation of non-sterile medicinal products in conditions of pharmacy: Guidelines (Approved by the order of Ministry of health of Ukraine dated August 03, 2005, № 391). – 2-ed. – Kyiv: The Ministry of health of Ukraine, 2005. – 98 p.

4. Stability study of the compounding preparation calcium chloride concentrated solution / O. V. Shtrimaitis, O. A. Zdoryk, V. A. Georgiyants // «Zbirnyk Naukovykh Prats' Spivrobitnykiv NMAPO imeni P. L. Shupyka». – 2013. – № 22(4). – P. 323-328.

5. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Scientific and Expert Pharmacopoeial Centre» – 1st ed. – Kharkov: RIREH, 2001. – 556 p.

6. State Pharmacopoeia of Ukraine / State Enterprise «Scientific and Expert Pharmacopoeial Centre» – 1st ed. Appendix 4. – Kharkov: RIREH, 2011. – 536 p.

7. Gemerova E.G. On the matter of drug microbiological purity control on accordance with GFU requirements. Report 1. Validation of methods for determining the total number of viable aerobic microorganisms/ E.G. Gemerova, N.P. Khovanskaya // Pharmacom. – 2002. – № 3. – P. 51-55.

8. Gemerova E.G. On the matter of drug microbiological purity control on accordance with GFU requirements. Report 2. A validation test procedures for certain types of microorganism/ E.G. Gemerova, N.P. Khovanskaya // Pharmacom. – 2003. – № 1. – P. 1-12.

9. Gunnar O.V. Risk of false microbiological results in the quality control of medicines/ O.V. Gunnar // Pharmacia. – 2005. – № 2. – P. 29–31.

УДК 615.076: 615.31

ВИЗНАЧЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНОЇ ЧИСТОТИ КОНЦЕНТРОВАНИХ РОЗЧИНІВ НЕОРГАНІЧНИХ СОЛЕЙ АПТЕЧНОГО ВИГОТОВЛЕННЯ

Штримайтіс О.В., Здорик О.А., Стрілець О.П., Георгіянець В.А.

У статті наведені результати дослідження мікробіологічної чистоти концентрованих розчинів аптечного виготовлення протягом їх терміну зберігання (1 місяць) при різних температурних умовах. Випробування проводили згідно вимог Державної фармакопеї України методом прямого двошарового посіву (національна частина).

Експериментально встановлено відсутність бактерій *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Доведено, що всі досліджувані зразки концентрованих розчинів відповідають вимогам стосовно якості готових водних лікарських засобів для орального застосування відповідно до вимог Державної фармакопеї України.

Ключові слова: концентровані розчини солей неорганічних кислот, контроль якості, мікробіологічна чистота.

УДК 615.076: 615.31

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЙ ЧИСТОТЫ КОНЦЕНТРИРОВАННЫХ

РАСТВОРОВ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЛЕЙ АПТЕЧНОГО ИЗГОТОВЛЕНИЯ

**Штримайтис О.В., Здорик А.А., Стрелец О.П.,
Георгиянц В.А.**

В статье приведены результаты исследований микробиологической чистоты концентрированных растворов аптечного изготовления в течение их срока хранения (1 месяц) при различных температурных условиях. Испытания проводили согласно с требованиями Государственной фармакопеи Украины методом прямого двухслойного посева (национальная часть). Экспериментально установлено отсутствие бактерий *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Доказано, что все исследуемые образцы концентрированных растворов отвечают требованиям относительно качества готовых водных лекарственных средств для перорального применения в соответствии с требованиями Государственной фармакопеи Украины.

Ключевые слова: концентрированные растворы солей неорганических кислот, контроль качества, микробиологическая чистота.

UDC 615.076: 615.31

MICROBIOLOGICAL PURITY DETERMINATION OF CONCENTRATED SOLUTIONS OF INORGANIC SALTS PHARMACEUTICAL PREPARATION

**Shtrimaitis O.V., Zdoryk O.A., Strilets O.P.,
Georgiyants V.A.**

Results of microbiological purity research of compounding concentrated solutions during the period of their storage period (1 month) under different temperature conditions are given in the article. The tests were carried out according to requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine by direct two-layer sowing (national part).

Experimentally there was found the absence of bacteria *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. It is proved that all the analyzed samples of concentrated solutions meet the requirements regarding the quality of the water medicines for oral administration in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Key words: concentrated solutions of salts of inorganic acids, quality control, microbiological purity.